



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

“Producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril: efecto del tratamiento térmico de la cobertura sobre el rendimiento”

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

Jaime Santos Rodríguez



MÉXICO, D.F.

AÑO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Hermilo Leal Lara

VOCAL: Profesor: Miguel Ángel Hidalgo Torres

SECRETARIO: Profesor: Gloria Díaz Ruiz

1er. SUPLENTE: Profesor: Norma Angélica Camacho de la Rosa

2° SUPLENTE: Profesor: Karla Mercedes Díaz Gutiérrez

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 324 EDIFICIO E
FACULTAD DE QUÍMICA UNAM.**

ASESOR DEL TEMA: HERMILO LEAL LARA

(nombre y firma)

SUSTENTANTE (S): JAIME SANTOS RODRÍGUEZ

(nombre (s) y firma (s))

ÍNDICE

1. Introducción.....	3
1.1 Antecedentes	
1.1.1 El proceso comercial para la producción de champiñones.....	4
1.1.2 El control del medio ambiente después de la cobertura y la formación de primordios.....	7
1.1.3 Producción de champiñones en sustratos a base de grano.....	9
1.1.4 Factores que influyen la producción de champiñones en sustratos a base de grano.....	16
1.2 Justificación.....	17
1.3 Objetivos.....	18
1.3.1 Objetivo general.....	18
1.3.2 Objetivos particulares.....	18
2. Hipótesis.....	19
3. Materiales y métodos.....	20
3.1 Preparación de la perlita.....	20
3.2 Preparación del sustrato.....	21
3.3 Inoculación e incubación del sustrato.....	22
3.4 Preparación de la cobertura.....	23
3.5 Preparación de contenedores y fructificación de sustratos.....	23
3.6 Cosecha de champiñones.....	25
3.7 Recolección y análisis de datos.....	25
4. Experimentos y resultados.....	27
4.1 Preparación del sustrato.....	28
4.2 Efecto del tratamiento térmico de la capa de cobertura sobre la producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos de trigo estéril.....	29
4.3 Efecto del tratamiento térmico (temperatura y duración) de la capa cobertura y el uso de suplementos comerciales sobre la producción de <i>Agaricus bisporus</i>	33
4.4 Efecto del tratamiento térmico (temperatura y duración) de la capa de cobertura y de aumentar 25% el espesor de las capas del sistema de producción.....	38
5. Discusión.....	44
6. Conclusiones.....	48
7. Recomendaciones.....	49
8. Bibliografía.....	51
Anexos.....	54

RESUMEN.

La producción comercial de champiñones requiere de la preparación de sustratos por composteo de residuos orgánicos, esencialmente pajas y estiércoles. La producción en sustratos de grano estéril resulta una buena alternativa para eliminar el proceso de composteo que requiere de una infraestructura compleja y de manejar grandes volúmenes de materiales. En este estudio, se evaluó la producción de champiñones en un sustrato no composteado a base de grano de trigo estéril colocado sobre una capa de perlita. Se utilizó una capa de cobertura comercial a base de turba (con un espesor de 2 cm) la cual fue sometida a distintos tratamientos térmicos, 120°C por 30 min, 80°C por 30 y 60 min, que se comparó con una cobertura sin tratamiento térmico alguno. Se optimizó el tratamiento térmico de la cobertura, la adición de suplementos al trigo estéril y el espesor de las 3 capas de este sistema de producción, perlita, trigo con suplementos y capa de cobertura.

En un primer experimento, la cobertura (con un espesor de 2 cm) fue sometida a tratamientos térmicos por diferentes períodos de tiempo (120°C/30 min, 80°C/30 min, 80°C/60 min y una cobertura sin tratamiento térmico). El sustrato fue adicionado con 5% de un suplemento comercial (Monteblanco) y la cobertura con 10% de carbón activado. La mayor producción (6.5 kg/m²) se obtuvo con el tratamiento a 80°C por 60 min mientras que la cobertura sin tratamiento térmico produjo 4.3 kg/m², aunque después de la primera cosecha presentó seria contaminación.

En un segundo experimento se incrementó en un 50% el espesor de la capa de cobertura, de 2 a 3 cm, debido a que en el experimento previo se observó un crecimiento micelial excesivo, manteniéndose la adición de carbón activado (10%). Se utilizó el mismo nivel de suplementación (5%) con 2 suplementos comerciales, Monteblanco y Promycel Gold®, así como una mezcla de gluten + salvado. Se tomó como referencia el tratamiento a la cobertura a 80°C por 60 min,

para compararlo con los tratamientos a 80°/30min, 100°C/20 min y una vez más con la cobertura sin tratamiento térmico. Como en el primer experimento se observó en la cobertura un crecimiento vegetativo abundante, un factor que inhibió el crecimiento de los champiñones. No obstante, la mayor producción (6.3 kg/m²) se obtuvo con el tratamiento a 80°C por 30 min demostrándose que tratamientos térmicos moderados a la cobertura generan buenas producciones. Por otro lado, la cobertura sin tratamiento térmico mostro una mayor producción (5.7 kg/m²), que la obtenida en el primer experimento, aunque también como en el primer experimento, esta cobertura presentó contaminación después de la primera cosecha.

En un tercer experimento para buscar un aumento en la productividad, se aumentó en un 25% todas las capas del sistema de producción (perlita, sustrato y cobertura). Se adicionó la misma proporción de carbón activado en la cobertura (10%) y el 5% de suplementación con la mezcla gluten + salvado y el suplemento comercial Monteblanco. A partir de los resultados previos, se decidió utilizar una cobertura con un tratamiento térmico moderado, a 80°C por 30 y 60 min, comparándola con una cobertura sin tratamiento térmico. Los más altos rendimientos se obtuvieron con el suplemento comercial Monteblanco (9.3 kg/m²) con el tratamiento a 80°C por 30 min y al suplementar con gluten + salvado con el tratamiento por 30 min (8.8 kg/m²) y por 60 min (9.0 kg/m²).

1. INTRODUCCIÓN.

El champiñón (*Agaricus bisporus*) es ampliamente cultivado en el mundo, con ventas anuales en E.U. de 880 millones de dólares anuales (USDA 2004). En México se estima que la producción de champiñón es de 59,349 toneladas al año (Bechara, 2005, 2006a, 2006b, 2009).

En el método tradicional para la producción de champiñones se prepara un sustrato por composteo de residuos agropecuarios, pajas y estiércoles. Este es un proceso que implica el manejo de grandes volúmenes de materiales, requiere de una infraestructura de gran complejidad y maquinaria muy costosa. Los costos de operación son altos y demanda de gran cuidado para lograr un sustrato selectivo para el champiñón. Una desventaja adicional de la producción de sustratos por composteo es la formación de compuestos volátiles mal olientes generados por este proceso, los que dan origen a quejas por los habitantes cercanos a estas instalaciones. Este es un aspecto importante a resolver y además representa riesgos en cuanto a la aceptación de las plantas productoras de champiñones, es necesario evitar la contaminación al medio ambiente, tanto por las emanaciones gaseosas como por los efluentes líquidos que fluyen de las pilas de composta y de los túneles de fermentación.

Una propuesta para eliminar los problemas asociados al composteo de residuos agropecuarios es por medio de la preparación de sustratos en granos de cereal estériles, utilizando esencialmente el mismo proceso empleado para la preparación de los inóculos (o semilla) que actualmente se emplean para inocular los sustratos preparados por composteo. Existen varios aspectos de esta propuesta que requieren ser afinados y adecuados a las condiciones locales para lograr un proceso viable. El tratamiento térmico de la capa de cobertura y el uso de suplementos para lograr altos rendimientos revisten gran importancia para este fin.

1.1 ANTECEDENTES.

1.1.1 El Proceso comercial para la producción de champiñones

Preparación del sustrato. *Agaricus bisporus* es un hongo que de manera natural produce sus cuerpos fructíferos, comúnmente conocidos como champiñones, en el piso de los bosques templados durante los meses del verano tardío o inicios del otoño. Como todos los hongos, *A. bisporus* es un organismo heterótrofo, en particular es un degradador secundario que puede establecerse selectivamente en ambientes con materia orgánica degradada como el humus que se encuentra en el piso de los bosques, este representa entonces un sustrato natural que le ofrece una fuente de nutrientes específica y selectiva.

Para la producción comercial de champiñones ha resultado ventajoso preparar entonces un sustrato que asemeje la composición y estructura del material que se encuentra en el piso de los bosques. Esto se realiza por un proceso conocido como “composteo” en donde participan tanto reacciones químicas de tipo Maillard como la fermentación producida por la comunidad microbiana que se genera durante el proceso. Se obtiene así un sustrato selectivo que es conocido como “composta”. Se han utilizado diversas materias primas, en combinaciones y proporciones variadas y actualmente en la mayor parte de los procesos comerciales se emplean pajas de trigo, sorgo o centeno en combinación con una fuente de nitrógeno como la pollinaza, el residuo generado en la producción de pollos de engorda. Estos materiales son rápidamente mezclados y mojados a saturación para someterlos a un proceso de fermentación aerobia termofílica. Ya que debe asegurarse un suministro adecuado de oxígeno, los materiales son frecuentemente mezclados y aireados o bien procesados en instalaciones especiales conocidas como bunkers y/o túneles de fermentación, que cuentan con sistemas de inyección de aire fresco. Éste proceso se lleva a cabo en 2 etapas conocidas como “Fase I” y “Fase II”, la primera se realiza en patios de composteo al aire libre y en instalaciones cerradas con sistemas de inyección de aire fresco, los bunkers, y en la Fase II, el proceso de preparación del sustrato selectivo se finaliza en túneles de fermentación, conocidos como túneles Fase II.

Durante la Fase I los materiales deben ser mezclados y llevados a su máxima capacidad de retención de agua para asegurar un rápido inicio de la fermentación y que las temperaturas se eleven rápidamente al rango termofílico para lograr el ablandamiento de la pared celular de las pajas y la incorporación del nitrógeno de la pollinaza. En la Fase I se alcanzan temperaturas cercanas a los 80 °C como resultado del desarrollo de reacciones de Maillard, sobretodo en el centro del material en fermentación, mientras que en las partes externas se presenta una fermentación termofílica debida principalmente a la comunidad bacteriana. Ya en la Fase II, se busca que todo el sustrato sea sometido a las condiciones de fermentación termofílica y a un proceso de pasteurización con el objeto de eliminar los microorganismos e insectos patógenos que durante la Fase I sobrevivieron en las partes externas y frías del sustrato.

Al final de la Fase II, se obtiene un sustrato selectivo para el micelio de *A. bisporus*, libre de patógenos, con una degradación avanzada de la materia orgánica, libre de fuentes de carbono y de nitrógeno de fácil asimilación y con una humedad adecuada para el desarrollo vegetativo de *A. bisporus*, aproximadamente 68%. El micelio de *A. bisporus* es inoculado en el sustrato utilizando semilla esterilizada de cereales, trigo o mijo, en donde se ha propagado el micelio de *A. bisporus*. Este inóculo se desarrolla rápidamente en el sustrato hasta su completa colonización en 10 a 14 días (Sanchez *et al.*, 2007).

Capa de cobertura. La capa de cobertura es el material que se aplica sobre la superficie del sustrato, una vez que éste ha sido colonizado por el micelio de *A. bisporus* y sobre esta se desarrollarán los cuerpos fructíferos, los champiñones. La capa de cobertura cumple entonces con varias funciones: constituye un soporte físico, protege la superficie del sustrato colonizado contra la desecación y contaminaciones, absorbe una gran cantidad de agua y proporciona el agua necesaria para el crecimiento y desarrollo del micelio y de los cuerpos fructíferos, contiene y favorece los factores que inducen la fructificación y proporciona un ambiente aireado al micelio. Una variedad de materiales pueden ser empleados para la cobertura, la turba es el más frecuentemente utilizado pero también se

emplea suelo mineral o composta agotada de la producción de champiñón (Pardo, 1997).

Una condición que debe presentar la capa de cobertura es el mantenimiento de una estructura adecuada, incluso después de ser regada varias veces. Se precisa de cierta porosidad que permita los intercambios gaseosos aunque sean limitados. Es conveniente una estructura granulosa, pues entre estas partículas puede desarrollarse cierto microclima que permite el desarrollo de los primordios (las estructuras iniciales de los cuerpos fructíferos) sin riesgo de desecación. La cobertura debe estar bien húmeda antes de colocarla sobre el sustrato, pero no tan mojada que impida su manejo fácil al extenderla ya que debe mantener una estructura granulosa evitando que se compacte, ya que debe permitir un buen intercambio de gases. La capa de cobertura debe, además tener un pH adecuado, entre 7.0 y 7.5, por lo que generalmente se agrega carbonato de calcio para servir como buffer debido a que durante el desarrollo de *A. bisporus* se liberan ácidos (en especial ácido oxálico).

El espesor de la cobertura, depende entre otras cosas, de la profundidad de la capa de sustrato, pero al usar una capa de cobertura de espesor grande hay que esperar uno o dos días para que comience la cosecha. Por otro lado, una vez que se tiene la cobertura lista para extenderla sobre el sustrato, se le debe repartir lo más uniforme posible. De no hacerse así, el micelio podría alcanzar la superficie en unos sitios antes que otros, lo que trae aparejado problemas diversos. Por un lado, se dificulta el riego ya que las partes con menor espesor son fácilmente inundadas mientras que el resto de la cobertura permanecería seca, adicionalmente esto provocaría que los primordios se formen a distintas profundidades provocando que se produzcan champiñones sucios, con restos de tierra.

La turba es el material más frecuentemente utilizado como capa de cobertura en la producción comercial de champiñones, es un material orgánico compacto, de color oscuro, rico en humus que proviene de la descomposición de los materiales vegetales en ecosistemas de pantanos de hace aproximadamente 350 millones de

años, contiene cerca del 50% de materia orgánica y es considerado como el mejor producto para cobertura, principalmente porque posee una alta capacidad de retención de agua, una estupenda estructura porosa y está libre de organismos patógenos. En general, al usar turba es posible utilizar una cobertura de mayor profundidad que con suelo mineral, ya que éste tiende a compactarse fácilmente. Se debe resaltar la importancia del espesor de la capa de cobertura añadida, ya que influye directamente sobre la producción de primordios y con ello en el rendimiento/producción total de champiñones. La profundidad de la capa de cobertura más recomendable es de 4 a 4.5 cm, espesores menores de la capa genera problemas en la capacidad de retención de agua y disminuye el tamaño y rendimiento de champiñones (Sinden y Schisler, 1962; Schisler y Wuest, 1982).

1.1.2 El control del medio ambiente después de la cobertura y la formación de primordios

Adicionalmente a la aplicación de la capa de cobertura, para la producción de cuerpos fructíferos de *A. bisporus*, es necesario proporcionar también las condiciones ambientales dentro de la cámara de producción que conduzcan a la fructificación, esencialmente se reduce la temperatura y se aumenta la ventilación (aireación) para reducir el nivel de dióxido de carbono desprendido por la biomasa del hongo (Long y Jacobs, 1974; Schisler, 1982). Después de haberse aplicado la cobertura hay que regular la temperatura y la ventilación, de forma que el micelio pueda desarrollarse rápidamente en la capa de cobertura, hasta que se encuentre a varios milímetros de la superficie en donde debe comenzar la formación de los primordios. La temperatura óptima para el crecimiento del micelio es de 22-24°C y durante la formación de los primordios la temperatura deberá mantenerse entre 15-16°C. Para la incubación y el desarrollo del micelio se requieren concentraciones altas de dióxido de carbono, alrededor de 5000 ppm y posteriormente para el desarrollo de los primordios hay que aumentar la aireación para disminuir la concentración de CO₂ a valores entre 800-1200 ppm. Durante la etapa de la cosecha se debe mantener una buena ventilación, sobre todo si hay muchos champiñones, ya que solamente con una ventilación adecuada se producen altos rendimientos con champiñones sanos y sin malformaciones.

Después de aplicar la cobertura, el micelio que ha colonizado el sustrato empieza a desarrollarse vegetativamente en la cobertura. Conforme avanza hacia la superficie de la cobertura requiere de las condiciones necesarias para el desarrollo vegetativo, es decir una temperatura promedio de 25 °C y poca ventilación con aire fresco con el objeto de mantener altos niveles de CO₂, factores que favorecen el desarrollo vegetativo. Cuando el micelio se encuentra a unos milímetros de la superficie de la cobertura es el momento en que debe inducirse la transición de un desarrollo vegetativo, el crecimiento miceliar, a un desarrollo generativo, en donde el organismo entra en una fase reproductiva que implica la formación de cuerpos fructíferos. Esto se logra mandándole señales al micelio para que esto ocurra, se aplican riegos fuertes que inhibien el crecimiento miceliar y se modifican las condiciones ambientales. Manteniendo una alta humedad ambiental, 85%, se aumenta la ventilación con aire fresco con el objeto de disminuir los niveles de CO₂. Bajo estas condiciones, el crecimiento vegetativo se detiene y el micelio se reorganiza formando pequeñas aglomeraciones de micelio, a manera de pequeñas esferas, que se conocen como “primordios”, que son las estructuras iniciales que preceden a la formación de los cuerpos fructíferos.

Si la capa de cobertura no se aplicó de forma homogénea, cuando el micelio comienza a alcanzar la superficie de la cobertura, las zonas donde la capa de cobertura se encuentra más delgada deben ser “retocadas” de tal manera que se nivelen las partes más delgadas y se distribuyan las zonas que tienen micelio y las que no tienen micelio sobre toda la capa de cobertura.

Si durante esta fase se mantiene por mucho tiempo una temperatura demasiado elevada, y si el movimiento de aire sobre la cobertura es insuficiente, el micelio se desarrollará abundantemente en la superficie, sin formar primordios. Esto se conoce como “estroma” y cuando la capa de cobertura está invadida por este “estroma” casi no absorbe el agua de los riegos. Durante este período la humedad relativa del aire en la cámara de cultivo debe mantenerse a 85-90%. Es muy importante mantener una ventilación constante con aire fresco húmedo durante toda la formación de primordios y debe evitarse regar el cultivo ya que los primordios son muy sensibles al agua y pueden morir (Vedder, 1991).

1.1.3 Producción de champiñones en sustratos a base de grano.

El sistema de producción comercial de *Agaricus bisporus* se basa enteramente en el compostaje como un medio para generar sustrato selectivo para el champiñón, y todos los aspectos de este sistema tradicional están diseñados para la preparación, proceso y manejo de estos sustratos composteados. El sustrato es una composta preparada a partir de una mezcla de pajas y estiércoles adicionados con suplementos de liberación retardada, que ha sido refinado para una máxima producción de champiñón, y adoptado extensamente por los productores de champiñones alrededor del mundo. Este sistema entretanto, representa una problemática ambiental, emisión de olores y efluentes líquidos con alta carga contaminante, así como la necesidad de disponer de grandes cantidades de sustrato residual, problemas que se intensifican con la expansión urbana.

El compostaje consiste en una degradación de materia orgánica (de origen animal y vegetal) por una población heterogénea de microorganismos para convertirla en un material similar al humus de los bosques. Es un proceso a menudo maloliente, prolongado (puede tomar un poco más de 3 semanas), y un paso laborioso en la producción del champiñón (*Agaricus bisporus*) (Derikx *et al.*, 1990). Se requiere de equipo especializado y grandes áreas de trabajo y durante el proceso de composteo al irse agotando el oxígeno se producen malos olores, lo que se ha convertido en una preocupación para los productores, por los efectos adversos que ocasionan en los residentes cercanos a las plantas de producción. Para incrementar la producción de champiñones en sustratos composteados, los sustratos son suplementados con nutrientes de liberación retardada que consisten de oleaginosas o compuestos proteicos (Carroll y Schisler, 1976; Nair *et al.*, 1993; Romaine y Marlowe, 1993).

Para sembrar los sustratos preparados por composteo se utiliza el micelio propagado en semillas estériles de gramíneas. Este es un proceso ya establecido por mucho tiempo y existen empresas especializadas en la producción de estos inóculos para los productores de champiñones ya que requiere de instalaciones especiales y cuidados muy estrictos para evitar la contaminación de un material

tan rico en almidones como son los granos de cereales. Frecuentemente, estos inóculos se recubren justo antes de ser añadidos al sustrato, con una mezcla de carbonato de calcio y metil-tiofanato para el control del patógeno *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum* (Royse y Romaine, 2002). Se ha planteado la posibilidad de sustituir las compostas tradicionales por este material, los granos estériles invadidos con el micelio del champiñón, como sustrato para la producción misma de champiñones. Sin embargo, los granos de cereal presentan altos niveles de almidón lo que lo hace sumamente susceptible a la contaminación con una diversidad de microorganismos. El almidón solamente estará disponible para los microorganismos después que haya gelatinizado (aunque hay algunos microorganismos que pueden degradar el almidón sin gelatinizar) (Raimbault, 1998). El contenido óptimo de humedad para el sustrato y el crecimiento del hongo se encuentra en el intervalo que va del 40-70% (Raimbault, 1998). Además, la actividad de agua (a_w) óptima para proliferar depende de los microorganismos. Por un lado, las bacterias requieren valores de a_w mayores a 0.9, mientras que los hongos requieren a_w 's mayores a 0.68 con un a_w óptimo entre 0.8-0.96 para su desarrollo (Raimbault, 1998). Por lo tanto, hay pocos trabajos en la literatura dirigidos al crecimiento de *A. bisporus* en grano, en contraste con el compostaje.

Algunos estudios han demostrado que la producción de *A. bisporus* no está limitada al sustrato derivado del compostaje (Till, 1962; Sanchez y Royse, 2001; Mamiro *et al.*, 2007). La producción también es posible en varios sustratos sintéticos (no composteados), algunos de los cuales están compuestos principalmente de granos de cereales (Bechara *et al.*, 2004). Adicionalmente, uno de los beneficios, entre otros, de utilizar sustratos de grano en la producción de champiñones es la eliminación de olores producidos durante el proceso, así como el corto tiempo de proceso de preparación (pocas horas) y que el sustrato al final de la producción puede ser utilizado como alimento para animales. Abriendo un nuevo mercado a la industria de champiñones. Un enfoque más radical al uso del compostaje, investigando el empleo de sustratos no composteados (SNC) a base de grano para la producción de champiñones permitiría la eliminación de la etapa

de compostaje en la producción de estos (Till, 1962; San Antonio, 1971; Mee, 1978; Sanchez y Royse, 2001; Bechara *et al.*, 2006 a,b).

Los primeros experimentos para la producción de *A. bisporus* sobre SNC fueron iniciados en los primeros años de la década de los 1960's. Till (1962) demostró que el rendimiento de *A. bisporus* sobre una mezcla estéril no composteada de rastrojo de trigo molida, harina de semilla de algodón, turba y carbonato de calcio igualaba o sobrepasaba el obtenido con composta fase II. El sustrato era esterilizado, inoculado asépticamente y mantenido axénicamente hasta que el hongo había colonizado totalmente el sustrato. Una vez que el sustrato era colonizado este se cubría con capa de cobertura no estéril y los hongos eran cosechados a medida que maduraban.

Till (1962) desarrolló lo que es comúnmente conocido como el "sustrato de Till", el cual consistía primeramente de paja molida y picada, turba rubia, carbonato de calcio, harina de semilla de algodón y harina de soya. Después mezclando, humectando y esterilizando el sustrato, fue inoculado con *A. bisporus*. El micelio tomó más tiempo para crecer comparado con la composta. Sin embargo, la producción en kg/ton del sustrato fue mayor. Este proceso nunca fue adoptado por los altos costos de operación. Por otro lado, Huhnke y Von Sengbush (1968) simplificaron el proceso de Till reemplazando la esterilización por pasteurización, pero con resultados inconsistentes. Lemke (1965) siguió la caracterización del sustrato mediante un análisis de la humedad, el pH antes y después de la esterilización y el contenido de nitrógeno, utilizando también harina de semilla de algodón a la capa de cobertura y señaló la tendencia del sustrato a sobrecalentarse cuando la harina era agregada.

Los sustratos no composteados a base de grano fueron reportados por primera vez por San Antonio (1971) en el cual granos de centeno esterilizados y colonizados con *A. bisporus* fueron empleados como sustrato para la producción de champiñones. San Antonio (1971) tuvo éxito en demostrar que la semilla de grano puede ser utilizada como un sustrato para la producción de champiñones. Ya que el contenido de humedad de la semilla de grano va del 43% al 50%, la

adición de una capa subyacente de material retenedor de agua, tal como la perlita, probablemente incrementará la disponibilidad del agua para el desarrollo de los hongos, sin la necesidad de incrementar la humedad de la semilla de grano. Es específicamente importante conocer que el hongo recibe 54-83% del agua que requiere del sustrato, y 17-46% de la cobertura (Kalberer, 1990).

En el método de producción de champiñones de *A. bisporus* desarrollado por San Antonio (1971) se utilizó grano de centeno mezclado con carbonato de calcio y agua destilada (20g centeno/0.4g CaCO₃/20ml agua destilada) que se esterilizó (121°C por 60 min). Después de la esterilización los granos de centeno se inoculaban con 10 a 20 granos de inóculo colocados asépticamente y cubiertos con una cobertura pasteurizada cuando el grano había sido colonizado. Una vez que el micelio apareció en la superficie se incrementó la aireación y se obtuvieron los champiñones. Por otro lado la capa de cobertura puede ser añadida antes de que el sustrato sea colonizado completamente resultando en una producción temprana del champiñón. San Antonio (1971) concluyó que la cantidad de champiñones producidos fue comparable a los que se obtienen de manera convencional por composta.

Más recientemente, Sánchez y Royse (2001) mostraron que una mezcla pasteurizada de aserrín, centeno, turba, alfalfa, flor de soya, salvado de trigo y carbonato de calcio fue adecuada para la producción de Portobello, una variedad de color café de *A. bisporus*. La máxima eficiencia biológica alcanzada (peso fresco de champiñón dividido por el peso seco del sustrato) fue 77.1% y la producción fue de 31.4 kg/m².

Explorando nuevas opciones, Bechara (2004) investigó diferentes sustratos no composteados a base de semillas de gramíneas, estos fueron compuestos de granos de mijo mezclados con una proporción de perlita (material retenedor de agua) de la siguiente manera: 100/0, 75/25, 50/50, y 25/75 (grano/perlita). Para el sustrato de mijo, el tratamiento 75/25 produjo 7.69 kg/m² y fue comparable al crecimiento en composta el cual produjo 8.04 kg/m², en conjunto los tratamientos con grano de mijo fueron más productivos en términos de la producción. Bechara

(2004) determinó que el contenido de humedad de la semilla de grano de mijo fue en promedio del 58%, siendo este menor al sustrato de composta que está dentro un intervalo de 63 a 68% (Gerrits, 1972). Para poder incrementar el contenido de agua al utilizar un sustrato a base de grano es necesario hacer uso de materiales retenedores de agua para la producción de champiñones en sustratos no composteados con esta base. Bechara *et al.* (2006a) adaptó la formulación de sustrato no composteado empleada por San Antonio (1971) para un sustrato compuesto de grano de mijo. La producción con grano de mijo (8.7 kg/m²) fue similar con la composta (7.7 kg/m²).

En los sustratos tradicionales a base de composta, la producción de champiñones se ha incrementado marcadamente, debido al desarrollo de cepas híbridas de alto rendimiento, mejoras en el proceso de compostaje y, más importante, la adición de compuestos ricos en nitrógeno (Sonnenberg, 2000). De hecho, en la producción comercial de champiñón *Agaricus*, los compuestos ricos en nitrógeno están clasificados también como activadores o como suplementos (Nair *et al.*, 1993).

Otro tipo de enfoque para la producción de champiñones en SNC ha sido propuesto por Sánchez *et al.* (2007) que evaluaron un sustrato no composteado compuesto principalmente de pasto Pangola y mostró que pre-tratando el sustrato con *S. thermophilum* mejoró la bioeficiencia del sustrato de 11% para el control, a 26.4% por este pre-tratamiento. Los autores afirman que hasta ahora, esto no es una alternativa económicamente viable al sistema tradicional de producción, incluso teniendo en cuenta un sistema que utiliza sustratos de grano. Por otro lado, Mamiro *et al.* (2007) demostraron que una combinación de composta agotada de champiñón mezclada con un sustrato no composteado, basada en una formulación utilizada por Sanchez y Royse (2001), fue también una alternativa viable para reducir, pero no eliminar, el compostaje de la preparación del sustrato.

Una mejor comprensión del estado actual de la técnica de los sistemas de producción de champiñones con sustratos composteados es esencial para mejorar la producción de champiñones en sustratos no composteados (Bechara, 2007).

Para la producción de champiñones es indispensable colocar una capa de cobertura sobre los sustratos (compostado o no compostado) para que se puedan formar los cuerpos fructíferos de *A. bisporus*, este es un requerimiento esencial para la producción de champiñones (San Antonio, 1975). Si bien la turba, es un material ampliamente utilizado para la fructificación de champiñones, para la capa de cobertura es posible utilizar diferentes materiales tales como, composta de champiñón agotada, suelos calizos y arcillosos, vermiculita, entre otros (Schisler, 1982). En cualquier caso, la capa de cobertura debe estar libre de microorganismos patógenos por lo que estos materiales deben sanitizarse, pero no obstante, al mismo tiempo se requiere de la presencia de ciertos microorganismos que son esenciales para que ocurra la fructificación por lo que la esterilización o un tratamiento drástico de la cobertura reduce la producción de champiñones. Sin embargo, se ha demostrado que el efecto producido por los microorganismos benéficos puede ser sustituido por la adición de carbón activado a la cobertura estéril (Eger, 1972; Long y Jacobs, 1974; Noble *et al.*, 2003). Bechara *et al.* (2006a) plantean que con sustratos de grano (mijo) estéril es conveniente esterilizar la cobertura para eliminar contaminantes microbianos indeseados que en este caso pueden incrementar la variabilidad en la producción debido a la gran susceptibilidad a la contaminación del sustrato de grano estéril. Sin embargo, en la producción comercial de champiñones la cobertura no es esterilizada, por lo que resulta importante evaluar la posibilidad de lograr una producción estable en sustratos de trigo estéril con coberturas sometidas a tratamientos térmicos menos drásticos.

Como ya se dijo anteriormente, la cobertura es una capa de turba neutralizada que se coloca sobre el sustrato de champiñón que es esencial para la fructificación de *A. bisporus*. Entre otras cosas, es indispensable para la creación de un gradiente de dióxido de carbono o de otros compuestos volátiles todavía no identificados que permiten inducir la fructificación, aunque también se ha planteado que es posible que actúe en la remoción de inhibidores específicos de la fructificación del champiñón (Tschierpe, 1959; Eger, 1961; Peerally, 1978; Noble *et al.*, 2003). Se ha observado consistentemente que al esterilizar la cobertura se producen solo

unos pocos champiñones y, en algunos casos, la fructificación es completamente inhibida.

Una hipótesis sugiere que los microorganismos dentro de la cobertura, específicamente la bacteria *Pseudomonas* spp. son responsables de la fructificación, por lo que la esterilización de la cobertura inhibe o retarda la formación de champiñones (Cresswell y Hayes, 1979; Eger, 1972; Hayes *et al.*, 1969). No obstante, el carbón activado (CA) mostró consistentemente el restablecimiento de la producción de champiñones en sustratos con cobertura estéril (Bechara *et al.*, 2006; Long y Jacobs, 1974; Verbeke y Overstyns, 1991; Noble *et al.*, 2003; Peerally, 1978). Se ha visto que también otros materiales favorecen la formación de primordios (estructuras precursoras del champiñón) en la cobertura estéril como son la zeolita, lignita, y carbón (Noble *et al.*, 2003). Por otra parte, Verbeke y Overstyns (1991) desarrollaron una teoría describiendo la función del carbón activado en la turba tratada térmicamente en la cual el carbón activado parece afectar las reacciones del dióxido de carbono en el agua de la cobertura. En una cobertura no estéril, el dióxido de carbono desprendido por la actividad metabólica del hongo entra en contacto con el agua en la cobertura y este es convertido en ácido carbónico, el cual reacciona a su vez con el carbonato de calcio para liberar calcio y iones bicarbonato (Verbeke y Overstyns, 1991). El calcio precipita al oxalato, un compuesto quelante exudado por el micelio (que tiene un efecto de inhibición en la producción de champiñones), y hace al oxalato no reactivo (Verbeke y Overstyns, 1991).

Cuando la cobertura con cal es tratada térmicamente se produce una reducción en la reacción buffer de bicarbonato-carbón, que puede conducir a menos calcio disponible para la precipitación de oxalato (Hayes, 1981; Verbeke y Overstyns, 1991). Sin embargo, algunos carbones activados pueden absorber dióxido de carbono (Cao y Wu, 2005). Adicionalmente, el hierro en su forma reducida inhibe la producción de champiñones y el oxalato, como se dijo anteriormente, es un quelante de metales lo que explicaría un efecto adicional. De manera similar, el carbón activado mostró ser capaz de absorber compuestos de hierro con

preferencia por el ion Fe^{2+} , el cual es más inhibitor que el Fe^{3+} para la formación de los primordios (Verbeke y Overstyns, 1991; Uchida *et al.*, 2000).

Aparte del retraso y la reducción en la producción de champiñones que se presenta cuando la cobertura es sometida a una temperatura de pasteurización prolongada, un efecto adicional reportado por Schisler (1982) es el incremento en la germinación de esporas de *Verticillium fungicola*, un patógeno del cultivo comercial de champiñones. Chikthimmah y Beelman (2006) demostraron que el tratamiento térmico a la cobertura también condujo a la re-introducción artificial y crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp., mientras que estos patógenos fueron inhibidos cuando se usó cobertura no estéril.

1.1.4 Factores que influyen la producción de champiñones en sustratos a base de grano.

Con el paso del tiempo, ha resultado importante, para lograr implementar este sistema de producción de champiñones comercialmente, encontrar una manera de aumentar la rentabilidad del mismo. Para ello, se ha buscado identificar aquellos factores que propician una buena o mayor producción de champiñones en sustratos a base de grano. Se ha observado en trabajos anteriores, que la producción de champiñones mediante este sistema se ve influenciada por los siguientes factores, los cuales tienen un efecto significativo sobre la producción/rendimiento de champiñones. Esto último con el fin de optimizar o estandarizar este sistema de producción.

La producción de champiñones en sustratos a base de grano está influenciada por:

- Cantidad y tipo de suplemento (Bechara *et al.*, 2005a).
- Adición de carbón activado para una cobertura estéril y no estéril (Bechara, 2009).
- Colocar una capa de materiales retenedores de agua por debajo del sustrato de grano (Bechara *et al.*, 2005b).

1.2. JUSTIFICACIÓN.

En la producción industrial de champiñones, la pasteurización de la cobertura es recomendada para reducir la incidencia de organismos contaminantes de los cultivos de champiñones, especialmente los que pueden generarse desde el sustrato (composta) o bien provenir de la misma cobertura (Bechara, 2009). Sin embargo, al utilizar tratamientos térmicos prolongados se ha observado un retraso y reducción del rendimiento. Schisler (1982) ya había demostrado que el tratamiento térmico prolongado a la capa de cobertura incrementa la germinación de las esporas de *Verticillium fungicola*, un hongo patógeno artificialmente introducido a la cobertura después del tratamiento térmico (Bechara, 2009). Por otro lado, Chikthimmah y Beelman (2006) también demostraron que el tratamiento térmico prolongado de la cobertura fue propicio para la introducción y crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp*, mientras que estos patógenos se inhibieron cuando se utilizó una cobertura no estéril. No obstante, Bechara (2009) después de varios estudios para la producción de champiñones en sustratos no composteados de grano estéril, propone un tratamiento térmico de la cobertura bajo condiciones muy drásticas, 120 °C por 2 horas, lo que implica esencialmente su esterilización.

Para dar sustentabilidad a la producción de champiñones en sustratos no composteados de trigo estéril, resulta entonces importante evaluar la posibilidad de someter a la cobertura a tratamientos térmicos moderados que permitan rendimientos aceptables de champiñones de alta calidad y con menores costos de operación al evitar el uso de autoclave para el tratamiento de la cobertura.

1.3. OBJETIVOS.

1.3.1 Objetivo general.

Evaluar diferentes tratamientos térmicos y su duración aplicados a la cobertura para comparar el efecto que esto tiene en el rendimiento de la producción de champiñones en sustratos de grano estéril.

1.3.2 Objetivos particulares.

- Disminuir los tiempos para la producción de champiñones.
- Disminuir el gasto energético aplicado a la cobertura mediante procesos térmicos “suaves” para mejorar la producción.

2. HIPÓTESIS.

Hipótesis.- Disminuyendo tanto el tiempo como la intensidad del tratamiento térmico a la cobertura, la producción de champiñones no se verá mermada y se obtendrán rendimientos similares a los que se obtienen en el proceso de compostaje.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

El proceso para la producción de champiñones en sustratos de grano estéril conlleva ciertos procedimientos generales para todos los experimentos realizados, sin embargo, se realizaron ciertas modificaciones en estos procedimientos para los 3 distintos experimentos llevados a cabo, las cuales se describen en las siguientes secciones:

3.1 Preparación de la perlita

La perlita es un material silíceo poroso, granular de origen volcánico extraído de los flujos de lava. Es usada en varios sistemas hidropónicos, esta incrementa la aireación y puede retener de 3 a 4 veces su peso en agua (Hall *et al.*, 1988). La perlita (Agrolita® S.A de C.V) se utilizó como material retenedor de agua para suministrar los requerimientos de agua para la formación de champiñones. La perlita se preparó (Figura 3.1) saturándola con un exceso de agua durante 10 minutos, después de ese tiempo se drenó el exceso mediante un colador y se procedió a esterilizarla empacándola en bolsas de polipropileno que a su vez se colocaron dentro de un costal de tela sujetado con una liga a 121°C/20min y 15 lbs de presión. Una vez terminada la esterilización, 2000 ml de perlita húmeda estéril se colocaron en la base del contenedor utilizado para la producción de champiñones.

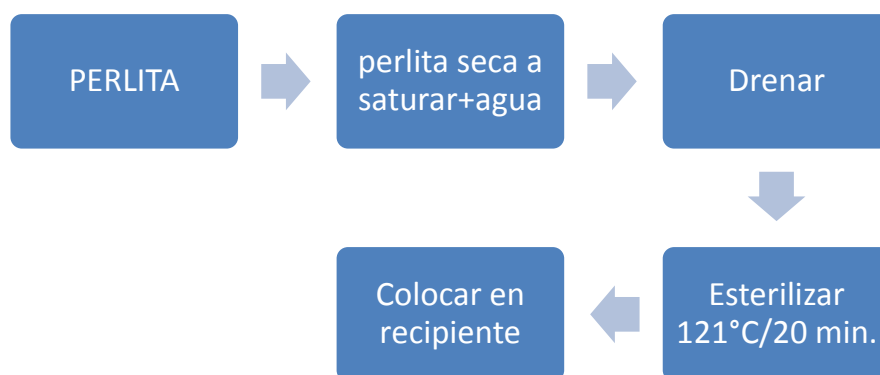


Figura 3.1 Esquema de preparación de perlita.

El mismo procedimiento se siguió en el segundo experimento. Para el tercer experimento, la perlita fue preparada de igual forma pero se incrementó la cantidad de perlita en un 25%.

3.2 Preparación del sustrato

Para la producción de champiñones se utilizó como sustrato, grano de trigo (comprado en la central de abastos); el cual se lavó con agua para eliminar los restos de basura u otros desechos que pudiera tener el trigo antes de utilizarlo. Posteriormente se drenó el exceso de agua y se colocó en un recipiente con agua en ebullición durante 30 a 45 minutos, con el objeto de gelatinizar el almidón presente en los granos. El grano cocido se vertió en un colador para eliminar el exceso de agua y se enfrió con chorro de agua fría para detener su cocción. El grano húmedo se pesó y se le adicionó CaCO_3 (1%) y CaSO_4 (0.3%) y se mezcló.

Posteriormente, el grano cocido se empacó en bolsas de polipropileno, adicionándole 5% de suplemento del peso total del sustrato (Bechara *et al*, 2005, 2006a, 2006b, 2009), es decir en cada bolsa se colocaron 760 g de grano cocido y 40 g con de suplemento. Una vez mezclados los materiales, las bolsas se colocaron dentro de costales de tela para evitar que se peguen durante la esterilización y se cierran con ligas en la parte superior tanto de la bolsa de polipropileno como el costal de tela. Las bolsas con sustrato (trigo y suplemento) se esterilizaron a 121°C y 15 lbs de presión por 2 horas (Figura 3.2).

En el primer y segundo experimento la cantidad de sustrato total por contenedor fue de 800 g (trigo + suplemento). Para el tercer experimento, se incrementaron en un 25% las cantidades de grano de trigo húmedo y de suplemento que se emplearon para cada contenedor, es decir, 1000g de sustrato total por contenedor manteniendo la suplementación al 5% (950 g trigo + 50 g suplemento). En el primer experimento se empleó únicamente suplemento comercial "Monteblanco", para el segundo y tercer experimento se utilizó también eventualmente un segundo tipo de suplemento comercial "Promycel" y una mezcla de gluten y salvado en proporción 75:25.

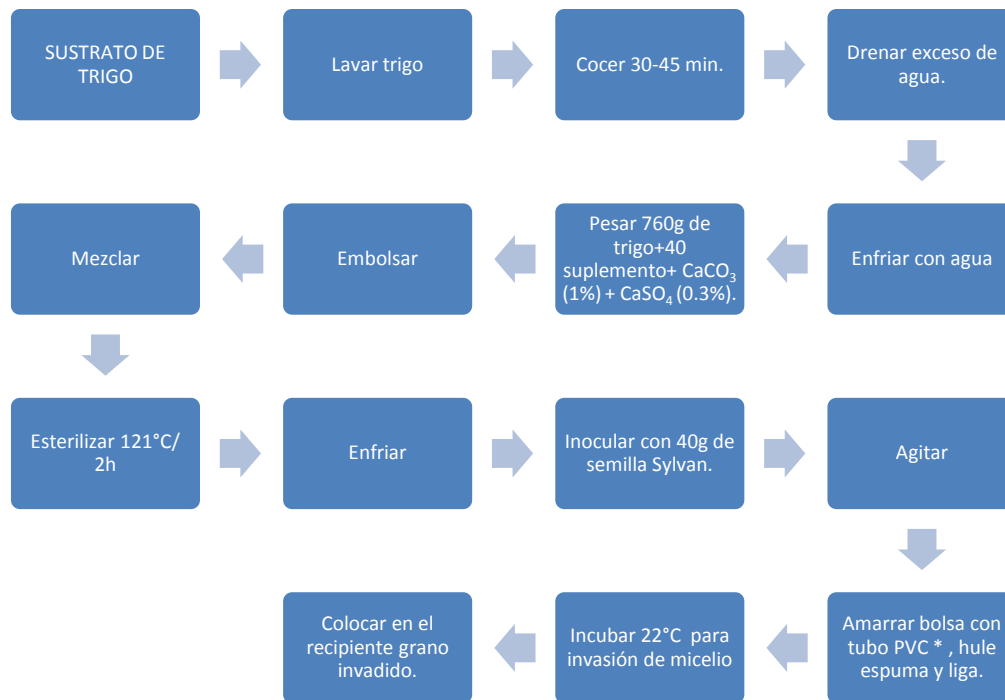


Figura 3.2 Esquema general de preparación del sustrato de grano estéril.

3.3 Inoculación e Incubación del sustrato

Después de la esterilización, una vez que los costales con sustrato de trigo se habían enfriado, se inoculó cada bolsa con 40g de semilla de champiñón (Sylvan, cepa A15 variedad blanca de *A. bisporus*, almacenada a 5°C para evitar su crecimiento). La inoculación se realizó en condiciones de asepsia (en campana de flujo laminar) para evitar la contaminación del sustrato. Posteriormente, las bolsas se incubaron a 22°C – 24°C por 14 días hasta la invasión completa del micelio. En el caso del segundo y tercer experimento, a los 10 días de incubación, las bolsas con el trigo invadido con micelio fueron manipuladas para romper el micelio en crecimiento y favorecer así un desarrollo más homogéneo en el trigo y prevenir que al final de la incubación el sustrato presentará zonas fuertemente amarradas por un excesivo crecimiento del micelio. En el caso del tercer experimento, la cantidad de sustrato utilizada se incremento del 25%, es decir, se utilizó 950 g trigo + 50 g suplemento.

3.4 Preparación de la cobertura

Para la preparación de la cobertura se empleó la mezcla de turba con CaCO_3 que se utiliza comercialmente por una empresa comercial productora de champiñones, (Champiñones Monteblanco). A este material, que se recibió ya hidratado, se le agregó carbón activado (Carbotecnia® S.A de C.V Zapopan, Jalisco) en una proporción del 10 % en volumen, mezclándolo con delicadeza para evitar destruir la estructura de la cobertura. Posteriormente esta mezcla fue sometida a alguno de los siguientes tratamientos térmicos: 2 h a $120^\circ\text{C}/15\text{lbs}$ (Figura 3.3) (Bechara *et al*, 2005, 2006a, 2006b, 2009), 120°C por 30 min y 80°C por 60 ó 30 min. También se empleó una cobertura sin tratamiento térmico alguno. En el primer experimento se aplicó una capa de cobertura de 0.02m (670 g), en el segundo experimento se aumentó el espesor de la capa de cobertura a 0.03m (1005 g) y en el tercer experimento se aumentó el espesor de la capa de cobertura en un 25% (0.0375m y 1251 g).

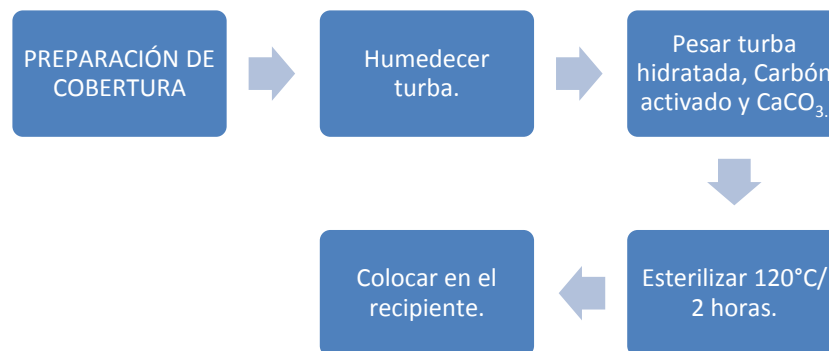


Figura 3.3 Esquema de preparación de la cobertura

3.5 Preparación de contenedores y fructificación de sustratos

Para seguir el modelo utilizado por Bechara *et al.*, 2009 lo más cercano posible, la producción de champiñones se realizó utilizando contenedores de plástico desinfectados con un área de 0.048m^2 (0.3m largo x 0.16 m ancho x 0.1 m de

altura a la ceja menor que se muestra en la Figura 3.4. Como se indica en la Tabla 3.1, se colocó en la base del contenedor una primera capa de perlita húmeda. Sobre esta, se distribuyó uniformemente una segunda capa con el sustrato de grano (con suplemento) invadido con micelio. Finalmente, se colocó la capa de cobertura sobre el sustrato de trigo invadido con micelio procurando una distribución homogénea y mantener su estructura porosa, evitando lo más posible que se compactara. En la Tabla 3.1 se indican también los espesores de las 3 distintas capas que se colocaron en los contenedores para la producción de champiñones para cada uno de los 3 experimentos realizados. Estas manipulaciones se realizaron manualmente en el primer experimento y en el segundo y tercer experimento con la ayuda de una “llana” de yesero para la nivelación de cada capa.

Tabla 3.1. Esquema de preparación de los contenedores para la producción de champiñón en sustratos de grano estéril.

Capas para producción de champiñones en sustratos de trigo	EXPERIMENTOS		
	1	2	3
	Espesor de cada capa (cm)		
Cobertura	2	3	3.75
Trigo invadido con micelio	2.8	2.8	3.5
Perlita húmeda	4.2	4.2	5.25

Los contenedores ya preparados con sus 3 capas se cubrieron con una película de plástico para incrementar la concentración de CO₂ y se colocaron en el cuarto de incubación a 22°C-24°C. Una vez que el micelio se observaba en la superficie

de la cobertura, se rascó la superficie de la cobertura para distribuir el micelio y los contenedores se transfirieron al cuarto de fructificación, en donde se mantuvieron, la temperatura 16-19 °C y la humedad relativa entre 80-87%. La fructificación inició aproximadamente 7 días después de haber mantenido estas condiciones.

En el primer experimento el rascado de la cobertura se realizó a los 9 a 10 días de incubación, en el segundo después de 6 a 7 días y en el tercer experimento a los 5 a 6 días de incubación.



Figura.3.4 Dimensiones del contenedor

3.6 Cosecha de champiñones.

La cosecha de champiñones se llevó a cabo de manera manual en todos los experimentos realizados una vez que el sombrero y la pata del champiñón alcanzaron entre los 3-4 cm (diámetro y altura). Se registró para cada contenedor el peso (g) y el número de los champiñones cosechados.

3.7 Recolección y análisis de datos

Se realizaron 5 réplicas para todos los tratamientos. Se distribuyeron aleatoriamente (Windows XP; Excel, 2007) en el cuarto de fructificación. Los resultados fueron presentados como producción total (g de hongo

fresco/contenedor), producción por unidad de área (Kg/m^2), la eficiencia biológica (g de hongo fresco/100 g sustrato seco) y el peso unitario (g/champiñón). El análisis de datos se llevó a cabo usando un modelo lineal general ($\alpha = 0.05$) para los resultados de la producción/rendimiento y tamaño de pieza con el método de Duncan (ver anexo 4) con el paquete estadístico (IBM SPSS Statistics 22).

4. EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.

El proceso comercial para la producción de champiñones requiere de la preparación de un sustrato por composteo utilizando grandes volúmenes de subproductos agrícolas, principalmente pajas (de trigo, sorgo, centeno) y pollinaza (estiércol de pollo) o estiércol de caballo. Estos materiales deben mojarse y mezclarse regularmente de tal manera que sean fermentados de forma controlada (composteo) en un proceso que requiere de al menos 4 semanas en total para tener el sustrato listo para ser inoculado. Adicionalmente, el manejo de volúmenes tan grandes de materiales hace necesario una infraestructura compleja y costosa. La fermentación de este tipo de materiales está asociada también a la generación de residuos líquidos con alto potencial de contaminación y de emanaciones gaseosas que afectan a las personas que viven en los alrededores.

Una alternativa para resolver algunos de estos inconvenientes sería producir champiñones sin la necesidad de preparar sustratos por composteo. Bechara *et al.* (2005, 2009) propusieron utilizar sustratos de grano estéril para la producción de champiñones, utilizando esencialmente el proceso y los materiales que normalmente se emplean para la producción de la semilla que se utiliza para inocular los sustratos elaborados por composteo. Resultaba importante evaluar la viabilidad de la propuesta de Bechara *et al.* (2009) utilizando los materiales disponibles localmente (semilla de trigo, suplemento, perlita y el material de cobertura utilizado en las plantas comerciales de champiñones en México). Se evaluaron distintos tratamientos térmicos del material de cobertura para encontrar el menos severo que permitiera rendimientos consistentes. Se optimizó el uso de diversos suplementos en términos del tipo y nivel de suplementación del grano de trigo estéril y se evaluó la posibilidad de aumentar la productividad del sistema al aumentar el espesor de las distintas capas utilizadas (perlita, grano y cobertura).

4.1 Preparación del sustrato

Resultaba importante conocer los rendimientos del sustrato de trigo estéril que se obtienen a partir de trigo seco dado que esto influye sobre los costos de producción. Para ello, en el primer experimento se registraron los datos correspondientes, se prepararon varios lotes de semilla partiendo de un total de 7147 g de trigo seco que fue sometido a un cocimiento a ebullición con agua en exceso, se obtuvieron 10611 g de trigo húmedo, lo cual implica un aumento de 1.5 veces con respecto al peso inicial del trigo seco. Al trigo cocido se le adicionó Carbonato de calcio (CaCO_3) al 1% y Sulfato de calcio (CaSO_4) al 0.3% con base en el peso húmedo del trigo.

Para la preparación del sustrato fue también necesario determinar la humedad del grano de trigo estéril en donde se inoculará el micelio, que de acuerdo a Bechara (2004) debe ser aproximadamente 58%. Este dato importante es también indispensable para el cálculo de la eficiencia biológica. Se determinó la humedad del grano de trigo esterilizado colocando muestras a 55°C por 24 horas, se registró el peso inicial antes de introducir a la estufa y el peso final después de 24 horas. Se determinó la humedad promedio del grano cocinado para los 3 experimentos realizados, obteniéndose las siguientes humedades: $53 \pm 1.0\%$, $52 \pm 1.1\%$ y $47 \pm 1.2\%$ para el primer, el segundo y el tercer experimento, respectivamente.

Se determinó por quintuplicado también la equivalencia en peso (g) del volumen de perlita seca (2000 ml) a utilizar siguiendo el modelo de Bechara *et al.* (2005, 2009) resultando una cantidad de 284 g de perlita seca. La perlita retiene el agua pero no se expande ni se hincha, lo único que hace es aumentar el peso de la misma al hidratarse. Añadiendo agua en exceso (700 ml) a esta cantidad de perlita (284g) para llevarla a saturación y después retirarle el exceso de agua, se determinó que retiene 660 ml de agua. En contra de lo esperado, el volumen de la perlita no incrementó al hidratarse por lo que la primera capa del contenedor (con perlita) permaneció ocupando un volumen de 2000 ml.

4.2 Efecto del tratamiento térmico de la capa de cobertura sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril.

En un primer experimento resultaba necesario confirmar los parámetros del procedimiento propuesto por Bechara *et al.* (2005 2006a, b, 2009) para producir champiñones en sustratos de grano estéril. Si bien estos autores proponían someter la capa de cobertura a un tratamiento térmico severo 120 °C por 2 h, algunos de sus resultados experimentales sugieren la posibilidad de lograr rendimientos aceptables con tratamientos menos severos. Por lo anterior se decidió entonces en este experimento evaluar tratamientos a una temperatura más baja y menores tiempos.

Tabla 4.1. Efecto del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 2cm) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril*.

Tratamiento térmico	Producción		Eficiencia biológica (g hongo fresco/100g sustrato seco)	Tamaño Unitario (g hongo/pieza)
	(g de hongo fresco/contenedor)	(kg de hongo fresco/m ²)		
Sin tratamiento térmico	205.7 ± 23.2	4.3 ± 0.5 ^a	52.6 ± 5.5	10.4 ± 2.7 ^a
80°C/30min	217.1 ± 17.2	4.5 ± 0.4 ^a	56.2 ± 4.6	13.8 ± 1.5 ^a
80°C/60min	311.8 ± 72.8	6.5 ± 1.5 ^b	79.6 ± 19.0	22.9 ± 6.3 ^b
120°C/30 min	170.9 ± 50.8	3.6 ± 1.1 ^a	43.8 ± 12.6	14.9 ± 3.9 ^a
Control (120°C/120 min)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

* Sustratos de trigo estéril con 5% de suplemento Monteblanco (5g de suplemento / 100 g de trigo estéril) (3 semanas de producción, ver Anexo1)

De acuerdo a como se indica en la Tabla 4.1, se empleó el tratamiento a 120 °C por 120 min, como control, y también se redujo el tiempo a 30 min con esta misma temperatura (120 °C). Se emplearon 2 tratamientos menos severos, a 80 °C, por

30 y 60 minutos, y finalmente se evaluó una capa de cobertura sin tratamiento térmico alguno. Se registró la producción de champiñones por contenedor (g/contenedor) y se calculó el rendimiento en Kg/m² y la eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100g de sustrato seco) así como el peso unitario del champiñón (g).

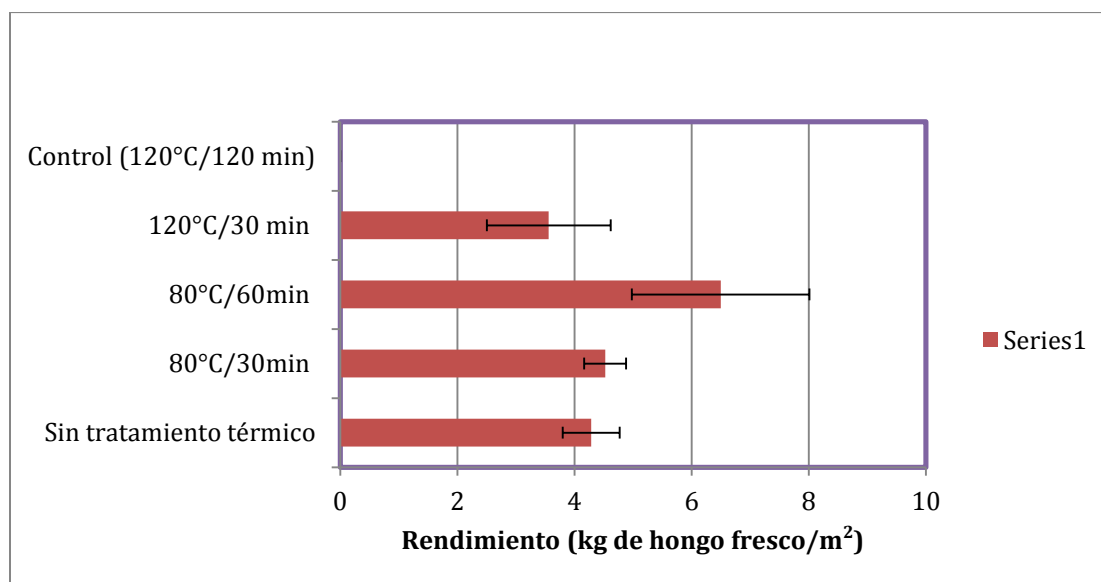


Figura 4.1. Rendimiento de champiñones (kg hongo fresco/m²) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 2cm).

————— Línea de desviación estándar (se encuentra en todas las gráficas de este trabajo)

Se observa en la Figura 4.1 que tratamientos menos drásticos de la capa de cobertura resultaron en altas producciones, por arriba de los 4 kg/m², es decir 4.5 y 4.3 kg/m² con 80°/30 min y sin tratamiento térmico respectivamente. El mayor rendimiento, 6.5 kg/m²; se obtuvo en el tratamiento 80°C/60 min, mientras que al aumentar la temperatura disminuyó el rendimiento, 3.6 kg/m² para el tratamiento 120°/30 min. Entre estos resultados existe diferencia significativa (sig. < 0.05) y como se observa en la Tabla 4.1, el tratamiento a 80°C/60 min presentó una producción (kg/m²) y eficiencia biológica (g hongo fresco/100 g sustrato seco) significativamente mayor al resto de los tratamientos. En la Tabla 4.1 y Figura 4.2 se muestran los valores correspondientes de la eficiencia biológica para este

experimento, la mayor eficiencia biológica fue de 79.6% para el tratamiento de 80°C/60 min, mientras que para los otros tratamientos se encuentran entre 43 y 56%.

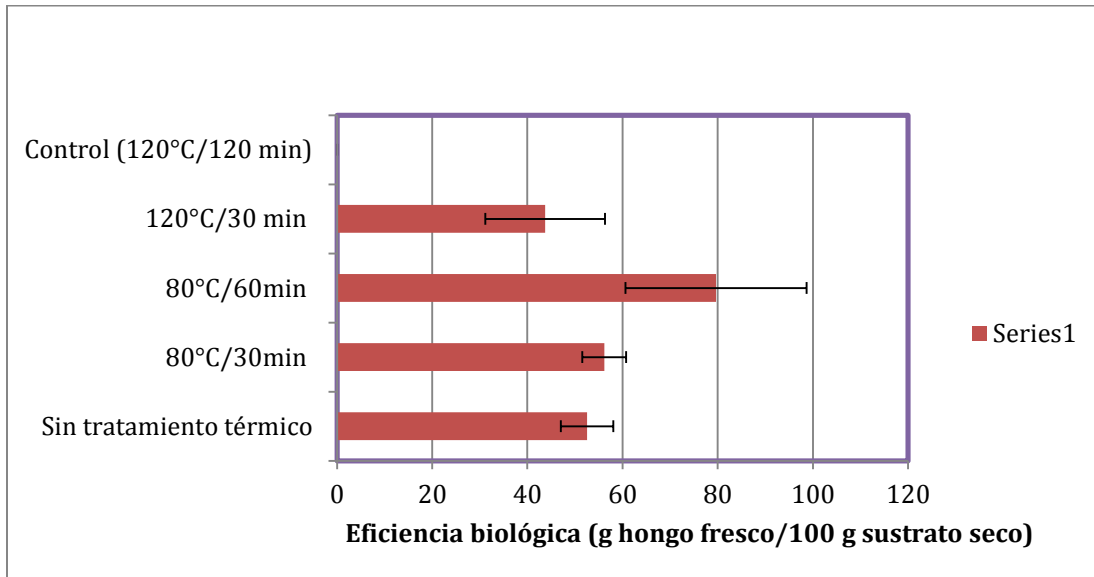


Figura 4.2. Eficiencia biológica de champiñones (g hongo fresco/100g de sustrato seco) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 2 cm).

Durante este experimento, se observó un abundante desarrollo micelial sobre la capa de cobertura, con excepción de la cobertura sin tratamiento térmico y de la cobertura esterilizada por 2 h (120°C/120 min), provocando en algunos casos una inhibición del crecimiento reproductivo (fructificación) del champiñón. Se observó en esos casos que la capa de cobertura era completamente invadida por una capa de micelio sin observarse el desarrollo de los cuerpos fructíferos (basidiocarpos). El crecimiento excesivo de micelio sobre la cobertura forma una “costra” la cual impide la retención de agua que es vital para la producción de cuerpos fructíferos y resulta en una disminución en el rendimiento total. El caso extremo se presentó con el tratamiento control (120°C/120 min), que corresponde a las condiciones propuestas por Bechara *et al.* (2005), en donde se observó tanto una inhibición completa del crecimiento vegetativo como de la fructificación.

En resumen, la producción aumentó al disminuir el tiempo y la temperatura del tratamiento a que se sometió el material de cobertura. Por otro lado, en la cobertura sin tratamiento térmico no se observó crecimiento vegetativo y durante la primera semana de cosecha, se cosechó alrededor del 90% de la producción total (4.3 kg/m²). No obstante, al término de la primera semana de cosecha, esta cobertura se contaminó por mohos verdes (Figura 4.3) provenientes de la misma cobertura o generados por los experimentos realizados al mismo tiempo que este estudio, por lo que se le retiró del área de fructificación.



Figura 4.3. Contaminación por mohos verdes no identificados.

Las más altas producciones, 4.5 y 6.5 kg/m² se observaron con los tratamientos térmicos menos severos, a 80°C, por 30 y 60 min, respectivamente. Con estas coberturas se obtuvieron mayores rendimientos, en cierta medida, debido a que fue posible cosechar champiñones por un período de 3 a 4 semanas. Si bien la producción con la cobertura sin tratamiento térmico es similar a la obtenida con el tratamiento a 80°C, por 30 min, como anteriormente se mencionó, la cobertura sin tratamiento se contaminó después de la 1^a semana de cosecha.

El peso unitario de los champiñones cosechados (Figura 4.4) se obtuvo dividiendo la producción total (g) entre el número de piezas cosechadas. Las piezas más pequeñas (10.4 g) se obtuvieron con la cobertura sin tratamiento térmico mientras

que los hongos de mayor peso unitario (22.9 g) se obtuvieron con el tratamiento a 80°C por 60 min, que fue también el tratamiento donde se obtuvo el mayor rendimiento y como se observa en la Tabla 4.1, el peso unitario (g/pieza) de los hongos cosechados con el tratamiento a 80°C/60 min fue significativamente mayor que con el resto de los tratamientos.

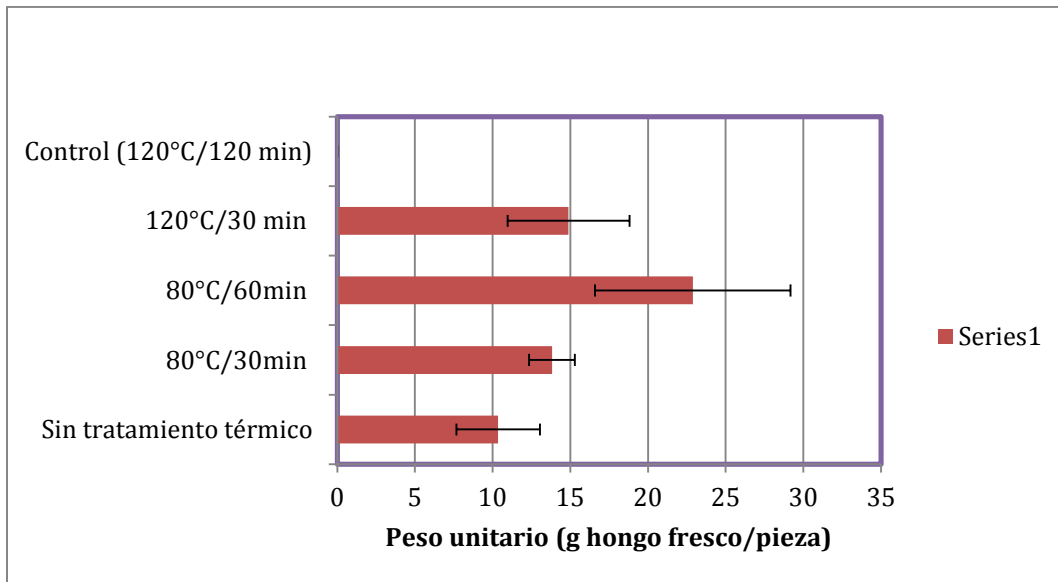


Figura 4.4. Peso unitario (g hongo fresco/ pieza) de champiñones en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 2cm).



Figura 4.5. Crecimiento micelial excesivo sobre la superficie de la capa de cobertura (Experimento1).

Por otro lado, también es de hacer notar que en los tratamientos a 80°C, tanto por 30 como por 60 min, se observó un crecimiento micelial muy abundante sobre la capa de cobertura (Figura 4.5), situación que dificultó un riego adecuado ya que el agua permanecía estancada sobre la superficie de la capa de cobertura.

Con este primer experimento se confirmó la posibilidad de obtener rendimientos aceptables con tratamientos térmicos menos severos de la capa de cobertura, ya sea a 120 °C por 30 min o a 80°C por 30 o 60 min, o inclusive la cobertura sin tratamiento térmico.

4.3 Efecto del tratamiento térmico (temperatura y duración) de la capa de cobertura y el uso de suplementos comerciales sobre la producción de *Agaricus bisporus*.

Un aumento en los rendimientos es indispensable para mejorar la rentabilidad del proceso. Para aumentar la disponibilidad de nutrientes y posibilitar mayores rendimientos, se decidió evaluar la adición de suplementos al grano de trigo estéril. Ya que el crecimiento vegetativo excesivo observado en el experimento inicial podría haber sido resultado de la delgada capa de cobertura utilizada (2cm), se decidió también aumentar el espesor de la capa de cobertura a 3 cm. Con esto se buscaría mejorar la formación de primordios y los rendimientos. Para este segundo experimento, adicionalmente a los tratamientos a 80°C, se utilizó un tercer tratamiento a baja temperatura (100 °C por 20 min). De acuerdo a como se indica en la Tabla 4.2, el tratamiento a 80 °C por 60 min funcionó como referencia ya que esta cobertura se utilizó también con los sustratos en donde el suplemento básico de gluten:salvado (75:25) fue sustituido por los suplementos Monteblanco y Promycel Gold. Se evaluó también una capa de cobertura sin tratamiento térmico alguno. Se registró la producción de champiñones por contenedor (g/ contenedor) y se calculó el rendimiento en Kg/m² y la eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100g de sustrato seco) así como el peso unitario del champiñón (g).

Tabla 4.2. Efecto del tratamiento térmico de la capa cobertura aumentando su espesor a 3 cm y con el uso de suplementos comerciales sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril*

Tratamiento térmico T//tiempo	Producción		Eficiencia biológica (g hongo fresco/100g sustrato seco)	Tamaño Unitario (g hongo/pieza)
	(g de hongo fresco/ contenedor)	(kg de hongo fresco/m ²)		
Sin tratamiento térmico	273.1 ± 32.8	5.7 ± 0.7	70.8 ± 8.5	13.2 ± 0.9
80°C/30min	304.3 ± 135.5	6.3 ± 2.8	78.6 ± 35.3	20.3 ± 13.0
80°C/60min (CONTROL)	186.7 ± 102.0	3.9 ± 2.1	47.8 ± 26.1	15.8 ± 7.9
100°C/20 min	230.7 ± 124.6	4.8 ± 2.6	59.2 ± 32.1	15.8 ± 2.6
Suplemento MB (80°C/60min)	183.1 ± 58.4	3.8 ± 1.2	47.1 ± 14.6	19.7 ± 5.7
Suplemento Prom G (80°C/60min)	137.5 ± 97.1	2.9 ± 2.0	35.4 ± 24.6	16.0 ± 4.4

* Sustratos de trigo estéril con 5% de suplemento: mezcla 75:25 de Gluten:Salvado, Monteblanco ó Promycel Gold (5g de suplemento / 100 g de trigo estéril) (3 semanas de producción, ver Anexo2)

En este experimento, de los 3 tratamientos térmicos probados, de manera inesperada, el tratamiento a 80 °C por 60 min presentó el menor rendimiento (3.9 Kg/m²), superado por el tratamiento a 100 °C por 20 min (4.8 Kg/m²) y por el de 80°C por 30 min que presentó en este caso el mayor rendimiento (6.3 Kg/m²), equiparable con el obtenido en el experimento anterior con el tratamiento a 80 °C por 60 min (6.5 Kg/m²) (Figura 4.6). En estos resultados no existe diferencia significativa (sig. > 0.05) para todos los parámetros medidos.

De manera similar, en este experimento el rendimiento en la cobertura sin tratamiento térmico se incrementó (5.7 Kg/m²) en comparación con lo obtenido en el experimento previo (4.3 Kg/m²). Cabe mencionar que en las 3 condiciones con tratamiento térmico a 80 °C por 60 min en donde se compararon los 3 distintos

suplementos: una mezcla gluten:salvado y los 2 suplementos comerciales, Monteblanco y Promycel Gold, los rendimientos fueron menores a los 4 Kg/m².

Al igual que en el primer experimento al no darle tratamiento térmico a la cobertura, alrededor del 90-95% de la producción total (5.7 Kg/m²) se obtuvo en la primera semana de cosecha, factor importante a considerar para investigaciones futuras. El aumento de la capa de cobertura de 2 a 3 cm., generó un incremento en la producción total en la cobertura sin tratamiento térmico y cuando se sometía a 80°C por 30 min con respecto al primer experimento, pero una disminución en el tratamiento a 80°C por 60 min. De igual forma, las eficiencias biológicas mayores se obtuvieron para el tratamiento a 80°C/30 min y con la cobertura sin tratamiento térmico, 78.6% y 70.8% respectivamente (Figura 4.7).

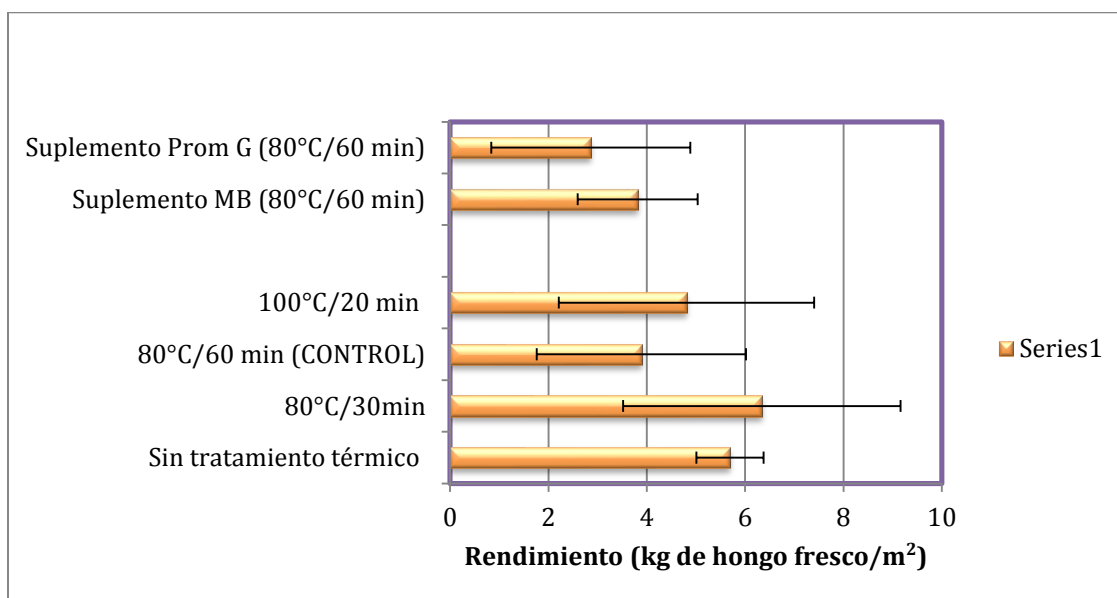


Figura 4.6. Rendimiento de champiñones (kg hongo fresco/m²) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 3cm) y el uso de suplementos.

Los champiñones con los mayores pesos unitarios se obtuvieron en el tratamiento a 80°C/30 min con la mezcla de gluten:salvado como suplemento (20.3 g) y en el tratamiento 80°C/60 min con el suplemento Monteblanco (19.7 g) (Figura 4.8, Tabla 4.2).

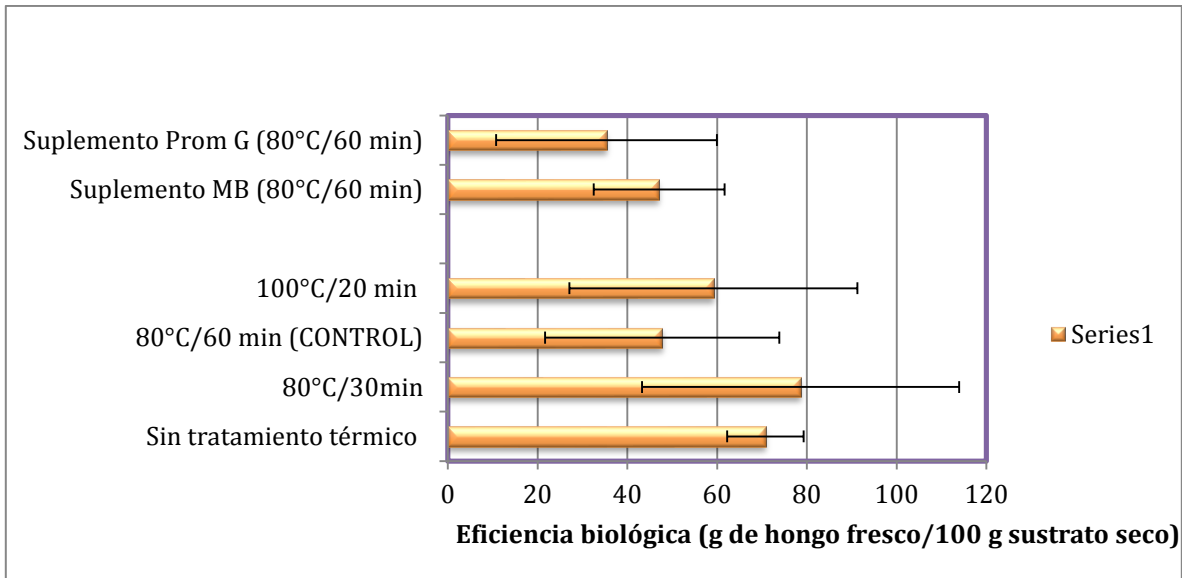


Figura 4.7. Eficiencia biológica de champiñones (g hongo fresco/100g de sustrato seco) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 3cm) y el uso de suplementos.

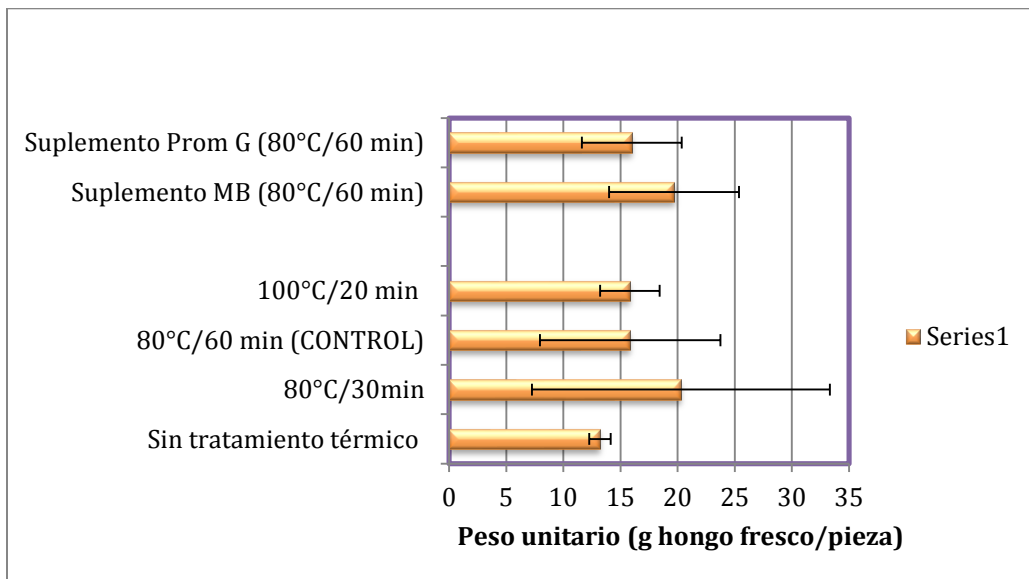


Figura 4.8. Peso unitario (g hongo fresco/ pieza) de champiñones en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 3 cm) y el uso de suplementos.

El excesivo crecimiento micelial sobre la cobertura observado en el primer experimento que afectó los rendimientos, se debió a que la capa de cobertura no estaba uniformemente aplicada. Por ello se prolongó el tiempo de incubación en la cobertura que resultó en la formación de capas gruesas de micelio sobre la misma. Para evitar esta situación, en el segundo experimento se aplicaron las capas tanto de perlita como de semilla y de cobertura para lograr una superficie y espesor uniforme de cada una de las capas, auxiliándose con “llanas” de albañilería para lograr este propósito. El micelio se desarrolló en la cobertura de una forma más homogénea emergiendo a la superficie de manera más uniforme, no obstante, el desarrollo micelial sobre la cobertura fue abundante (Figura 4.9) debido a que se decidió prolongar el tiempo de incubación por 1 o 2 días más de lo necesario. Este desarrollo micelial abundante, si bien menor al excesivo observado en el primer experimento, probablemente influyó sobre las variaciones observadas en los rendimientos. Por ello, en el siguiente experimento, además de asegurarse de aplicar la perlita, la semilla y la cobertura con espesores uniformes, los contenedores con sustrato deben trasladarse al cuarto de fructificación cuando apenas empiecen a vislumbrarse las puntas del micelio sobre la superficie de la cobertura.



Figura 4.9. Crecimiento micelial abundante en todos los tratamientos del Experimento 2, un factor que inhibe la producción.

4.4 Efecto del tratamiento térmico (temperatura y duración) de la capa de cobertura y de aumentar 25% el espesor de las capas del sistema de producción

Con los dos experimentos previos, se estableció la posibilidad de producir rendimientos aceptables usando tratamientos térmicos de la cobertura a bajas temperaturas y cortos tiempos, 80°C por 30 y 60 min. También, con la adición tanto de la mezcla gluten:salvado como del suplemento Monteblanco se obtenían hongos de buen peso unitario y al aumentar el espesor de la capa de cobertura se logró controlar el abundante desarrollo micelial sobre la misma para evitar problemas durante la fructificación debido a la inhibición de la formación de primordios. Por lo anterior, en un tercer experimento se decidió aumentar 25% al volumen de todas las capas del sistema de producción (perlita, sustrato y cobertura), y utilizar tratamientos térmicos moderados a la cobertura para evaluar si se logran incrementos sustantivos en los rendimientos y el efecto sobre el peso unitario de los champiñones.

Se aplicaron los tratamientos de 80°C/60 min y 80°C/30 min a la cobertura, se utilizó la mezcla de gluten con salvado empleada en el experimento anterior ya que estos factores mostraron un aumento en el rendimiento total. Asimismo, se trabajó con una condición en la que no se le dio tratamiento térmico alguno a la cobertura. Este incremento en las capas del sistema de producción, en conjunto con la disminución del tratamiento térmico así como la duración del mismo sobre la cobertura, generó en algunos casos un incremento muy marcado en la producción total y en un tiempo menor de cosecha (2 semanas) como lo muestra la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Efecto del tratamiento térmico a la capa de cobertura sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con aumento del 25% en el espesor de las capas del sistema de producción*

Tratamiento térmico	Producción		Eficiencia biológica (g hongo fresco/100g sustrato seco)	Tamaño Unitario (g hongo/pieza)
	(g de hongo fresco/ contenedor)	(kg de hongo fresco/m ²)		
Sin tratamiento térmico	189.6 ± 29.4	3.9 ± 0.6 ^a	35.0 ± 5.6	14.9 ± 1.6 ^{a,b}
80°C/30 min (CONTROL)	423.7 ± 173.9	8.8 ± 3.6 ^b	78.6 ± 32.2	11.7 ± 3.1 ^a
80°C / 60 min	432.9 ± 113.6	9.0 ± 2.4 ^b	79.6 ± 21.9	15.6 ± 1.3 ^{a,b}
Suplemento MB (80°C/30 min)	447.3 ± 69.2	9.3 ± 1.4 ^b	80.8 ± 12.6	19.2 ± 3.6 ^b
Suplemento MB (80°C/60 min)	263.5 ± 11.6	5.5 ± 0.2 ^a	48.0 ± 2.1	21.3 ± 7.2 ^b

* Sustratos de trigo estéril con 5% de suplemento: mezcla 75:25 de gluten:salvado, Monteblanco ó Promycel Gold (5g de suplemento / 100 g de trigo estéril) (2 semanas de producción, ver Anexo3)

En este caso, al aumentar la capa de cobertura se cuidó que el micelio no invadiera de manera excesiva la superficie de la cobertura como ocurrió en los experimentos anteriores. Los contenedores fueron transferidos a las condiciones de fructificación cuando la capa de cobertura mostraba inicios de la presencia de micelio y no hasta que tenía una invasión del 50-70% de su superficie (Figura 4.10). De esta manera, al inhibirse el crecimiento micelial superficial sobre la capa de cobertura, el crecimiento reproductivo fue mayor al evitar la formación de una “costra micelial”, fenómeno conocido como “estroma” (Fletcher *et al.*, 1989; Stamets y Chilton, 1989; Vedder, 1978). Esto representa una barrera que impide la absorción de agua por la cobertura, ya que como antes se mencionó, el agua es uno de los 3 factores más importantes para la producción de champiñones, de tanta importancia como la temperatura y la ventilación.



Figura 4.10. Fructificación adecuada de champiñones (no hay crecimiento micelial superficial, generándose una mayor producción).

Bajo las condiciones anteriores, los tratamientos de la cobertura a 80°C, ya sea por 30 ó 60 min mostraron las mayores producciones 8.8, 9.0 kg/m² en los sustratos suplementados con la mezcla gluten:salvado. De esta manera se corroboró que tanto con 30 como 60 min de tratamiento térmico se logran altas producciones, ya que en los experimentos anteriores se habían obtenido resultados algo contradictorios. También se confirmó que al usar suplemento MB se logran los mismos altos rendimientos con el tratamiento a 80°C/30 min, 9.3 kg/m², aunque con este mismo suplemento, al aumentar a 60 min el tratamiento, la producción fue menor, 5.5 kg/m² (Figura 4.11). En estos resultados existe diferencia significativa (sig. <0.05). Como se muestra en la tabla 4.3 no existe diferencia significativa entre los tratamientos a 80°C por 30 y 60 con la mezcla gluten:salvado y a 80°C/30 min con suplemento MB, resultando en rendimientos significativamente mayores al tratamiento 80°C/60 min con suplemento MB y cuando no se le dio tratamiento térmico alguno a la cobertura, condiciones entre las cuales no hay diferencias significativas en cuanto a la producción (kg/m²) y la eficiencia biológica (g hongo fresco/100 g de sustrato seco).

En este caso, no obstante, la variable sin tratamiento térmico de la cobertura mostró una baja en la producción a 3.9 kg/m², en comparación con 4.3 y 5.7 kg/m² obtenidos en el primer y segundo experimento, respectivamente. Es decir, el incremento de todas las capas inhibió la producción de champiñones, a diferencia

de cuando solo se incrementó la cobertura aumentando el rendimiento (experimento 2).

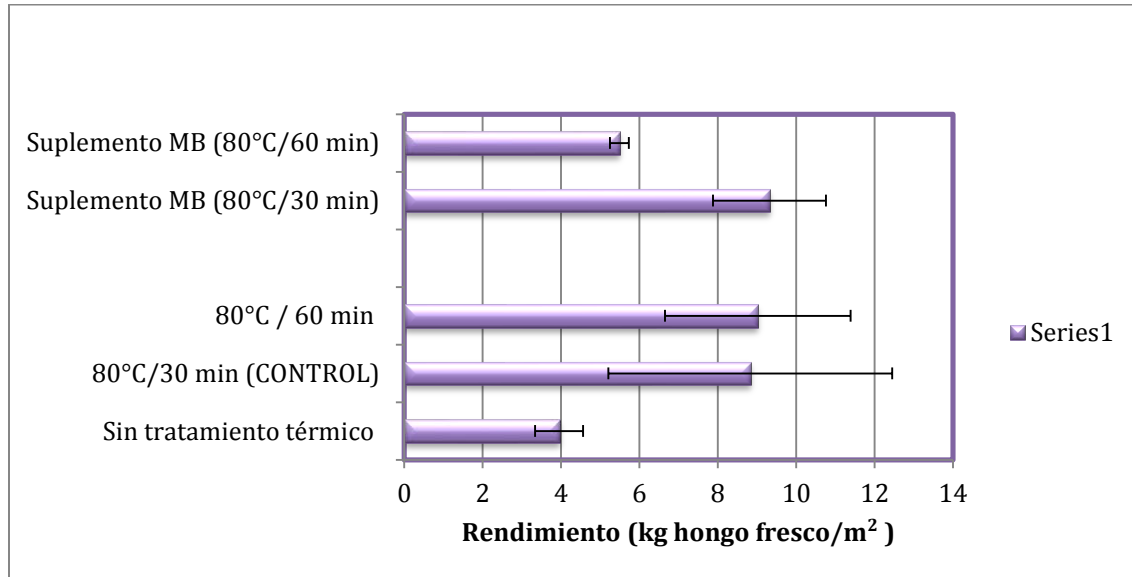


Figura 4.11. Rendimiento de champiñones (kg hongo fresco/m²) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura con un aumento del 25% y el uso de suplemento comercial.

En correspondencia a los resultados mencionados anteriormente, las mayores eficiencias biológicas fueron 78.6 y 79.6 % para los tratamientos a 80°C por 30 y 60 min con suplemento gluten:salvado y 80.8% para el tratamiento a 80°C por 30 min con suplemento MB (Figura 4.13). Esto demostró que al aumentar el espesor de las capas del sistema de producción, se incrementó el aprovechamiento del sustrato (trigo). Por otro lado, para las condiciones tanto sin tratamiento térmico con suplemento de gluten:salvado, como a 80°C/60min con suplemento Monteblanco, la eficiencia biológica fue menor, 35% y 48%, respectivamente, de la misma manera como también el rendimiento fue más bajo. En la Figura 4.12 se muestran los champiñones ya cosechados mediante este sistema de producción.



Figura 4.12. Champiñones cosechados.

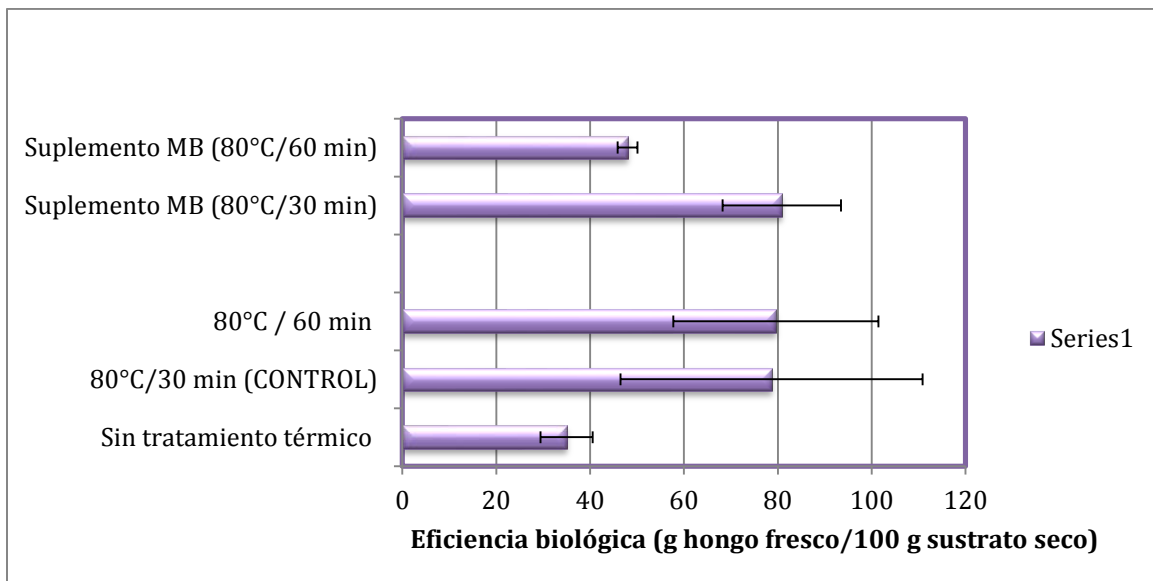


Figura 4.13. Eficiencia biológica de champiñones (g hongo fresco/100g de sustrato seco) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura con un aumento del 25% y uso de suplemento comercial.

En relación al peso unitario (Figura 4.14), como en el experimento anterior, con el suplemento MB se obtuvieron hongos de gran peso (tamaño), de 21.3 y 19.2 g,

con la cobertura tratada a 80 °C por 60 y por 30 min, respectivamente. En este caso los pesos promedio de los hongos cosechados en los sustratos suplementados con gluten:salvado fueron menores con las condiciones evaluadas, 15.6 y 11.7 g para la cobertura tratada a 80 °C por 60 y por 30 min, respectivamente, y 14.9 g con la cobertura sin tratamiento térmico. Como se observa en la tabla 4.3, el peso unitario (g/pieza) en el tratamiento control (80°C/30 min) fue significativamente menor que en el resto de las variables, entre las cuales las diferencias no fueron significativas.

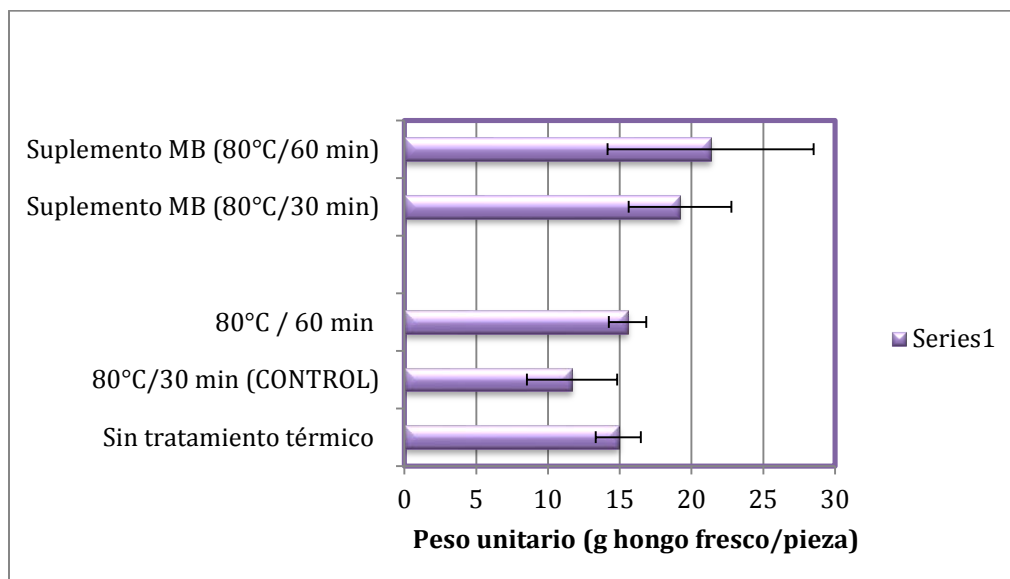


Figura 4.14. Peso unitario (g hongo fresco/ pieza) de champiñones en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura con un aumento del 25% y uso de suplemento comercial.

Los resultados de este estudio demuestran que con tratamientos térmicos moderados de la cobertura, se lograron rendimientos aceptables de champiñones en sustratos de grano estéril, de valores similares a los obtenidos por Bechara *et al.* (2005, 2006a, b), pero con coberturas sometidas a tratamientos térmicos drásticos, 120°C por 120 min no aumentan los rendimientos. Los tratamientos térmicos moderados representan entonces una opción para disminuir

sensiblemente costos de producción, tanto por una menor demanda energética, debida a las menores temperaturas y tiempos de proceso, así como por la necesidad de equipos más simples y menos costosos. Cabe mencionar que con el tratamiento de la cobertura a más bajas temperaturas y menores tiempos de proceso, no se observó un aumento en la presencia de organismos contaminantes sobre la cobertura o el sustrato. Tampoco se detectó la presencia de malos olores en los sustratos o en la cobertura.

Si bien los resultados obtenidos en este estudio confirman el potencial de la producción de champiñones en sustratos de trigo estéril con coberturas con tratamientos térmicos moderados, quedan todavía retos por resolver para aumentar la rentabilidad. Una alternativa interesante es evaluar incrementos del espesor de las capas del sistema de producción, a niveles mayores del 25%, el cual se evaluó en este estudio.

5. DISCUSIÓN.

Los primeros intentos para el desarrollo de un sistema de producción de champiñones en sustratos de grano estéril fueron publicados por Bechara *et al.* (2004) reportando que una cobertura estéril con 25% de carbón activado era tan productiva en términos de rendimiento como una cobertura no estéril. Un sustrato de inóculo comercial (spawn) a base de granos de centeno produjo 5.3 kg/m² mientras que con un sustrato preparado con granos de mijo la producción fue mayor (8.7 kg/m²). El “spawn” comercial es el material utilizado para inocular los sustratos de pajas y estiércoles composteados para la producción comercial de champiñones y es sometido a un tratamiento con pesticidas, antifúngicos y otras sustancias para prevenir su deterioro y contaminación, lo cual podría explicar, de acuerdo a Bechara *et al.* (2004) el efecto inhibitorio sobre la producción de champiñones que estos autores encontraron en comparación con el sustrato preparado por los autores que solamente fue sometido a esterilización.

Posteriormente, Bechara *et al.* (2005) reportaron rendimientos de 8.6 kg/m² con una cobertura estéril (120°C por 120 min) con 25% de carbón activado y un espesor de 2 cm (base del primer experimento realizado en este trabajo). El rendimiento fue menor cuando esa misma cobertura no fue esterilizada, 6.4 kg/m², con eficiencias biológicas del 100% y 82%, respectivamente. En el primer experimento de este trabajo la mayor producción fue de 6.5 kg/m² con un tratamiento térmico a la cobertura de 80°C/60 min, valor similar al obtenido por estos autores en una cobertura no estéril, aunque en nuestro caso, el rendimiento podría haber sido mayor si no se hubiera presentado el sobre-crecimiento micelial en la superficie de la cobertura (estroma), ya que como anteriormente se mencionó, esto produce una disminución de la capacidad de retención de agua que afecta directamente a la producción de champiñones. A diferencia del reporte de Bechara *et al.* (2005), en el primer experimento se utilizó 10% de carbón

activado y adicionalmente, en la cobertura completamente estéril con una concentración del 10% de C.A. no se produjeron champiñones.

En trabajos posteriores, Bechara *et al.* (2006a,b) aumentó los rendimientos a 10.2 kg/m² al suplementar los sustratos al 5% y con coberturas estériles que contenían 10% de carbón activado, uno de los factores que reestablecen la producción de champiñones en coberturas tratadas térmicamente. En una publicación reciente (Bechara, 2009) se estableció que con un 10% de carbón activado se obtienen los mejores rendimientos, reportando 7.6 kg/m² y 74% de eficiencia biológica en coberturas sin tratamiento térmico. Aunque en este proyecto se utilizó también 10% de carbón activado y en el segundo experimento se incrementó el espesor de la capa de cobertura de 2 a 3 cm y en el tercer experimento se incrementaron las 3 capas del sistema de producción en un 25% adicional, se obtuvieron menores producciones, 4.3 kg/m², 5.7 kg/m² y 3.9 kg/m², respectivamente. Probablemente estos menores rendimientos están asociados a la menor capacidad de control que se tenía en la cámara de fructificación sobre las condiciones ambientales, ventilación, humedad relativa, temperatura y un adecuado riego, ya que por todos los experimentos al mismo tiempo que este no se tuvo un control total de las condiciones. Cabe mencionar que la luz no afecta durante el proceso de producción ya que *A. bisporus* no es un hongo fotótrofo. Esto se ve reforzado por la gran variabilidad en los resultados reportados por Bechara *et al.* (2006a,b) para las coberturas sin tratamiento térmico, lo cual indica lo susceptibles que son a la influencia de factores fuera de control propios del sistema experimental.

Bechara (2009) reportó posteriormente que con un tratamiento menos “severo” de la cobertura es posible lograr buenas producciones en sustratos no composteados a base de grano, eventualmente mayores que con tratamientos más “drásticos”. En el presente proyecto se observó una situación similar ya que se lograron mejores rendimientos al disminuir el tratamiento térmico y su duración. En el primer experimento, la mayor producción fue 6.5 kg/m² con un tratamiento de 80°C/60 min, valor menor que los 7.6 kg/m² mencionados por Bechara en 2009 para una cobertura sin tratamiento. No obstante, en el segundo y tercer

experimento de este trabajo, las mayores producciones se obtuvieron con tratamientos a 80°C/30min y 80°C/60 min. Debe aquí señalarse la importancia de evitar que el micelio invada la superficie de la cobertura antes de someter los sustratos a las condiciones de fructificación. En tales circunstancias, si no se cuenta con un control adecuado de las condiciones ambientales, la fructificación se verá inhibida, situación que se presentó en los 2 primeros experimentos de este proyecto, donde la producción de champiñones fue afectada.

Al aumentar el espesor de la cobertura en un 50%, con el tratamiento a 80°C por 30 min se encontró la mayor producción, 6.3 kg/m², valor similar al reportado por Bechara *et al.* (2005) para una cobertura no estéril. Si bien no es posible establecer con claridad si el tratamiento 80°C por 30 minutos es mejor que el de 60 min, con ambos tratamientos se obtuvieron los más altos rendimientos en los 3 experimentos realizados en este proyecto.

En el último experimento, al incrementar un 25% las 3 capas del sistema de producción con respecto al segundo experimento, se logró aumentar los rendimientos para el tratamiento a 80°C/30 min, a valores de 8.8 kg/m² para el sustrato suplementado con gluten:salvado y 9.3 kg/m² con el suplemento comercial MB. Debe también mencionarse que estos incrementos se obtuvieron en 2 semanas de producción mientras que en los experimentos anteriores la cosecha se había extendido hasta por 4 semanas, en este caso se obtuvo una mejor producción en solo 2 semanas de cosecha, siendo mejor para poder cubrir demandas de producto en un menor tiempo aunque eso depende del crecimiento del hongo. En este experimento, el tratamiento a 80°C por 60 min también produjo altos rendimientos 9.0 kg/m² con el sustrato suplementado con gluten:salvado, aunque esto no se observó con el sustrato con el suplemento MB, 5.5 kg/m².

Los incrementos observados en el tercer experimento fueron probablemente resultado, en buena medida, de haber transferido los sustratos a las condiciones de fructificación cuando el micelio se encontraba llegando a la superficie de la cobertura, evitando así una invasión excesiva de micelio en la cobertura antes de la fructificación, situación que si había ocurrido en los 2 primeros experimentos.

Las producciones logradas de esta manera en el tercer experimento fueros valores mayores a los reportados por Bechara en 2009. Los rendimientos podrían incrementarse al disponer de un mejor control de las condiciones ambientales, como sucede en las instalaciones comerciales para la producción de champiñones. Un mejor manejo del riego y un control adecuado de los moscos resultaría también en mayores producciones.

6. CONCLUSIONES.

Es posible producir champiñones (*Agaricus bisporus*) en sustratos no composteados con sustrato de grano estéril (trigo) obteniéndose buenos resultados si se mejoran las condiciones en las cámaras de producción.

Con tratamientos térmicos “moderados” de la capa de cobertura (80°/30 min y 80°C/60 min) se logran buenos rendimientos de champiñones 8.8, 9.0 y 9.3 Kg/m², altas eficiencias biológicas 78.6, 79.6 y 80.8%, y de buen peso promedio, entre los 19 y 22 g/pieza. Los champiñones cosechados son productos de alta calidad, son muy agradables a la vista y se pueden consumir al momento de cosecharlos.

Un factor importante a mencionar es que el tiempo de producción total fue menor al que se utiliza cuando se usan sustratos composteados (alrededor de los 70 días), mientras que en nuestro caso, se requirieron alrededor de 41 días, con un tiempo de incubación promedio de 12 días y 28 días de cosecha.

7. RECOMENDACIONES.

A partir de los experimentos realizados en este trabajo, con sus resultados y conclusiones se abren distintas opciones para trabajos futuros. Una consistiría en buscar otro tipo de grano más barato que el trigo para la producción de los sustratos, evaluando los rendimientos obtenidos y los problemas de operación que surgieran.

De igual manera sería interesante evaluar fuentes alternativas de perlita y de otros materiales equivalentes como fuente de reserva de agua para optimizar costos, que eventualmente serían menores aunque aún los rendimientos no son lo suficientemente altos como para hacer un estudio de los costos de producción mediante este sistema. Asimismo facilidad de manejo, y su efectividad sobre la producción de champiñones por este sistema.

Con relación al tratamiento del material de cobertura, si bien los tratamientos a 80°C por 30 o 60 min resultaron muy adecuados, sería interesante evaluar tratamientos aún más “moderados”, a menores temperaturas y tiempos más cortos, sin dejar de considerar la posibilidad de optimizar las condiciones para poder producir champiñones en coberturas sin tratamiento térmico.

Sin duda debe mantenerse un control adecuado del crecimiento micelial en la capa de cobertura para evitar que este sea excesivo y la producción se vea mermada.

Un reto importante es evaluar mayores espesores de las capas de este sistema de producción ya que los rendimientos obtenidos hasta el momento distan de los que regularmente se producen en las instalaciones comerciales con sustratos composteados, alrededor de 35 kg/m². En este sentido, un factor que puede también jugar un papel importante es la suplementación, otros tipos de suplementos y mayores niveles es una de tantas posibilidades. Debe tomarse en cuenta que al aumentar la disponibilidad de nutrientes por cualquiera de estos enfoques, un correcto y preciso control del medio ambiente (temperatura, ventilación) es fundamental. De igual forma el manejo de la capa de cobertura es

crítico, un avance correcto del micelio, evitando sobrecrecimiento del micelio, y el riego se tornarían como factores fundamentales para una buena fructificación.

Finalmente, para este nuevo sistema de producción de champiñones, se deben también considerar nuevos tipos de diseños de las naves de cultivo, tanto para la etapa de incubación como la de producción ya que los diseños y arreglos existentes son adecuados para producir en sustratos composteados donde la composta es más de 100kg/m² de la superficie de producción. Este es un factor que puede ser clave para que este nuevo sistema de producción sea rentable hablando de la cantidad de grano a emplear si se hiciera a una escala mayor, como lo es la industrial.

8. BIBLIOGRAFÍA.

- Bechara, M. A., P. H. Heinemann, P. N. Walker, C. P. Romaine, and C. W. Heuser. 2004. Novel methods of cultivating *Agaricus bisporus*. ASAE Paper No. 047001.
- Bechara, M.A. 2004. Novel Methods for producing *Agaricus bisporus*. Master Thesis, University Park, Pennsylvania, The Pennsylvania State University, Department of Agricultural and Biological Engineering.
- Bechara, M. A., P. H. Heinemann, P. N. Walker, and C. P. Romaine. 2005. *Agaricus bisporus* grain spawn substrate with S41 and S44 nutrient supplements. ASAEpaper No. 057008
- Bechara, M., 2006a. Evaluating Non-composted Grain Substrates for the Production of *Agaricus bisporus* and *Agaricus blazei* Mushrooms. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 067089.
- Bechara, M., 2006b. Non-composted Grain-Based substrates for Mushroom Production (*Agaricus bisporus*). American Society of Agricultural and Biological Engineers, 49 (3), 819-824.
- Bechara, M., 2007. Alternative mushroom production systems using non composted grain-based substrates thesis in Agricultural and Biological Engineering. The Pennsylvania State University
- Bechara, M., 2009. Evaluating the addition of activated carbon to heat-treated mushroom casing for grain-based and compost-based substrates. Bioresource Technology, 100, 4441-4446.
- Cao, D., and J. Wu. 2005. Modeling the selectivity of activated carbons for efficient separation of hydrogen and carbon dioxide. *Carbon* 43: 1364-1370.
- Carroll, A. D., and L. C. Schisler. 1976. Delayed-release nutrient supplement for mushroom culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 31(4): 499-503.
- Chikthimmah, N., R. Beelman, and L. LaBorde 2006. Sphagnum peat-based casing soils do not permit the survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella sp.* *Mush. News* 54(9): 6-13.
- Cresswell, P. A., Hayes, W. A., 1979. Further investigation on the bacterial ecology of the casing layer. *Mush. Sci.* 10(1): 347-359.
- Derikx, P. J. L., H. J. M. Op den Camp, C. van der Drift, L. J. L. D. van Griensven, and G. D. Vogels. 1990. Odorous sulfur compounds emitted during production of compost used as a substrate for mushroom production. *Appl. and Environ. Microbiol.* 56: 3029-3036.
- Eger, G. 1961. Untersuchungen uber die function der deckschicht bei der Fruchtkoperbildung des kulturchampignons, *Psalliota bispora* Lange. *Arch. Mikrobiol.* 39: 313-334.
- Eger, G. 1972. Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.* 8: 719-726.
- Flegg, P. B. 1985. Crop productivity. In *The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom*, 179-193. Hoboken, N.J.: John Wiley and Sons.

- Fletcher, J.T, White, P. F. and Gaze, R. H. Mushrooms: Pest and disease control. Ed. Intercept Limited, 1989. Andover Hants, England. Page: 160.
- Fritsche, G. 1988. Spawn: Properties and preparation. In: The Cultivation of Mushroom 91-99 L.J.L.D. van Griensven ed. Sussex, The United Kingdom: Darlington Mushroom Laboratories.
- Gerrits, J. P. G. 1972. The influence of water in mushroom compost. *Mush. Sci.* 8: 43-57.
- Hall, D. A., G. M. Hitchon, and R. A. K. Szmidt. 1988. Perlite culture a new development in hydroponics. *In Pro. 7th International Congress on Soilless Culture* 5: 177-183.
- Hayes, W. A., P. E. Randle, and F. T. Last. 1969. The nature of the microbial stimulus affecting sporophore stimulation in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Ann. Appl. Biol.* 64, 177-187.
- Hayes, W. A., 1981. Interrelated studies of physical, chemical and biological factors in casing soils and relationships with productivity in commercial culture of *Agaricus bisporus* Lange (Pilat). *Mush. Sci.* 11: 103-129.
- Huhnke, W., and R. Von Sengbush. 1968. Mushroom cultivation on non-composted nutritive substrates. *Mush. Sci.* 7: 405-409.
- Kalberer, P. P. 1990. Water relations of the mushroom culture (*Agaricus bisporus*): study of a single break. *Scientia Hort.* 41: 277-283.
- Long, P. E. and L. Jacobs. 1974. Aseptic fruiting of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Transactions of the British Mycological Society* 63: 99-107.
- Mamiro, D. P., D. J. Royse and R. B. Beelman. 2007. Yield, size and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted and spent mushroom compost. *World J. Microbiology Biotechnology*.
- Mee, H. M. 1978. Mushroom composting. U.S. Patent No. 4,127,964.
- Nair, N. G., K. Y. Cho, and F. Mitchell. 1993. An alternative method of nutrient supplementation in the cultivation of the common mushroom *Agaricus bisporus*. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33: 115-117.
- Noble, R., T. R. Fermor, S. Lincoln, A. Dobrovin-Pennington, C. Evered, and A. Mead. 2003. Primordia initiation of mushroom (*Agaricus bisporus*) strains on axenic casing materials. *Mycologia* 95(4): 620-629.
- Pardo, N., J. 1997. Compostaje para el cultivo del champiñón: una revisión de su ámbito y variabilidad y su repercusión en la calidad y costes del compost. *In: Avances en la tecnología de la producción comercial del champiñón y otros hongos cultivados.* Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del champiñón (CIES). Quintanar del rey (Cuenca). 49-101
- Peerally, A. 1978. Sporophore initiation in *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitroquis* in relation to bacteria and activated charcoal. *Mush. Sci.* 10(1): 611-639.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology* 1: 1-15.
- Romaine, C. P., and A. Marlowe. 1993. An intact seed-based delayed-release nutrient supplement for mushroom cultivation. U.S. Patent No. 5,291,685.

- Royse, D. J., and C. P. Romaine. 2002. The effect of fungicides for control of *Trichoderma* a green mold on mushrooms. *F&N Tests* 58.
- San Antonio, J. P. 1971. A laboratory method to obtain fruit from cased grain spawn of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 63: 17-22.
- San Antonio, J. P. 1975. Commercial and small-scale cultivation of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Hort. Sci.* 5: 451-458.
- Sanchez, J. E., and D. J. Royse. 2001. Adapting substrate formulas used for shiitake for production of brown *Agaricus bisporus*. *Biores. Technol.* 77: 65-69.
- Sanchez, J. E., D.J. Royse y Leal L. H. 2007. Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de *Agaricus bisporus*. *Ecosur*. Págs 57-62.
- Sanchez, J. E., L. Mejia, and D. J. Royse. 2007. Pangola grass colonized with *Scybalidium thermophilum* for production of *A. bisporus*. *Biores. Technol.*
- Schisler L. C., 1957. A physiological investigation of sporophore initiation in the cultivated mushroom, *Agaricus campestris* L. ex Fr. PhD diss. University Park, PA: The Pennsylvania State University, Department of Plant Pathology.
- Schisler, L. C. 1982. Biochemical and mycological aspects of mushroom composting. In *Penn State Handbook for Commercial Mushroom Growers*, 3-10. State College, PA.: Penn State.
- Schisler, L. C. and Wuest, P. 1982. Selecting, manipulating and treating mushroom casing.
- Sinden, J. W. and Schisler, L. C. 1962. Nutrient supplementation of mushroom compost at spawning. *Mush. Sci.* 5: 223-236
- Sonnenberg, A. S. M. 2000. Genetics and breeding of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Sci.* 15(1): 25-39.
- Stamets, P., Chilton, J.S. The mushroom cultivator: A practical guide to growing mushrooms at home. Ed. Agarika Press. Olympia, Whashington, 1983. Page: 35, 143.
- Till, O. 1962. Champignonkultur auf sterilisiertem Nahsubstrat und die wiederverwendung von abgetragendem Compost. *Mush. Sci.* 5: 127-133.
- Tschierpe, H. J. 1959. Die bedeutung des kohlendioxyd fur den kulturchmapignon. *Gartenbauwissenschaft* 24: 18-75.
- Uchida, M., O. Shinohara, S. Ito, N. Kawasaki, T. Nakamura, and S. Tanada. 2000. Reduction of iron(III) ion by activated carbon fiber. *Colloid and Interface Sci.* 224: 347-350
- Vedder, P.J. C. Cultivo moderno del champiñón. Ediciones Mundi-Prensa 1991, Madrid, España. Págs. 234-255.
- Vedder, P.J. C. Modern mushroom growing. Ed B.U, Industrieweg 1978, Culemborg, The Netherlands. Pages 385-387.
- Verbeke, M. N., and A. Overstyns. 1991. Interrelationships between activated charcoal, carbon dioxide, oxalate and iron chemistry for fructification of *Agaricus bisporus*. *Mush. Sci.* 13: 737-746.

ANEXOS

A.1 Efecto del tratamiento térmico de la capa de cobertura sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril.

Tabla A.1 Etapas de la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con una capa de cobertura de 2 cm.

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos de trigo estéril	Tiempo (días)
Invasión de micelio sobre el sustrato de trigo estéril	14
Invasión de micelio sobre la capa de cobertura	8
Formación de primordios	7
Tiempo de cosecha	21
Tiempo total	50

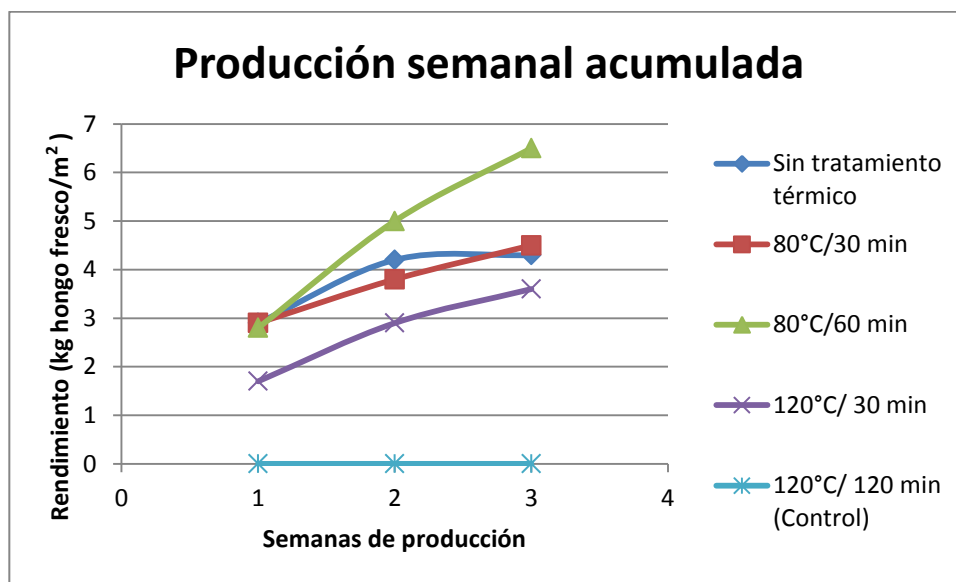


Figura A.1 Producción acumulada de champiñones en 3 semanas de cosecha (kg hongo fresco/m²) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 2cm).

A.2 Efecto del tratamiento térmico (temperatura y duración) de la capa cobertura y el uso de suplementos comerciales sobre la producción de *Agaricus bisporus*.

Tabla A.1 Etapas de la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con una capa de cobertura de 3 cm empleando distintos suplementos.

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos de trigo estéril	Tiempo (días)
Invasión de micelio sobre el sustrato de trigo estéril	14
Invasión de micelio sobre la capa de cobertura	8
Formación de primordios	7
Tiempo de cosecha	21
Tiempo total	50

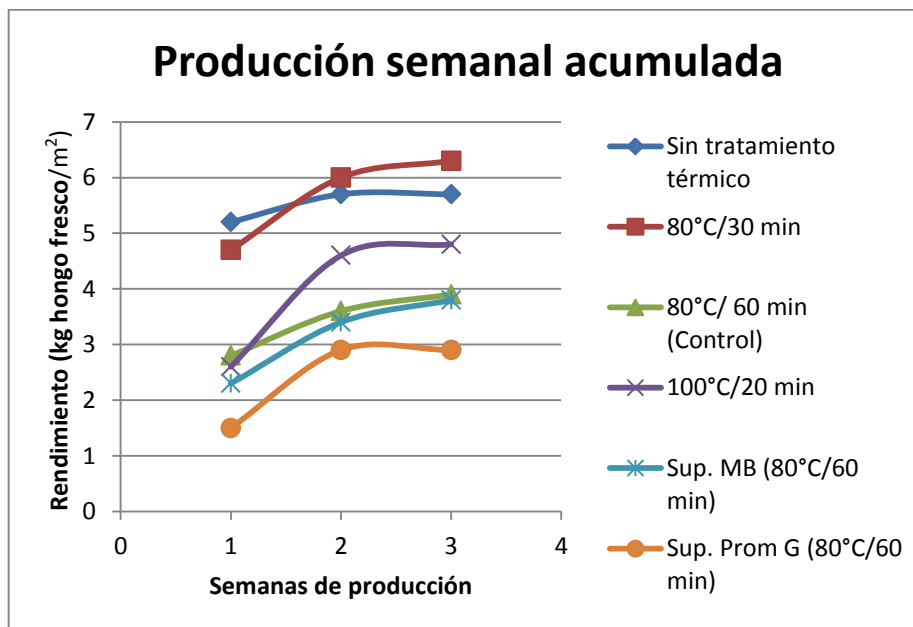


Figura A.2 Producción acumulada de champiñones en 3 semanas de cosecha (kg hongo fresco/m²) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura (espesor 3cm) y el uso de suplementos.

A.3 Efecto del tratamiento térmico (temperatura y duración) de la tierra de cobertura y de aumentar 25% el espesor de las capas del sistema de producción

Tabla A.3 Etapas de la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con un aumento del 25% en todas las capas del sistema de producción.

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos de trigo estéril	Tiempo (días)
Invasión de micelio sobre el sustrato de trigo estéril	14
Invasión de micelio sobre la capa de cobertura	6
Formación de primordios	6
Tiempo de cosecha	14
Tiempo total	40

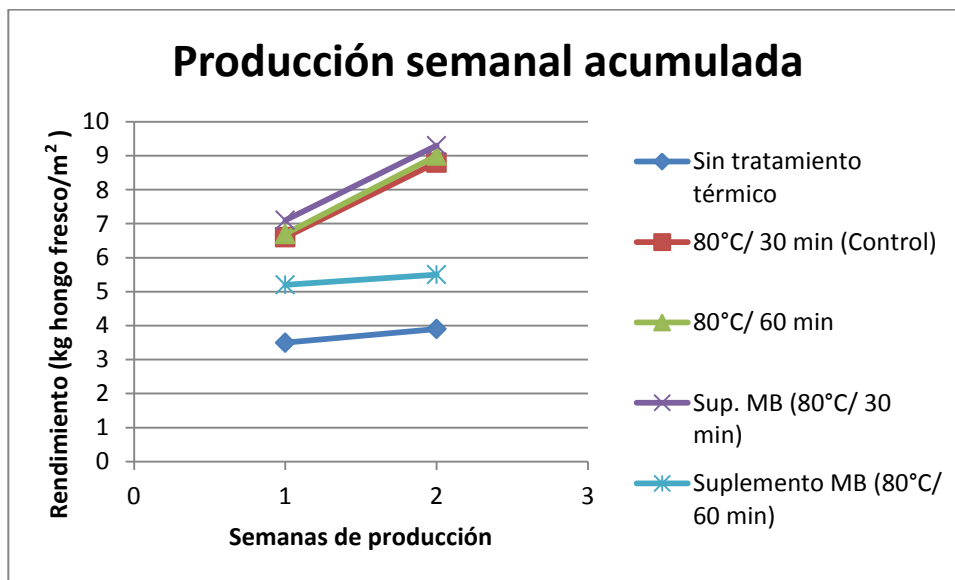


Figura A.3 Producción acumulada de champiñones en 2 semanas de cosecha (kg hongo fresco/m²) en sustratos de trigo estéril en función del tratamiento térmico de la capa cobertura con un aumento del 25% y el uso de suplemento comercial.

A.4 Análisis estadístico.

Tabla A.4.1 Análisis estadístico de la producción (kg/m²) para el primer experimento. Con alfa = 0.05

ANOVA

Producción (kg/m²)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17.148	3	5.716	5.243	.023
Dentro de grupos	9.811	9	1.090		
Total	26.960	12			

Subconjuntos homogéneos

Producción (kg/m²)

Tratamiento térmico	N	Subconjunto		
		1	2	
HSD Tukey ^{a,b,c}	120°C/30 min	3	3.561	
	Sin tratamiento	3	4.270	4.270
	80°C/30 min	3	4.523	4.523
	80°C/60 min	4		6.496
	Sig.		.662	.095
Duncan ^{a,b,c}	120°C/30 min	3	3.561	
	Sin tratamiento	3	4.270	
	80°C/30 min	3	4.523	
	80°C/60 min	4		6.496
	Sig.		.294	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1.090.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.200.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.

Prueba de Duncan para comparación entre tratamientos. Producción (kg/m²).

Subconjuntos homogéneos

Tamaño (g/pieza)

Tratamiento térmico	N	Subconjunto		
		1	2	
HSD Tukey ^{a,b,c}	Sin tratamiento	3	11.724	
	120°C/30 min	3	13.990	13.990
	80°C/30 min	3	14.229	14.229
	80°C/60 min	4		21.188
	Sig.		.837	.147
Duncan ^{a,b,c}	Sin tratamiento	3	11.724	
	120°C/30 min	3	13.990	
	80°C/30 min	3	14.229	
	80°C/60 min	4		21.188
	Sig.		.445	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 14.430.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.200.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.

Prueba de Duncan para comparación entre tratamientos. Tamaño (g/pieza).

Tabla A.4.2 Análisis estadístico de la producción (kg/m²) para el segundo experimento. Con alfa = 0.05.

ANOVA

Producción (kg/m²)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	40.833	5	8.167	1.929	.127
Dentro de grupos	101.608	24	4.234		
Total	142.441	29			

Tabla A.4.3 Análisis estadístico de la producción (kg/m²) para el tercer experimento. Con alfa = 0.05

ANOVA

Producción (kg/m ²)					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	84.902	4	21.225	5.898	.007
Dentro de grupos	43.181	12	3.598		
Total	128.083	16			

Subconjuntos homogéneos

Producción (kg/m²)

Tratamiento térmico	N	Subconjunto	
		1	2
HSD Tukey ^{a,b,c}			
Sin tratamiento	4	3.949	
80°C/ 60 min MB	4	5.490	5.490
80°C/ 30 min @	3		8.828
80°C/ 60 min	3		9.033
80°C/ 30 min MB	3		9.318
Sig.		.828	.131
Duncan ^{a,b,c}			
Sin tratamiento	4	3.949	
80°C/ 60 min MB	4	5.490	
80°C/ 30 min @	3		8.828
80°C/ 60 min	3		9.033
80°C/ 30 min MB	3		9.318
Sig.		.315	.757

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 3.598.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.333.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.

Prueba de Duncan para comparación entre tratamientos. Producción (kg/m²).

Subconjuntos homogéneos

Tamaño (g/pieza)

Tratamiento térmico	N	Subconjunto		
		1	2	
HSD Tukey ^{a,b,c}	80°C/ 30 min @	3	10.101	
	Sin tratamiento	4	15.386	15.386
	80°C/ 60 min	3	15.733	15.733
	80°C/ 60 min MB	4	20.513	20.513
	80°C/ 30 min MB	3		21.115
	Sig.		.061	.476
Duncan ^{a,b,c}	80°C/ 30 min @	3	10.101	
	Sin tratamiento	4	15.386	15.386
	80°C/ 60 min	3	15.733	15.733
	80°C/ 60 min MB	4		20.513
	80°C/ 30 min MB	3		21.115
	Sig.		.140	.143

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 19.229.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.333.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.

Prueba de Duncan para comparación entre tratamientos. Tamaño (g/pieza).