

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE SETAS COMESTIBLES ORELLANAS
(*Pleurotus ostreatus*) SOBRE CUATRO SUSTRATOS A BASE DE PULPA DE
CAFÉ, TRATADOS CON TRES DIFERENTES MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN
EN EL MUNICIPIO DE PIENDAMÓ



ALDEMAR SARASTI ASTUDILLO
WALTER ANÍBAL MUELAS VILLAQUIRÁN

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA
POPAYÁN
2008

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE SETAS COMESTIBLES ORELLANAS
(*Pleurotus ostreatus*) SOBRE CUATRO SUSTRATOS A BASE DE PULPA DE
CAFÉ, TRATADOS CON TRES DIFERENTES MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN
EN EL MUNICIPIO DE PIENDAMÓ

ALDEMAR SARASTI ASTUDILLO
WALTER ANÍBAL MUELAS VILLAQUIRÁN

TRABAJO DE GRADO EN LA MODALIDAD DE PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO
DE INGENIERO AGROPECUARIO

Director
IVÁN ENRIQUE PAZ
Ingeniero Agrónomo, M. Sc.

Director
JOSÉ LUIS HOYOS
Ingeniero Agroindustrial., Esp

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA
POPAYÁN
2008

Nota de aceptación:

Los directores y los jurados han evaluado este documento, han escuchado la sustentación del mismo por sus autores y lo encuentran satisfactorio.

IVÁN ENRIQUE PAZ
Director

JOSÉ LUIS HOYOS
Director

CLARA LUZ FORERO GÓMEZ
Presidente del jurado

REINALDO VELASCO
Jurado

Popayán, 12 de agosto de 2008.

*A Dios, a mi familia y en especial a mi madre Elia María Astudillo quien me apoyó incondicionalmente y esperó ver este sueño cumplido, pero la vida no le alcanzó y está en el cielo protegiéndome.
Aldemar Sarasti.*

*A mi familia y en especial a Ana María, que sin su apoyo y comprensión, no habría sido posible alcanzar esta meta tan importante en mi vida.
Walter Aníbal Muelas.*

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que colaboraron con esta investigación, especialmente a los ingenieros Iván Enrique Paz y José Luis Hoyos nuestros directores del trabajo de investigación, al grupo de investigación Química de Productos Naturales (QPN) de la Universidad del Cauca.

A todas aquellas personas vinculadas a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca que contribuyeron en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	pág.
GLOSARIO	18
SUMMARY	20
RESUMEN	22
INTRODUCCIÓN	24
1. MARCO TEÓRICO	26
1.1 HONGOS COMESTIBLES	26
1.2 GÉNERO PLEUROTUS	27
1.2.1 Descripción	28
1.2.2 Clasificación taxonómica	29
1.2.3 Beneficios del hongo <i>Pleurotus sp.</i>	29
1.2.3.1 Beneficios biológicos del cultivo	29
1.2.3.2 Beneficios nutritivos	29

	pág.
1.2.3.3 Beneficios a la salud	29
1.2.3.4 Otros beneficios	30
1.2.4 Ciclo de cultivo	30
1.2.4.1 Producción de semilla	30
1.2.4.2 Adecuación de sustratos	30
1.2.4.3 Inoculación	30
1.2.4.4 Incubación	31
1.2.4.5 Fructificación	31
1.2.4.6 Cosecha	31
1.2.4.7 Post cosecha	32
1.3 MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN	32
1.3.1 Esterilización con agua en ebullición	32
1.3.2 Esterilización con vapor	33

	pág.
1.3.3 Método A. G. de Gerber	33
1.3.4 Fermentación aerobia	33
1.3.5 Esterilización química	34
1.3.6 Fermentación en el medio natural	34
1.3.7 Método de Zadrazil y Schneiderei	34
1.3.8 Desinfección con cal agrícola	34
1.3.9 Método de Lelley (fermentación anaerobia)	34
1.4 MATERIAS PRIMAS	35
1.4.1 Pulpa de café	35
1.4.2 Bagazo de caña	36
1.4.3 Pasto King Grass	37
1.5 MICROORGANISMOS PRESENTES EN LOS SUSTRATOS	38
1.5.1 Producción de metabolitos secundarios a partir de fermentación aerobia	38

	pág.
1.5.2 Compuestos antimicrobianos producidos por las bacterias lácticas	39
2. ANTECEDENTES	40
3. METODOLOGÍA	42
3.1 LOCALIZACIÓN	42
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	42
3.2.1 Primera etapa	42
3.2.1.1 Tratamiento sin esterilización	45
3.2.1.2 Esterilización química	45
3.2.1.3 Esterilización con vapor de agua	46
3.2.1.4 Esterilización con agua en ebullición	46
3.2.2 Segunda etapa	48
3.2.2.1 Identificación del mejor sustrato	48
3.3 MATERIALES	50

	pág.
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
4.1 PRIMERA ETAPA	52
4.1.1 Unidades formadoras de colonia UFC por miligramo de sustrato (UFC/mg)	52
4.1.2 Porcentaje de colonización	54
4.1.3 Porcentaje de contaminación de los sustratos en la superficie de la bolsa por otras cepas de hongos	57
4.2 SEGUNDA ETAPA	58
4.2.1 Porcentaje de colonización	58
4.2.2 Producción de setas	60
4.2.2.1 Primera cosecha	60
4.2.2.2 Segunda cosecha	61
4.2.2.3 Producción total	62
4.2.3 Eficiencia biológica	65
4.2.4 Composición nutricional del sustrato agotado de hongo SAH	66

	pág.
4.2.5 Uso potencial del sustrato agotado de hongos SAH	68
5. CONCLUSIONES	70
6. RECOMENDACIONES	71
BIBLIOGRAFÍA CITADA	72
BIBLIOGRAFÍA DE REFERENCIA	75
ANEXOS	76

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Esquema de un hongo superior	27
Figura 2. Seta de <i>Pleurotus sp.</i>	27
Figura 3. Partes de una seta de <i>Pleurotus sp.</i>	28
Figura 4. Diseño completamente al azar con arreglos factoriales 4 x 4 x 3	43
Figura 5. Ubicación de unidades experimentales en el cuarto de incubación	43
Figura 6. Empaque en doble bolsa por unidad experimental	44
Figura 7. Fermentación anaerobia de la pulpa de café	45
Figura 8. Aspersión del sustrato con vanodine	45
Figura 9. Tratamiento de esterilización con vapor de agua	46
Figura 10. Tratamiento de esterilización con agua en ebullición	46
Figura 11. Muestra de sustrato para el cultivo microbiológico	47
Figura 12. Cultivo microbiológico, número de colonias	47

	pág.
Figura 13. Diseño completamente al azar 4 x 5	49
Figura 14. Ubicación de las unidades experimentales de la segunda etapa en el cuarto de incubación	49
Figura 15. Materiales empleados en la investigación	51
Figura 16. Colonización de <i>Pleurotus ostreatus</i> con tratamiento de esterilización de agua en ebullición	55
Figura 17. Colonización de <i>Pleurotus ostreatus</i> con tratamiento químico	56
Figura 18. Cuarto de Fructificación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	60
Figura 19. Cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus ostreatus</i>	61

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Análisis bromatológico <i>Pleurotus ostreatus</i>	29
Tabla 2. Análisis bromatológico pulpa de café (análisis en peso seco)	36
Tabla 3. Análisis bromatológico del bagazo de caña (% de base seca)	37
Tabla 4. Composición del bagazo (% de base seca)	37
Tabla 5. Composición del pasto King Grass (% de base seca)	38
Tabla 6. Prueba “t” para el promedio de UFC/mg de sustrato comparando el tratamiento de esterilización con agua en ebullición contra los otros tratamientos	53
Tabla 7. Resumen ANAVA para % colonización al día 15	57
Tabla 8. Prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), para porcentaje de colonización al día 15	57
Tabla 9. Resumen ANAVA para porcentaje de colonización de sustratos al día cinco	59
Tabla 10. Prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), para porcentaje de colonización de sustratos al día cinco	59
Tabla 11. Peso (g) de las setas en las dos cosechas y la producción total	62

	pág.
Tabla 12. Producción de setas (g) por unidad experimental para cada tratamiento y por kg de sustrato	64
Tabla 13. Resumen ANAVA para peso total (g) de las setas ($\alpha = 0.05$)	64
Tabla 14. Prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), para peso total (g) de las setas	65
Tabla 15. Análisis proximal al sustrato agotado del hongo SAH (% en base seca)	66

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Distribución en peso de los subproductos en el beneficio del café	35
Gráfica 2. Capacidad contaminante de los subproductos del beneficio del café	36
Gráfica 3 Unidades formadoras de colonia promedio por miligramo de sustrato según tratamiento de esterilización	53
Gráfica 4. Porcentaje promedio de colonización de <i>Pleurotus ostreatus</i> por tratamiento de esterilización	54
Gráfica 5. Porcentaje de colonización de <i>Pleurotus ostreatus</i>	58
Gráfica 6. Peso promedio (g) de las setas en la primera cosecha	60
Gráfica 7. Peso promedio (g) de las setas en la segunda cosecha	61
Gráfica 8. Peso promedio (g) de las setas en las dos cosechas	62
Gráfica 9. Participación porcentual de las cosechas en la producción total de cada tratamiento	63
Gráfica 10. Eficiencia biológica (%) de los tratamientos en la producción de setas	65

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Número de UFC/mg de sustrato fresco	77
Anexo B. Porcentaje promedio de colonización por tratamiento de esterilización	77
Anexo C. Porcentaje de colonización de <i>Pleurotus ostreatus</i>	77
Anexo D. Peso (g) de las setas en la primera cosecha	78
Anexo E. Peso (g) de las setas en la segunda cosecha	78
Anexo F. Peso (g) de las setas en las dos cosechas	78
Anexo G. Participación porcentual de las cosechas en la producción total de cada tratamiento	78
Anexo H. Eficiencia biológica (%) de los tratamientos en la producción de setas	78

GLOSARIO

COLONIZACIÓN: Acción y efecto de fijar colonias en un medio o sustrato.

EFICIENCIA BIOLÓGICA: peso en gramos de cuerpos fructíferos frescos cosechados por cada 100 gramos de sustrato seco

ESTERILIZACIÓN: efecto de destruir microorganismos contaminantes o patógenos.

FERMENTACIÓN AEROBIA: degradación de los carbohidratos en productos sencillos por acción enzimática en presencia de oxígeno.

FERMENTACIÓN ANAEROBIA: degradación de los carbohidratos en productos sencillos por acción enzimática en ausencia de oxígeno.

HONGO: microorganismo unicelular o pluricelular que se alimentan mediante la absorción directa de nutrientes

INCUBACIÓN: tiempo en que un microorganismo se desarrolla.

INHIBICIÓN: efecto que causa el desarrollo de un microorganismo para impedir o reprimir el desarrollo de otro.

INOCULACIÓN: acto de sembrar una cepa de un microorganismo en un medio de cultivo o sustrato.

MESÓFILO: organismo que vive y se desarrolla a temperatura ambiente.

METABOLITO: sustancia química producida por los microorganismos en su proceso metabólico necesaria para su desarrollo.

MICROFLORA: conjunto de microorganismos adaptados a un medio natural.

ORELLANA: hongo comestible del genero *Pleurotus sp.*

SAPRÓFITO: organismo que se alimenta de la materia orgánica en descomposición.

SETA: cuerpo fructífero de un hongo superior.

SUSTRATO: medio de cultivo usado para la producción de hongos comestibles.

SUSTRATO AGOTADO: medio de cultivo residual del cultivo de hongos comestibles.

TERMÓFILO: organismo que vive y se desarrolla a altas temperaturas.

UNIDAD FORMADORA DE COLONIA: microorganismo presente en un medio de cultivo capaz de formar una colonia.

SUMMARY

The coffee production occupies an important line inside the culture and the economy of our region, likewise it generates great quantity of crop residuals as the coffee's pulp, which should be treated appropriately to diminish the contamination of the environment, for this reason alternatives are looked for its use. In the property Los Andes located in Piendamó (Cauca) was carried out a test in two stages, with the objective of evaluating in a first stage three methods of substratums sterilization for the cultivation of the mushroom eatable orellana (*Pleurotus ostreatus*) using as matter it prevails it bases the coffee's pulp, for the variables; units colony make up for milligram of substratum (UFC / mg), colonization percentage and percentage of contamination of the substratum. In a second stage it was evaluated different substratums mixtures, estimating the colonization, the production of fruitful bodies and the biological efficiency of the substratum in two crops.

For the first stage (evaluation of substratums sterilization), a design was used totally at random with factorial arrangements 4 X 4 X 3. The treatments were compound for four sterilization methods (N: non sterilization, Q: chemical sterilization, V: sterilization with vapor of water and E: sterilization with water in boil), and four substratums mixtures (S1: 100% pulp of coffee, S2: 50% pulp of coffee + 50% cane trash, S3: 50% pulp of coffee + 50% pastures of court King Grass and S4: 33.3% pulp of coffee + 33.3% cane trash + 33.3% pastures of court King Grass), each one with three repetitions. The test "t" demonstrated for the number of UFC / mg that the treatment dilutes in boil with average of 2.8 UFC / mg, it was the best sterilization method. For microorganisms colonization's percentage, the test of averages of Duncan ($\alpha = 0.05$), reported that the treatment of water in boil was better.

In the second stage (production of mushroom in different substratums), a 4 X 5 totally at random design was used with four treatments that corresponded to the same mixtures used in the first stage, repeated five times. The obtained results of the variance analysis for colonization percentage a day 5 sample that it existed significant ($\alpha = 0.05$) differences among the treatments, and the test of averages of Duncan ($\alpha = 0.05$), it reported that T1 (79.3%) was the best substratum. For the variable production of mushrooms in the two crops the test of Duncan ($\alpha = 0.05$) reported that the effect of S2, S3 and S4 were similar. As soon as the biological efficiency the treatments presented the same tendency of the previous variable, where the percentage average of the biological obtained efficiency was 46.4% (S4), (S1) 62.9%, (S2) 66.8% and (S3) 59.5%.

The proximal analysis of the out substratum obtained after the *Pleurotus ostreatus* cultivation, showed changes happened in its composition, mainly in the protein content, fiber and in the relationship C/N.

Key words:

Sterilization, substratum, cultivation *Pleurotus ostreatus*, biological efficiency, out substratum.

RESUMEN

La producción de café ocupa un renglón importante dentro de la cultura y la economía de nuestra región; así mismo, genera gran cantidad de residuos de cosecha como la pulpa de café, la cual debe ser tratada adecuadamente para disminuir la contaminación del medio ambiente, por esta razón se buscan alternativas para su utilización. En la finca Los Andes ubicada en Piendamó (Cauca) se llevó a cabo un ensayo en dos etapas, con el objetivo de evaluar en una primera etapa tres métodos de esterilización de sustratos para el cultivo del hongo comestible orellana (*Pleurotus ostreatus*) usando como materia prima base la pulpa de café, para las variables: unidades formadoras de colonia por miligramo de sustrato (UFC/mg), porcentaje de colonización, y porcentaje de contaminación del sustrato y en una segunda etapa se evaluaron diferentes mezclas de sustratos, estimando la colonización, la producción de cuerpos fructíferos y la eficiencia biológica del sustrato en dos cosechas.

Para la primera etapa (evaluación de tratamientos de esterilización), se empleó un diseño completamente al azar con arreglos factoriales 4 X 4 X 3. Los tratamientos estaban compuestos por cuatro métodos de esterilización (N: no esterilización, Q: esterilización química, V: esterilización con vapor de agua y E: esterilización con agua en ebullición), y cuatro mezclas de sustratos (S1: 100% pulpa de café, S2: 50% pulpa de café + 50% bagazo de caña, S3: 50% pulpa de café + 50% pasto de corte King Grass y S4: 33.3% pulpa de café + 33.3% bagazo de caña + 33.3% pasto de corte King Grass), cada uno con tres repeticiones. Los datos obtenidos se analizaron mediante: prueba "t", análisis de varianza y prueba de comparación múltiple Duncan. La prueba "t" demostró para el número de UFC/mg de sustrato, que el tratamiento agua en ebullición con un promedio de 2.8 UFC/mg fue el mejor método de esterilización. Para el porcentaje de colonización el análisis de varianza mostró que existieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los tratamientos. La prueba de promedios de Duncan reportó que el tratamiento de agua en ebullición fue mejor.

En la segunda etapa (producción de setas en diferentes sustratos), se empleó un diseño completamente al azar 4 X 5 con cuatro tratamientos que corresponden a las mismas mezclas usadas en la primera etapa cinco veces. Con los datos obtenidos se efectuó un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de Duncan. Los resultados obtenidos del análisis de varianza para porcentaje de colonización al día cinco muestra que existieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los tratamientos, y la prueba de promedios de

Duncan ($\alpha = 0.05$), reportó que T1 (79.3%) fue el mejor sustrato. Para la variable producción de setas en las dos cosechas, el análisis de varianza detectó diferencias significativas ($\alpha = 0.05$), y la prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$) reportó que T2 (565.8 g), T3 (601.2 g) y T4 (535.8g) son iguales. En cuanto la eficiencia biológica los tratamientos presentaron la misma tendencia de la variable producción de setas; el porcentaje promedio de la eficiencia biológica obtenido fue de T1 (46.4%), T2 (62.9%), T3 (66.8%) y T4 (59.5%).

El sustrato agotado obtenido del cultivo de *Pleurotus ostreatus*, después de realizarle un análisis proximal mostró cambios en su composición, principalmente en el contenido de proteína, fibra y en la relación C/N.

Palabras Clave:

Esterilización, sustrato, cultivo *Pleurotus ostreatus*, eficiencia biológica, sustrato agotado.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la demanda de alimentos y materias primas se ha incrementado conforme crece la población mundial, trayendo consigo un aumento en la producción agropecuaria, ésta genera grandes cantidades de residuos y desperdicios, que no son aptos para el consumo humano o animal directamente, y que en un alto porcentaje no están siendo aprovechados por los productores, quienes no les dan el manejo que estos merecen, y en la mayoría de los casos los queman, los arrojan a las fuentes de agua o los depositan en cualquier lugar de su explotación, contribuyendo así a la contaminación y deterioro del medio ambiente.

En el municipio de Piendamó (Cauca), entre los residuos de cosecha que más se producen, se encuentra la pulpa de café, producto del beneficio de este cultivo, el cual se encuentra sembrado en un área aproximada de 8,373.43 has (POT Piendamó, 2005), que alcanzan a producir aproximadamente unas 16,747 tm¹ de pulpa de café al año. Este residuo tiene un alto potencial de contaminación, principalmente por el manejo dado, pues es un bajo porcentaje es utilizado en la alimentación de lombrices, pero en su mayor proporción es desechado en cualquier parte de la finca cafetera; y debido a su composición fisicoquímica (alto contenido de azúcares y fibra), que retarda su descomposición, sus lixiviados contaminan el agua que entra en contacto con ella; además, incrementa la presencia de roedores, insectos, hongos y bacterias. Es por esta razón que este subproducto merece atención en el manejo como desperdicio o materia prima para diferentes procesos.

El bagazo de la caña panelera (*Saccharum officinarum*) es otro subproducto no aprovechado totalmente, que está generando contaminación en esta zona, debido a que en el municipio la producción es de 190 tm/año de panela (Secretaría de Desarrollo Agropecuario y Fomento Económico, Censo Agropecuario 2004), que deja aproximadamente 760 tm de bagazo, el cual en parte es usado en la combustión de las hornillas, y un alto porcentaje es desechado a un lado del trapiche generando malos olores y atrayendo plagas como hormigas y roedores que pueden afectar la calidad del producto final.

El pasto de corte King Grass (*Pennisetum hybridum*) es de constitución muy fibrosa, por su manejo sólo se utilizan sus hojas y tallos tiernos, quedando como

¹ Tonelada métrica.

material de desecho tallos maduros, que se acumulan en el establo y en su proceso de descomposición atraen insectos como moscas, que pueden actuar como vectores de múltiples enfermedades para el ganado.

Los materiales mencionados anteriormente, presentan gran cantidad de fibra, compuesta principalmente por celulosa y hemicelulosa, que pueden ser aprovechados en la producción de hongos comestibles del género *Pleurotus sp*, los cuales tienen la habilidad de descomponer residuos agroindustriales con relaciones de carbono/nitrógeno entre 50 y 500 (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

Otra característica de los materiales es la disponibilidad en la zona, que asegura una producción continua. Teniendo en cuenta que la pulpa de café puede ser una materia prima base para la preparación de los sustratos destinados al cultivo del hongo, Según el POT, 2005 de Piendamó se estima que por cada hectárea de café sembrado se obtiene una producción promedio de 90 @ de café pergamino seco al año, que generan aproximadamente dos toneladas de pulpa fresca, de las que se pueden obtener 1.800 kg de sustrato para cultivo y 170 kg de setas de la seta *Pleurotus sp*. (Rodríguez y Gómez, 2001), representando un ingreso neto de \$1.400.000, haciendo atractiva esta actividad agrícola en las fincas cafeteras.

Por lo anterior surge la oportunidad de realizar en la zona, un trabajo de investigación para evaluar la producción de *Pleurotus ostreatus* sobre cuatro diferentes sustratos a base de pulpa de café, sometidos a diferentes métodos de esterilización y analizar el sustrato agotado.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 HONGOS COMESTIBLES

Durante mucho tiempo los hongos estuvieron ubicados en el reino de las plantas. Es a partir de una serie de argumentos presentados inicialmente por Whittaker en 1969 y posteriormente ampliadas por Margulis en 1971, cuando termina por aceptarse la idea de que los hongos son organismos diferentes a las plantas y a los animales, y que deberían formar un grupo aparte, el llamado Reino de los Hongos o Reino Fungi. Estas diferencias se ven expresadas por ejemplo en su forma de almacenar alimento o energía, el cual es similar al de los animales que lo almacenan en forma de glucógeno, pero difieren en que los hongos no poseen un aparato digestivo y absorben los alimentos por medio de enzimas que liberan al ambiente ocasionando procesos como el de la descomposición (Romero, 2003).

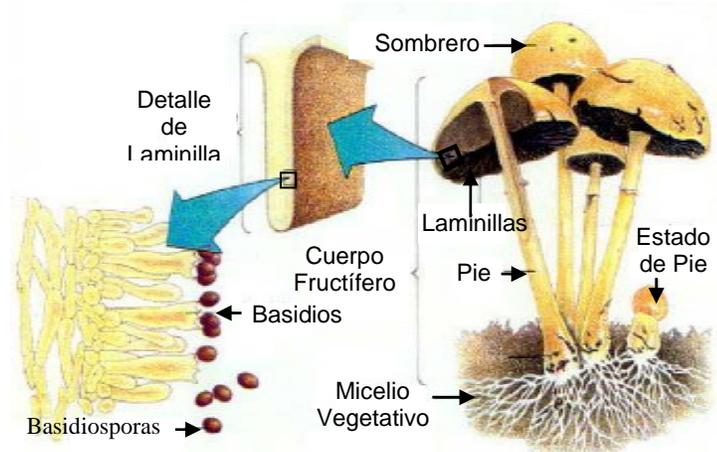
En cuanto a las plantas, los hongos tienen similitudes en la composición de la pared celular, dado que ambos contienen celulosa, pero los hongos no la poseen de forma verdadera, y usualmente tienen quitina que les permite romper estructuras tan duras como la lignina de los árboles, además los hongos no realizan fotosíntesis, que es el principal medio de alimentación de las plantas, estos utilizan la descomposición, el parasitismo y también relaciones simbióticas como las micorrizas (Romero, 2003).

Según Rajarathnam (1991), citado por Rodríguez y Jaramillo (2005), los hongos son potentes agentes biológicos que convierten los residuos orgánicos no comestibles, en alimentos humanos palatables. Dependiendo de su modo de vida, los hongos pueden ser simbióticos, parásitos o saprófitos. Estos últimos son los que viven sobre materia orgánica en descomposición, como es el caso del hongo *Pleurotus sp.* Los hongos superiores son sólo una pequeña parte del reino Fungi, los cuales tienen la capacidad de producir cuerpos fructíferos o también llamados carpóforos o setas que se pueden ver a simple vista y de los cuales son muchos los animales e insectos que obtienen su alimento y cumplen la función de esparcir esporas para la reproducción sexual de las especies, utilizando diversos mecanismos para ello. Además, sus funciones ecosistémicas son bien diversas en el mantenimiento de la dinámica de los bosques y la transformación de la muerte en vida.

En sí, el verdadero cuerpo de los hongos como se observa en la Figura 1, está conformado por filamentos pequeños que se encuentran dentro de los sustratos

de los que se alimentan, a estos filamentos se les denominan hifas, las cuales se entrelazan y crecen conformando el micelio.

Figura 1. Esquema de un hongo superior



Fuente: Betancur, M., 2005

1.2 GÉNERO PLEUROTUS

En la Figura 2, se presentan hongos comestibles del género *Pleurotus sp*, llamados comúnmente orellanas u hongos ostra, que se han convertido, en la actualidad, en los más fáciles de producir y menos costosos, debido a sus características como son la alta adaptabilidad, agresividad y productividad (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

Figura 2. Seta de *Pleurotus sp*.



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

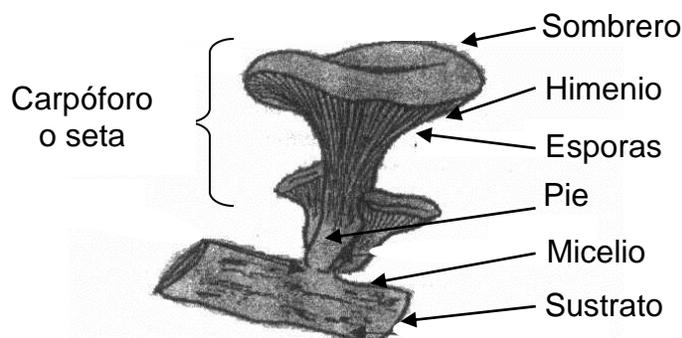
Su producción a nivel mundial se ha incrementado rápidamente en muy poco tiempo, pasando de 169.000 tm producidas en el año de 1986 a cerca de 1.000.000 de tm a finales de los años 90 (Rodríguez y Jaramillo, 2005), y ocupan el tercer puesto en producción de hongos comestibles después del champiñón (*Agaricus bisporus*) y del shiitake (*Lentinula edodes*).

Naturalmente las especies de *Pleurotus sp.*, crecen como parásitas o como saprófitas en trozos de plantas vivas o muertas que generalmente son pobres en nutrientes y vitaminas. En ambos casos el micelio crece y forma los cuerpos fructíferos utilizando los nutrientes a partir de los complejos lignocelulósicos con relaciones de carbono/nitrógeno entre 50 y 500 (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

Además, este hongo presenta una alta eficiencia biológica la cual determina el potencial biológico de los sustratos para la producción de hongos. En términos generales, la eficiencia biológica se define como el peso en gramos de hongos frescos cosechados por cada 100 gramos de sustrato seco (Sánchez *et al.*, 2007).

1.2.1 Descripción. Como se presenta en la Figura 3, los hongos del género *Pleurotus sp.* se reconocen por la forma del sombrero a manera de abanico o de espátula, por su crecimiento en grandes matas sobre madera y por sus laminillas, así como también por la situación del pie, común a casi todas las especies de este género. Se presenta con un sombrero que, en realidad, es muy variable tanto en la forma como en el color. Puede ser marrón, la coloración típica, pero también grisáceo, negruzco, a veces con una tonalidad un poco violeta o azulada. Su figura es conchiforme o de espátula, con los sombreros que, en el sustrato, se pueden sobreponer a manera de repisas (Romero, 2003).

Figura 3. Partes de una seta de *Pleurotus sp*



Fuente: Romero, 2003

Las laminillas son blancuzcas, sutiles y estrechas, decurrentes sobre el pie de manera vistosa. El pie es excéntrico o lateral, corto y robusto, veloso en la parte inferior donde se ensancha y se une a otros para formar ramilletes, y es de color blancuzco (Romero, 2003).

De sus características organolépticas, puede decirse que la carne, blanca, no tiene olores ni sabores de particular interés, que es de muy buena calidad; es recomendable consumir individuos jóvenes porque la carne tiende a ser un poco dura en los ejemplares más desarrollados. Tiene necesidad de un tiempo de cocción más prolongado que el que hace falta en muchas otras especies (Romero, 2003).

1.2.2 Clasificación taxonómica.

Reino: Fungi

División: Eumycetos

Clase: Basidiomicetos

Orden: Agaricales

Familia: Piloporaceae

Género: *Pleurotus ostreatus*

1.2.3 Beneficios del hongo *Pleurotus sp.* Los beneficios que el hongo presenta al medio ambiente y a los consumidores, se mencionan a continuación.

1.2.3.1 Beneficios biológicos del cultivo. Presentan gran habilidad para crecer en sustratos lignocelulóticos pobres en nutrientes donde muestran un rápido crecimiento y colonización del micelio generando una rápida y fácil producción de setas, a bajos costos y alto rendimiento.

1.2.3.2 Beneficios nutritivos. Son considerados de alto valor nutritivo debido a que en los análisis bromatológicos realizados a este hongo (ver Tabla 1), se han determinado altos contenidos de proteína, fibra y minerales, razón por la cual son recomendados para la salud humana.

Tabla 1. Análisis bromatológico *Pleurotus ostreatus*

Hu %	N %	Prot. %	Ceniza %	Fibra %	Grasa %	ELN %	P %	K %	Ca %	Mg %	Fe ppm	Zn ppm
90.25	6.07	29.3	10.97	9.17	2.37	36.11	1.40	4.40	0.04	0.20	340	166

Fuente: Rodríguez y Gómez, 2001

1.2.3.3 Beneficios a la salud. Entre los estudios realizados por el Centro Nacional de Investigación del Café (CENICAFÉ) se han relacionado sustancias

que componen el hongo con beneficios hacia la salud; una de ellas es el pleurotin que es un compuesto policíclico al que se le atribuyen propiedades antibióticas, otros son los polisacáridos solubles aislados de los carpóforos o setas los cuales poseen actividad antitumoral. Su alto contenido de fibra y nutrientes hacen del hongo *Pleurotus sp.* un alimento óptimo para dietas de personas afectadas con hiperlipemia y diabetes (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.2.3.4 Otros beneficios. Otro beneficio que podemos destacar del hongo *Pleurotus sp.* es que según estudios realizados por Barrón y Thorn, estos pueden atacar nemátodos por un proceso que ocurre cuando las toxinas secretadas por el hongo entran en contacto con el nemátodo inmovilizándolo y permitiendo que sus hifas penetren el organismo y lo digieran. Otros organismos que este hongo ataca son bacterias de los géneros *Agrobacterium* y *Pseudomonas*. (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.2.4 Ciclo de cultivo. Para llevar a cabo la producción de estos hongos se han establecido parámetros o protocolos con el propósito de facilitar el proceso productivo y garantizar la calidad del producto final.

1.2.4.1 Producción de semilla. La producción de las semillas se hace en laboratorios especializados. Para este proceso se requiere personal capacitado que, a partir de cultivos puros crío conservados, los transfieren a tubos de ensayo con agares nutritivos, que luego pasan a cajas de Petri o botellas planas con agar como sustrato, después que el micelio se ha incrementado se prepara la semilla usando granos de cereales como arroz, trigo, cebada, sorgo, etc. (Sánchez y Royse, 2001).

1.2.4.2 Adecuación del sustrato. El material utilizado como sustrato debe tener un tratamiento previo que garantice unas adecuadas condiciones fisicoquímicas para su cultivo. Entre los requerimientos más importantes se consideran: tamaño de la partícula (2 a 5 cm), humedad aproximada del 70%, nitrógeno entre 0.5 – 1.5%, pH ligeramente ácido. Además, el sustrato debe estar totalmente limpio y libre de cualquier otro microorganismo que pueda ser competencia del hongo (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.2.4.3 Inoculación. En este proceso se adiciona la semilla del hongo *Pleurotus* al sustrato que previamente debe estar acondicionado; el proceso completo consta de los siguientes pasos:

- Adecuar el lugar donde se realiza la inoculación, se debe aislar de corrientes de aire, limpiar y desinfectar.
- Preparar materiales necesarios como: sustrato, bolsas, semilla, guantes, gorro, etc.
- Pesarse el sustrato para adicionar la cantidad de semilla requerida a razón de 3% (30 g de semilla por 1000 g de sustrato).
- Empacar el sustrato en bolsa de polietileno negro de 25 x 50 cm y empacar de dos a tres kg de sustrato y hacer 40 hoyos alrededor de la bolsa (Rodríguez y Jaramillo, 2005). Los mejores resultados de producción de setas se han obtenido al empacar tres kg de sustrato por bolsa (Urbano *et al.*, 2002).

1.2.4.4 Incubación. En esta etapa se busca que el micelio del hongo invada el sustrato para que se pueda desencadenar el proceso de fructificación. Para la incubación se tienen las siguientes recomendaciones: tener el cuarto limpio y desinfectado, contar con buena aireación a razón de 100 m³ de aire fresco/hora/tonelada de sustrato. Voltear de arriba abajo las bolsas cada ocho días favoreciendo la distribución de la humedad en la bolsa, regular la temperatura en el sitio manteniéndola aproximadamente en 25 °C. Este proceso dura alrededor de cuatro semanas y termina cuando se presenta una masa blanca homogénea y algodonosa que es el micelio del hongo que ha colonizado todo el sustrato (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.2.4.5 Fructificación. Esta etapa comprende la formación de los cuerpos reproductores o fructíferos. Las condiciones requeridas en cuanto al lugar donde se llevará a cabo la fructificación son las siguientes: buena ventilación, la temperatura entre los 12 y 18 °C, humedad relativa entre 90 – 95% manteniendo riego frecuente en piso y paredes, y permitir el paso de la luz diaria. Esta etapa dura de siete a diez días (Rodríguez y Gómez, 2001).

1.2.4.6 Cosecha. Es el proceso de recolección de las setas. La primera cosecha se hace al mes de haber sembrado la semilla del hongo en el sustrato, esta cosecha se realiza manualmente, en un ciclo productivo que dura aproximadamente 75 días se alcanzan a hacer cuatro cosechas (Rodríguez y Gómez, 2001).

1.2.4.7 Post cosecha. El hongo se puede consumir en fresco o en conservas, en fresco el hongo dura aproximadamente diez días y en conservas dura más tiempo, pero requiere un mayor costo de inversión (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.3 MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN DE SUSTRATOS

Para lograr que las materias primas utilizadas como sustrato para el cultivo de hongos presenten las características óptimas, se requiere la aplicación de un proceso de desinfección que tiene por función disminuir la cantidad de organismos, sobre todo nocivos, que pueden competir con el hongo en la utilización del espacio y de los nutrientes (Sánchez y Royse, 2001).

Esta es una actividad que prepara al sustrato para una eficaz colonización por el hongo. La esterilización puede darse por medio de un proceso de composteo durante la preparación del sustrato de fermentación, o mediante un tratamiento químico o térmico, después de haber mezclado y homogenizado los ingredientes (Sánchez y Royse, 2001). La esterilización tiene como finalidad destruir insectos y microorganismos competidores de *Pleurotus sp.*, pero al realizar esto, también provoca cambios bioquímicos en el sustrato que pueden afectar positiva o negativamente su calidad. Los diferentes métodos de esterilización de sustratos se mencionan a continuación.

1.3.1 Esterilización con agua en ebullición: El método de esterilización con agua en ebullición consiste en sumergir el sustrato en agua a 95 °C durante un mínimo de 40 minutos. Al esterilizar por inmersión en agua se debe sumergir el sustrato únicamente cuando el agua haya alcanzado la temperatura de pasteurización para provocar un choque térmico que difícilmente soportarán los organismos que se encuentren en el sustrato. Si el sustrato es sumergido antes de que el agua alcance dicha temperatura, muchos organismos termo resistentes tendrán la posibilidad de adaptarse al incremento paulatino de la temperatura y en ese caso el tratamiento térmico no será eficaz (Sánchez y Royse, 2001).

La inmersión en agua en ebullición ha sido ampliamente recomendada y puede considerarse como la forma más sencilla de esterilización, por los bajos costos de instalación y lo rudimentario que puede ser el acondicionamiento del método; sin embargo, tiene sus limitaciones porque es ineficiente desde el punto de vista energético lo que la hace operable sólo cuando se trabaja a muy pequeña escala, y además, produce aguas residuales altamente contaminantes. Por otra parte, puede funcionar bien en lugares donde la humedad ambiental es baja y permite el

escurrido rápido del agua excedente. Si la humedad relativa del lugar es alta, el control del contenido de agua en el sustrato después de la esterilización puede requerir mayor manipulación del sustrato, lo que incrementa los riesgos de contaminación (Sánchez, J. y Royse, D. 2001).

1.3.2 Esterilización por vapor. Es un método que requiere más inversión que la inmersión en agua en ebullición, porque necesita al menos de un generador de vapor. Este método, ha ido ganando adeptos poco a poco porque se puede desarrollar también de manera relativamente rústica y es más rentable a mayor escala que la esterilización en agua en ebullición. El método consiste en colocar el sustrato, en un espesor de hasta 60 cm, dentro de una caja o recipiente cerrado que tiene el fondo perforado. Después se introduce en la parte alta de la caja una mezcla de vapor y aire a presión hasta que el sustrato alcanza una temperatura de 65 °C, los cuales se mantienen durante una hora. Al cabo de este tiempo se suprime el vapor y se deja la ventilación para que el sustrato se enfríe (Sánchez y Royse, 2001).

1.3.3 Método A. G. de Gerber. El sustrato se remoja continuamente con agua a 95 °C durante media hora con el fin de ablandar el material y obtener una humedad media del 75%. Cuando el sustrato se enfría y alcanza una temperatura de 30 °C se inocula con la semilla de siembra, es decir, con el micelio del hongo (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.3.4 Fermentación aerobia. Es un procedimiento de preparación de sustrato que trata de reforzar la escasa protección que posee frente a las contaminaciones sin necesidad de recurrir al uso de fungicidas. Este procedimiento supone la realización de dos etapas consecutivas: la pasteurización convencional y una fermentación termófila de acondicionamiento. La base de la protección biológica del sustrato está en la conducción adecuada de una fermentación bacteriana.

La acción preservadora contra los mohos se desarrolla en el sustrato como consecuencia de la actividad de las bacterias termófilas, las cuales consumen carbohidratos fácilmente disponibles y producen, además, antibióticos contra tales mohos. La multiplicación de bacterias termófilas, y su efecto protector, depende en gran manera del grado de aireación del sustrato, el mecanismo de la selectividad lo protagonizan bacterias del género *Bacillus* (*B. macerans*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. polymyxa*, etc.), particularmente activas y eficaces (Flick, 1982, citado por Sánchez y Royse, 2001). El principio del tratamiento del sustrato consiste en un control sofisticado de la sucesión microbiológica, de tal manera que la preparación del sustrato debe ser interrumpida, para proceder a sembrarlo, en

el momento exacto en que se da una composición óptima de nutrientes para *Pleurotus sp.*

1.3.5 Esterilización química. Es un procedimiento de protección del sustrato para *Pleurotus sp.*, basado en la aplicación de algunos productos químicos de poder fungicida durante su preparación. Su objetivo final es obtener un procedimiento que pueda sustituir adecuadamente al costoso y poco eficiente sistema de tratamiento de pasteurización con vapor (Sánchez y Royse, 2001).

1.3.6 Fermentación en el medio natural. Es un procedimiento de preparación de sustratos específicamente desarrollado en algunos países del continente americano (como México, Cuba, Colombia), con el fin de aprovechar algunos subproductos agroindustriales de gran disponibilidad y que no se procesan con facilidad con otras técnicas conocidas. Los materiales pasan por un proceso previo de fermentación natural. Durante la fermentación, el pH evoluciona desde un valor inicial de 6.0 hacia unas cifras finales ligeramente alcalinas (7.5). Este proceso de fermentación reduce sensiblemente el volumen de estos materiales y los transforma en un material física y químicamente homogéneo, con muy buena estructura y consistencia. A través de la actividad microbiana, además, la relación carbono/nitrógeno se convierte en adecuada para el desarrollo de *Pleurotus sp.* y la probabilidad de contaminaciones queda reducida. Tras esta operación, el material está apto para el tratamiento de pasteurización ya que no precisa una fermentación (Sánchez y Royse, 2001).

1.3.7 Método de Zadrazil y Schneidereit. El sustrato se somete a una esterilización con inyección de vapor durante cuatro horas, para mantener la temperatura entre 70 y 80 °C, y eliminar la fauna y la flora parásita o competidora. Posteriormente, el material se enfría hasta que llegue a una temperatura entre los 25 y los 30 °C, para ser inoculado con la semilla de siembra (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

1.3.8 Desinfección con cal agrícola. Consiste en dejar en remojo el sustrato en una caneca con una solución de agua con cal agrícola en una proporción de 100:1 durante seis días en sacos de polipropileno (Bonilla y Paz, 2005).

1.3.9 Método de Lelley (fermentación anaerobia). Todos los materiales para la preparación del sustrato son sumergidos en agua durante una semana, donde sufren una fermentación anaerobia por acción de las bacterias lácticas, principalmente cocos, presentes en forma natural. La fermentación comienza cuando las bacterias eliminan los azúcares, impidiendo que posteriormente tenga

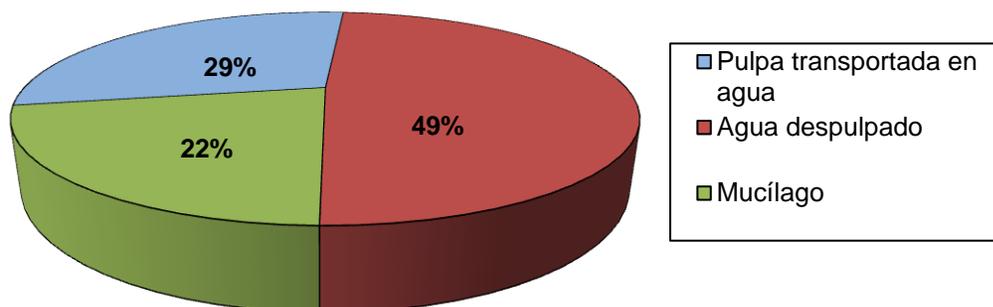
lugar el desarrollo de hongos competidores como *Trichoderma sp.* y *Penicillium sp.*, lo cual facilita la acción de las enzimas de los hongos comestibles (celulasas, polifenoloxidasas y otras más). Posteriormente, el sustrato es asperjado homogéneamente con una solución de vanodine al 0.5%, fungicida, bactericida y viricida comercial recomendado por CENICAFE (Rodríguez y Jaramillo, 2005), y se lleva al cuarto de siembra.

1.4 MATERIAS PRIMAS

Durante el desarrollo de las actividades agropecuarias de producción y transformación más comunes en el municipio de Piendamó, se generan grandes cantidades de residuos, que por lo general se consideran de muy baja importancia económica, como la pulpa de café, el bagazo de caña y residuos de pasto de corte (King Grass), pero que pueden ser utilizados como sustratos en la producción de hongos comestibles, logrando ingresos adicionales contribuyendo al mejoramiento de las condiciones económicas de la zona.

1.4.1 Pulpa de café. Según Zuluaga y Zambrano (1993), en el proceso del beneficio del café se obtienen subproductos como: pulpa de café, agua del despulpado y mucílago en los porcentajes que muestra la Gráfica 1.

Gráfica 1. Distribución en peso de los subproductos en el beneficio del café

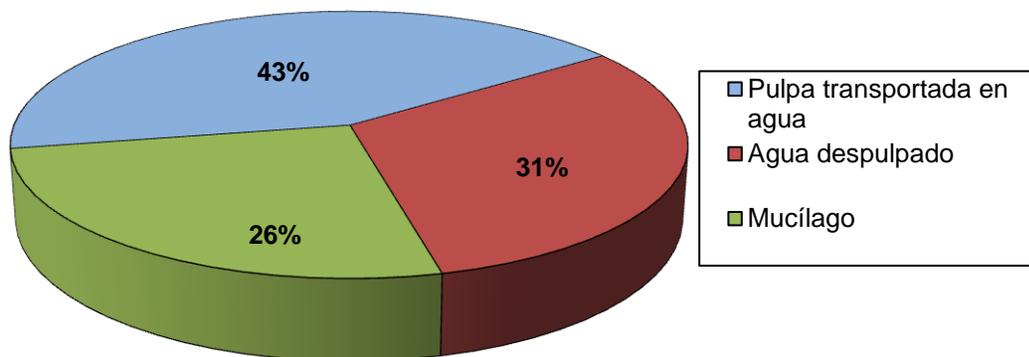


Fuente: Zuluaga y Zambrano, 1993.

El principal subproducto es la pulpa, que representa el 40% del peso del fruto fresco. La producción anual de pulpa por hectárea al año en Colombia es de aproximadamente dos toneladas (Rodríguez y Gómez, 2001), cuyo destino en las explotaciones tecnificadas es la elaboración de abonos orgánicos y producción de lombricompost, producción de humus y biogás, caso contrario ocurre en las explotaciones no tecnificadas donde este producto se convierte en material de

desecho. La pulpa de café, debido a su composición fisicoquímica (alto contenido de fibra y de azúcares), al tiempo que demora en descomponerse y al uso que se le da; hace que sea un material de fácil contaminación por diferentes microorganismos como levaduras y bacterias, que según Zuluaga y Zambrano (1993), pueden ocasionar problemas al medio ambiente y a la salud pública, alcanzando un 43% del total de la contaminación producida durante el proceso de beneficio del café como lo muestra la Gráfica 2.

Gráfica 2. Capacidad contaminante de los subproductos del beneficio del café



Fuente: Zuluaga y Zambrano, 1993.

La pulpa de café por su contenido de fibra podría ser utilizada en la alimentación animal, pero por su alto contenido de lignina, que está ligada a la celulosa, (ver Tabla 2), forma complejos lignocelulósicos que impiden que los rumiantes puedan utilizar la celulosa como fuente de energía.

Tabla 2. Análisis bromatológico pulpa de café (análisis en peso seco)

Hu	N	Prot.	Ceniza	Fibra	Grasa	ELN	Celulosa	Hemicel	Lignina
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
78.56	1.85	11.58	6.68	15.26	5.02	61.46	19.5	2.5	24.9

Fuente: Ferrer *et al.*, 1995.

1.4.2 Bagazo de caña. El bagazo es la fibra resultante de la extracción del jugo de la caña prensada, se cataloga como un residuo vegetal. El bagazo que sale de los molinos tiene aproximadamente 50% de humedad, 2 - 3% de sacarosa y 47% de fibra (Chen, 2000), cuya proporción depende de las condiciones de cultivo de la caña, y de la variedad de la misma. Tradicionalmente el bagazo se ha utilizado en

los ingenios cañeros para la generación de energía térmica, o sea vapor y calor mediante la combustión de este material.

Según Chen (2000), se obtienen del bagazo algunos subproductos como pulpa, papel, tablas de prespam y productos químicos, además de partículas que componen los alimentos para bovinos, esto dependiendo de su composición (ver Tablas 3 y 4).

Tabla 3. Análisis bromatológico del bagazo de caña (% en base seca)

Hu	N	Prot.	Ceniza	Fibra	Grasa	ELN	P	K	Ca	Mg	pH
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	
8.85	0.29	1.81	12.65	47.0	0.64	81.16	0.04	0.08	0.10	0.09	4.95

Fuente: Rodríguez y Gómez, 2001.

Tabla 4. Composición del bagazo (% en base seca)

Porción	Celulosa	Hemicelulosa			
		Alfa-celulosa	(Pentosas, arabano, galactano, xilano, etc.)	Lignina	Ceniza
Entera	58.4	36.8	29.4	21.3	2.9
Fibra	61.4	38.7	30.0	20.7	2.0
Medula	54.6	32.2	29.9	21.3	4.6

Fuente: Chen, 2000.

1.4.3 Pasto King Grass. El pasto King Grass (*Pennisetum hybridum*) ha demostrado gran adaptabilidad al medio colombiano, el cual posee diversos pisos térmicos que fluctúan desde la nivel del mar hasta los 2.000 msnm. Esta gramínea crece bien bajo temperaturas de 18 a 30 °C, pero su óptimo desarrollo lo obtiene alrededor de los 24 °C. Resiste condiciones de sequía y humedad, comportándose bien en suelos ácidos y de baja fertilidad, lógicamente sus mayores rendimientos se obtienen si las condiciones del suelo son apropiadas.

Cuando el pasto King Grass posee las condiciones óptimas de cultivo se puede obtener una producción de 50 a 60 ton/ha y por corte equivalente en M.S.² de 10 a 14 ton/ha, mediante cortes cada 45 a 60 días (Bernal, 1994). Éste pasto posee un

² M.S.: materia seca

79.6% de humedad, y un 20.4% de materia seca. En cuanto a su valor nutritivo se hallaron valores en base seca que oscilan alrededor de los promedios que se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición del pasto King Grass (% en base seca)

Componente	Contenido (%)	Componente	Contenido (%)
Proteína	9.9	ELN	44.9
Fibra cruda	32.0	Cenizas	10.3
Extracto etéreo	2.9	Digestibilidad MS	48.0

Fuente: Trigos y Gómez, 2002.

1.5 MICROORGANISMOS PRESENTES EN LOS SUSTRATOS

Como los sustratos se encuentran expuestos al medio ambiente, cuentan con una carga alta de diferentes microorganismos que en determinado momento si no se realiza una adecuada desinfección del sustrato, pueden ser nocivos para el desarrollo del hongo en su cultivo, al competir por espacio y nutrientes (Wha, 2005). La clase de microorganismos presentes en los materiales de sustrato depende principalmente del lugar de origen de estas materias primas y del proceso de manipulación. Según Sánchez y Royse (2001), entre los microorganismos que comúnmente se encuentran en los sustratos están: nemátodos, hongos como *Botryotrichum piluliferum*, *Sporotrichum sp*, *Verticillium fungicola*, *Chaetomium olivaceum*, *Gliocladium sp*, *Doratomyces sp*, *Mucor sp*, *Coprinus sp*, *Sclerotium sp*, *Badhamia sp*, *Ceratiomyxa sp*, *Chaetomium sp*, *Lilliputia sp*, *Orbicula sp*, *Fimetariella sp*, *Iodophanus sp*, entre otros, y bacterias como *Pseudomonas sp*.

1.5.1 Producción de metabolitos secundarios a partir de fermentación aerobia. En el proceso de fermentación ocurren cambios químicos producidos por la acción de las enzimas en las sustancias orgánicas. Esta definición general incluye prácticamente todas las reacciones químicas de importancia fisiológica, producidas por organismos como mohos, bacterias y levaduras.

Según Axelsson (1998), citado por Zamora (2003), las bacterias ácido lácticas pertenecen al grupo de gram-positivas no esporuladas, como cocos y bacilos, unidas por características morfológicas, metabólicas y fisiológicas comunes.

Los productos resultantes de la fermentación pueden alterarse significativamente dependiendo de las condiciones de crecimiento. Estos cambios pueden atribuirse a alguna alteración del metabolismo del piruvato y/o el uso de un aceptor de electrones externo como el oxígeno o componentes orgánicos.

1.5.2 Compuestos antimicrobianos producidos por las bacterias lácticas.

Las bacterias ácido lácticas son importantes en la industria por conceder características organolépticas y estructurales a los alimentos, además, de inhibir el crecimiento de microorganismos no deseables, alterantes o patógenos. La reducción del pH y la utilización de los carbohidratos disponibles parece ser el mecanismo de acción de antagonismo microbiano.

Según Ouwehand (1998), citado por Zamora (2003), la fermentación reduce la cantidad de carbohidratos disponibles y produce una cadena de moléculas orgánicas de bajo peso molecular que presentan actividad antimicrobiana, siendo las más comunes: ácido láctico, acético y propiónico. No obstante, se conoce que las bacterias lácticas producen además de estos ácidos, otras sustancias antagonistas, como son el peróxido de hidrógeno, aniones superóxido, radicales libres, diacetilo, acetaldehído, isómeros D de los aminoácidos y otros metabolitos, que poseen un efecto bacteriostático y bactericida, frente a la microflora láctica y no láctica.

La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos y del pH es complementaria, mientras que la fracción no disociada de los ácidos orgánicos posee la mayor actividad inhibidora.

2. ANTECEDENTES

Hurtado y Paz, 1995, evaluaron la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* a partir de esquilmos y desechos agrícolas industriales (aserrín, pulpa de café, hoja de caña y pasto King Grass). Concluyeron, que el hongo se puede producir a gran escala sobre pasto King Grass y hoja de caña por sus bajos costos. Respecto a la producción sobre pulpa de café se presentaron inconvenientes por contaminación de otros microorganismos, generando la necesidad de mejorar los métodos de esterilización del sustrato en futuros trabajos.

Rodríguez y Gómez, 2001, establecieron un protocolo sencillo para el cultivo del hongo *Pleurotus sp.* sobre pulpa de café, con el fin de ser aplicado por los pequeños caficultores.

Urbano, Ortiz, Astaiza, Paz, 2002, evaluaron el desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* bajo sustratos como: cascarilla de café, pasto de corte, vainas de arveja, vaina de frijol y espárragos, con el fin de establecer el mejor sustrato y mejor tratamiento de desinfección para la producción de estos hongos. Los resultados mostraron que el agua hirviendo es el método más efectivo para la desinfección de sustratos, además que el mejor sustrato para su producción fue la vaina de frijol, en contraste con la cascarilla de café que presentó los más bajos rendimientos por su menor porcentaje de proteína.

Bonilla y Paz, 2005, realizaron dos experimentos; en el primero evaluaron la producción del hongo *Pleurotus sajor caju* en cascarilla de café y vainas de frijol, y en el segundo evaluaron el efecto del sustrato agotado como enmienda al suelo en el cultivo de maíz y frijol. Se empleó un diseño completamente al azar 3 X 12, donde los tratamientos fueron: T1 (sustrato 100% cascarilla de café), T2 (50% cascarilla: 50% vainas de frijol), y T3 (75% de cascarilla: 25% vainas de frijol). El primer experimento evaluó la producción de hongos en dos cosechas, en la primera, T2 permitió aumentar la producción en un 11% sobre T1; aunque el análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre estos tratamientos. En el segundo experimento sólo se evaluó el sustrato que contenía el 100% de cascarilla como enmienda del suelo, y se determinó que el sustrato al ser aplicado rebajaba las concentraciones de materia orgánica, aumentaba el pH e incrementaba la concentración de otros elementos como Ca, Mg, K, P, entre otros.

Rodríguez y Jaramillo, 2005, evaluaron la producción de hongos del género *Pleurotus sp.* sobre residuos agrícolas en la zona cafetera tales como pulpa de café, aserrín de tallo de café, borra de café, granos deteriorados de café, cisco de café, bagazo de caña, película plateada de café, cascarilla de arroz y hoja de plátano; obteniendo que el sustrato de mayor rendimiento fue la mezcla de pulpa de café con bagazo de caña, seguido por la mezcla de borra de café con tamo de arroz y cascarilla de arroz, pero la formulación más recomendada para la zona fue la mezcla de aserrín de tallo y pulpa de café, por la alta disponibilidad, obteniendo resultados medios de eficiencia biológica del 88.9%.

3. METODOLOGÍA

3.1 LOCALIZACIÓN

La fase experimental de la producción de las setas se desarrolló en la finca Los Andes del señor Walter Aníbal Muelas, ubicada en la vereda 11 de Noviembre del municipio de Piendamó, Cauca. Se encuentra a una altura de 1.780 msnm, con una precipitación promedio de 2.026 mm al año, una temperatura promedio de 19 °C, un brillo solar de 1.480 horas al año y una humedad relativa del 81%³.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para llevar a cabo la evaluación de la producción de las setas, la investigación se realizó en dos etapas, donde la primera etapa consistió en evaluar el mejor tratamiento de esterilización de sustratos, y con base en los resultados, la segunda etapa donde se evaluó la producción de los setas de las orellanas en los diferentes sustratos a base de pulpa de café.

3.2.1 Primera etapa. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglos factoriales 4 x 4 x 3 para el proceso de esterilización, donde 16 fueron los tratamientos (método de esterilización - sustrato) y 3 las repeticiones, para un total de 48 unidades experimentales.

Los 16 tratamientos en los que se evaluó el efecto de la esterilización en diferentes sustratos fueron:

NS1: No esterilización en pulpa de café

NS2: No esterilización en pulpa de café + bagazo de caña

NS3: No esterilización en pulpa de café + pasto King Grass

NS4: No esterilización en pulpa de café + bagazo + pasto

QS1: Esterilización química en pulpa de café

QS2: Esterilización química en pulpa de café + bagazo de caña

QS3: Esterilización química en pulpa de café + pasto King Grass

³ Plan de ordenamiento territorial. Piendamó, Cauca 2005. Condiciones climáticas tomadas de la subestación experimental de Piendamó.

- QS4:** Esterilización química en pulpa de café + bagazo + pasto
- VS1:** Esterilización con vapor de agua en pulpa de café
- VS2:** Esterilización con vapor de agua en pulpa de café + bagazo de caña
- VS3:** Esterilización con vapor de agua en pulpa de café + pasto King Grass
- VS4:** Esterilización con vapor de agua en pulpa de café + bagazo + pasto
- ES1:** Esterilización con agua en ebullición en pulpa de café
- ES2:** Esterilización con agua en ebullición en pulpa de café + bagazo de caña
- ES3:** Esterilización con agua en ebullición en pulpa de café + pasto King Grass
- ES4:** Esterilización con agua en ebullición en pulpa de café + bagazo + pasto.

La distribución de los tratamientos y las repeticiones en el lugar del ensayo se pueden observar en la Figura 4.

Figura 4. Diseño completamente al azar con arreglos factoriales 4 x 4 x 3

	NS1	NS2	NS3	NS4	QS1	QS2	QS3	QS4	VS1	VS2	VS3	VS4	ES1	ES2	ES3	ES4
R1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
R2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
R3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

Las unidades experimentales fueron bolsas plásticas de tres kg de sustrato con los respectivos tratamientos, inoculadas con *Pleurotus ostreatus*; se ubicaron al azar en el cuarto de producción como se observa en la Figura 5.

Figura 5. Ubicación de unidades experimentales en el cuarto de incubación



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Se utilizó doble bolsa por unidad experimental, la primera transparente para poder medir el porcentaje de colonización y la segunda de color negro para darle condiciones de oscuridad al hongo (ver Figura 6).

Figura 6. Empaque en doble bolsa por unidad experimental



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

La proporción de las materias primas para cada etapa y sustrato, se expresó en términos de contenido de materia seca de la siguiente forma:

- S1:** Pulpa de café 100%
- S2:** Pulpa de café 50%. Bagazo de caña 50%
- S3:** Pulpa de café 50%. Pasto King Grass 50%
- S4:** Pulpa de café 33%. Bagazo de caña 33%. Pasto King Grass 33%.

Antes de llevar a cabo el proceso de esterilización, la pulpa, con un tiempo máximo de dos días después del proceso de despulpado del café, se fermentó en agua durante una semana como se muestra en la Figura 7.

Esta práctica se realizó para eliminar gran cantidad de azúcares solubles que tiene este sustrato y así minimizar el riesgo de una competencia entre microorganismos.

Figura 7. Fermentación anaerobia de la pulpa de café



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Durante 15 días, luego de la fermentación se evaluaron los tres métodos de esterilización y un tratamiento testigo para determinar el mejor efecto.

3.2.1.1 Tratamiento sin esterilización (N). Se adecuaron los sustratos y se empacaron en la bolsa plástica sin recibir un método de esterilización, para ser utilizado como tratamiento testigo.

3.2.1.2 Esterilización química (Q). Consistió en asperjar con una bomba de espalda un producto químico llamado vanodine (recomendado por CENICAFÉ), a una concentración del 0.5% (5 mL de producto en 995 mL de agua), como se puede observar en la Figura 8, y luego se empacó en las bolsas plásticas.

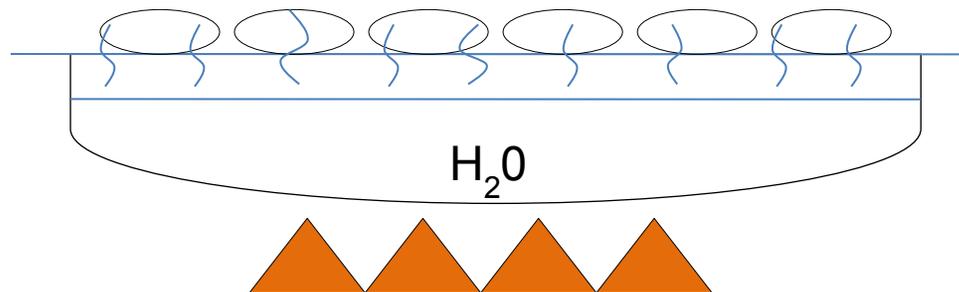
Figura 8. Aspersión del sustrato con vanodine



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

3.2.1.3 Esterilización con vapor de agua (V). Se realizó colocando el sustrato en empaques de polipropileno con agujeros de 1 cm de diámetro, que posteriormente se sometieron a vapor a una temperatura de 95 °C durante dos horas, en una parrilla sobre el recipiente que estaba generando el vapor. Estos empaques no tenían una cobertura superior que permitiera la concentración del vapor, por este motivo fue necesario realizar un volteo del los empaque para lograr una esterilización más homogénea.

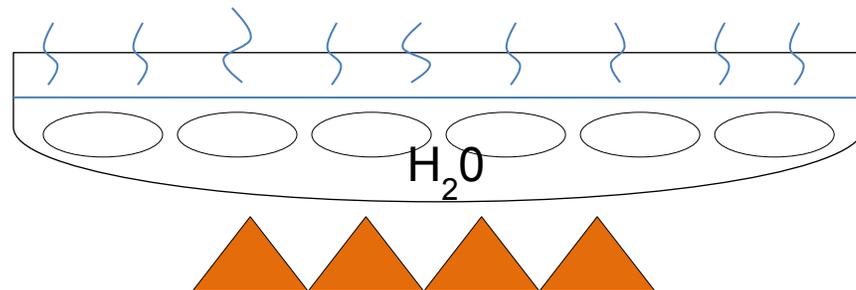
Figura 9. Tratamiento de esterilización con vapor de agua



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

3.2.1.4 Esterilización con agua en ebullición (E). Se colocó el sustrato en empaques de polipropileno, se sumergieron en agua en ebullición a una temperatura de 95 °C, y se dejaron durante una hora.

Figura 10. Tratamiento de esterilización con agua en ebullición



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Terminada la esterilización de los sustratos, estos se inocularon con la semilla del hongo dentro de la misma bolsa a razón del 3% del peso del sustrato (90 g de semilla/bolsa).

Para el desarrollo de esta primera etapa se tuvo en cuenta:

- Variables de respuesta:

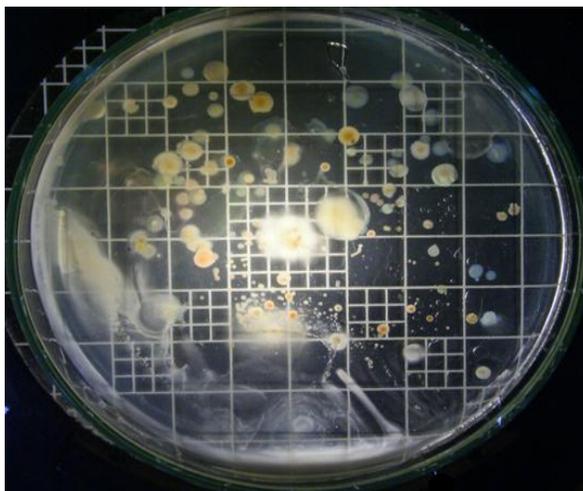
- ✓ Grado de colonización y contaminación: se tomó un patrón de medida (cuadrícula de 10 x 10 cm) que permite medir el área colonizada y contaminada en la superficie de la bolsa (Urbano *et al.*, 2002), y además, se tomaron muestras del sustrato inoculado, para realizar cultivos microbiológicos (véanse Figura 11 y Figura 12), para poder determinar la población potencial de microorganismos que estaban compitiendo por el sustrato.

Figura 11. Muestra de sustrato para el cultivo microbiológico



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Figura 12. Cultivo microbiológico, número de colonias



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Para determinar el número de unidades formadoras de colonia por miligramo de sustrato (UFC/mg), se realizaron cultivos microbiológicos preliminares a 24 °C de incubación, donde se buscó determinar la dilución regresiva óptima de la muestra, para hacer un conteo representativo que se encuentra entre 5 y 300 colonias por caja de Petri, encontrando que la mejor dilución fue 10^{-5} , y mediante una fórmula de regresión poblacional se encontró el número de UFC/mg de sustrato.

$$\frac{\text{UFC} \times \# \text{ Diluciones} \times \text{Dosis dilución} \times 0.1}{\text{Peso muestra g} / (20 \text{ mL} + \text{Peso muestra g})} \times \frac{1\text{g}}{1000\text{mg}}$$

- ✓ Tiempo de evaluación: se tomaron las muestras para el cultivo microbiológico y se evaluó el área de contaminación de las unidades experimentales a los 0, 5, 9, 12 y 15 días de aplicación del tratamiento.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza, en función de escoger el mejor resultado de esterilización para cada tratamiento. En caso que dos métodos de esterilización de sustratos presentaran el mismo resultado, se procedería a escoger el método más fácil de realizar para los agricultores.

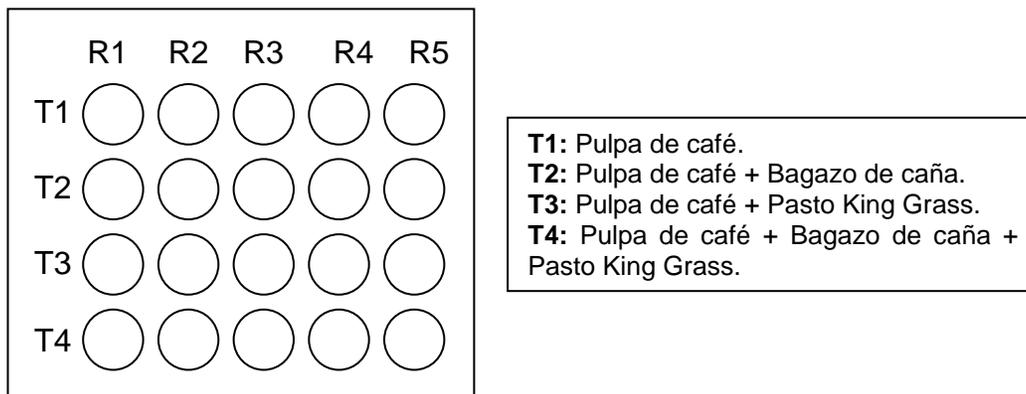
3.2.2 Segunda etapa. Una vez identificado cuál fue el mejor método de esterilización de los sustratos, éste fue utilizado en esta etapa.

3.2.2.1 Identificación del mejor sustrato. Cada sustrato esterilizado se inoculó con la semilla del hongo *Pleurotus ostreatus* a razón del 3% del peso del sustrato, y se realizó un seguimiento al desarrollo de la seta hasta la etapa de fructificación que duró aproximadamente 45 días.

Para el desarrollo de esta etapa se tuvo en cuenta:

- Tipo de diseño: completamente al azar (4 x 5) donde cuatro fueron los tratamientos y cinco las repeticiones (véase Figura 13).
- Unidad experimental: bolsas con tres kg de sustrato inoculadas con el hongo *Pleurotus ostreatus*.

Figura 13. Diseño completamente al azar 4 x 5



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

- Número de unidades experimentales: cinco por cada tratamiento para un total de 20.

Las bolsas plásticas con los diferentes tratamientos se ubicaron al azar en el cuarto de producción, como se puede observar en la Figura 14.

Figura 14. Ubicación de las unidades experimentales de la segunda etapa en el cuarto de incubación



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

- **Tratamientos:**

- T1:** Pulpa de café
- T2:** Pulpa de café + Bagazo de caña
- T3:** Pulpa de café + Pasto King Grass
- T4:** Pulpa de café + Bagazo de caña + Pasto King Grass.

Cuando las unidades experimentales fueron colonizadas por el micelio del hongo *Pleurotus ostreatus*, se trasladaron a un cuarto el cual esta completamente equipada para poder brindar todas las condiciones medioambientales que se requieren en la etapa de fructificación.

- **Variables de respuesta:**

- ✓ **Colonización:** porcentaje de colonización, se tomó un patrón de medida (cuadrícula 10 x 10 cm) para medir el área colonizada en la superficie de la bolsa.
- ✓ **Producción:** se evaluó la producción de setas en cada sustrato tomando el peso de las setas obtenido en cada bolsa.

- ✓ Eficiencia biológica del peso de las setas producidas en cada sustrato.
- ✓ Tiempo de evaluación: se evaluaron las unidades experimentales durante 45 días (duración del periodo de crecimiento y producción de las setas).

3.3 MATERIALES

En el trabajo de investigación se utilizó la pulpa de café (ver Figura 15), como materia prima base para la preparación de sustratos para el cultivo de las orellanas. Esta pulpa se recolectó directamente en la finca Los Andes, con un tiempo máximo de dos días después del proceso de despulpado del café, así como también el bagazo de caña y el pasto King Grass (ver Figura 15).

Figura 15. Materiales empleados en la investigación



a: Pulpa de café

b: Pasto de corte King Grass

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

c: Bagazo de caña

d: Semilla de *Pleurotus ostreatus*

Estos materiales fueron seleccionados analizando sus características morfológicas deseables y el estado fitosanitario del cultivo de donde provienen.

La semilla de siembra de *Pleurotus ostreatus* se compró en el laboratorio de PROSETALES en Chinchiná Caldas (ver Figura 15).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presenta la interpretación y discusión de los resultados obtenidos durante las dos etapas de la investigación.

4.1 PRIMERA ETAPA

En los tratamientos de esterilización química, agua en ebullición y vapor de agua, se evaluaron las siguientes variables

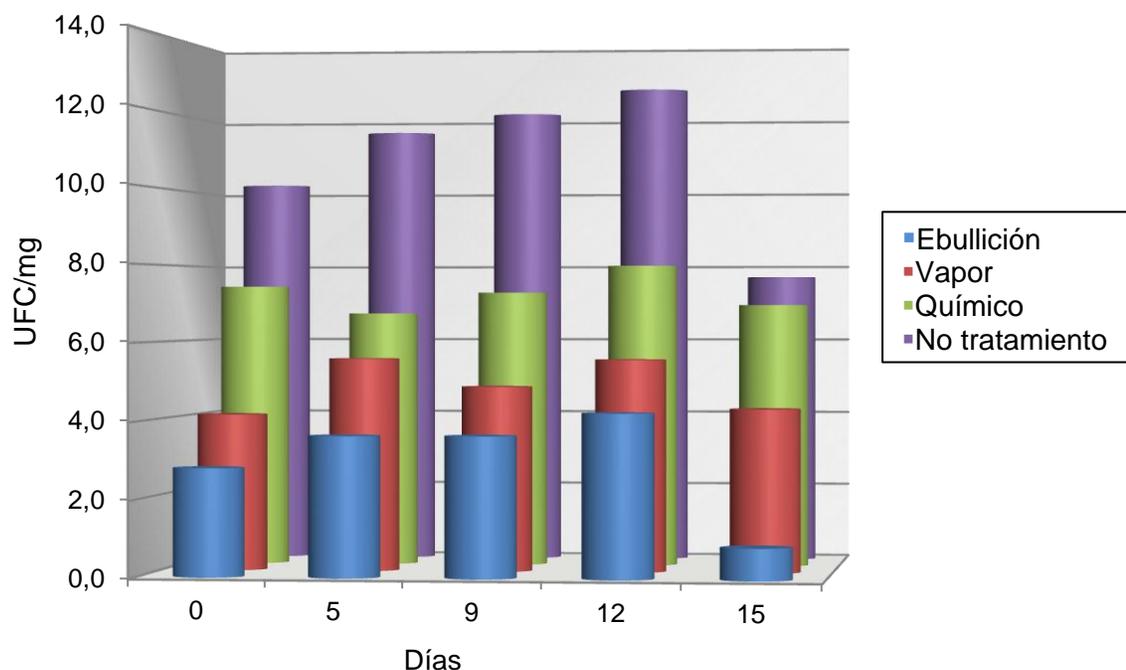
- Número de unidades formadoras de colonia por miligramo de sustrato (UFC/mg) después de la esterilización.
- Porcentaje de colonización del hongo en los diferentes sustratos.
- Porcentaje de contaminación por otros hongos.

4.1.1 Unidades formadoras de colonia UFC por miligramo de sustrato (UFC/mg). En la Gráfica 3, se pueden observar las poblaciones promedio de los microorganismos presentes en los sustratos después de los tratamientos de esterilización.

Durante los días evaluados el tratamiento de esterilización con agua en ebullición mostró las poblaciones más bajas, por esta razón se realizó la prueba “t” comparando el promedio de UFC/mg de sustrato de este tratamiento contra los otros tratamientos, tal como se observa en la Tabla 6.

Al comparar a través de una prueba “t” el tratamiento de agua en ebullición con los demás, se corroboró que este tratamiento presentó el promedio más bajo de UFC/mg de sustrato. Lo anterior se explica, posiblemente, por la eficiencia del método empleado, ya que las altas temperaturas penetraron hasta el interior del sustrato, eliminando uniformemente la población de bacterias mesófilas en un alto porcentaje (Sánchez y Royse, 2001).

Gráfica 3. Unidades formadoras de colonia promedio por miligramo de sustrato según tratamiento de esterilización



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Tabla 6. Prueba "t" para el promedio de UFC/mg de sustrato comparando el tratamiento de esterilización con agua en ebullición contra los otros tratamientos.

Prueba T	EB TQ	EB VP	EB NT
Día 0	0.0018	0.0007	0.00069
Día 5	0.0135	0.0536	0.00884
Día 9	5E-06	0.0022	0.00014
Día 12	0.001	0.0052	0.00076
Día 15	0.005	0.0194	0.00142

EB: Tratamiento Ebullición.
 TQ: Tratamiento Químico.
 VP: Tratamiento vapor de agua
 NT: No Tratamiento

Nivel de significancia < 0.05

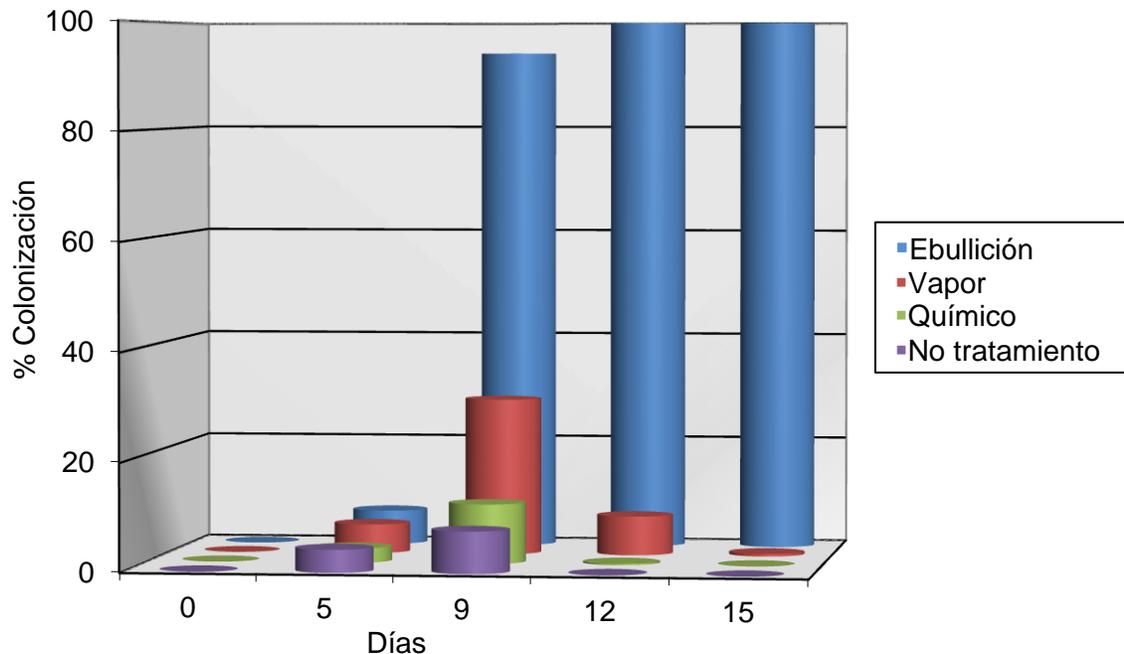
Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

El tratamiento de vapor de agua no fue efectivo como el de ebullición, debido, posiblemente, a que el sistema con el cual se desarrolló el proceso no fue el más adecuado y por lo tanto la concentración del vapor no fue la óptima y sólo la parte externa del empaque del sustrato recibió algún grado de desinfección, y la parte interna del mismo quedó con una alta población de bacterias.

En el tratamiento químico las poblaciones microbianas fueron las más altas, posiblemente debido a la alta humedad del sustrato (superior al 70%), adquirida al aplicar el fungicida a éste, minutos antes de la inoculación. La alta humedad crea condiciones desfavorables para el óptimo crecimiento de *Pleurotus ostreatus* y puede favorecer el desarrollo de microorganismos competidores (Roussos y Perraund, 1996), como lo son: *Trichoderma sp*, *Botryotrichum sp*, *Sporotrichum sp*, *Pseudomonas sp*, *Chaetomium sp* y *Verticillium sp*. (Sánchez y Royse, 2001).

4.1.2 Porcentaje de colonización. Una vez esterilizados y sembrados los sustratos, se procedió a medir el porcentaje de colonización del micelio del hongo en la superficie de la bolsa transparente (ver Gráfica 4).

Gráfica 4. Porcentaje promedio de colonización de *Pleurotus ostreatus* por tratamiento de esterilización



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Los datos anteriores indican que el tratamiento con agua en ebullición muestra una tendencia de colonización que se incrementa hasta finalizar esta etapa (véase Figura 16), con 100 % de colonización del sustrato al duodécimo día, tal como lo muestra la Gráfica 4. Esto se explica, porque el método de desinfección fue más eficiente en el control de la población de microorganismos competidores (por nutrientes, aire y espacio), facilitando la colonización y adaptación del hongo en el sustrato (Sánchez y Royse, 2001).

Figura 16. Colonización de *Pleurotus ostreatus* con tratamiento de esterilización de agua en ebullición



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Los sustratos tratados con vapor de agua, mostraron un crecimiento del micelio sólo hasta el noveno día, con porcentaje promedio máximo de colonización de 29.2%, decreciendo hasta desaparecer (véase Gráfica 4), debido, posiblemente, a que con el tratamiento la penetración del vapor no fue suficiente, o el tiempo de acción fue corto, y el sustrato no recibió una esterilización homogénea (el vapor solo afectó la periferia del sustrato porque el sistema no fue el más adecuado), la población de microorganismos presentes en el sustrato no se redujo suficientemente, lo que conllevó a una competencia por nutrientes, que sumada a la posible producción de metabolitos secundarios como ácidos orgánicos (láctico, acético y fórmico), el peróxido de hidrogeno, diacetilo, acetaldehído, isómeros D de los aminoácidos y otros metabolitos, como moléculas proteicas muy pequeñas y bacteriocinas, hacen que el crecimiento del hongo se detenga (día 12) y desaparezca totalmente (día 15) por la degradación de su estructura celular por parte de los microorganismos competidores (Wha, 2005).

Con el tratamiento químico el hongo inició lentamente el crecimiento micelial, alcanzando un porcentaje de colonización del 15.7% al día noveno, en adelante la colonización decreció por completo hasta el día 15 (véase Figura 17).

Esto se debe, posiblemente, a que el sustrato al ser asperjado con el producto químico quedó más húmedo que en los otros tratamientos (humedad mayor al 70%), dificultando, posiblemente, el intercambio gaseoso y por consiguiente la respiración del hongo, lo que demoró la activación de *Pleurotus ostreatus*; sumado a lo anterior, se contempla que la selectividad del hongo al sustrato, aumenta cuando es sometido a tratamientos térmicos como la pasteurización, vapor de agua y agua en ebullición, por que en estos tratamientos se elimina gran parte de

microorganismos competidores y antagonistas mesófilos, y sobreviven los microorganismos termolábiles como *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Actinomicetos*, que pueden limitar la colonización de mohos como *Trichoderma sp.* que constituye una de las causas principales por lo que la pulpa de café no es empleada a nivel industrial (Hernández, 2002. Citado por Velázquez *et al.*, 2006).

Figura 17. Colonización de *Pleurotus ostreatus* con tratamiento químico



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Los tratamientos térmicos limitan la microflora bacteriana, reduciendo la diversidad de la misma, para disminuir la presencia de mohos antagonistas de *Pleurotus sp.*, y manteniendo estos microorganismos termolábiles, que por su actividad antibiótica y lignocelulósica intervienen en la inhibición del *Trichoderma sp.* favoreciendo la colonización micelial de *Pleurotus ostreatus* (Guzmán *et al.*, 1993, citado por Velázquez *et al.*, 2006).

En el tratamiento testigo se observó que al día quinto la colonización era superior a la presentada por el tratamiento químico, pero inferior a la de los tratamientos térmicos; al noveno día después de la siembra, la colonización se mantuvo constante y después decreció de la misma forma que con los tratamientos químico y vapor de agua, llegando a 0% al día 15 (véase Gráfica 4). Esto se debió posiblemente, a que estos sustratos presentaban la mayor carga de microorganismos competidores por las condiciones favorables de crecimiento (nutrientes, aire y espacio), inhibiendo el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*.

El análisis de varianza (ANAVA), practicado a los datos de porcentaje de colonización a los 15 días de la esterilización, demuestra que existieron diferencias significativas entre los tratamientos para la esterilización del sustrato (ver Tabla 7).

Tabla 7. Resumen ANAVA para % colonización al día 15 ($\alpha = 0.05$)

Fuente de Variación	GL	SC	CM	FC	FT	NS
Totales	47	89.727,3				
Esterilización	3	89.720,7	29.906,91	195.893,44	2,91	**
Sustrato	3	0,42	0,14	0,91	2,91	
Repetición	2	0,39	0,19	1,27	3,31	
Sustrato x Esterilización	9	1,25	0,14	0,91	2,20	
Error	30	4,58	0,15			

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Para conocer estadísticamente cuál fue el mejor método, se recurrió a la prueba de promedios de Duncan, ratificando que agua en ebullición es el mejor método de esterilización de los sustratos tal como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), para porcentaje de colonización al día 15

Tratamiento	Sustrato	Promedio
Agua en ebullición	S1	100,0 a
	S2	100,0 a
	S3	100,0 a
	S4	100,0 a
Vapor de agua	S1	0,0 c
	S2	0,4 c
	S3	0,4 c
	S4	1,0 b
Químico	S1	0,0 c
	S2	0,0 c
	S3	0,0 c
	S4	0,0 c
No tratamiento	S1	0,0 c
	S2	0,0 c
	S3	0,0 c
	S4	0,0 c

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

4.1.3 Porcentaje de contaminación de los sustratos en la superficie de la bolsa por otras cepas de hongos. No fue posible evaluar esta variable en ninguna de las unidades experimentales, puesto que el indicativo porcentaje de colonias diferentes a *Pleurotus ostreatus* presentes en el sustrato, no se manifestó de forma esperada visible y cuantificable. Este comportamiento es consecuencia del adecuado acondicionamiento del sustrato que consistió en: aplicar primero un proceso de fermentación anaerobia para la reducción de la concentración de azúcares solubles como la glucosa que son fuente energética para los

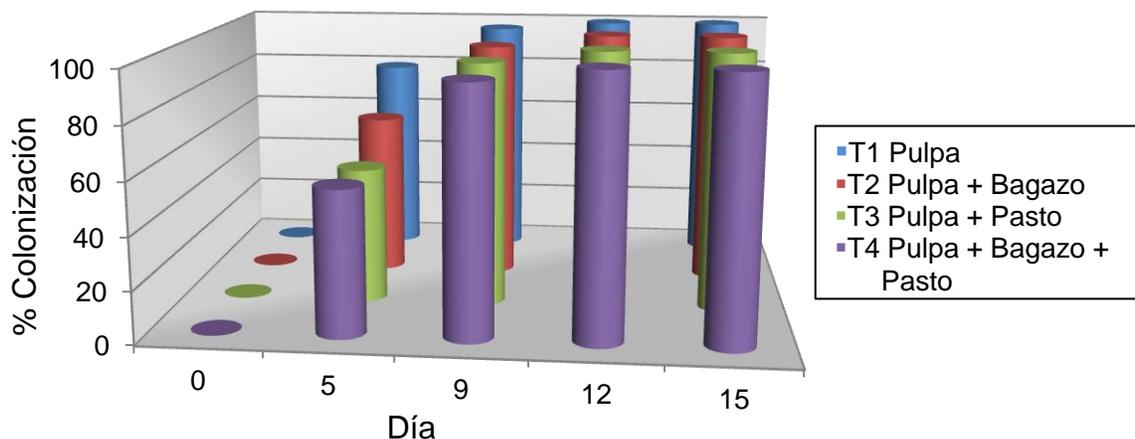
microorganismos competidores, seguido del respectivo tratamiento de esterilización; esto hizo que se redujeran las poblaciones de microorganismos mesófilos los cuales no se presentaron en colonias en la superficie de la bolsa de cultivo (Sánchez *et al.*, 2007).

4.2 SEGUNDA ETAPA

Una vez identificado que el tratamiento de agua en ebullición fue el mejor método para esterilizar sustratos destinados al cultivo de *Pleurotus ostreatus*, se evaluó la colonización del hongo en diferentes sustratos a base de pulpa de café y su contaminación en la fase de incubación, y también la respectiva producción de setas en dos cosechas durante la fase de fructificación.

4.2.1 Porcentaje de colonización. En esta segunda etapa la colonización de los sustratos por el micelio de *Pleurotus ostreatus* fue más rápida que la presentada por el mismo tratamiento en la primera etapa, y se obtuvieron los resultados que se presentan en la Gráfica 5.

Gráfica 5. Porcentaje de colonización de *Pleurotus ostreatus*



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Según la Gráfica 5, puede verse que al quinto día después de la siembra los porcentajes de colonización estaban entre el 50 y el 80%, superando ampliamente los porcentajes de la primera etapa de esta investigación; al día nueve después de la siembra todos los sustratos estaban al 100% de colonización, debido a que aplicando la esterilización con agua en ebullición, el sustrato adquiere las mejores condiciones para la producción de *Pleurotus ostreatus*.

Se realizó un análisis de varianza con los datos obtenidos al quinto día después de la siembra, cuando el micelio de este hongo estaba en pleno crecimiento sin llegar a colonizar al 100% los sustratos (ver Tabla 9), arrojando diferencias significativas entre estos.

Tabla 9. Resumen ANAVA para porcentaje de colonización de sustratos al día cinco ($\alpha = 0.05$)

Fuente	GL	SC	CM	fc	ft	NS
Totales	19	83833,03				
Tratamiento	3	81097,38	27032,46	158,10	3,24	**
Error	16	2735,65	170,98			

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

La prueba de promedios de Duncan que se muestra en la Tabla 10 permitió establecer que el tratamiento T1 (pulpa de café) al día quinto, fue el mejor sustrato para la colonización del micelio de *Pleurotus ostreatus*, y los otros tres tratamientos no presentaron diferencias entre sí. Este comportamiento fue similar al de la primera etapa con el tratamiento de esterilización de agua en ebullición.

Tabla 10. Prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), para porcentaje de colonización de sustratos al día cinco

Tratamiento	Promedio
T1	79,3a
T2	63,9b
T3	52,5b
T4	55,8b

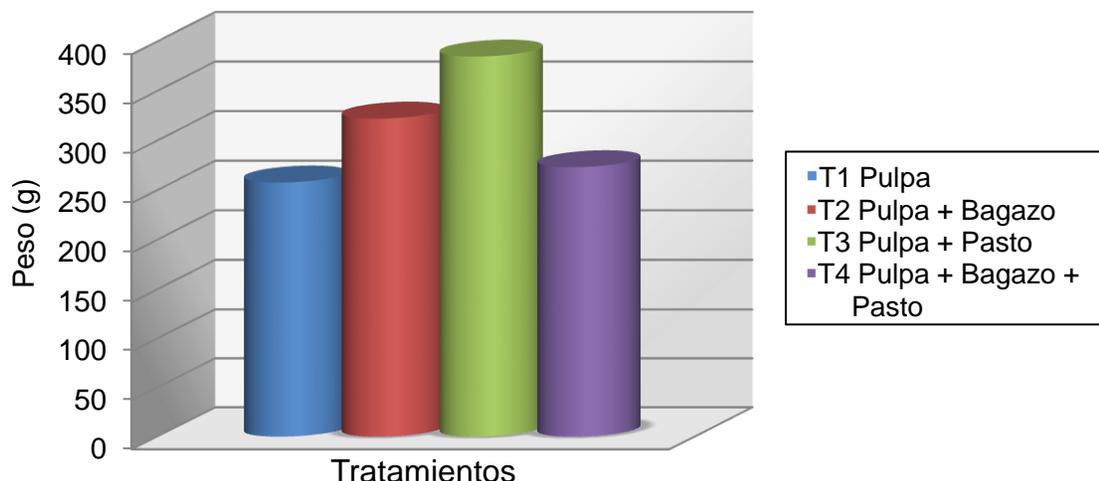
Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Esto se presentó posiblemente porque en el sustrato de pulpa de café a pesar de que tuvo una fermentación anaerobia durante una semana, hay una mayor concentración de azúcares que en las otras mezclas, razón por la cual el hongo encontró alimento fácilmente disponible y se pudo adaptar más rápido en este sustrato.

4.2.2 Producción de setas. Esta variable fue evaluada en dos cosechas, según el peso de las setas obtenidas durante el tiempo de la evaluación.

4.2.2.1 Primera cosecha. Esta cosecha se realizó a los 22 días después de la siembra, permitiendo obtener datos de peso de los cuerpos fructíferos del hongo, presentados en la Gráfica 6.

Gráfica 6. Peso promedio (g) de las setas en la primera cosecha



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

El tratamiento T3 fue el sustrato que presentó la mayor producción de setas en esta primera cosecha (385 g), seguido del tratamiento T2 (322 g). El tratamiento T1 presentó los valores de producción más bajos (258 g).

En la Figura 18 se muestra el cuarto de fructificación, y en la Figura 19 se observan los cuerpos fructíferos obtenidos en esta cosecha.

Figura 18. Cuarto de Fructificación de *Pleurotus ostreatus*



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Figura 19. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*

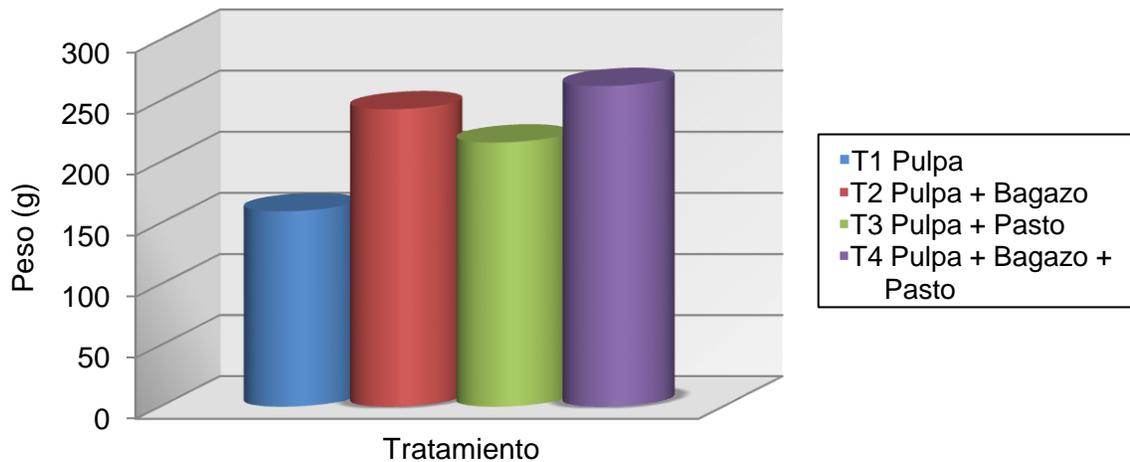


Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

4.2.2.2 Segunda cosecha. Esta cosecha se realizó a los 35 días después de la siembra. El peso de la producción de cuerpos fructíferos del hongo obtenido en los diferentes sustratos se presenta en la Gráfica 7.

En esta cosecha el peso de las setas fue menor al obtenido en la primera cosecha, pero el sustrato que presentó la mayor producción es el tratamiento T4 (262 g), seguido del tratamiento T2 (243 g).

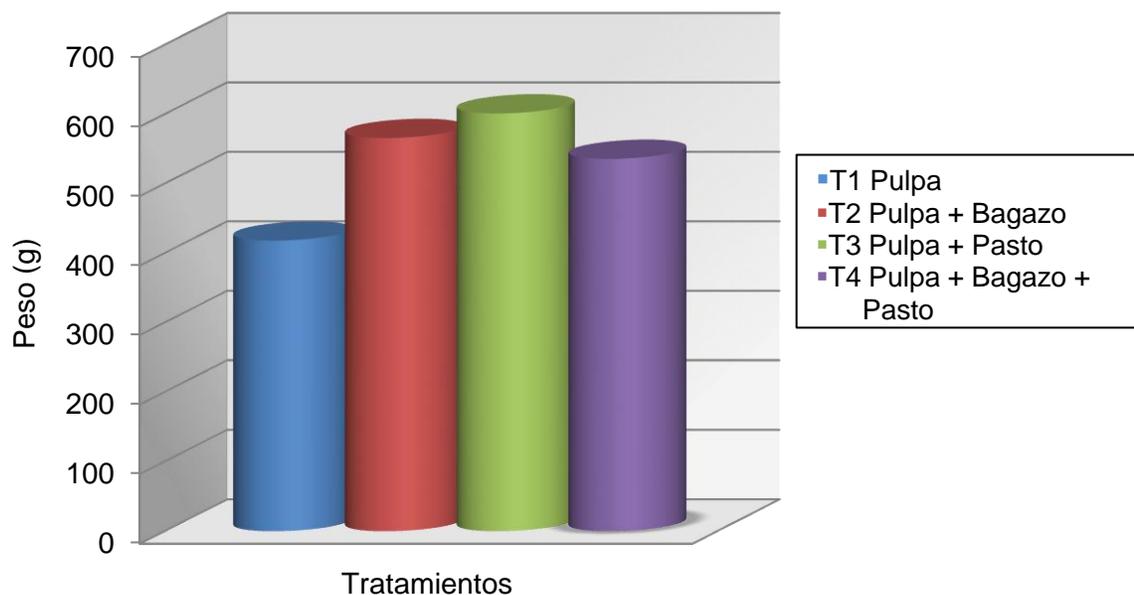
Gráfica 7. Peso promedio (g) de las setas en la segunda cosecha



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

4.2.2.3 Producción total. El peso de la producción total de las setas de *Pleurotus ostreatus* obtenidos en dos cosechas se presenta en la Gráfica 8.

Gráfica 8. Peso promedio (g) de las setas en las dos cosechas



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

En la Tabla 11, se presenta el peso de las setas de *Pleurotus ostreatus* con cada uno de los tratamientos, durante las dos cosechas, y la respectiva producción total.

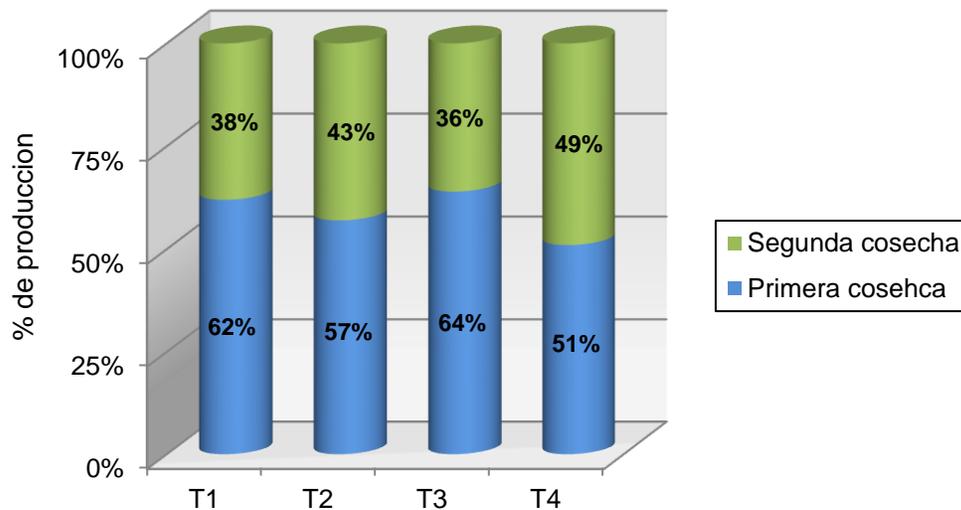
Tabla 11. Peso (g) de las setas en las dos cosechas y la producción total

Tratamiento	Primera Cosecha	Segunda cosecha	Producción total
T1	258	160	418
T2	322,4	243,4	565,8
T3	385	216,2	601,2
T4	273,4	262,4	535,8

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Como se puede ver en la Tabla 11, existieron diferencias en la producción de setas entre una cosecha y otra, estas diferencias en el rendimiento se pueden observar, de forma porcentual sobre la producción total, en la Gráfica 9.

Gráfica 9. Participación porcentual de las cosechas en la producción total de cada tratamiento



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

Esta diferencia en los valores de producción entre la primera y la segunda cosecha se presentó, posiblemente, porque las mezclas de sustratos presentan diferente composición fisicoquímica, la cual hace que la disponibilidad de los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* se de en distintos grados, sumado a esto también se debe considerar el agotamiento de las mismas (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

Como se pudo observar el sustrato que mostró mayor producción en la primera cosecha es el tratamiento T3 (pulpa de café con pasto de corte), y en la segunda cosecha no presentó este mismo comportamiento pues su producción sólo fue mayor que la obtenida con el tratamiento T1 (pulpa de café). Esto se debe posiblemente, porque ésta es la mezcla con la relación carbono nitrógeno más baja, y que, por su alto contenido de fibra (celulosa y hemicelulosa) y bajo contenido de lignina, hace que los hongos puedan aprovechar rápidamente los nutrientes y agotarlos en poco tiempo, a diferencia del tratamiento T1, el cual tiene una relación carbono nitrógeno similar a la mezcla anterior, pero por su alto contenido en lignina, dificulta el aprovechamiento de sus nutrientes (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

En la Tabla 12 se presentan los datos de producción de setas por unidad experimental (bolsa de 3 kg) para cada tratamiento, y su respectivo valor por kg de sustrato.

Tabla 12. Producción de setas (g) por unidad experimental para cada tratamiento y por kg de sustrato

Tratamiento	Producción total por bolsa de 3 kg	Producción por kg de sustrato
T1	418	139.3
T2	565,8	188.6
T3	601,2	200.4
T4	535,8	178.6

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

El peso de la producción de las setas obtenidas en las dos cosechas, en los diferentes tratamientos (véase Tabla 12), como es el caso del T3, que corresponde a pulpa de café con pasto de corte, donde se obtuvieron 200 gramos de seta por kilogramo de sustrato, es similar a los datos obtenidos por Urbano *et al.*, (2002), donde por cada kg de sustrato de vaina de frijol, cosecharon 247 gramos de setas, y superior a los pesos obtenidos por Bonilla y Paz (2005), donde por cada kilogramo de sustrato de cascarilla de café obtuvieron 66.05 g de setas y 71.9 g en cascarilla de café con vaina de frijol.

El análisis de varianza con los datos del peso de las setas de la producción total, el cual se presenta en la Tabla 13, indicó que existieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los sustratos.

Tabla 13. Resumen ANAVA para peso total (g) de las setas ($\alpha = 0.05$)

FUENTE	GL	SC	CM	fc	ft	NS
Totales	19	5751999,80				
Tratamiento	3	5716353,40	1905451,13	855,27	3,24	**
Error	16	35646,40	2227,90			

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

La prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), la cual se presenta en la Tabla 14, mostró que entre los tratamientos T2, T3 y T4 que corresponden a las mezclas de los sustratos no existe diferencia en la producción de setas, y que éstas fueron mejores que el tratamiento T1 que corresponde a la pulpa de café sola.

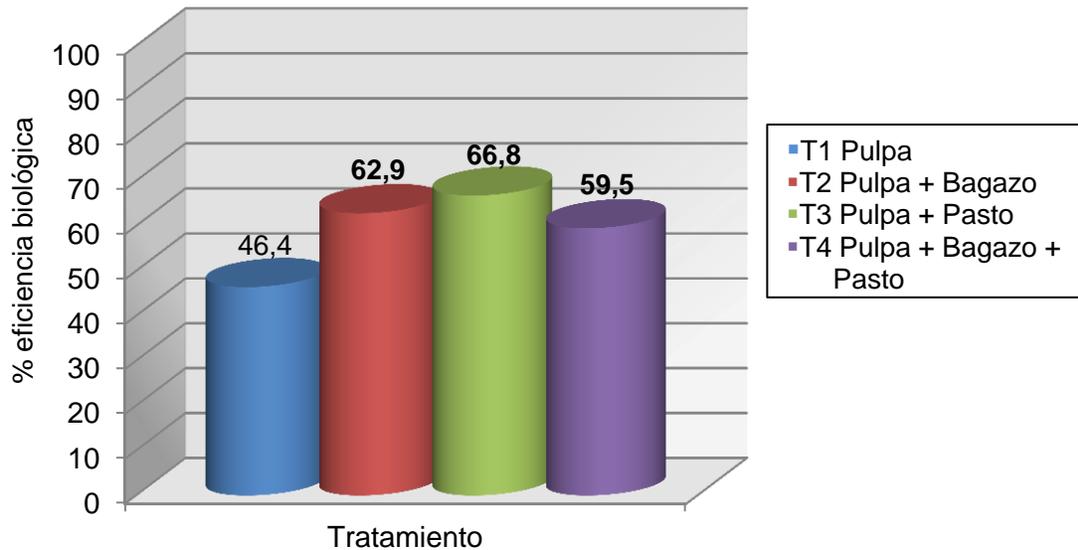
Tabla 14. Prueba de promedios de Duncan ($\alpha = 0.05$), para peso total (g) de las setas

Tratamiento	Calificación
T1	418 ^b
T2	565,8 ^a
T3	601,2 ^a
T4	535,8 ^a

Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

4.2.3 Eficiencia biológica. Esta variable permite ver el potencial biológico de los sustratos para la producción de hongos. En la Gráfica 10 se presenta la eficiencia biológica obtenida en la producción de *Pleurotus ostreatus* para los diferentes tratamientos evaluados.

Gráfica 10. Eficiencia biológica (%) de los tratamientos en la producción de setas



Fuente: Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

La mayor eficiencia biológica se logró en el tratamiento T3, seguida por T2, luego T4 y la de menor eficiencia fue T1 que corresponde a el sustrato de pulpa de café sola.

La eficiencia biológica media de la pulpa de café obtenida en este trabajo fue del 46.4%, y es similar a la obtenida por Rodríguez y Gómez (2001), que fue del

51.3%, aclarando que ellos realizaron cuatro cosechas por ciclo productivo y en este trabajo sólo se realizaron dos cosechas, lo cual indica una buena producción de setas en esta investigación.

4.2.4 Composición nutricional del sustrato agotado de hongo (SAH). A continuación en la Tabla 15, se presentan los resultados del análisis proximal realizado al SAH en la producción de *Pleurotus ostreatus*; y se hace una comparación con la composición teórica inicial de cada material analizando el por qué se presentan variantes o similitudes.

Tabla 15. Análisis proximal al sustrato agotado del hongo SAH (% en base seca)

Parámetro	T1		T2		T3		T4	
	Inicial ₁	Final ₂	Inicial _{1,3}	Final ₂	Inicial _{1,4}	Final ₂	Inicial _{1,3,4}	Final ₂
Humedad	70	83.37	70	73.78	70	78.78	70	73.51
Proteína	11.56	15.06	6.69	3.94	10.75	8.44	7.75	5.00
Fibra	15.26	17.77	31.21	18.34	23.63	34.53	31.47	32.34
Grasa	5.02	0.36	2.83	0.2	3.96	0.36	2.85	0.61
Cenizas	6.68	8.52	9.67	11.83	8.49	10.64	9.88	11.89
ELN*	61.48	58.29	49.60	65.69	53.17	46.03	48.05	50.16
Nitrógeno	1.85	2.41	1.07	0.63	1.72	1.35	1.24	0.8
Carbono	42.9	24.64	41.6	27.35	42.1	28.45	41.5	28.73
Relación C/N	23.19	10.22	38.88	43.41	24.48	21.07	33.47	35.91

Fuente: ¹Ferrer *et al.*, 1995.

²Sarasti, Muelas, Hoyos y Paz, 2008.

³Chen, 2000.

⁴Trigos y Gómez, 2002.

* Extracto libre de nitrógeno.

- En el sustrato agotado del tratamiento T1 que corresponde a pulpa de café, se observa un incremento en el contenido de proteína, posiblemente porque no fue extraída en su totalidad por los cuerpos fructíferos, ya que de este sustrato se obtuvo la más baja producción, quedando el micelio en el SAH; además, como su contenido de fibra inicial fue muy bajo, el tiempo de incubación del hongo *Pleurotus ostreatus* fue corto, y como éste es un hongo saprófito y lignocelulolítico, utilizó principalmente como fuente de energía la alta cantidad de carbohidratos solubles o no estructurales (ELN) de la pulpa de café para su crecimiento y desarrollo micelial, bajando el porcentaje de estos y

concentrando el porcentaje de fibra en el SAH (Rajarithnam, 1989, citado por Schmidt *et al.*, 2003).

El contenido de carbono bajó de un 42.9% a un 24.6%, debido a que este sustrato tiene gran cantidad de carbohidratos solubles (monosacáridos) como glucosa, sacarosa, ribosa, y xilosa (Murray *et al.*, 1998), que, en parte, se perdieron en los lixiviados del proceso de fermentación anaerobia para la adecuación del sustrato, y otra parte el hongo *Pleurotus ostreatus* la utilizó rápidamente para su crecimiento, tal como se puede observar en la velocidad de colonización en las dos etapas de esta investigación; por lo tanto el proceso de respiración del hongo aumentó, liberando gran cantidad de CO₂ y H₂O.

El incremento en el contenido de cenizas en el SAH de todos los tratamientos se debe a las pérdidas de compuestos solubles durante la fase de fermentación del sustrato y a las pérdidas de materia seca de éste durante la fase de respiración del hongo, que hacen que los valores de estos parámetros se concentren (Rajarithnam, 1991., Rodríguez y Jaramillo, 2005).

Como consecuencia del consumo de carbono del sustrato, usado en la respiración y en el metabolismo para la producción de las setas por parte del hongo *Pleurotus ostreatus* y al aumento de nitrógeno en el SAH, la relación carbono nitrógeno disminuyó considerablemente, lo que representa una pérdida de materia orgánica por la descomposición del sustrato (Restrepo, 1999., citado por Rodríguez y Jaramillo, 2005).

- En el sustrato agotado del tratamiento T2 que corresponde a la mezcla de pulpa de café con bagazo de caña, se observa que el porcentaje de proteína del SAH bajó pasando de 6.69 a 3.94, debido, posiblemente, a que por la baja concentración de carbohidratos no estructurales de esta mezcla, el hongo utiliza los nutrientes disponibles para su crecimiento y desarrollo micelial, consumiendo la proteína, la fibra y la grasa del sustrato en la producción de setas (Rajarithnam, 1989, citado por Schmidt *et al.*, 2003), esto se ve representado en que de este sustrato se obtuvo la segunda mejor producción.

Como el carbono y el nitrógeno fueron utilizados por el hongo en la formación de las setas, la relación C/N aumentó pasando de 38.88 a 43.41, caso contrario a lo que sucedió en el tratamiento T1 donde la relación C/N bajo de 23.19 a 10.22.

- En el sustrato agotado del tratamiento T3, compuesto por la mezcla de pulpa de café con pasto de corte, la proteína bajó en menor proporción que con el tratamiento T2, pasando de 10.75 a 8.44%, y así mismo el extracto libre de nitrógeno (ELN), pasó de 53.17 a 46.03%, debido, posiblemente, a que estos elementos fueron usados para el desarrollo y la producción de las setas, obteniendo la más alta producción de cuerpos fructíferos de los tres sustratos, y como la fibra de la pulpa es menos disponible, el hongo no la pudo utilizar concentrándola en el SAH; observando lo anterior y teniendo en cuenta la alta liberación de carbono, la relación C/N también bajó, pasando de 24.48 a 21.07%.
- Como el tratamiento T4 es la mezcla de pulpa de café con bagazo de caña y pasto de corte King Grass, se obtiene un sustrato más homogéneo alto en fibra procedente del bagazo, y alto en carbohidratos no estructurales procedentes de la pulpa de café y del pasto; en el SAH se observa un leve incremento en la proporción de fibra porque el hongo consumió en su desarrollo y producción la fibra del bagazo y del pasto, concentrando la fibra de la pulpa de café que es la menos disponible; así mismo, el contenido de carbohidratos no estructurales también aumentó levemente su proporción como consecuencia del desdoblamiento de la fibra de estos materiales, sin decir de esta forma que estos materiales aumentaron en cantidad, ya que como se observa, el consumo de carbono en la respiración y en la producción de las setas es alto, pasando de 41.5 a 28.73%.

4.2.5 Uso potencial del sustrato agotado de hongos SAH. El cultivo de hongos comestibles como *Pleurotus ostreatus* además de la producción de setas frescas, presenta otras alternativas como la reducción de los residuos agroindustriales, disminución en la contaminación ambiental y la producción de SAH que por su composición bromatológica puede ser utilizado como sustrato para la producción de otras setas tales como *Agaricus bisporus* (champiñón), alimentación de rumiantes y preparación de abonos orgánicos

En el primer caso donde el SAH puede ser utilizado como sustrato para la producción de *Agaricus bisporus* (champiñón), se debe a que la composición del SAH de los sustratos T1 y T3, se acerca a los requerimientos del champiñón que están alrededor de: N: 2.05%. Cenizas: 27% y relación C/N: 19.

Para el caso donde el SAH se propone para la alimentación de rumiantes, se basa en estudios realizados anteriormente por otros autores como: Lozano, Herrera y Saldaña, citados por Rodríguez y Jaramillo (2005), quienes reportan que

por la alta concentración de proteína del SAH este puede ser incluido en la dieta de los rumiantes hasta 10/kg de SAH diarios, sin que se presenten intoxicaciones en los animales y mejorando la producción de las vacas lecheras en un 12% con respecto a la producción antes del tratamiento.

Para el uso del SAH como fertilizante para plantas, los SAH de los tratamientos T2 y T4 no son recomendados debido a que los materiales todavía no han sido degradados completamente por el hongo, ya que presentan una alta relación de C/N y por lo tanto los compuestos todavía no están disponibles, pero se pueden emplear en la alimentación de lombrices; en el caso de los tratamientos T1 y T3 que presentan una relación C/N cercana a 20, sí se recomiendan para el uso como abono orgánico, por estar ya la fibra degradada por la acción de las enzimas lignocelulolíticas (Rodríguez y Jaramillo, 2005).

5. CONCLUSIONES

Los métodos de esterilización de sustrato que implican un tratamiento térmico como agua en ebullición y vapor de agua, fueron más eficientes en un 431% y 63.53% respectivamente en comparación con el tratamiento químico, debido a que con estos se disminuye la flora bacteriana del sustrato; además, se obtiene una selectividad del mismo, donde la cepa de *Pleurotus ostreatus* puede crecer con mayor facilidad, colonizando al 100% el sustrato al día 10 de incubación.

Los sustratos ricos en fibra y en carbohidratos no estructurales como la mezcla de pulpa de café con pasto de corte, son más apropiados para el cultivo *Pleurotus ostreatus*, ya que este hongo puede aprovechar de forma más eficiente los nutrientes para su crecimiento y desarrollo, obteniendo producciones de 200 g de cuerpos fructíferos por kg de sustrato.

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* es una buena alternativa que pueden usar los caficultores para disminuir los residuos contaminantes en su explotación agropecuaria; además, para obtener setas que pueden usar para su alimentación, o para la venta, generando ingresos marginales en su explotación.

El sustrato agotado por el hongo *Pleurotus ostreatus* puede ser usado en diferentes campos como la alimentación de rumiantes, sustrato para el cultivo de champiñón, lombricompost, y como abono al suelo, luego de hacerle un proceso de composteo para reducir la materia orgánica del sustrato.

6. RECOMENDACIONES

Para la realización de posteriores trabajos de investigación se sugieren las siguientes recomendaciones, resultantes de la evaluación del anterior trabajo.

Evaluar, para bolsas con la misma cantidad de sustrato, el método de esterilización con vapor de agua por un tiempo mayor a dos horas para lograr una desinfección más drástica en el sustrato, y con el método de esterilización químico, escurrir el sustrato luego de la aplicación del producto, para disminuir su contenido de humedad.

Evaluar mezclas de subproductos de cosecha, como sustratos para la producción de setas de *Pleurotus sp.* debido a que éstas mejoran las características físicas y químicas de los sustratos, favoreciendo la colonización y posterior producción de setas, en comparación con los sustratos compuestos por una sola materia prima.

Evaluar el SAH empleándolo como sustrato en el cultivo de champiñones (*Agaricus bisporus*), en dietas para rumiantes para determinar el límite de inclusión, y para la utilización como abono orgánico dejar compostarlo para reducir la relación C/N.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

BERNAL, J. Pastos y forrajes tropicales, producción y manejo. 3 ed. México : Banco ganadero, 1994. p 375 - 377.

BETANCUR, M. Hongos macromicetos. Jardín botánico. Manizales: Universidad de Caldas, 2005. 10 p.

BONILLA, A. y PAZ, I. E. Evaluación de la cascarilla de café como sustrato para la producción de *Pleurotus sp.* y posterior uso como enmienda para el suelo en cultivos de frijol y maíz. Popayán. Trabajo de grado (Ingeniero Agroindustrial). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2005. p 79 - 82.

CHEN, J. Manual del azúcar de caña. Para fabricantes de azúcar de caña y químicos especializados. México: Limusa Noriega, 2000. p 315-148.

FERRER, José. PÁEZ, Gisela. CHIRINOS, Miguel. MARMOL, Zulay. Ensilaje de la pulpa de café. Revista *Facultad de Agronomía* Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. 1995, V 12. p 417- 428. (Citado el 30 de abril del 2008) Disponible en Internet URL:
http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-2592005002000006&lng=es&nrm=is

HURTADO, L. y PAZ, I. E. Eficiencia de sustratos de origen vegetal para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus*, municipio de Timbio, Cauca. Trabajo de grado (administrador agropecuario). Fundación Universitaria de Popayán. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1995.

MURRAY, Robert; MAYES, Peter; GRANNER, Daryl y RODWELL Víctor. Bioquímica. El manual moderno. Mexico, D.F. 1998. p 166.

PLAN DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL MUNICIPIO DE PIENDAMÓ. 2005.

RODRÍGUEZ, N. Ensilaje de pulpa de café. Avance Técnico No. 313. Chinchiná : Cenicafé, 2003. 5 p.

RODRÍGUEZ, N. y GÓMEZ, F. A. Cultive hongos comestibles en pulpa de café. Avance Técnico No. 285. Chinchiná : Cenicafé, 2001. 7 p.

RODRÍGUEZ, N. y JARAMILLO, C. Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. Boletín Técnico No. 27. Chinchiná : Cenicafé, 2005. 55 p.

ROMERO, L. Las setas: algunas generalidades. Setascultivadas.com (online) Nr. Mayo de 2003 (citado el 27 de septiembre de 2006). Disponible en Internet URL: <http://setascultivadas.com/articulomayo2003.html>

ROUSSOS, S. y PERRAUD, G. Fisiología y bioquímica de microorganismos utilizados en procesos de fermentación en medio sólido. Laboratoire de Biotechnologie PMC, Centre Orstom, Montpellier Francia 1996. p 341 – 343.

SÁNCHEZ, J. E.; MARTÍNEZ, D.; MATA, G. y LEAL, H. El cultivo de setas *Pleurotus spp.* en México. México : El Colegio de la Frontera del Sur, 2007. 236 p.

SÁNCHEZ, J. E. y ROYSE, D. J. La biología y el cultivo de *Pleurotus sp.* México : Limusa Noriega, 2001. 290 p.

SCHMIDT, P.; WECHSLER, Francisco y NASCIMENTO, José. Tratamiento do feno de braquiaria pelo fungo *Pleurotus ostreatus*. R. Bras. Zootec. 2003, V 32. p. 1866-1871 (citado el 15 de abril de 2008). Disponible en Internet URL: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982003000800009&lng=es&nrm=iso. ISSN 1516-3598. doi: 10.1590/S1516-35982003000800009

EVALUACIÓN POR CENSO AGROPECUARIO. Distribución de los cultivos y explotaciones pecuarias por municipios en el Cauca. Colombia : Secretaría de desarrollo agropecuario y fomento económico, 2004.

TRIGOS, A. y GÓMEZ, I. Evaluación del pasto King Grass (*Pennisetum hybridum*) a la fertilización nitrogenada con sulfato de amonio en un entisol de la región de

Ocaña. Universidad Francisco de Paula Santander. Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente. Ocaña : Escuela de Tecnología en Producción Agropecuaria, 2002. p 27-28.

UNIVERSIDAD DEL CAUCA. Grupo de investigación química de productos naturales (QPN). Departamento de Química. Programa de apoyo a grupos de investigación. 2007.

URBANO, Z.; ORTIZ, B.; ASTAIZA, P. y PAZ, I. E. Determinación de una metodología para la utilización de residuos agrícolas (cascarilla de café, pasto de corte, espárragos, vainas de fríjol y arveja) generados en el municipio de Popayán y evaluación del efecto de los sustratos en la producción de setas (*Pleurotus ostreatus*). Popayán, Trabajo de grado (Ingeniero Agroindustrial). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2002. p 15-19, 24, 42-87.

VELÁZQUEZ, Marnyye; MATA, Gerardo; FARNET, Anne y SAVOIE, Jean. Estudio preliminar de la microflora bacteriana termotolerante de la pulpa de café y la paja de trigo con potencial de inhibición contra *Trichoderma viride* en el cultivo de *Pleurotus spp*. En: Revista Mexicana de micología. 2006. p 33-39.

WHA, K. Manual del cultivador de hongos 1, Cultivo del hongo ostra. Mush World. Corea, 2005. Cap 7. p 175 – 177.

ZAMORA, L. Aislamiento, Identificación y conservación de cultivo de bacterias lácticas antagonistas de microbiota contaminante de sangre de matadero. Departamento de Ingeniería Química Agraria y tecnología Agroalimentaria. Universidad de Girona. España 2003. p 23.

ZULUAGA, J. y ZAMBRANO, D. Manejo del agua en el proceso del beneficio húmedo del café para el control de la contaminación. Avance técnico No. 187. Chinchiná : Cenicafé, 1993. 4 p.

BIBLIOGRAFÍA DE REFERENCIA

ALBORES, Silvana; PIANZZOLA, María; SOUBES, Matilde y CERDERIAS, María. Biodegradation of agroindustrial wastes by *Pleurotus spp.* for its use as ruminant feed. *Electronic Journal of biotechnology*. Vol. 9 No 3. Pontificia Universidad Católica de Valparaiso. Chile 2006. p 216 - 219. (Citado el 30 de abril del 2008). Disponible en Internet URL:

<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol9/issue3/full/2/>

DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (DANE). Anuario estadístico del departamento del Cauca, Área de Estudios Económicos Cámara de Comercio del Cauca. Secretaría de Planeación Departamental, 2005.

GÁLVEZ, E. Champiñón y setas cultivadas. *Pleurotus* (citado 27 de septiembre de 2006). Disponible en Internet URL:

[http://www.interlink.es/ejgalvez/Pagina%20 Setas%20cultivo.htm#setas](http://www.interlink.es/ejgalvez/Pagina%20Setas%20cultivo.htm#setas)

GARCÍA, Murano. Cultivo de setas y trufas. 3 ed. Madrid : Mundi-Prensa, 1998. 260 p.

INGENIO PICHICHI. Producción de azúcar, Molienda (citado 27 de septiembre de 2006). Disponible en Internet URL:

<http://www.ingeniopichichi.com/pichichi/produccion.html#molienda>.

MÁRQUEZ, Alis. MENDOZA, Germán. GONZÁLEZ, Sergio. Atividade fibrolítica de enzimas produzidas por *Trametes sp.* EUM1, *Pleurotus ostreatus* IE8 e *Aspergillus niger* AD96.4 em fermentação sólida. 2007, V 32, no.11 (citado 21 Mayo 2008). Disponible en Internet URL: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442007001100012&lng=pt&nrm=iso. ISSN 0378-1844

VARGAS, E.; CABEZAS, M. y BRESSANI, R. Pulpa de café en la alimentación de rumiantes, digestibilidad in vivo de la pulpa. *Agronomía Costarricense*. Turrialba. Costa Rica, 1977. p 51 – 56.

ANEXOS

Anexo A. Número de UFC/mg de sustrato fresco

Tratamiento	Sustrato	Día 0	Día 5	Día 9	Día 12	Día 15
No tratamiento	S1	11.8	13.1	12.5	12.7	8.3
	S2	9.0	9.2	12.5	13.8	8.5
	S3	10.5	10.6	11.0	11.0	5.5
	S4	9.7	13.7	12.6	13.8	8.5
Químico	S1	7.9	6.4	7.3	7.7	9.9
	S2	8.4	9.4	7.4	8.8	6.5
	S3	8.0	5.8	7.4	7.7	6.0
	S4	5.5	5.3	7.1	7.8	5.4
Vapor de agua	S1	4.1	6.4	4.4	5.4	4.8
	S2	4.5	5.5	4.7	5.7	2.2
	S3	4.1	5.3	5.2	5.2	3.6
	S4	3.7	5.0	5.0	5.8	6.4
Agua en ebullición	S1	2.7	2.3	3.7	4.1	0.6
	S2	3.0	4.9	3.6	3.9	1.0
	S3	3.1	4.6	3.8	4.5	0.9
	S4	2.5	2.8	3.6	4.3	0.7

Anexo B. Porcentaje promedio de colonización por tratamiento de esterilización

Tratamiento	Sustrato	Día 0	Día 5	Día 9	Día 12	Día 15
No tratamiento	S1	0,0	4,5	3,7	0,0	0,0
	S2	0,0	5,3	3,0	0,1	0,0
	S3	0,0	3,5	8,0	0,0	0,0
	S4	0,0	3,6	16,3	0,1	0,0
Químico	S1	0,0	1,0	2,5	0,3	0,0
	S2	0,0	3,9	12,0	0,0	0,0
	S3	0,0	2,8	14,0	0,0	0,0
	S4	0,0	3,1	15,7	0,7	0,0
Vapor de agua	S1	0,0	4,6	4,2	0,1	0,0
	S2	0,0	8,6	38,3	13,5	0,4
	S3	0,0	3,7	35,8	6,8	0,4
	S4	0,0	4,7	38,3	8,8	1,0
Agua en ebullición	S1	0,0	8,5	95,0	100,0	100,0
	S2	0,0	6,3	95,0	100,0	100,0
	S3	0,0	5,3	93,3	100,0	100,0
	S4	0,0	5,4	93,3	100,0	100,0

Anexo C. Porcentaje de colonización de *Pleurotus ostreatus* en la segunda etapa

Tratamiento	Día 0	Día 5	Día 9	Día 12	Día 15
T1	0	79,3	100	100	100
T2	0	63,9	100	100	100
T3	0	52,5	100	100	100
T4	0	55,7	100	100	100

Anexo D. Peso (g) de las setas en la primera cosecha

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	R5	Promedio
T1	250	295	235	230	280	258
T2	260	300	320	392	340	322
T3	410	410	435	380	290	385
T4	322	265	230	280	270	273

Anexo E. Peso (g) de las setas en la segunda cosecha

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	R5	Promedio
T1	150	200	110	210	130	160
T2	350	230	240	187	210	243
T3	220	200	200	260	201	216
T4	250	260	302	280	220	262

Anexo F. Peso (g) de las setas en las dos cosechas

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	R5	Promedio
T1	400	495	345	440	410	418
T2	610	530	560	579	550	566
T3	630	610	635	640	491	601
T4	572	525	532	560	490	536

Anexo G. Participación porcentual de las cosechas en la producción total de cada tratamiento

Tratamiento	Primera cosecha	Segunda cosecha
	%	%
T1	62	38
T2	57	43
T3	64	36
T4	51	49

Anexo H. Eficiencia biológica (%) de los tratamientos en la producción de setas

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	R5	Promedio
T1	44,4	55,0	38,3	48,9	45,6	46,4
T2	67,8	58,9	62,2	64,3	61,1	62,9
T3	70,0	67,8	70,6	71,1	54,6	66,8
T4	63,6	58,3	59,1	62,2	54,4	59,5