



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE *AGARICUS
BISPORUS* EN SUSTRATOS DE TRIGO ESTÉRIL”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

P R E S E N T A

MITZI TZITZIKY SEGOVIA PONCELIS



Ciudad de México

AÑO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: Alejandro Camacho Cruz**

SECRETARIO: **Profesor: Norma Angélica Castellanos Chávez**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Efrén Pérez Vázquez**

2° SUPLENTE: **Profesor: Hiram Fernando Ramírez Cahero**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 324 EDIFICIO E

FACULTAD DE QUÍMICA UNAM

ASESOR DEL TEMA: DR. HERMILO LEAL LARA

SUSTENTANTE: MITZI TZITZIKY SEGOVIA PONCELIS

Índice

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 ANTECEDENTES	4
1.1.1 Características generales de los hongos	4
1.1.2 Características de <i>Agaricus bisporus</i>	5
1.1.3 Desarrollo de <i>Agaricus bisporus</i>	6
1.1.4 Producción comercial de champiñones	8
1.1.5 Producción de composta.....	10
1.1.6 Sustratos no composteados.....	12
1.1.7 Suplementación del sustrato	13
1.1.8 Cobertura y el uso de carbón activado en la producción de champiñones.....	14
1.2 JUSTIFICACIÓN	15
1.3 OBJETIVOS	17
2. HIPÓTESIS	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1 Diagrama de experimentación	19
3.2 Preparación del sustrato de trigo	20
3.3 Envasado y esterilización.....	20
3.4 Inoculación.	21

3.5 Preparación de la perlita	21
3.6 Preparación de la cobertura	22
3.7 Preparación de contenedores para fructificación	22
3.8 Fructificación	23
3.9 Cosecha	23
3.10 Tratamiento de resultados.....	25
4. EXPERIMENTOS Y RESULTADOS	26
4.1 Efecto del uso de diferentes suplementos al 5% en la producción de champiñones en sustratos de trigo estéril (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).....	26
4.1.1 Tiempo de producción.....	27
4.1.2 Evaluación cualitativa del crecimiento micelial (<i>Agaricus bisporus</i>) y el desarrollo de primordios sobre la cobertura	28
4.1.3 Producción total de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).....	30
4.1.4 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).	34
4.2 Efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (tratamiento de la capa de cobertura: 80°C por 60 min)	37
4.2.1 Tiempos de producción	37
4.2.2 Evaluación cualitativa del crecimiento micelial (<i>Agaricus bisporus</i>).y el desarrollo de primordios sobre la cobertura	38
4.2.3 Producción total de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento de la capa de cobertura 80°C por 60 min).....	39

4.2.4 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento térmico de capa de cobertura de 80°C por 60 min).	44
4.3 Efecto de un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, y de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril.....	46
4.3.1 Tiempos de producción.....	47
4.3.2 Evaluación cualitativa del crecimiento micelial (<i>Agaricus bisporus</i>) y el desarrollo de primordios sobre la cobertura.	48
4.3.3 Producción total de champiñones en sustrato de trigo estéril con un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, y con diferentes tipos y niveles de suplementación.	49
4.3.4 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura y con diferentes tipos y niveles de suplementación.	52
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
5.1 Mejores rendimientos	56
5.2 Efecto de la suplementación sobre el rendimiento.....	58
5.3 Exceso de proteína en los suplementos.....	61
5.4 El tratamiento térmico de la cobertura en combinación con el espesor	62
5.5 Eficiencia biológica y peso unitario por champiñón	65
6. CONCLUSIONES	70
7. RECOMENDACIONES	72
8. BIBLIOGRAFÍA	73

9. ANEXOS	77
9.1 Fotos del desarrollo experimental	77
9.2 Contaminación de contenedores	82
9.3 Tamaño de champiñones cosechados	83
9.4 Información Estadística.....	86

RESUMEN

El champiñón es el hongo comestible más consumido y producido en el mundo. Por lo cual la producción convencional a futuro puede resultar en problemas de contaminación del suelo, subsuelo y superficie del agua con nitrógeno soluble, fósforo orgánico, materia orgánica y minerales, olores desagradables. Por otro lado, el tiempo de preparación de la composta es largo (4 semanas); presenta problemas de espacio y de inversión debido al uso de maquinaria altamente especializada. Al considerar el aumento de la demanda del champiñón y los problemas ambientales que conlleva su producción, se probaron diferentes condiciones para la optimización de la producción en sustratos no composteados, utilizando granos de trigo estéril como sustrato.

Se utilizó semilla comercial suplementada con suplemento Monte blanco[®] al 5%. El sustrato alternativo evaluado fue semilla de trigo estéril mezclada con los siguientes suplementos: Promycel[®] al 5%; Monte blanco[®] al 5 y 10%; gluten al 5%; gluten + salvado (50:50) al 5%; gluten + salvado (75:25) al 5, 10 y 15%; harina de pescado + salvado (50:50) al 5%, harina de pescado + salvado (75:25) al 5 y 10% y una combinación de gluten + salvado (75:25) al 5% con soya al 15%. La cobertura fue sometida a los siguientes tratamientos térmicos a: 120°C por 120 min y 80°C por 60 y 30 min. Como una primera capa del sistema de producción, por abajo del sustrato de trigo, se utilizó perlita como material hidratante aplicándolo con un espesor de 4.2 y 5.2 cm. El sustrato se utilizó con un espesor de 2.8 y 3.5 cm y el de la cobertura fue de 2, 3 y 3.7 cm. Después de que el trigo se lavó y se coció en agua a ebullición por 30 a 40 min, se mezcló con el suplemento, CaCO₃ al 1% y CaSO₄ al 0.3%. Posteriormente se esterilizó a 120°C (15 psi) por 2 horas y después de 24 horas se inoculó con la cepa A15 de *Agaricus bisporus* de Sylvan[®] al 5%. Los sustratos inoculados se incubaron a 22°C en cuarto oscuro. Una vez invadido el trigo, se prepararon los contenedores de plástico de 30 x 16 x 10 cm para la fructificación. Previamente a la preparación de los contenedores, la perlita y la cobertura recibieron un tratamiento: la perlita se hidrató y esterilizó en autoclave 121°C (15 psi) por 20 min. La cobertura se mezcló con carbón activado al 10% v/v y se sometió al tratamiento térmico previamente

mencionado. Una vez preparados los contenedores con la perlita, la semilla invadida y la cobertura, se incubaron a 22°C, cuando el micelio se visualizó sobre la superficie de la capa de la cobertura, se cambiaron las condiciones ambientales: la temperatura se disminuyó a 16°C y se incrementó la ventilación.

De todos los tratamientos utilizados para la optimización de la producción, el rendimiento más alto fue de 6.9 kg/m² con el suplemento Monte blanco[®] al 10% en combinación con un tratamiento térmico “moderado” a la cobertura (80°C/30 min) y un incremento del 25% en el espesor de perlita (5.2 cm), sustrato (3.5 cm) y cobertura (3.7 cm); con las mismas condiciones pero con el suplemento gluten + salvado (75:25) al 5% el rendimiento fue de 6.3 kg/m², sin embargo con este tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 min) el sustrato tendió a contaminarse con moho verde y larvas por lo que disminuyó el tiempo de cosecha. El segundo mejor rendimiento fue de 6.4 kg/m² con gluten + salvado (75:25) al 10% en combinación con un tratamiento de 80°C/60 min a la cobertura y con menor espesor perlita (4.2 cm), sustrato (2.8 cm) y cobertura (3 cm). Con las mismas condiciones, pero con el suplemento harina de pescado + salvado (50:50) al 5% se obtuvo un rendimiento de 6.2 kg/m², sin embargo la producción para estos dos tratamientos se extendió a 5 semanas.

El sustrato de semilla comercial con suplemento comercial (Monte blanco[®]) al 5% en combinación con un tratamiento térmico de 120 min/120°C a la cobertura, no fue viable ya que no hubo producción. Con los sustratos de trigo a los que se aplicó una capa de cobertura sometida a esterilización se observó una marcada disminución en la producción. A pesar de que los rendimientos por área de cultivo con este sistema son marcadamente inferiores a los logrados en la producción comercial de champiñón en sustratos composteados, esta es una línea de investigación con gran potencial que merece mayor investigación para incrementar los rendimientos, evaluando factores tales como el porcentaje de carbón activado en la cobertura, el uso de otras fuentes de proteína y la posibilidad de una segunda suplementación del sustrato al momento de colocar la cobertura.

1. INTRODUCCIÓN

El propósito del presente trabajo es proponer una alternativa viable de bajo impacto ambiental a la producción convencional del champiñón (*Agaricus bisporus*). Una manera de minimizar el impacto ambiental sin sacrificar los rendimientos de la producción, es el uso de semilla de trigo estéril mezclado con diferentes tipos de suplementos ricos en proteína y fibra en combinación con tratamientos térmicos aplicados a la cobertura así como una variación en el espesor de material hidratante (perlita), sustrato y cobertura.

La mezcla del trigo y los suplementos aportan los nutrimentos necesarios para el desarrollo de *Agaricus bisporus*. El grano provee de carbohidratos y agua en su mayoría al champiñón mientras que el suplemento aporta en su mayoría proteína y fibra, la perlita mantiene la humedad necesaria y la cobertura provee parte de las condiciones para la fructificación. Se ha observado en estudios realizados por Bechara en 2005 y 2006, que estos factores además de las condiciones ambientales (temperatura y humedad) son importantes para la obtención de altos rendimientos.

Agaricus bisporus (comúnmente conocido como champiñón blanco) es el hongo comestible más consumido y producido en el mundo; su producción comercial comprende el 40% de la producción mundial de hongos comestibles (Royse, 2007). En Estado Unidos las ventas anuales son de 880 millones de dólares (Bechara, 2006). México en 2011 contó con altas producciones de champiñón blanco (*Agaricus bisporus*) (Cruz, 2013). Se calcula que 25 000 empleos directos e indirectos podrían haberse generado en los últimos años como resultado de la producción en industrialización de estos organismos (Martínez. *et al*, 2012)

La producción convencional de champiñones presenta varios inconvenientes, principalmente con la preparación de composta como: olores desagradables generados por microorganismos presentes en la materia orgánica que afectan a residentes que viven cerca de las granjas productoras, el uso de maquinaria altamente especializada debido a la labor intensiva y a los requerimientos de la preparación de dicho sustrato (Bechara *et al*, 2006). Otro problema con la producción de champiñón a gran escala es la generación de compuestos

contaminantes que afectan al suelo, subsuelo y superficie del agua como: nitrógeno soluble, fósforo orgánico, materia orgánica y minerales. Por último el tiempo de preparación de la composta es largo (4 semanas). Dichos problemas podrían incrementarse en el futuro proporcionalmente con la creciente demanda de producción.

Considerando el aumento de la demanda del champiñón y tomado en cuenta los problemas ambientales que conlleva su producción, es necesario desarrollar nuevos métodos de producción menos contaminantes pero con rendimientos similares o superiores a los obtenidos con sustratos composteados.

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1 Características generales de los hongos

Los hongos son organismos unicelulares o pluricelulares con estructura de talo, de nutrición quimioheterótrofa. Al igual que los animales su reserva energética es de glucógeno y su pared celular está compuesta por quitina y glicoproteínas.

Las células se agrupan en hifas cuyo conjunto constituye el micelio que es el que penetra en el sustrato. En ocasiones, las hifas se compactan para originar estructuras reproductoras macroscópicas (carpóforos, esporóforos o cuerpos fructíferos). Desde el punto de vista alimenticio, la heterotrofia de los hongos se clasifica en tres:

- Hongos saprófitos. Son los que viven alimentándose sobre materia orgánica muerta en mayor o menor grado de descomposición: hojarasca, madera, estiércol, cadáveres o humus.
- Hongos parásitos. El micelio se desarrolla y se alimenta de seres vivos: animales o vegetales.
- Hongos simbiotes. Viven en íntima relación con vegetales u organismos unicelulares autótrofos. En la simbiosis pueden conservar su morfología (hongos asociados a raíces: micorrizas) o dar origen a estructuras diferentes con morfología propia, como son los líquenes (relación alga o cianobacteria - hongo).

1.1.2 Características de *Agaricus bisporus*

Agaricus bisporus es un organismo eucariótico no fotosintético, aerobio, quimioheterótrofo. 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. Este hongo obtiene sus nutrimentos por absorción de materia orgánica muerta por lo que se clasifica como un hongo saprófito. La mayor parte de sus nutrimentos los obtiene de lignina, celulosa, hemicelulosa y proteína; se desarrolla en sustratos como rastrojo de cereales y de manera natural en el humus que se encuentra en el piso de los bosques; sustrato natural que ofrece una fuente de nutrientes específica y selectiva.

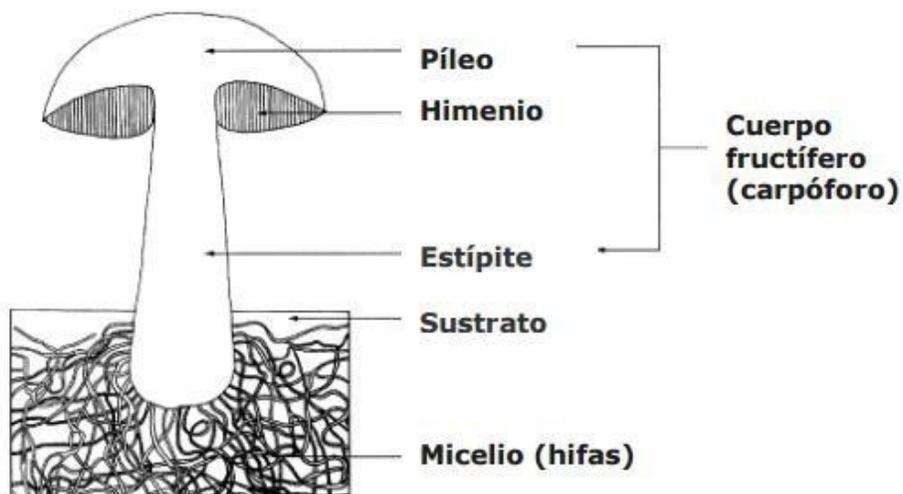


Figura 1.0 Representación morfológica de *Agaricus bisporus* (Briones, 2008)

1.1.2.1 Morfología

Morfológicamente en un champiñón se distinguen 4 partes fundamentales: sombrero, pie o estípite, himenio y laminillas (Figura 1.0)

- a) Sombrero: Es la parte más carnosa del hongo, con forma redondeada y globosa; su tamaño puede alcanzar de 2 a 10 cm de diámetro (Carrillo,2003)
- b) Pie o estípite: Es el soporte del sombrero con forma cilíndrica liso y blanco; por la parte inferior está unido al micelio que está dentro del sustrato. Puede alcanzar de 5 a 10 cm de altura (Carrillo, 2003).
- c) Himenio: Está situado en la parte inferior del sombrero y está formado por numerosas laminillas a manera de radios que van del centro del pie hasta el borde del sombrero. El color de las laminillas puede ser rosa, café y negro dependiendo de la madurez de las esporas. Cuando el champiñón aún no alcanza un desarrollo completo, las laminillas están cubiertas por una membrana llamada velo. Cuando el velo se rompe las laminillas quedan al descubierto y la membrana queda pegada al pie, en ese momento adquiere el nombre de anillo
- d) Laminillas: Entre estas se encuentran las esporas que cuando germinan dan lugar a las hifas que posteriormente constituyen el micelio del champiñón. Al conjunto de las partes ya antes descritas es a la que comúnmente se le denomina champiñón.

1.1.3 Desarrollo de *Agaricus bisporus*

El ciclo del crecimiento de *Agaricus bisporus* es una sucesión de etapas que va desde la germinación de esporas hasta la formación de cuerpos fructíferos que representan el producto del cultivo comercial (Figura 1.1). Para lograr obtener el cuerpo fructífero es indispensable cuidar las condiciones tanto nutricionales como ambientales.

Agaricus bisporus como cualquier otro organismo vivo necesita nutrimentos para poder crecer, especialmente necesita: carbohidratos, nitrógeno y minerales. Además de las condiciones ambientales como temperatura, humedad y ventilación.

Bajo condiciones ambientales adecuadas, las esporas germinan dando lugar a la aparición de una hifa. La cual se ramifica dando lugar al micelio secundario. A este tipo de crecimiento se le llama crecimiento vegetativo.

La temperatura óptima para que ocurra es de los 22 a 24°C con una humedad de sustrato del 65 al 70%, altas concentraciones de CO₂ (alrededor de 5000 ppm) y humedad relativa de 90 a 95% (García, *et al*, 1993.)

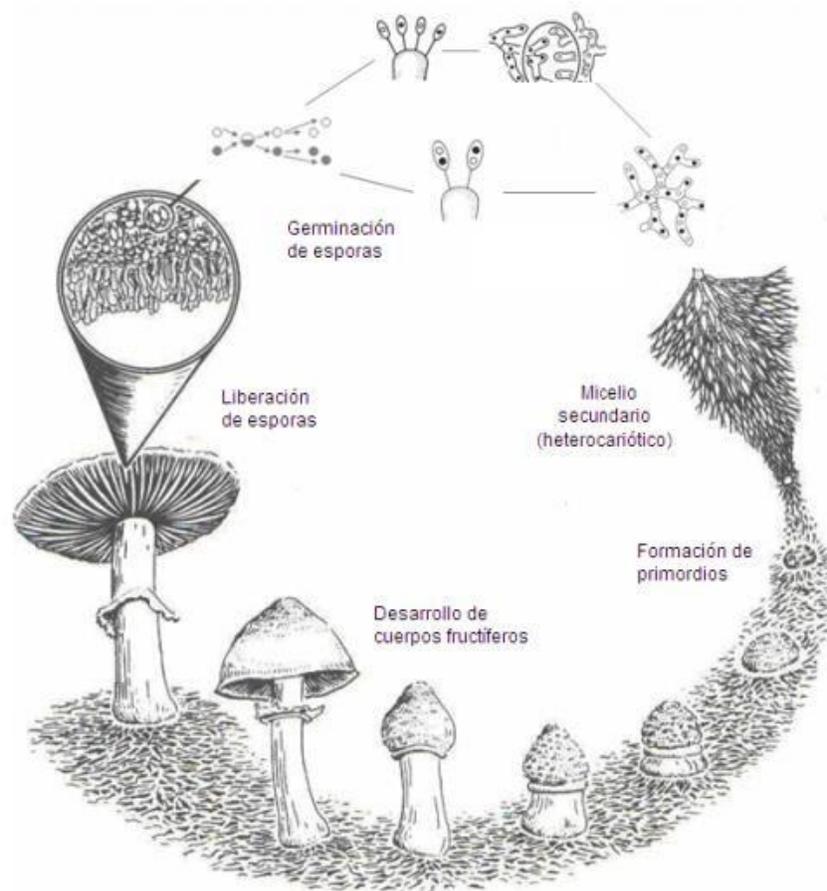


Figura 1.1 Ciclo reproductivo de *Agaricus bisporus* (Briones, 2008)

El cambio de las condiciones ambientales induce a *Agaricus bisporus* de un crecimiento vegetativo a un crecimiento generativo. El cual ocurre con una temperatura de entre 15 a 16°C, humedad relativa del 80 a 85% y concentración de CO₂ de 800-1200 ppm. Primeramente aparecen los primordios que son la estructura visible que da origen al esporóforo. Cuando madura el esporóforo se generan las esporas sexuales.

1.1.4 Producción comercial de champiñones

La producción de *Agaricus bisporus* se compone de la siguiente serie de pasos: composteo, inoculación, incubación, colocación de la cobertura, producción y cosecha (Bechara, 2005). Para la producción comercial de champiñones ha resultado ventajoso preparar 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” (Derikx *et al.*, 1990).

La composta es un sustrato selectivo, 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 *Agaricus bisporus*. El micelio de *Agaricus bisporus* es inoculado en el sustrato utilizando semilla esterilizada de cereales como mijo, en donde se ha propagado el micelio de *Agaricus bisporus*. Este inóculo se desarrolla rápidamente en el sustrato hasta su completa colonización que tarda de 10 a 14 días (Sánchez *et al.*, 2007).

Posterior a la inoculación, es colocada la capa de cobertura sobre la superficie del sustrato, una vez que éste haya sido colonizado por el micelio de *Agaricus bisporus*; sobre la cobertura se desarrollarán los cuerpos fructíferos, los champiñones. Una variedad de materiales pueden ser empleados para la cobertura, sin embargo, la turba es el más frecuentemente utilizado aunque también se emplea suelo mineral o composta agotada de la producción de champiñón (Pardo, 1997).

Si la capa de cobertura no es aplicada 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 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”. 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 perecer.

Para la producción de cuerpos fructíferos de *Agaricus bisporus*, adicionalmente a la aplicación de la capa de cobertura, 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 CO₂ desprendido por la biomasa del hongo (Schisler, 1982). Después de haberse aplicado la cobertura se debe 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 a 24°C y durante la formación de los primordios la temperatura deberá mantenerse entre 15 y 16°C. Para la incubación y el desarrollo del micelio se requieren concentraciones altas de CO₂, 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.

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 a un desarrollo generativo, en donde el organismo entra en una fase reproductiva que implica la formación de cuerpos fructíferos. Esto se logra mediante señales que se le mandan al micelio: se aplican riegos fuertes que inhiben el crecimiento micelial y se modifican las condiciones ambientales que ya se han mencionado anteriormente. Manteniendo una alta humedad ambiental (85 – 90 %). 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, los cuales se desarrollan y se forman los cuerpos fructíferos (champiñones). 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.

1.1.5 Producción de composta

Una composta es la mezcla de materia orgánica procedente de plantas y animales como: heno, rastrojo, olote, pasto, estiércol de pollo y de caballo, cascara de semilla de algodón y de soya, desechos de destilación de etanol previamente hidratada que es sometida a procesos térmicos para la obtención de un sustrato selectivo para la producción de champiñones. A continuación se explica de manera general los pasos que se deben de llevar a cabo para la preparación de la composta:

Fase I: Inicio de la composta

La fase I del composteo es la fase en la que las materias primas como heno, rastrojo, cáscara de semilla de algodón, olote, pasto, estiércol de pollo y de caballo, corteza de árbol, harina de semilla de algodón y de soya, desechos de destilación y yeso (Royse, 2007) son mezcladas y humedecidas. Posteriormente se colocan en un búnker aireado de alta presión (>4 000 Pa) (6 m ancho x 40 m de largo).

De principio se deja un periodo para la absorción de agua por el rastrojo, el cual cuenta con una microflora aerobia (Fase 0). Una vez transcurrido ese tiempo la composta se coloca en el piso aireado del bunker de manera homogénea, lleno el búnker se introduce aire en tiempos programados a través del piso para alcanzar un nivel de oxígeno del 6 al 12% (Samp, 2007). Esto representa una complicación porque al momento de incrementarse la temperatura de la composta, el nivel de oxígeno disminuye y el tiempo de ventilación debe cambiarse constantemente para mantener el nivel de oxígeno. La temperatura de la composta puede alcanzar 83°C. La pila de composta debe ser volteada dos o tres veces para mezclar el agua y redistribuir la materia prima (Royse, 2007) para la obtención de una composta homogénea y húmeda. En esta etapa se debe agregar el agua suficiente para que la humedad final sea la óptima para el desarrollo del

champiñón. Este periodo dura entre 2 y 7 días. El tiempo total desde la preparación de la composta y la transferencia a la fase II es de 2 semanas.

Fase II Terminación de la Composta

El propósito de la fase II es pasteurizar la composta, reducir la cantidad de NH_4^+ presente y de desarrollar una composta selectiva para el champiñón (Royse, 2007). La pasteurización es necesaria para eliminar hongos indeseables, insectos y nematodos que pueden ser causa de enfermedades, daño o alteraciones durante el desarrollo del champiñón, durante la pasteurización el aire y la composta se mantienen entre 55 - 60 °C para promover el crecimiento de hongos y bacterias termófilas que utilicen los carbohidratos tales como azúcares, almidones y algunos polisacáridos y realicen la conversión de compuestos nitrogenados en proteínas. Debido a que el NH_4 es tóxico para el champiñón, es necesario disminuir los niveles por debajo del 0.1%. El tiempo de duración de la fase II puede ser de 5 a 7 días.

La fase II se lleva a cabo en túneles que es la forma más reciente debido a que el manejo de la composta se realiza con menos mano de obra y condiciones ambientales más uniformes; la desventaja es que la inversión en túneles es muy costosa. Una vez disminuida la actividad microbiana, se enfría la composta para la inoculación.

Fase III

El proceso de la fase III es la inoculación de la composta. En este caso también hay ventilación y la temperatura se mantiene a máximo 26°C durante 13 a 18 días. Se requiere de enfriamiento cuando el micelio se calienta. Cuando la colonización termina, la composta se coloca en camas, anaqueles, bloques o charolas para la aplicación de cobertura, formación de primordios y finalmente la cosecha.

Después de la descripción general de la obtención de composta. Se relacionan varios inconvenientes con la preparación de este tipo de sustratos tales como: olores desagradables generados por microorganismos presentes en la materia orgánica que afectan a residentes que viven cerca de las granjas productoras de champiñones: el uso de diferentes equipos como grandes cargadores frontales,

máquinas para la preparación de la composta, sistemas de cintas transportadoras, esto debido a la labor intensiva y a los requerimientos de la preparación de dicho sustrato (Bechara *et al*, 2006).

Otro problema con la producción de champiñones a gran escala es la generación de compuestos que pueden contaminar la superficie del agua, la lixiviación de algunos compuestos como el nitrógeno soluble que pueden ser una amenaza para el subsuelo; así como fósforo orgánico, materia orgánica y minerales que son potencialmente contaminantes del suelo. Finalmente, el almacenamiento, la manipulación y la disposición de gastar tiempo, labor y área superficial; varios problemas son causados por el uso de composta como sustrato; dichos problemas podrían incrementarse en el futuro proporcionalmente con la creciente de la demanda de producción.

1.1.6 Sustratos no composteados

Evidentemente el uso de composta es la forma de producción más utilizada en el mundo. A pesar de las ventajas que posee como: la selectividad para *Agaricus bisporus*, rendimientos económicamente aceptables y uso a gran escala; no es amigable con el medio ambiente. (Coello, 2006), por lo que desde 1960 investigadores comenzaron a trabajar en alternativas para la producción de champiñones.

Por ejemplo, el Dr. Till en 1960 descubrió que el proceso de composteo no es necesario desde el punto de vista de la asimilación de nutrientes, debido a que *Agaricus bisporus* se desarrolló en barriles inoculados sin ninguna presión de infección o competencia por otro organismo patógeno o competidor. Es decir, *Agaricus bisporus* presenta la capacidad enzimática para la asimilación de los nutrientes del sustrato en el que se encuentre presente (García, 2007).

En el año de 1971, el investigador San Antonio, fue el primero en producir champiñones en “semilla” o “blanco” en grano de cereal (García, 2007). El cual se define como el grano de cereal estéril completamente colonizado por micelio del hongo que se va a cultivar. En este sentido es importante mencionar que los

granos no solo constituyen el vehículo para la dispersión del micelio, sino que son el elemento nutritivo principal para el desarrollo del mismo (Mata & Savoie, 2007)

1.1.7 Suplementación del sustrato

El incremento de la disponibilidad de nutrimentos del sustrato en el que crecerá *Agaricus bisporus* es de vital importancia para el aumento en el rendimiento (Mami *et al*, 2013). En la producción comercial es común que el sustrato sea mezclado con suplementos ricos en proteína de liberación retardada. En la cual la suplementación se realiza en la inoculación o al momento de colocar la cobertura (Bechara, 2005).

El uso de suplementos ricos en proteína en sustratos no composteados ha sido una de las formas de incrementar el rendimiento en la producción. Bechara en 2005 probó suplementos comerciales ricos en proteína de liberación retardada a los que denominó S41 y S44. Estos suplementos son de proteína desnaturalizada con formaldehído como fungicida en diferentes concentraciones (0%, 1%, 5%, 10%, 15%). El rendimiento que obtuvo fue de 9.66 kg/m² con S41 al 5% y de 10.19 kg/m² con S41 al 10%. De acuerdo con los resultados obtenidos por Bechara en 2005, altas concentraciones de suplementos se relacionan con bajos rendimientos.

También existen reportes del uso de oleaginosas como soya, semilla de cártamo y níger para incrementar el rendimiento en la producción de champiñones. En un estudio realizado por Bechara en 2006 se probaron sustratos de grano mezclado con diferentes oleaginosas (soya, níger y cártamo) en diferentes concentraciones; al 0%, 15% y 30%. Además del suplemento comercial al 5%, los rendimientos más altos correspondieron a las muestras con soya al 15% con un rendimiento del 16.9 kg/m². Sin embargo un exceso de la misma tiene efectos negativos a los esperados. El rendimiento fue bajo y los champiñones presentaron deformaciones.

1.1.8 Cobertura y el uso de carbón activado en la producción de champiñones

Se denomina cobertura al material que se coloca sobre el sustrato casi colonizado por el micelio. El cual puede ser turba, suelo arcilloso o vermiculita. La cobertura es uno de los principales puntos para la obtención de un alto rendimiento en la producción de champiñones. El papel de la cobertura es muy substancial ya que da soporte y provee de agua durante el desarrollo de los cuerpos fructíferos. Además, protege al sustrato de la desecación (Bechara et al, 2009). Se puede considerar que los aspectos como: el espesor, las condiciones ambientales (ventilación), humedad, presencia de algunos microorganismos, el tratamiento térmico y el uso de carbón activado están relacionados con la obtención de una buena producción.

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 más días para que comience la cosecha. Por otro lado, al extender la cobertura sobre el sustrato se debe considerar que conviene repartirla lo más uniforme posible. De no realizarse 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 de la cobertura ya que las partes con menor espesor son fácilmente inundadas mientras que el resto de la cobertura permanece seca. Adicionalmente esto provocaría que los primordios se formen a distintas profundidades provocando que se produzcan champiñones sucios, con residuos de tierra. La profundidad de la capa de cobertura más recomendable comercialmente es de 4 a 4.5 cm. 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 la producción total de champiñones

Espesores menores de la capa generan problemas en la capacidad de retención de agua disminuyendo el tamaño y rendimiento de champiñones (Sinden & Schisler 1962, Schisler & Wuest 1982).

Existen varias hipótesis sobre el papel de la cobertura en la fructificación de *Agaricus bisporus*. Una de ellas sugiere que *Pseudomonas spp*, es una de las bacterias responsables de la fructificación, ya que la esterilización de la cobertura

inhibe o retarda la fructificación de champiñones. Por lo que no cualquier material puede ser ocupado como cobertura. Otra hipótesis sugiere que la cobertura forma un gradiente de CO_2 o un gas aún no identificado necesario para la fructificación. Por otro lado, se ha demostrado que el uso de carbón activado y el tratamiento térmico restablecen la producción de champiñones. Verbeke y Overstyns en 1991 desarrollaron una teoría en la que describen el papel de carbón activado en el tratamiento térmico de la tierra de cobertura.

En resumen, ellos sugieren que en coberturas no esterilizadas, el CO_2 generado por el metabolismo de *Agaricus bisporus* reacciona con el agua de la cobertura generando H_2CO_3 . El cual reaccionará con el CaCO_3 generando iones Ca^{2+} HCO_3 . El calcio reacciona con oxalato, (quelante exudado por el micelio) formando oxalato de calcio; dicho compuesto inhibe la producción de champiñones debido a que el oxalato exudado es un quelante de Fe^{2+} , ion que inhibe igualmente la producción de *Agaricus bisporus*.

En coberturas con tratamiento térmico ocurre una reacción buffer entre el HCO_3 y CO_2 . En la cual puede conducir a disminuir la posibilidad de reacción con el calcio disponible para la formación del oxalato de calcio. Además, el carbón activado ayuda a absorber el CO_2 y compuestos ferrosos de preferencia con hierro en su forma reducida, como lo sería el oxalato de hierro para favorecer la formación de primordios.

1.2 JUSTIFICACIÓN

El uso de composta para la producción de *Agaricus bisporus* genera problemas de contaminación ambiental, el uso de grandes áreas superficiales, equipo y tiempos largos para la preparación de la composta. El uso de sustratos no composteados no solo minimizaría los problemas ambientales, sino la disminución del impacto ambiental incluiría también un ahorro en el uso de agua para mantener la humedad necesaria para la producción. Además, una disminución en el uso de espacio para la producción y en que al final de la producción el uso de la semilla puede ser utilizada como alimento para animales. Por otra parte su uso es una alternativa a la

posibilidad de cumplir con las recomendaciones de la Organización para las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura, (FAO por sus siglas en inglés). En este sentido es posible producir alimentos agrícolas con menor uso de agua y espacio pero manteniendo la calidad e inocuidad de los mismos. Sin embargo, se debe considerar que toda producción debe ser rentable, por lo que el rendimiento de champiñones debe ser igual o superior al conseguido en composta.

La producción de *Agaricus bisporus* en sustratos no composteados no ha sido probada comercialmente. Aún se desconoce el método más económico y productivo. Por lo anterior, en este trabajo se aborda el efecto de la suplementación en sustratos de trigo estéril en la producción. Su estudio considera factores como el sustrato, tipo y oportunidad de suplementación, la calidad y cantidad para alcanzar productividades de nivel comercial.

Varias investigaciones demuestran que se pueden obtener rendimientos altos que pueden igualar o superar a aquellos obtenidos en composta, (7.7 kg/m²) (Bechara *et al*, 2006). En la producción comercial es común que el sustrato sea mezclado con suplementos ricos en proteína de liberación retardada, en la cual la suplementación se realiza en la inoculación o en el momento de colocar la cobertura (Bechara, 2005). Los resultados que Bechara obtuvo en 2005 indican que al aumentar el nivel de suplementación los rendimientos disminuían. En otro estudio realizado igualmente por Bechara en 2006 se probaron sustratos de grano mezclado con diferentes tipos de oleaginosas en diferentes concentraciones. Los rendimientos más altos correspondieron a las muestras con soya, y al mismo tiempo, un exceso de la misma presentó efectos negativos. El rendimiento fue bajo y los champiñones presentaron deformaciones.

1.3 OBJETIVOS

Objetivos generales

- Evaluar el efecto sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo de la suplementación, el espesor del sistema de producción y de tratamientos térmicos moderados de la cobertura

Objetivos particulares

- Establecer el modelo para la producción de champiñones en sustratos de grano
- Evaluar el efecto sobre la producción de champiñones a través de:
 - Distintos tipos de suplementos (Promycel[®], Monte blanco[®], Harina de pescado, soya entera y una mezcla de gluten + salvado), adicionándolos al 5, 10 y 15 %.
 - Un tratamiento térmico “moderado” de la cobertura en combinación con los suplementos previamente evaluados.
 - Aumentar en un 25% del espesor del sistema de producción

2. HIPÓTESIS

El rendimiento de champiñones en sustratos de trigo estéril se incrementará al aumentar la disponibilidad de nutrientes (adicionando suplementos ricos en proteína y fibra), el espesor del sistema de producción y al disminuir la severidad del tratamiento térmico de la cobertura.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diagrama de experimentación

De manera general la metodología experimental para los tres experimentos se llevó a cabo en dos partes. La primera, la preparación del sustrato de trigo, una vez que el micelio invadió el sustrato de grano se procedió a la segunda parte, la preparación de los contenedores para la fructificación. Después de cosechados los champiñones se realizó un análisis estadístico de los resultados.



Figura 3.0. Diagrama para la producción de champiñones en sustrato de trigo suplementado

3.2 Preparación del sustrato de trigo

Se usó grano de trigo. El cual se consiguió en una tienda de la localidad. El trigo se lavó con agua para eliminar la mayor cantidad de basura y/o desechos. Una vez limpio se procedió a su cocción. El tiempo para la gelatinización del almidón fue de 30 a 40 minutos (se evitó que el almidón saliera del grano) (Anexo, Figura 9.0). Concluido el tiempo de cocción se procedió a enfriar el grano para detener el proceso de gelatinización y se pesó el grano húmedo para adicionar y mezclar en base húmeda CaCO_3 al 1% y CaSO_4 al 0.3%.

3.3 Envasado y esterilización.

Las unidades experimentales se prepararon individualmente en bolsas de polipropileno. Se pesaron el trigo húmedo ya mezclado con CaCO_3 , CaSO_4 y el suplemento de acuerdo a las proporciones mostradas en la Tabla 3.0. Las bolsas de polipropileno llenas se introdujeron en bolsas de tela y se esterilizaron en autoclave a 121°C (15 psi) por 2 h.

Tabla 3.0. Cantidades de trigo húmedo y suplementos para cada experimento

Experimento (No)	Suplementación						Trigo húmedo (g)		
	Tipo	Nivel (%)	Por unidad experimental (g)						
			Promycol®	Monte blanco®	Gluten	Salvado		Harina de pescado	Soya
1	Monte blanco®	5		40				760	
	Promycol®		40						
	Gluten				40				
	Gluten + Salvado 50:50				20	20			
	Gluten + Salvado 75:25				30	10			
2	Gluten + Salvado 75:25	5			30	10		760	
	Gluten + Salvado 75:25	10			60	20		720	
	Gluten + Salvado 75:27	15			120	40		640	
	Harina de pescado + Salvado 50:50	5				10	30	760	
	Gluten + Salvado 75:25 + Soya entera (15%)	5			26.3	8.7		104	661
3	Gluten + Salvado 75:25	5			37.5	12.5		950	
	Gluten + Salvado 75:25	10			75	25		900	
	Monte blanco®	10		100					
	Harina de pescado + Salvado 75:25	5					37.5	12.5	950
	Harina de pescado + Salvado 75:25	10					75	25	900

CaCO_3 (1%), CaSO_4 (0.3%)

3.4 Inoculación.

Las bolsas se dejaron enfriar 24 horas en una campana de flujo laminar. A continuación se inocularon con la cepa A15 de *Agaricus bisporus* de Sylvan® al 5% de acuerdo al peso final de cada unidad experimental (en el primer y segundo experimento las bolsas pesaron 800 g y en el tercer experimento 1000 g) en condiciones asépticas. Las bolsas inoculadas del primer experimento se incubaron a 22°C en cuarto oscuro por un periodo de 28 días y de 14 días para el segundo y tercer experimento; para estos dos grupos en el séptimo día se manipularon las unidades experimentales para romper el micelio presente sobre el grano y lograr una mejor distribución del micelio además, de una mejor manipulación del inóculo de grano de trigo. Una vez alcanzada la invasión del micelio sobre la semilla se colocó en los contenedores para la fructificación.

3.5 Preparación de la perlita.

Para los tres experimentos, la preparación de la perlita se llevó acabo individualmente. En bolsas de polipropileno se pesó perlita seca y se adicionó agua por unidad de acuerdo a las cantidades mostradas en el Tabla 3.1. Se dejaron reposar 30 minutos, una vez pasado el tiempo se esterilizaron en autoclave 121°C (15 psi) por 20 min.

Tabla 3.1. Cantidades utilizadas para la preparación de perlita para los 3 experimentos realizados

N° de experimento	1	2	3
Volumen de perlita (ml)	2000	2000	2500
Peso de perlita (g)	278	278	348
Volumen de agua para hidratar perlita (ml)	727	727	910

3.6 Preparación de la cobertura

Para los tres experimentos, la cobertura previamente hidratada se colocó en una bolsa de polipropileno de acuerdo al volumen señalado en la Tabla 3.2 mezclada con carbón activado al 10% v/v. Las unidades experimentales recibieron un tratamiento térmico de acuerdo a las condiciones mostradas en la misma tabla.

Tabla 3.2. Volumen de cobertura y carbón activado utilizados para los tres experimentos realizados así como el tratamiento térmico.

N° de experimento	1	2	3
Volumen (ml)	960	1440	1800
Carbón activado v/v %	96	144	180
Tratamiento térmico	121 °C (15 psi) /120 min	80°C/ 60 min	80°C/ 30 min

3.7 Preparación de contenedores para fructificación

Se utilizaron contenedores de plástico de 30 x 16 x 10 cm. Los cuales fueron previamente lavados y desinfectados con cloruro de benzalconio (600 ppm). En los contenedores limpios y desinfectados se colocó primero una capa de perlita húmeda y estéril, después una capa del sustrato de grano y por último la capa de cobertura de turba con carbón activado. En la Tabla 3.3 se indican los espesores utilizados para cada uno de los 3 experimentos realizados. Las capas se deben colocar de manera homogénea; es decir, no debe de visualizarse algún tipo de borde. Para lograr una distribución homogénea del material de cada una de las capas en la realización del segundo y tercer experimento se utilizó una placa de metal. Una vez colocado el material ya sea perlita, grano o cobertura se emparejó y distribuyó de manera uniforme con la placa de metal limpia y desinfectada con cloruro de benzalconio (600 ppm). (Anexo, Figura 9.6)

Tabla 3.3. Esquema de preparación de los contenedores para la producción de champiñón en sustratos no composteados

Capas para producción de champiñones en sustratos de trigo	Espesor (cm) de capas en EXPERIMENTOS		
	1	2	3
Cobertura	2	3	3.7
Trigo invadido con micelio	2.8	2.8	3.5
Perlita húmeda	4.2	4.2	5.2

3.8 Fructificación.

Una vez listos los contenedores se incubaron a 22°C. Cuando el micelio se visualizó sobre la superficie de la capa de la cobertura, aproximadamente a los 8 días de incubación, se realizó un “rascado” con una placa de metal dentada sobre la cobertura para homogenizar el micelio en la cobertura. Se cubrió nuevamente el contenedor para permitir desarrollo micelial por aproximadamente 24 h más. Se trasladaron entonces los contenedores al área de producción con las condiciones ambientales para la fructificación (temperatura a 16°C, ventilación continua y control de la humedad ambiental a 85%) (Bechara, 2006). Los contenedores se distribuyeron en el área de producción de forma aleatoria. Para cada variable evaluada se realizaron 5 réplicas.

3.9 Cosecha

El corte del cuerpo fructífero, se llevó a cabo antes de la maduración fisiológica. Es decir, una vez que el sombrero alcanzó su máxima dimensión. Pero permaneció aún cerrado (Figura 3.2). Esto significa que el borde del sombrero debió de estar totalmente enrollado (Figura 3.3). El largo del tallo debe de ser igual a la mitad del

diámetro de la copa del champiñón. El champiñón se cosechó dándole una vuelta y jalando el cuerpo fructífero. El tallo y raíz que quedó con tierra de cobertura se cortó con un cuchillo. Se cosechó con la mano izquierda y se cortó el tallo con la mano derecha. El champiñón debe estar lo más limpio posible.

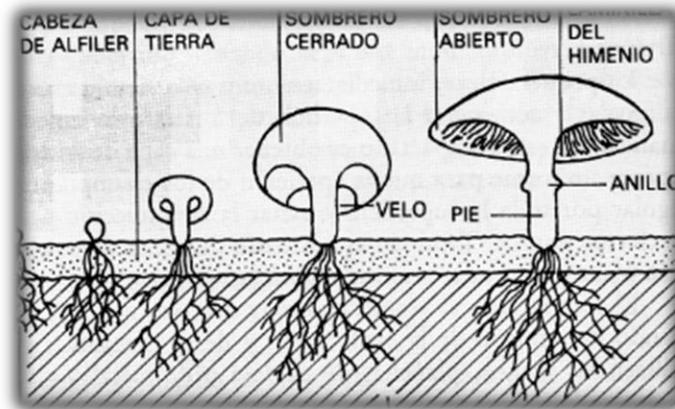


Figura 3.1. Desarrollo de primordios y fructificación de *Agaricus bisporus* (Champiñón) (López Contini, 1990)



Figura 3.2. Champiñón a punto de cosechar



Figura 3.3 Ejemplar recién cosechado

3.10 Tratamiento de resultados.

Para cada unidad experimental se pesaron y contabilizaron los hongos cosechados diariamente. Con los valores obtenidos se calculó la producción total por tratamiento evaluado, así como el rendimiento en kg/m^2 y la eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100 g de sustrato seco). Para cada caso se realizó un análisis de varianza para determinar diferencias significativas entre los tratamientos, con la ayuda del paquete estadístico SPSS Ver. 11 para realizar el análisis estadístico correspondiente.

4. EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.

Se considera que en un plazo de tiempo no lejano la demanda mundial de champiñones aumentará debido a su valor nutricional.

En este sentido, se planteó un modelo alternativo para su producción debido a que el actual tiene un impacto negativo sobre el medio ambiente. Así que para atender el incremento en la demanda y cuidando del planeta se experimentó la siguiente alternativa.

Se consideró factible la producción de champiñones a través del uso de la suplementación del trigo estéril (sustrato) con suplementos comerciales y mezclas de suplementos ricos en proteína y en fibra en diferentes proporciones. Así como el incremento en el espesor del sustrato. A través de este, *Agaricus bisporus* se proveerá de los nutrimentos necesarios así como de los carbohidratos y el agua proporcionados por la gelatinización del almidón presente en el trigo para su crecimiento. También contribuye a este proceso el tratamiento térmico aplicado a la cobertura y el espesor, factor importante para la generación de cuerpos fructíferos.

4.1 Efecto del uso de diferentes suplementos al 5% en la producción de champiñones en sustratos de trigo estéril (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

En este experimento se probó la suplementación al 5% en el sustrato de trigo estéril y en la semilla comercial (mijo) para incrementar la producción de champiñones. Se utilizaron suplementos comerciales (Promycel® y Monte blanco®) así como mezclas de gluten y salvado en diferentes proporciones. El tratamiento térmico utilizado en la cobertura fue de 120°C por 120 min para eliminar los microorganismos presentes en la cobertura que pudieran ser competencia para *Agaricus bisporus*.

4.1.1 Tiempo de producción

De acuerdo a la Tabla 4.1 el tiempo total en el que se llevó a cabo la producción fue de 80 días. Se observó que la etapa con mayor tiempo invertido fue la invasión miceliar y la cosecha de los hongos. Este indicador ofrece la posibilidad de modificar el tiempo de la etapa de incubación.

Tabla 4.1 Etapas para la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min)

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustrato de trigo estéril	Tiempo (días)
Invasión miceliar sobre los granos de trigo estéril	32
Invasión miceliar de la cobertura	8
Formación de primordios	14
Cosecha de hongos	26
Tiempo total	80

El crecimiento de *Agaricus bisporus* sobre el sustrato de trigo alcanzó más del 90% en 32 días; las condiciones de temperatura (22°C) y humedad del sustrato (52.6% ± 0.89%) fueron adecuadas, ya que la apariencia del grano de trigo cambió completamente. El principal indicador fue el color blanco del micelio, la compactación del sustrato y la ausencia de contaminación. El desarrollo de *Agaricus bisporus* en las bolsas fue uniforme. Pues, al momento de colocar el sustrato de trigo en los contenedores se observó homogeneidad del micelio sobre el sustrato de trigo. Sin embargo la manipulación del mismo fue difícil debido a la dureza y a lo compacto que se encontraba el sustrato. Debido a este problema, en los siguientes experimentos se consideró disminuir a más de la mitad el tiempo de invasión y una manipulación de las unidades experimentales al séptimo día, después de la inoculación (Anexo, Figura 9.3).

La invasión miceliar al 75% sobre la cobertura requirió 8 días a una temperatura de 22°C. Para la formación de primordios se cambiaron las condiciones ambientales con el fin de detener el crecimiento vegetativo y favorecer el crecimiento generativo. Se disminuyó la temperatura a 16°C y se incrementó la ventilación.

En el momento en que se observó un sobrecrecimiento del micelio se rascó la cobertura para romper el mismo y mejorar la estructura de la cobertura haciéndola más porosa y abierta, con el fin de incrementar el intercambio de CO₂. Así se evitó su acumulación y promover la formación de primordios.

Cuando estos primordios alcanzaron el tamaño de un chícharo (y si era necesario) se regó hasta saturar, cuidando que el agua no cubriera al micelio o primordios de los alrededores (con tamaño inadecuado para riego). Sin embargo debido a un sobrecrecimiento del micelio (Anexo, Figura 9.10), el agua no siempre penetraba en la cobertura, es decir se quedaba “estancada” en la superficie evitando así la absorción por *Agaricus bisporus*.

4.1.2 Evaluación cualitativa del crecimiento miceliar (*Agaricus bisporus*) y el desarrollo de primordios sobre la cobertura

En la Tabla 4.2 se presenta el desarrollo vegetativo, la presencia y desarrollo de primordios después de haber cambiado las condiciones ambientales para la inducción a la fructificación de *Agaricus bisporus*; a los 14 días en el cuarto de fructificación. En este proceso se observó una anomalía en el crecimiento vegetativo el cual fue muy abundante en una escala del 1 al 5; la presencia de primordios que en teoría debió ser alto debido al tiempo en el cuarto de fructificación fue mucho menor.

El desarrollo de primordios se dio a la par del crecimiento vegetativo; sin embargo el segundo se mantuvo hasta formar una capa blanca impermeable en casi la mayoría de los contenedores (estroma). El exceso de crecimiento vegetativo en los contenedores (Anexo, Figura 9.10) probablemente se debió al espesor de la capa de cobertura. Hay que recordar que a menor espesor de la cobertura, la retención de agua disminuye teniendo como resultado un bajo rendimiento.

Además la cobertura no solo sirve para dar soporte al cuerpo del champiñón sino para crear microcondiciones ambientales que detienen el crecimiento vegetativo. Además de mantener la humedad proveyendo de agua al micelio y a los esporóforos. Por lo que el espesor de 2 cm probablemente no fue suficiente para crear las microcondiciones necesarias para el desarrollo de primordios. Pues no se logró detener el crecimiento vegetativo contundentemente y de manera homogénea a pesar de que las condiciones ambientales hayan sido las favorables.

Tabla 4.2 Evaluación cualitativa del crecimiento miceliar y la presencia de primordios sobre la cobertura a los 14 días en el cuarto de fructificación

Suplementación	*Crecimiento vegetativo	Primordios	
		*Presencia	•Desarrollo
Monte blanco® (Control 1)	4.4 ± 1.3	2.0 ± 0.0	2 ± 0.0
Monte blanco® (Control 2)	4.5 ± 0.7	1.0 ± 0.0	1 ± 0.0
Promycel®	4.4 ± 0.6	2.0 ± 0.0	2 ± 0.0
Gluten	4.8 ± 0.5	1.6 ± 0.6	1.4 ± 0.9
Gluten + Salvado (50:50)	5.0 ± 0.0	1.6 ± 0.6	1.6 ± 0.5
Gluten + Salvado (75:25)	4.6 ± 0.6	2.2 ± 0.5	2 ± 0.0

*1 nulo; 2 escaso; 3 regular; 4 abundante; 5 muy abundante

• 1 nulo; 2 pequeño; 3 chícharo; 4 grande; 5a punto de cosechar

Por lo anterior, se decidió realizar dos cambios al tratamiento de la cobertura para los siguientes experimentos: aumentar el espesor de la cobertura y disminuir el tratamiento térmico para determinar si las nuevas características de la cobertura promueven las microcondiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de los primordios.

Otro cambio implementado debido a la poca homogeneidad del crecimiento de los primordios sobre la cobertura, fue en la metodología de preparación de contenedores. Para los siguientes dos experimentos se usaron placas metálicas para una mejor distribución de los componentes de las capas de los contenedores y evitar el desarrollo irregular de los esporóforos.

4.1.3 Producción total de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

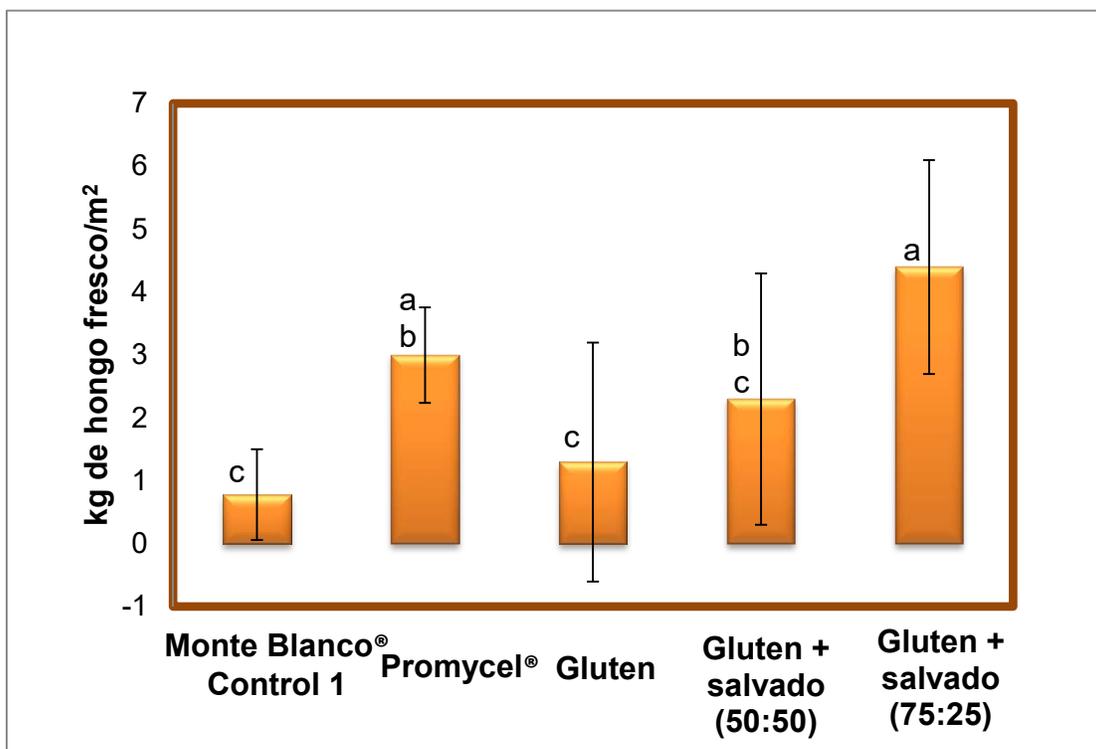
El rendimiento total presentado en la Tabla 4.3, corresponde al promedio del rendimiento de las 4 semanas que se contempló la cosecha. Es importante mencionar que los resultados obtenidos presentan grandes desviaciones, esto probablemente debido al excesivo crecimiento micelial el cual formó capas densas e impermeables al agua. Los cuerpos fructíferos formados crecieron en pequeñas zonas libres (Anexo, Figura 9.10) con muy poco micelio; dichas áreas fueron escasas, presentándose casos en los que en una bandeja solo hubo la producción de un champiñón grande, varios champiñones al mismo tiempo y del mismo tamaño y en otras ningún champiñón. El rendimiento reportado en este trabajo es en; gramos por contenedor, kg/m^2 y eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100 g de sustrato seco) además del peso de cada pieza medida en gramos.

Se probaron cuatro tipos de suplementos y 2 controles. Sin embargo el control 2 corresponde a la semilla de Sylvan[®] invadida por la cepa A15 de *Agaricus bisporus* presentó contaminación en tres réplicas y las dos restantes no tuvieron producción, razón por la cual se descartó del análisis de resultados.

Tabla 4.3 Producción total de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

Suplementación	Producción		Eficiencia biológica	Peso unitario
Tipo	g de hongo fresco/ contenedor	kg de hongo fresco/ m ²	g hongo fresco/100g sustrato seco	g hongo/pieza
Monte blanco® (control 1)	37.5 ± 34.9	0.8 ± 0.7	10 ± 9.3	26.5 ± 25.2
Promycel®	148.3 ± 36.7	3.0 ± 0.8	18 ± 4.4	22.9 ± 10.9
Gluten	156.7 ± 129.7	1.3 ± 1.9	7.6 ± 13.1	17.5 ± 8.9
Gluten + Slavado (50:50)	108.5 ± 95.3	2.3 ± 2	13.7 ± 12.3	38.0 ± 8.5
Gluten + Salvado (75:25)	209.5 ± 83.9	4.4 ± 1.7	25.4 ± 10.2	31.1 ± 4.8

Agaricus bisporus, al igual que cualquier ser vivo, para crecer necesita de nutrimentos: almidón del trigo y de los suplementos (proteína y fibra), condiciones ambientales adecuadas (16°C y ventilación) y una humedad del 72% ± 0.9 de la perlita (material de hidratación) con la finalidad de igualar la humedad de la composta (68 - 72%). Una vez dadas las condiciones para la fructificación, era de esperarse el desarrollo y la presencia de primordios grandes. Sin embargo como se observa en la Tabla 4.3 y en la Figura 4.0 los resultados no fueron los esperados en cuanto a igualar la producción de composta (7.7 kg/m² y 70 - 90% de eficiencia biológica). Se observa una tendencia en la que se obtuvo una mayor producción con el suplemento comercial Promycel® (3 ± 0.8 kg/m²) y la mezcla de gluten + salvado (75:25) (4.4 ± 1.7 kg/m²). Con este resultado se considera que la mezcla de gluten + salvado (75:25) es el suplemento con mayor potencial de uso al tener un mayor rendimiento en kg/m²



*Los valores del rendimiento con la misma letra entre sí, no tienen diferencia altamente significativa ($p > 0.01$)

Figura 4.0 Producción total (kg de hongo fresco/ m²) de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

En cuanto a la eficiencia biológica, en la Figura 4.1 se observa nuevamente la tendencia de que la mezcla de gluten + salvado (75:25) resultó igualmente favorecedora con un 55.1 ± 22.1 g de hongo fresco/100g de sustrato seco. El gluten tuvo una eficiencia biológica de 41.2 ± 34.5 g de hongo fresco/100g de sustrato seco.

Por otro lado, el tamaño de cada pieza es de vital importancia debido a la clasificación de calidad. Aunque este parámetro se mida en chico (1.9 - 3.2 cm de diámetro), mediano (3.2 - 4.5 cm) y grande (mayor a 4.5 cm). El peso también es una referencia importante. Además de que es más fácil de cuantificar. El tamaño es el promedio de dividir el peso total de champiñones cosechados entre el número de champiñones. Este parámetro es difícil de tomar en cuenta debido a la magnitud de la desviación estándar. De acuerdo a la Figura 4.2, se obtuvieron champiñones de diversos tamaños. Con la mezcla de gluten + salvado (50:50) se

obtuvieron los champiñones con mayor peso 38 ± 8.5 g y en segundo lugar la mezcla gluten + salvado (75:25) con un peso unitario de 31.1 ± 4.8 g; a diferencia de las demás suplementaciones. Esta mezcla tuvo la menor desviación estándar.

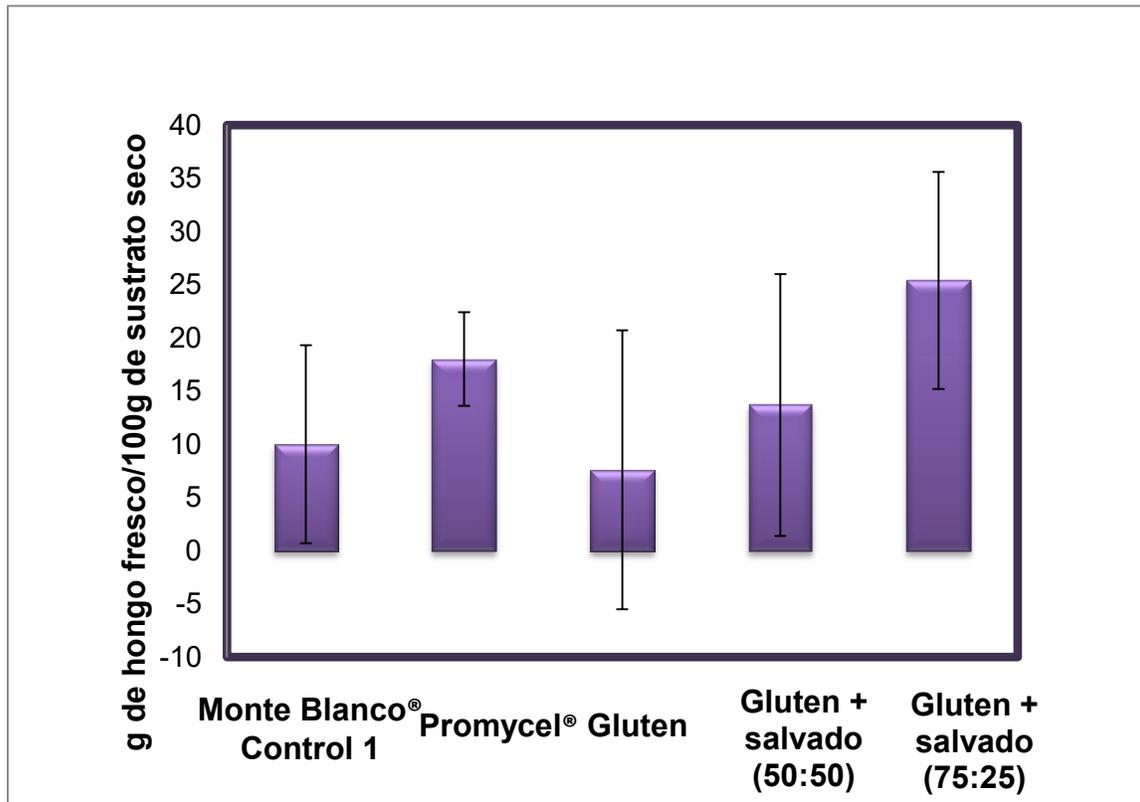


Figura 4.1 Eficiencia biológica de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min)

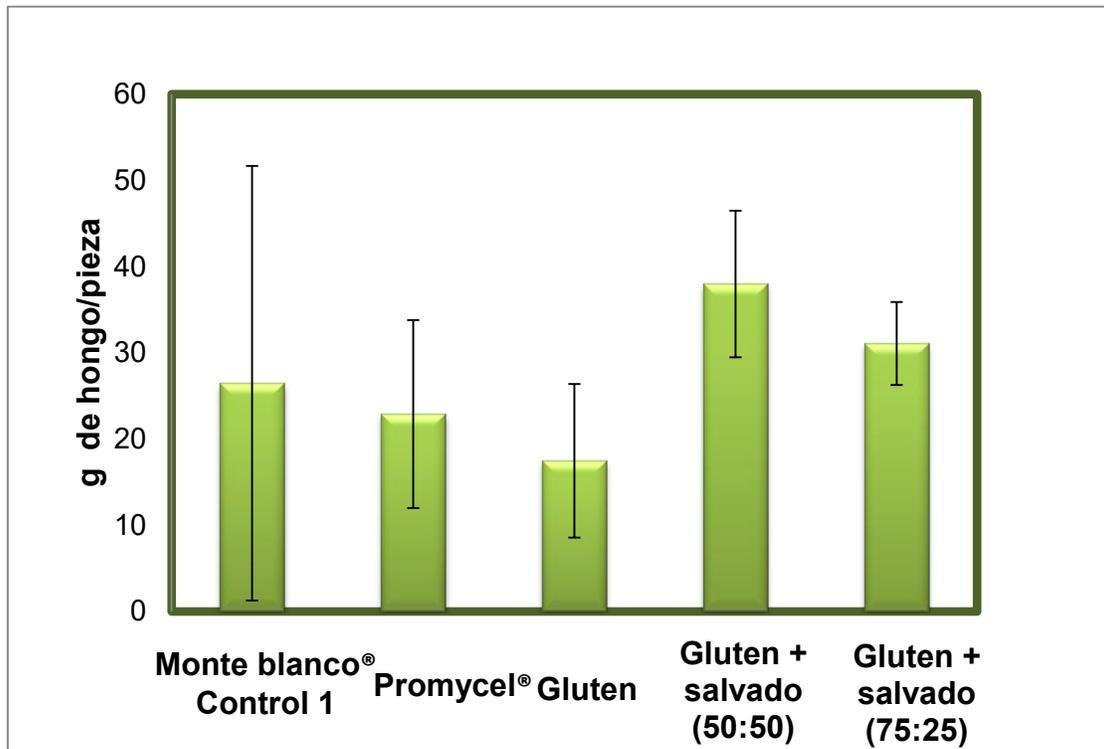


Figura 4.2 Peso unitario del champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C /120 min).

4.1.4 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

En la Figura 4.3 y en la Tabla 4.4 está representada el promedio de la producción acumulada en kg/m² a lo largo de las 4 semanas. En este tiempo se observa la máxima producción alcanzada. Ya se ha mencionado anteriormente que la mayor producción se obtuvo con el suplemento de gluten + salvado (75:25) pero en tres semanas. A diferencia de la producción con Promycel[®] que fue de cuatro semanas. En general la mayoría de las producciones terminaron a las tres semanas, a excepción de Monte blanco[®] que solo produjo dos semanas y con una producción mucho menor que las demás.

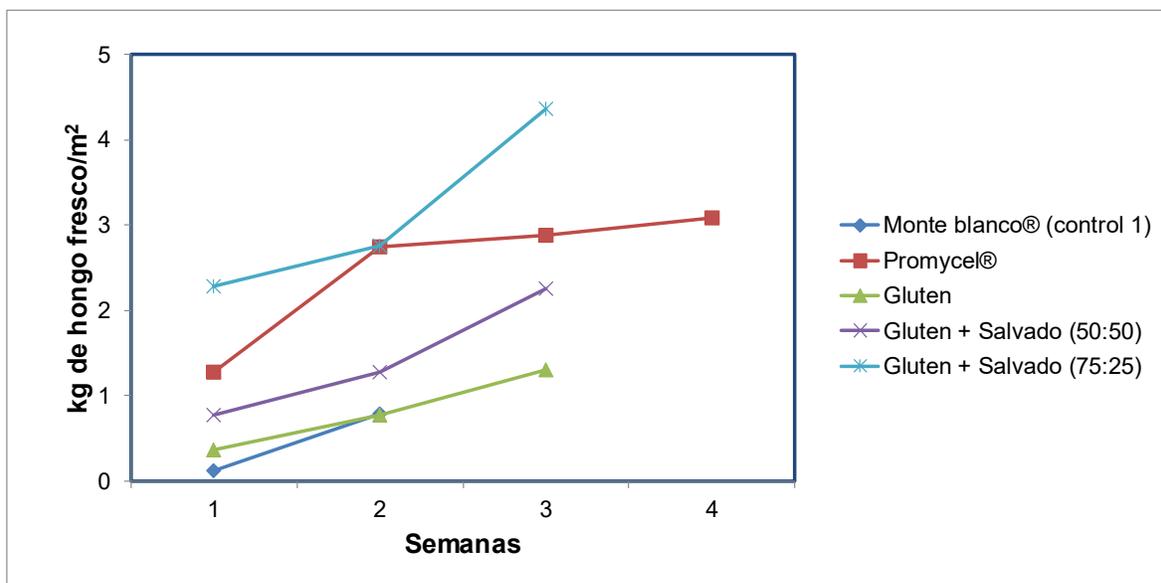


Figura 4.3 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

Se presentan estos resultados con un fin de interés comercial. Pues es importante conocer el tiempo en el que se alcanza el 100% de la cosecha, para llevar un control sobre el proceso de producción y contar con una producción continua de champiñones.

Tabla 4.4 Producción semanal acumulada de champiñones en kg de hongo fresco/m² en sustratos de trigo estéril con diferentes suplementos al 5% (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min).

Suplementación	Producción acumulada			
	(kg de hongo fresco/ m ²)			
	Semanas			
	1	2	3	4
Monte blanco® (control 1)	0.1 ± 0.2	0.8 ± 0.7		
Promycel®	1.3 ± 1.7	2.7 ± 0.7	2.9 ± 0.6	3.1 ± 0.8
Gluten	0.4 ± 0.5	0.8 ± 1.0	1.3 ± 2.2	
Gluten + Salvado (50:50)	0.8 ± 1.3	1.3 ± 0.9	2.3 ± 2.0	
Gluten + Salvado (75:25)	2.3 ± 1.2	2.8 ± 1.1	4.4 ± 1.7	

De acuerdo a los resultados obtenidos en este experimento, se encontró que los mejores rendimientos en kg/m^2 y eficiencia biológica fueron con la suplementación de Promycel® y la mezcla de gluten + salvado (75:25). El mayor tamaño unitario se logró con la suplementación de gluten + salvado (50:50).

Con un análisis de varianza se identificó que en la producción (kg/m^2) existen diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los tipos de suplemento utilizado al 5% (con una cobertura 2 cm con tratamiento drástico $< 120\text{ }^\circ\text{C}$ por 120 min) (Anexo, Tabla 10.0). Se identificó mediante la prueba de Duncan que la mezcla de gluten + salvado (75:25) produce un rendimiento (kg/m^2) significativamente mayor que los demás suplementos (excepto Promycel®) (Anexo, Tabla 10.1). Para los resultados de eficiencia biológica (Anexo Tabla 10.2) y peso por champiñón (Anexo, Tabla 10.3) no existe diferencia entre los suplementos.

Considerando lo anterior, se decidió probar la mezcla de gluten + salvado (75:25) en los experimentos subsecuentes. Estos resultados también permiten considerar un aumento en el nivel de suplementación, únicamente con la mezcla de gluten + salvado (75:25). Pues no hubo diferencia significativa con el suplemento comercial Promycel®. Se decidió incluir también mezclas con diferentes fuentes de proteína como alternativa a los suplementos comerciales así como emplear un tratamiento térmico menos severo de la cobertura y aumentar el espesor de la cobertura. En conjunto, estas variaciones podrían aumentar la producción de champiñones manteniendo las condiciones ambientales de humedad y temperatura, óptimas para el desarrollo de *Agaricus bisporus*.

4.2 Efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (tratamiento de la capa de cobertura: 80°C por 60 min)

En la sección anterior de este trabajo se presentaron los resultados de la producción de champiñones al usar suplementos comerciales y mezclas de gluten + salvado en diferentes proporciones al 5% y un tratamiento térmico de 120°C por 120 min en la cobertura.

Los resultados del primer experimento permitieron desarrollar un nuevo experimento. Este buscó aumentar la producción de champiñón a un rendimiento mayor del 4.4 kg/m² y una mayor eficiencia biológica del 55.1%. En este segundo experimento se utilizó la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 5% (control), 10% y 15%. También se probaron otras fuentes de proteína como harina de pescado y la suplementación con soya entera. A sugerencia de estudios realizados por Bechara en 2006. En los cuales se obtuvo un rendimiento del 16.9 ± 2 kg/m² al suplementar con soya (primera suplementación) al 15% en combinación con S41 al 5% (segunda suplementación). Para el caso de la cobertura se incrementó el espesor 1 cm y el tratamiento térmico fue menos drástico. La temperatura se disminuyó hasta 80°C por un periodo 60 min.

4.2.1 Tiempos de producción

De acuerdo a la Tabla 4.5, el tiempo total en el que se llevó acabo la producción fue de 71 días, 9 días menos que el primer experimento. Debido a que el tiempo de invasión micelial sobre el grano de trigo estéril disminuyó poco más de la mitad del tiempo. Las condiciones de temperatura (22°C) y humedad del sustrato (52.6% ± 0.89%) fueron adecuadas. Puesto que la apariencia de los granos de trigo cambió completamente. El principal indicador fue el color blanco del micelio. Asimismo la compactación del sustrato y la ausencia de contaminación en esta etapa (Anexo, Figura 9.5). Al día 7 se manipularon las bolsas para romper el micelio y lograr una mayor distribución del mismo, para evitar que el sustrato se endureciera y compactara demasiado. El crecimiento de *Agaricus bisporus* en

las bolsas fue uniforme. Esto se observó al momento de colocar el sustrato de trigo en los contenedores.

Tabla 4.5 Etapas para la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento térmico de capa de cobertura: 80°C por 60 min)

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustrato de trigo estéril	Tiempo (días)
Invasión micelial sobre los granos de trigo estéril	14
Invasión micelial de la cobertura	9
Formación de primordios	12
Cosecha de hongos	36
Tiempo total	71

La invasión de la cobertura al 75% por micelio requirió 9 días a una temperatura de 22°C. Para la formación de primordios se cambiaron las condiciones ambientales igual que en el primer experimento se disminuyó la temperatura a 16°C y se incrementó la ventilación. En el momento en que se observó un sobrecrecimiento se rascó la cobertura para romper el micelio y mejorar la estructura de la cobertura además de promover la formación de primordios. Cuando los primordios alcanzaron el tamaño de un chícharo (y si era necesario) se regó hasta saturar, cuidando que el agua no cubriera al micelio o primordios de los alrededores (con tamaño inadecuado para riego).

4.2.2 Evaluación cualitativa del crecimiento micelial (*Agaricus bisporus*).y el desarrollo de primordios sobre la cobertura

En la Tabla 4.6 se presenta el desarrollo vegetativo, así como la presencia y desarrollo de primordios al cambiar las condiciones ambientales de incubación a inducción de la fructificación de *Agaricus bisporus* después de 12 días de haber entrado al cuarto de fructificación. Se observó una disminución en el crecimiento vegetativo en comparación con el primer experimento. En otras palabras el

crecimiento no es tan abundante puesto que se le asignaron valores de entre 2 y 3. Para el caso de los primordios no hay un cambio visible, porque la presencia es escasa y su desarrollo se encontraba en la primera etapa.

Tabla 4.6 Evaluación cualitativa del crecimiento miceliar y de la presencia de primordios sobre la cobertura a los 12 días en el cuarto de fructificación

Suplementación		*Crecimiento vegetativo	Primordios	
Tipo	%		*Presencia	•Desarrollo
Gluten + Salvado 75:25 (Control)	5	3.6 ± 0.5	2.0 ± 1.0	2 ± 1.0
Gluten + Salvado (75:25)	10	2.6 ± 0.5	1.6 ± 0.8	1.6 ± 0.8
Gluten + Salvado (75:25)	15	1.2 ± 0.5	1.0 ± 0.0	1 ± 0.0
Harina de pescado + Salvado (50:50)	5	3.0 ± 0.0	3.0 ± 0.7	2.6 ± 0.5
Gluten + Salvado (75:25) + Soya	5 + 15	3.2 ± 0.4	2.8 ± 0.8	3 ± 0.7

*1 nulo; 2 escaso; 3 regular; 4 abundante; 5 muy abundante

• 1 nulo; 2 pequeño; 3 chícharo; 4 grande; 5 a punto de cosechar

A pesar del aumento del espesor de la cobertura y la disminución del tratamiento térmico. En esta etapa preliminar de la producción no se observaron cambios aparentes en cuanto a la formación de primordios en comparación al primer experimento. Sin embargo se logró controlar el crecimiento excesivo de micelio y la formación de los primordios se logró en un menor tiempo.

4.2.3 Producción total de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento de la capa de cobertura 80°C por 60 min)

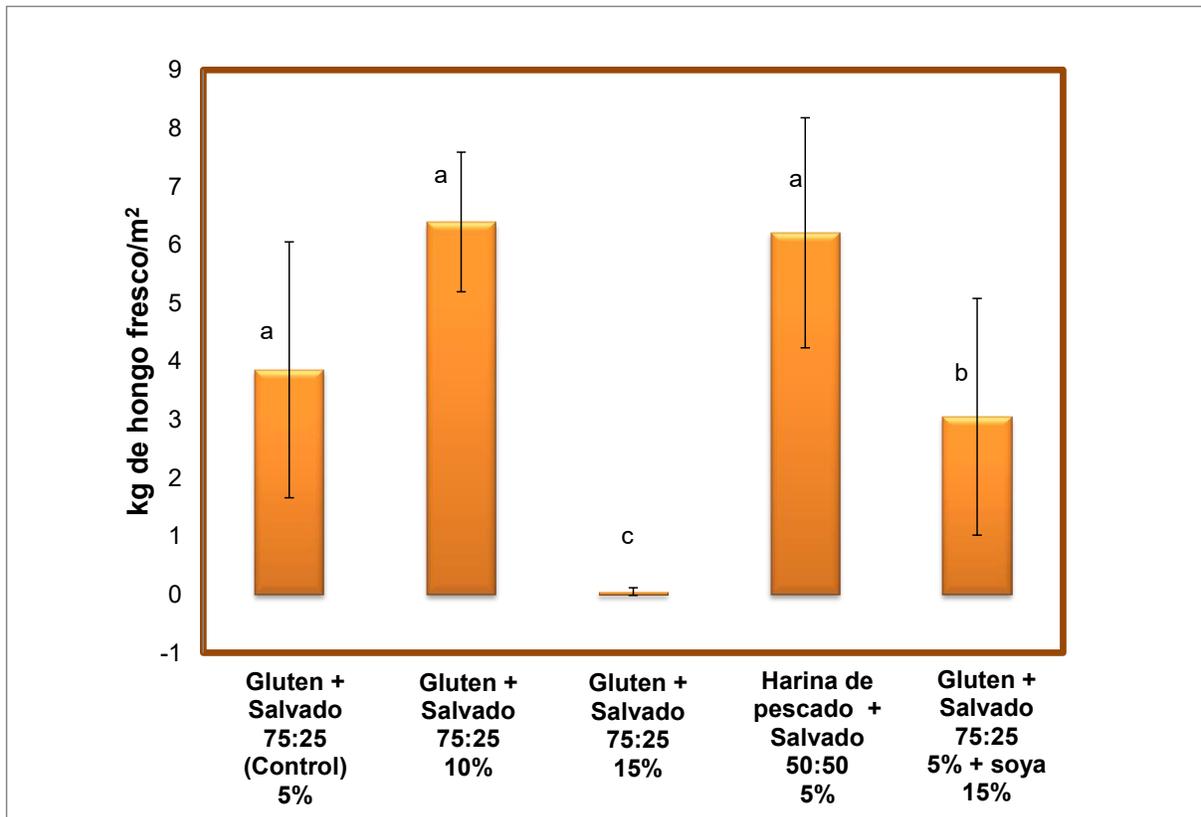
Al igual que en el primer experimento, el rendimiento obtenido se midió en gramos hongo fresco por contenedor, kilogramos de hongo fresco por metro cuadrado, eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100 g de sustrato seco) y tamaño

de pieza en gramos. A diferencia del primer experimento, la producción se extendió a cinco semanas (Tabla 4.7).

Tabla 4.7 Producción total de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento térmico de capa de cobertura de 80°C por 60 min).

Suplementación		Producción			Eficiencia biológica	Peso unitario
Tipo	%	g de hongo fresco/ contenedor	kg de hongo fresco/ m ²	g hongo fresco/100g sustrato seco	g hongo/pieza	
Gluten + Salvado 75:25 (Control)	5	184.9 ± 105.4	3.9 ± 2.2	47.3 ± 27	14.9 ± 2.5	
Gluten + Salvado (75:25)	10	306.8 ± 57.5	6.4 ± 1.2	73.8 ± 13.7	14.5 ± 12.8	
Gluten + Salvado (75:25)	15	2.5 ± 3	0.1 ± 0.1	0.6 ± 0.7	1.1 ± 1.1	
Harina de pescado + Salvado (50:50)	5	297.8 ± 94.7	6.2 ± 2	76.7 ± 24.6	16.7 ± 6.1	
Gluten + Salvado (75:25) + Soya	5 + 15	146.3 ± 97.4	3.0 ± 2	37.0 ± 21.9	13.8 ± 2	

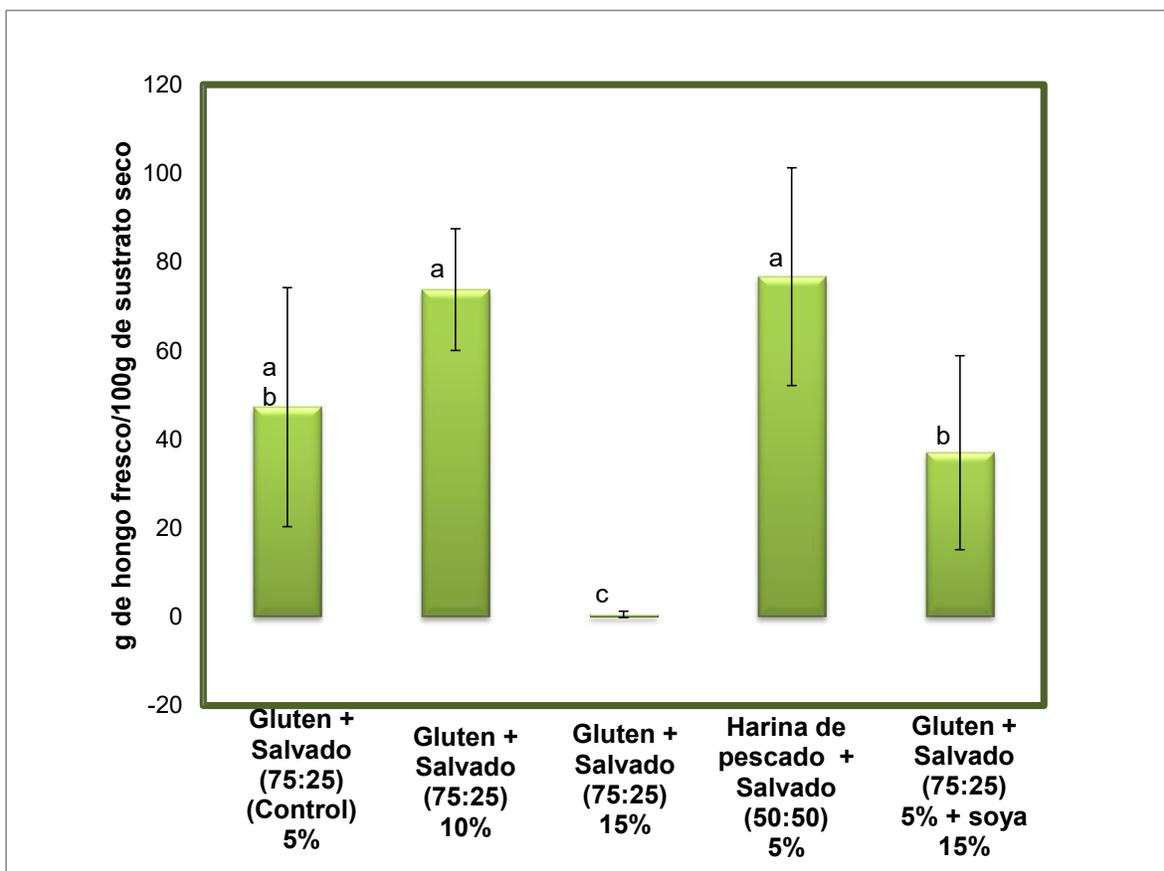
El rendimiento total mostrado en la Tabla 4.7 corresponde al promedio del rendimiento de las 5 semanas de la cosecha. Se puede observar que hay un incremento notorio en la producción en comparación al primer experimento. De acuerdo a la Tabla 4.7 y a la Figura 4.4, el rendimiento al que corresponde el control (gluten + salvado (75:25) al 5%, fue de 3.9 ± 2.2 kg/m². Esto quiere decir que hubo una disminución en cuanto al primer experimento (4.4 kg/m²). Sin embargo la producción de la misma mezcla al 10% fue de 6.4 ± 1.2 kg/m². Tal como se observa en la Figura 4.4, fue el más alto de todas las suplementaciones. Al mismo tiempo se encuentra cerca del 7.7 kg/m² obtenido en composta. La suplementación al 15% de gluten + salvado no presentó resultados favorables porque la producción prácticamente fue nula.



*Los valores del rendimiento con la misma letra entre sí, no tienen diferencia altamente significativa ($p > 0.01$)

Figura 4.4 Producción total (kg de hongo fresco/ m²) de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (Tratamiento de la capa de cobertura: 80°C por 60 min)

Para el caso de la nueva fuente de proteína, harina de pescado se obtuvo un rendimiento de 6.2 ± 2 kg/m² muy cercano al obtenido con la mezcla de gluten + salvado al 10%, siendo que la mezcla de harina de pescado + salvado se utilizó al 5%. En cuanto a la soya el rendimiento fue de 3.0 ± 2 kg/m². Este se puede considerar bajo al compararlo con el obtenido con los experimentos de Bechara en 2006, que fue de 16.9 ± 2 kg/m².



*Los valores del rendimiento con la misma letra entre sí, no tienen diferencia altamente significativa ($p > 0.01$)

Figura 4.5 Eficiencia biológica de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (Tratamiento de la capa de cobertura: 80°C por 60 min)

En lo que se refiere a la eficiencia biológica, se obtuvieron resultados muy favorables porque entran dentro del rango de la eficiencia biológica reportada para la composta (70 - 90%). En la Figura 4.5, los valores más altos corresponden a la mezcla de gluten + salvado al 10% con 73.8 ± 13.7 % y la mezcla de harina de pescado + salvado al 5% con 76.7 ± 24.6 %. Cabe mencionar que no existieron deformaciones en las piezas ni cambios en cuanto a la textura y color del champiñón. El resultado obtenido con soya al 15% fue muy bajo en comparación con los resultados obtenidos por Bechara en 2006 ya que él obtuvo 196% de eficiencia biológica.

Para el segundo experimento, de acuerdo a la Figura 4.6, el peso de la pieza de champiñón tuvo una reducción. Una observación importante es que el tamaño entre los suplementos es muy similar. Esto podría verse favorecido por el cambio del tratamiento de la cobertura y por la forma de preparar los contenedores, además de las condiciones ambientales.

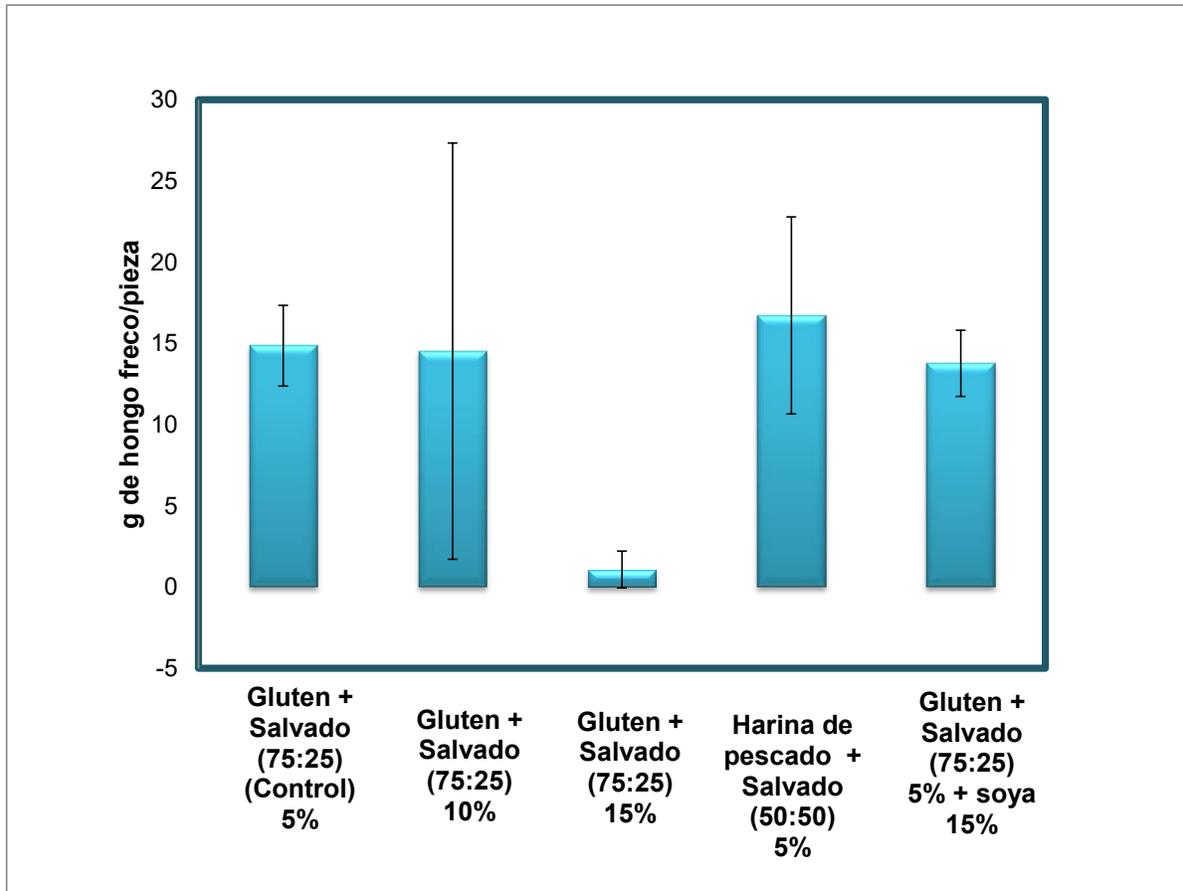


Figura 4.6 Peso unitario del champiñón en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (Tratamiento de la capa de cobertura: 80°C por 60 min)

4.2.4 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento térmico de capa de cobertura de 80°C por 60 min).

En la Figura 4.7 y en la Tabla 4.8 se presenta el promedio de la producción acumulada a lo largo de las semanas. En este experimento se cosechó hasta la semana 5. Al igual como se muestra en las tablas y gráficas anteriores, la producción en la que se utilizó la mezcla gluten + salvado al 10% y harina de pescado + salvado (50:50) al 5% fueron las más altas. Sin embargo la cosecha se extendió 2 semanas más, a diferencia del primer experimento. Para el resto de los suplementos, la cosecha fue solo de tres semanas, pero sin rendimientos prometedores.

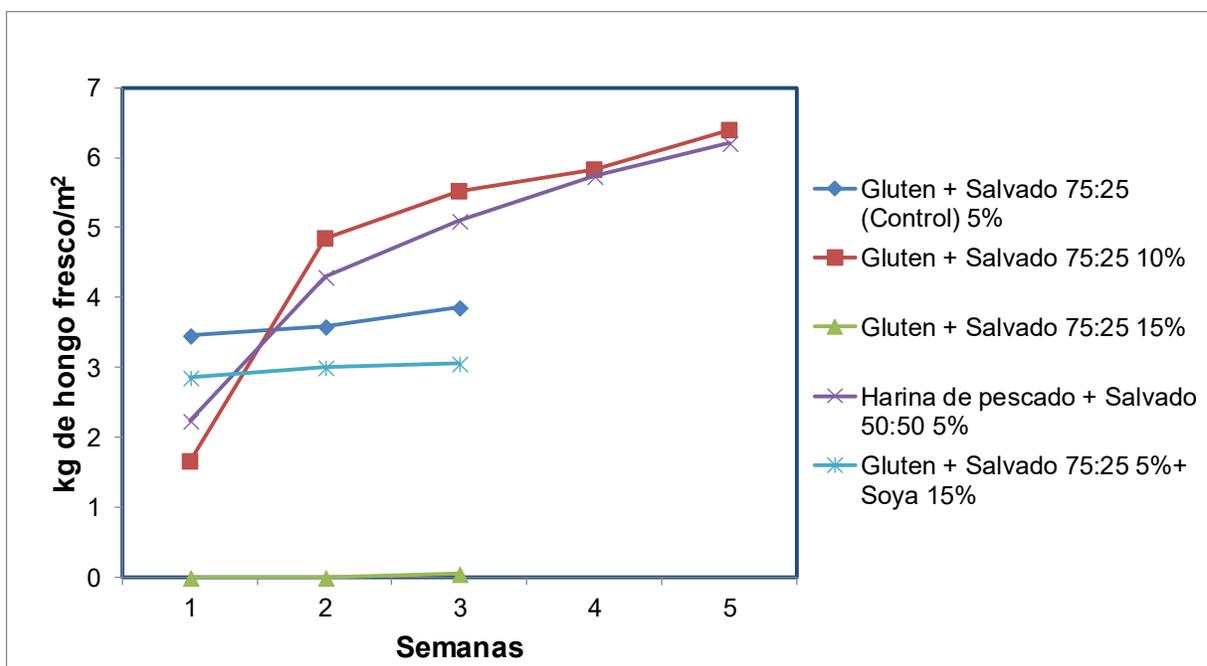


Figura 4.7 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento térmico de capa de cobertura de 80°C por 60 min).

En este segundo experimento, se probaron diferentes suplementos ricos en proteína y fibra en distintas proporciones y concentraciones, en combinación con la modificación del tratamiento térmico de la cobertura así como el aumento en el espesor. Los resultados más importantes obtenidos fueron por la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 10% y por la mezcla de harina de pescado + salvado (50:50) al 5% con $6.4 \pm 1.2 \text{ kg/m}^2$ y $6.2 \pm 2.0 \text{ kg/m}^2$ respectivamente. Al mismo tiempo de que de esta última, el peso promedio de las piezas fue el más alto (16.7 g) a reserva de la desviación estándar reportada que sin lugar a dudas disminuyó en comparación al primer experimento. Con relación a la eficiencia biológica, hubo un logro importante porque los valores de $73.8 \pm 13.7\%$ y $76.7 \pm 24.6\%$ (correspondientes a las mezclas de gluten + salvado al 10% y harina de pescado + salvado 5%) son valores que entran en el rango de 70-90% valores de composta.

Tabla 4.8 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación (tratamiento térmico de capa de cobertura de 80°C por 60 min).

Suplementación	Producción acumulada				
	(kg de hongo fresco/ m ²)				
	Semanas				
	1	2	3	4	5
Gluten + Salvado (75:25) (Control) 5%	3.5 ± 1.5	3.6 ± 2.1	3.9 ± 2.2		
Gluten + Salvado (75:25) 10%	1.6 ± 0.4	4.8 ± 1.4	5.5 ± 0.5	5.8 ± 0.9	6.4 ± 1.2
Gluten + Salvado (75:25) 15%	- ± -	- ± -	0.1 ± 0.1		
Harina de pescado + Salvado (50:50) 5%	2.2 ± 0.8	4.3 ± 2.4	5.1 ± 2.3	5.7 ± 2.4	6.2 ± 2.0
Gluten + Salvado (75:25) 5%+ Soya 15%	2.8 ± 1.4	3.0 ± 1.7	3.0 ± 2.0		

Con un análisis de varianza se identificó que tanto para la producción en kg/m^2 y la eficiencia biológica existen diferencias significativas ($p < 0.01$) con los distintos tratamientos. Se identificó mediante la prueba de Duncan que los valores de la

mezcla de harina de pescado + salvado (50:50) al 5% y gluten + salvado (75:25) al 10% son significativamente mayores que los obtenidos con el resto de las variables. En una situación intermedia se encuentra la suplementación con la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 5 %, cuya producción no es significativamente diferente a las anteriores pero tampoco a la obtenida con la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 5% y soya al 15%. Aunque, las producciones con esta última variable son significativamente menores que las 2 primeras. En cuanto al peso de champiñón no existe diferencia significativa entre las variables evaluadas.

Los resultados obtenidos son de importancia por dos cuestiones: la posibilidad de utilizar nuevos materiales como suplemento y utilizar un tratamiento térmico menos severo a la cobertura. Aunado al incremento del espesor se favorece el rendimiento de *Agaricus bisporus*.

A partir de los resultados obtenidos se decidió evaluar la posibilidad de mejorar la producción de champiñones aumentando la concentración del suplemento gluten + salvado (75:25) al 10% y utilizar un suplemento de harina de pescado. Adicionalmente se decidió incrementar 25% las diferentes capas del sistema de producción y disminuir el tratamiento térmico a 30 min.

4.3 Efecto de un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, y de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril.

En los 2 experimentos anteriores se probaron distintos suplementos: comerciales (Monte blanco[®] y Promycel[®]), gluten, harina de pescado, salvado y soya en distintas proporciones en combinación con tratamientos térmicos para la optimización de la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril. En adición se realizó una variación en el espesor de la cobertura. Se observó que existe una relación entre la disminución del tratamiento térmico de la cobertura y el aumento en la producción de champiñones. Por lo que se decidió probar un tratamiento térmico “moderado” en este experimento. Se mantuvo la temperatura

de 80°C (igual que el experimento 2), por 30 minutos. Para mantener el efecto de la suplementación se probaron los suplementos con los cuales se obtuvieron mejores resultados: gluten + salvado (75:25) al 5 % (como control) y 10%, harina de pescado + salvado (75:25) en 5 y 10%. Por último, se probó el suplemento Monte blanco® al 10% en lugar del 5% que se utilizó en el primer experimento. También se aumentó 25% el espesor de cobertura, sustrato y perlita utilizados en el experimento 2, con el fin de probar si existe un efecto positivo en la producción de champiñones.

4.3.1 Tiempos de producción

En la Tabla 4.9 se presenta el tiempo de duración de las etapas para la producción de champiñones. Para este experimento el tiempo total de producción fue de 53 días, cabe destacar que hay una disminución significativa en el tiempo de producción en comparación con los otros experimentos presentados en este trabajo. La disminución es debido al corto tiempo de cosecha. El tiempo para la formación de primordios disminuyó 4 días en comparación al primer experimento, pero en comparación al segundo, la disminución no fue significativa.

Tabla 4.9 Evaluación y comparación del uso de la mezcla de diferentes tipo de proteína y fibra como suplemento en la producción de *Agaricus bisporus* en sustrato de trigo estéril

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustrato de trigo estéril	Tiempo (días)
Invasión micelial sobre los granos de trigo estéril	14
Invasión micelial de la cobertura	9
Formación de primordios	10
Cosecha de hongos	20
Tiempo total	53

4.3.2 Evaluación cualitativa del crecimiento micelial (*Agaricus bisporus*) y el desarrollo de primordios sobre la cobertura.

La evaluación cualitativa del crecimiento micelial y la formación de primordios se realizó a los 10 días después de haber introducido los contenedores al cuarto de fructificación. En la Tabla 4.10 se puede apreciar que el crecimiento vegetativo se controló con mayor eficacia, la presencia y desarrollo de primordios para este tiempo fue más notorio en comparación a los experimentos anteriores. Las observaciones de este tipo proporcionan una visión de cómo será la cosecha de champiñones, por ejemplo los menores rendimientos fueron de los contenedores en los que se observó un sobrecrecimiento micelial.

Tabla 4.10 Evaluación cualitativa del crecimiento micelial (*Agaricus bisporus*) y el desarrollo de primordios sobre la cobertura a los 10 días después de la inducción a la fructificación

Suplementación		*Crecimiento vegetativo	Primordios	
Tipo	%		*Presencia	•Desarrollo
Gluten + Salvado (75:25) (Control)	5	2.2 ± 0.4	2.6 ± 1.0	2.4 ± 0.5
Gluten + Salvado (75:25)	10	2.2 ± 0.4	1.8 ± 1.0	1.8 ± 0.8
Harina de pescado + Salvado (75:25)	5	2.8 ± 0.8	2.8 ± 1.0	2.6 ± 0.5
Harina de pescado + Salvado (75:25)	10	2.0 ± 0.8	1.2 ± 1.0	1.2 ± 0.5
Monte blanco®	10	2.6 ± 0.8	2.4 ± 1.0	2.4 ± 0.5

*1 *nulo; 2 escaso; 3regular; 4 abundante; 5 muy abundante

• 1 nulo; 2 pequeño; 3 chícharo; 4 grande; 5 a punto de cosechar

4.3.3 Producción total de champiñones en sustrato de trigo estéril con un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, y con diferentes tipos y niveles de suplementación.

El rendimiento obtenido nuevamente se midió igual que en los experimentos anteriores. El rendimiento total presentado en la Tabla 4.11 corresponde al promedio del rendimiento de las 3 semanas de cosecha. De acuerdo a la misma y a la Figura 4.8, el rendimiento más alto corresponde al suplemento comercial Monte blanco® al 10% ($6.9 \pm 3.1 \text{ kg/m}^2$). Se hace mención que fue el rendimiento más alto obtenido en este trabajo; el segundo rendimiento más alto corresponde a la mezcla gluten + salvado (75:25) al 5% con $6.3 \pm 4.4 \text{ kg/m}^2$.

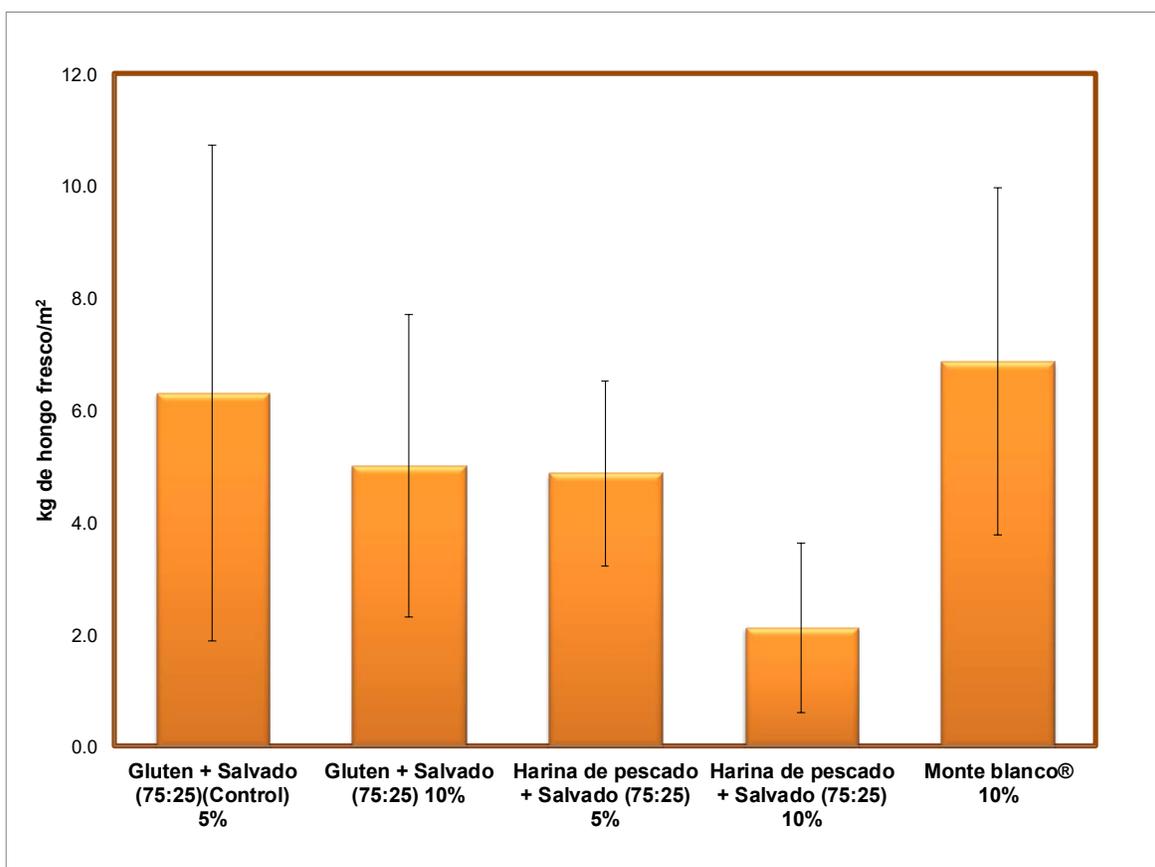


Figura 4.8 Producción total (kg de hongo fresco/ m²) de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura

Una observación importante es que el rendimiento obtenido con la mezcla de harina de pescado + salvado (75:25) al 5% fue de $4.9 \pm 1.6 \text{ kg/m}^2$, valor muy cercano al de la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 10% ($5 \pm 2.7 \text{ kg/m}^2$). A pesar de que la concentración es la mitad a la mezcla de gluten + salvado (75:25). Este dato es importante porque se puede considerar a la harina de pescado como alternativa comercial. La suplementación de harina de pescado + salvado al 10% no presentó resultados favorables.

Tabla 4.11 Producción de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura

Suplementación		Producción			Eficiencia biológica	Peso unitario
Tipo	%	g de hongo fresco/ contenedor	kg de hongo fresco/ m ²	g hongo fresco/100g sustrato seco	g hongo/pieza	
Gluten + Salvado (75:25)(Control)	5	302.4 ± 212.7	6.3 ± 4.4	55.9 ± 39.7	10.4 ± 1.5	
Gluten + Salvado (75:25)	10	240.1 ± 129.6	5.0 ± 2.7	42.1 ± 22.9	15.7 ± 6.2	
Harina de pescado + Salvado (75:25)	5	235 ± 75.7	4.9 ± 1.6	44.6 ± 14.7	20.6 ± 2.7	
Harina de pescado + Salvado (75:25)	10	101.1 ± 72.5	2.1 ± 1.5	17.5 ± 12.3	13.9 ± 10.2	
Monte blanco [®]	10	329.6 ± 149.1	6.9 ± 3.1	56.2 ± 25.5	29.2 ± 0.5	

En relación a la eficiencia biológica (g de hongo fresco/100g de sustrato seco) los resultados obtenidos no fueron los esperados. Se aprecia en la Figura 4.9, el valor más alto corresponde al suplemento Monte blanco[®] al 10% y a la mezcla de gluten + salvado al 5% con 56.2 ± 25.5 y 55.9 ± 39.7 respectivamente. El resultado menos favorable corresponde al suplemento de harina de pescado + salvado (75:25) al 10% (17.5 ± 12.3), uno de los valores más bajos. Comparando los valores con los obtenidos en el experimento 2 no se aprecia una mejora

probablemente a que la cosecha solo se mantuvo 3 semanas en lugar de 5. Esto debido a la pronta contaminación de los contenedores (Anexo, Figura 9.11 y 9.12)

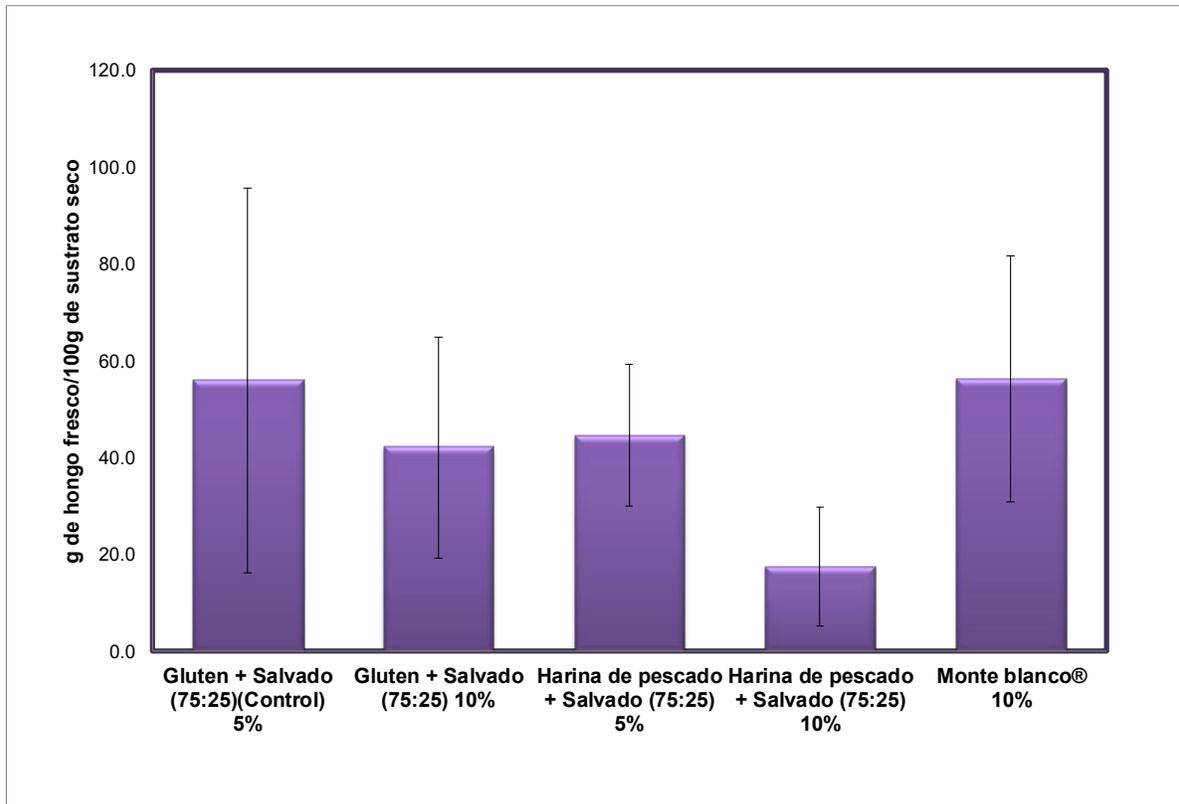


Figura 4.9 Eficiencia biológica en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura

La Figura 4.10 muestra que con el suplemento Monte blanco® se obtuvieron piezas con mayor peso (29.2 ± 0.5 g). El segundo peso corresponde a la mezcla de harina de pescado + salvado (75:25) al 5% con un promedio de 20.6 ± 2.7 g. A pesar del rendimiento total de la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 5% fue de los más altos, el peso promedio de los hongos fue el menor de todos con un valor de 10.4 ± 1.5 g. Lo que significa que se obtuvieron varios hongos de 10 g aproximadamente; sin embargo en el caso de la mezcla de harina de pescado + salvado al 5% se obtuvieron menor número de hongos.

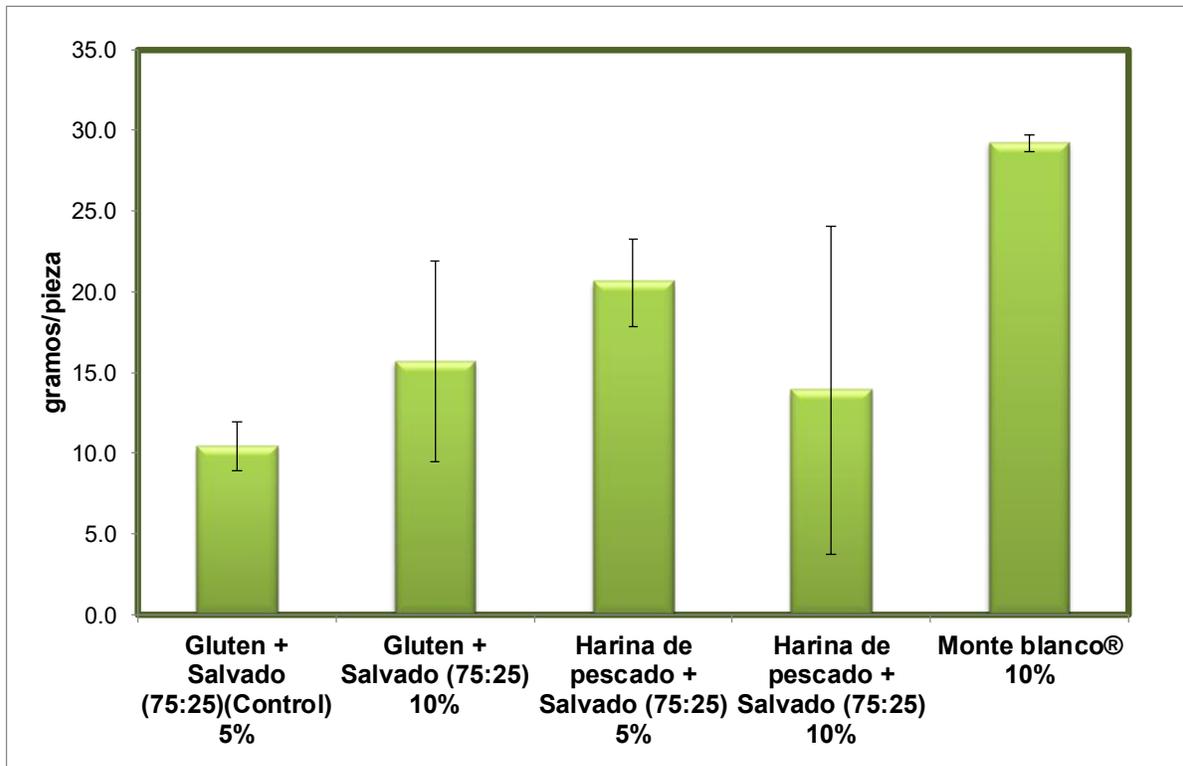


Figura 4.10 Peso unitario de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura

4.3.4 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura y con diferentes tipos y niveles de suplementación.

En la Figura 4.11 y en la Tabla 4.12 se observa el promedio de la producción acumulada en 3 semanas. Se observa que con el suplemento Monte blanco® al 10 % la producción se mantuvo 2 semanas. Sin embargo, este suplemento fue el que mejor rendimiento tuvo. El resto de los suplementos produjeron 3 semanas. No obstante no hay diferencia en relación a la segunda y tercer semana de producción. Pues de acuerdo a la Figura 4.11 las líneas de producción se aprecian constantes.

En este experimento, a diferencia de los anteriores ocurrió una contaminación prematura de la cobertura (Anexo, Figura 9,11). La contaminación empezó a partir de la segunda semana; aspecto que podría comprometer la inocuidad, calidad del champiñón y sobre todo la producción. Es importante mencionar que no se realizó ninguna prueba microbiológica de identificación del microorganismo responsable.

Al realizar un análisis de varianza con los resultados obtenidos se encontró que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) en el uso de diferentes tipos y niveles de suplementación con un tratamiento de $80^{\circ}\text{C}/30$ min para la cobertura y el aumento de espesor de un 25% de las capas.

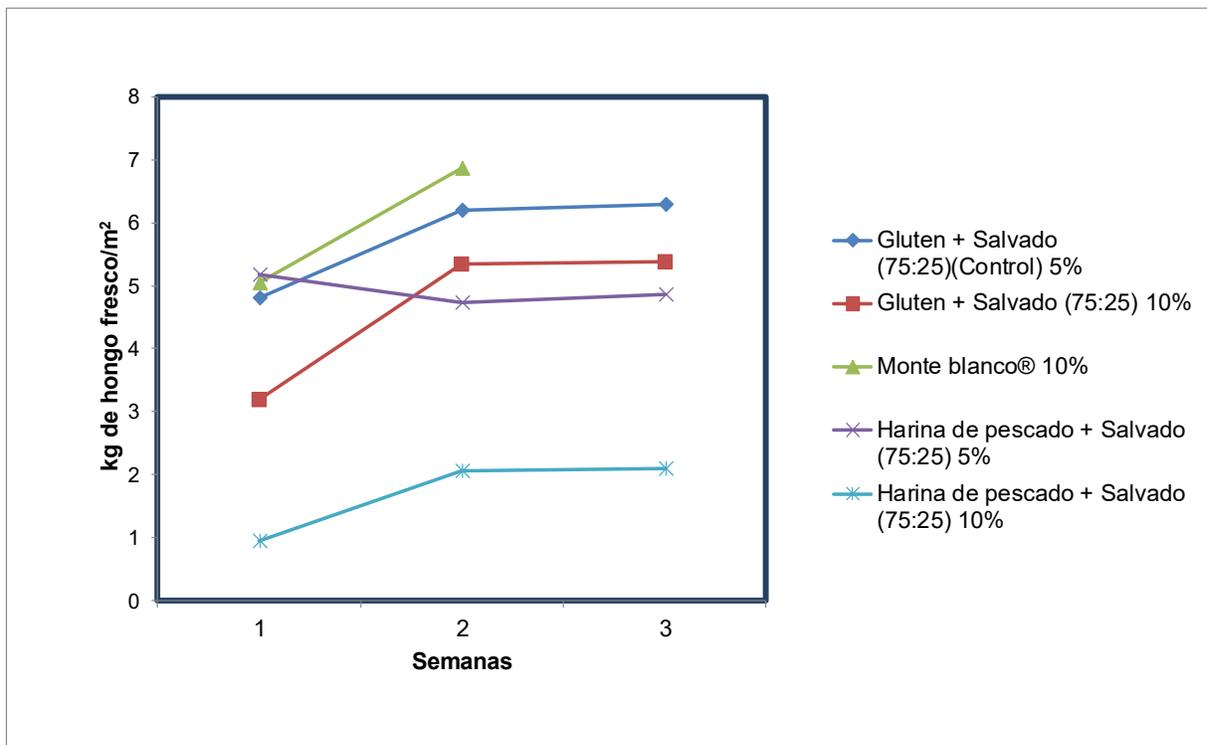


Figura 4.11 Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura

Tabla 4.12. Producción semanal acumulada de champiñones en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y un tratamiento “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura

Suplementación	Producción acumulada								
	(kg de hongo fresco/ m²)								
	Semanas								
	1			2			3		
Gluten + Salvado (75:25)(Control) 5%	4.8	±	2.8	6.2	±	4.4	6.3	±	4.4
Gluten + Salvado (75:25) 10%	3.2	±	2.5	5.3	±	3.0	5.4	±	3.0
Harina de pescado + Salvado (75:25) 5%	5.2	±	0.6	4.7	±	1.6	4.9	±	1.6
Harina de pescado + Salvado (75:25) 10%	0.9	±	0.9	2.1	±	1.4	2.1	±	1.5
Monte blanco® 10%	5.0	±	2.0	6.9	±	3.1			

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este estudio se probaron distintos suplementos ricos en proteína y fibra con el fin de evaluar su efecto en la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril. Asimismo se combinaron con distintos tratamientos térmicos aplicados a la cobertura para proponer suplementos y condiciones como alternativa al uso de composta en la producción comercial.

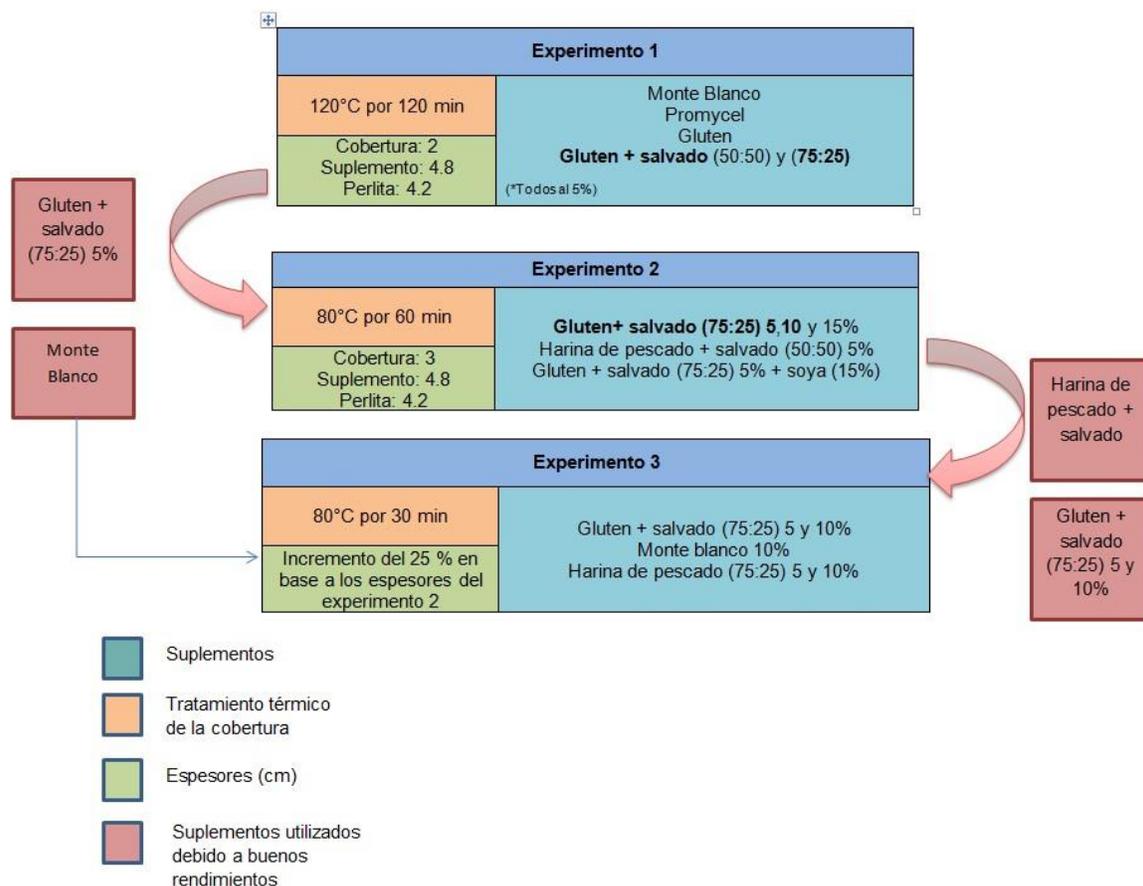


Figura 5.0. Diagrama secuencial de experimentos

A manera de resumen, se realizaron tres experimentos. Se muestran en la Figura 5.0. En el primero se probaron diferentes suplementos al 5%, con un tratamiento a la cobertura de 120 °C por 120 min. El mejor resultado obtenido fue con el suplemento de gluten + salvado (75:25). El cual se probó en el segundo experimento debido a los rendimientos obtenidos. Para el segundo experimento se

probaron suplementos como harina de pescado y soya. Además de la mezcla de gluten + salvado (75:25) en niveles de 5, 10 y 15% con un tratamiento térmico a la cobertura de 80°C por 60 min. En adición se incrementó el espesor de la cobertura como lo muestra la Figura 5.0. Los suplementos con mejor efecto en la producción fueron la combinación de harina de pescado + salvado (50:50) 5% y la mezcla de gluten + salvado al 10%. Por último, se probaron los suplementos con mejores resultados en diferentes proporciones y niveles (Figura 5.0), con un tratamiento a la cobertura de 80°C por 30 min y un incremento del 25% en el espesor de la perlita, sustrato y cobertura.

5.1 Mejores rendimientos

De acuerdo a los resultados y a los estudios realizados por Bechara en 2005, 2006 y 2009, se ha comprobado que la producción de champiñones es multifactorial. Por lo que la producción no solo depende del uso de suplementos que enriquezcan al sustrato sino que también están implicados otros factores como: el tratamiento térmico, humedad de la cobertura y condiciones ambientales (humedad y temperatura). En combinación con los diferentes factores que afectan la producción de champiñones, los mejores resultados obtenidos en este trabajo fueron con los suplementos: gluten + salvado (75:25) al 10% ($6.4 \pm 1.20 \text{ kg/m}^2$); harina de pescado + salvado (50:50) al 5% ($6.2 \pm 2.0 \text{ kg/m}^2$) con el tratamiento térmico a la cobertura de 80°C por 60 min; Monte blanco[®] al 10% ($6.9 \pm 3.1 \text{ kg/m}^2$); gluten + salvado (75:25) al 5% ($6.3 \pm 4.4 \text{ kg/m}^2$) junto con el tratamiento térmico a la cobertura de 80°C por 30min y el aumento de el espesor al 25% como lo muestra la Figura 5.1.

Los rendimientos se encuentran alrededor de 6 kg/m^2 . No obstante a pesar de ser los mejores en este trabajo son menores que los 7.7 kg/m^2 reportado en composta por Bechara (2006) y por debajo de otros resultados reportados por Bechara en el 2005 y 2006 con otros sustratos no composteados. Por ejemplo:

- Semilla comercial (centeno) suplementada al 5% (9.66 kg/m²)
- Mijo suplementado con soya en grano al 15% como primera suplementación (en el grano estéril previo a la inoculación) y combinado con una segunda suplementación al 5% al momento de colocar la cobertura (16.9 kg/m²)
- Mijo con suplemento comercial (S41) al 5% (10.2 kg/m²);

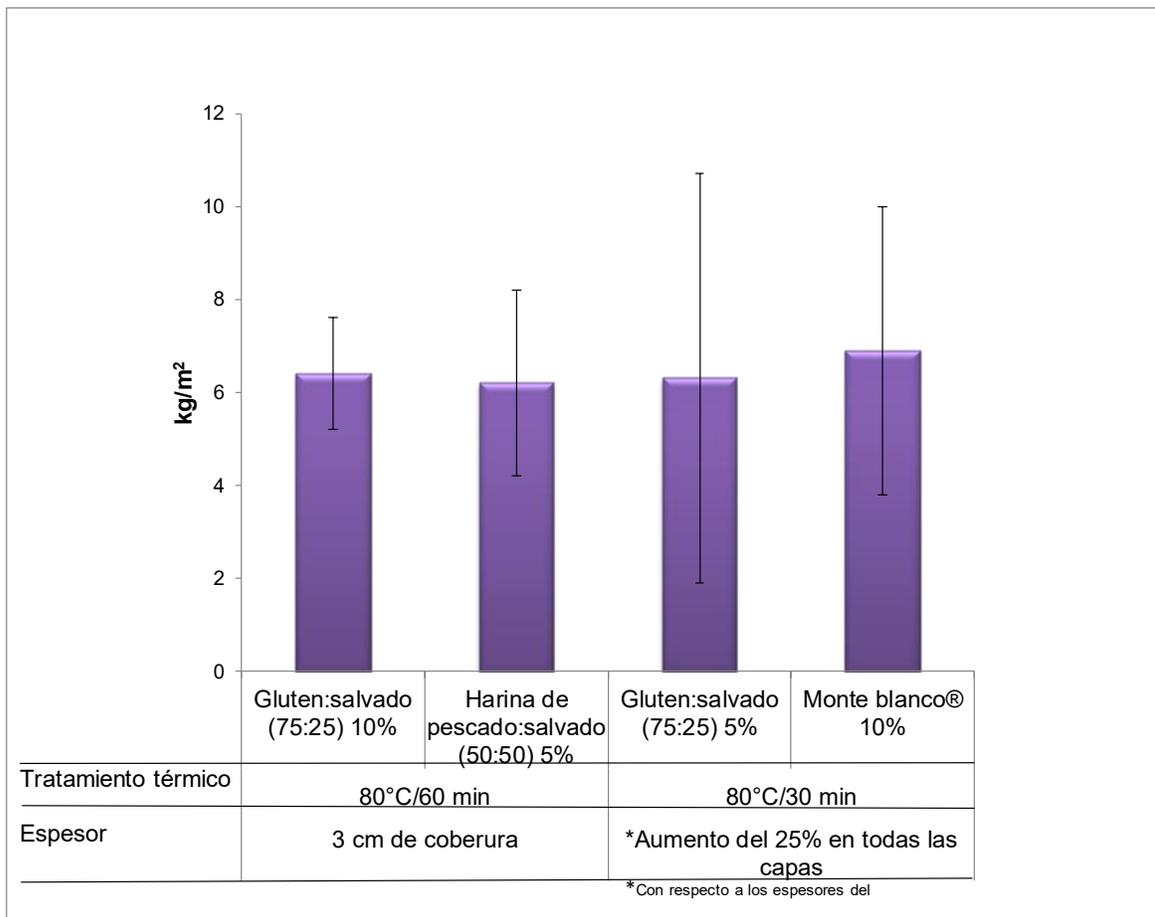


Figura 5.1 Máxima producción (kg/m²) obtenida con los diferentes tipos y niveles de suplementación en combinación con el tratamiento térmico de la cobertura y el aumento del espesor

Todos los rendimientos aquí mencionados (a excepción de la suplementación con soya) se obtuvieron con una cobertura estéril con un 25% de carbón activado.

El haber obtenido rendimientos menores al trabajo realizado por Bechara, probablemente pudo deberse a la presencia de Fe^{2+} . Un factor que hasta ahora no se ha mencionado pero afecta la formación de primordios y en consecuencia la producción de champiñones. En coberturas sin tratamientos térmicos incrementa su disponibilidad debido a la presencia de oxalato liberado por el micelio. El cual es un ligante de Fe^{2+} (Bechara *et al*, 2009). Como se observa en la Tabla 5.0 el hierro en el trigo se encuentra ligeramente en mayor proporción que en el mijo. Por lo que el 10% de carbón activado usado en la cobertura pudo haber sido insuficiente para absorber compuestos de oxalato de hierro y CO_2 compuestos que inhiben o retardan el desarrollo de primordios.

Tabla 5.0 Composición química de las semillas de Trigo y Mijo por 100g de porción

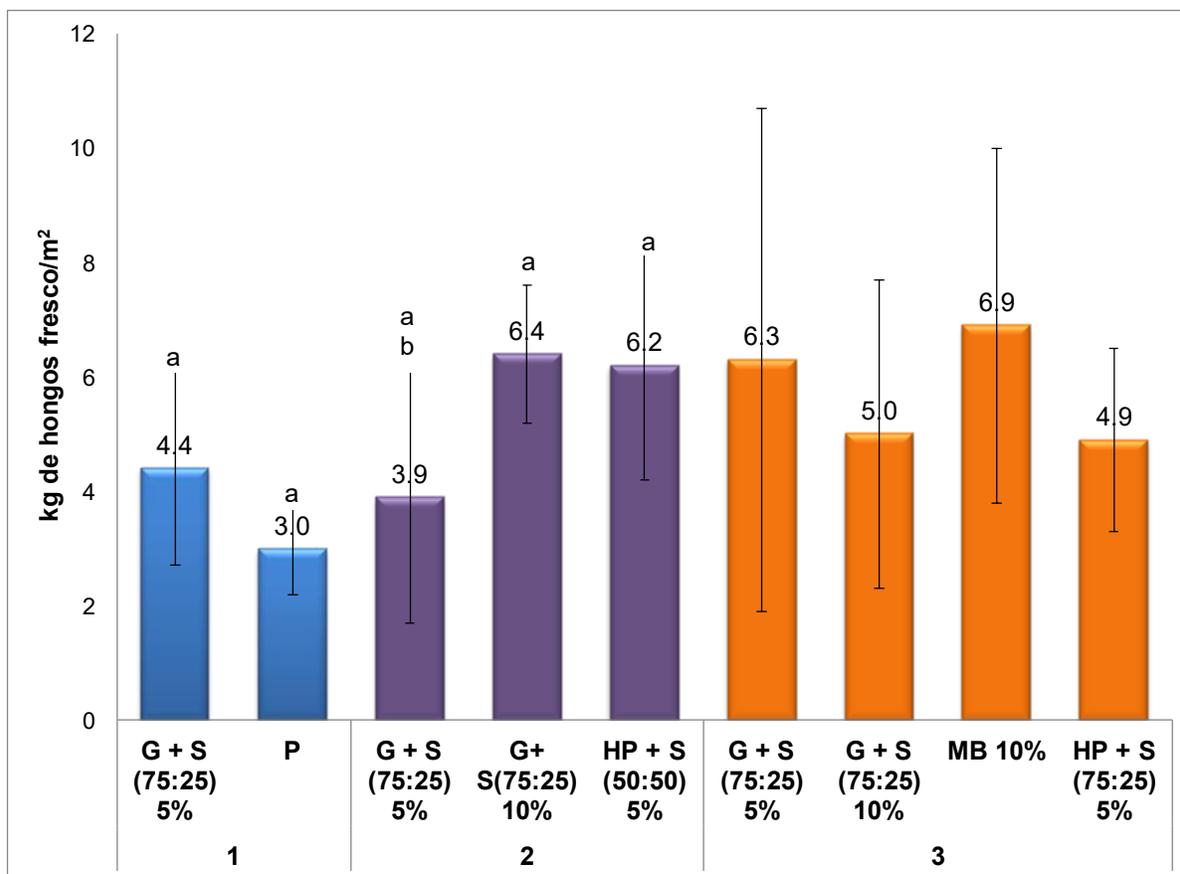
Semilla	Proteína (g)	Grasa (g)	Carbohidratos (g)	Fibra (g)	Hierro (mg)
Trigo	11.6	2	71	2	3.5
Mijo común	12.5	3.5	63	5.2	2.9

Información obtenida de la FAO

5.2 Efecto de la suplementación sobre el rendimiento

Al realizar una recopilación de los suplementos con mejor efecto positivo por cada uno de los tres experimentos, como lo muestra la Figura 5.2, se observa una tendencia en el aumento del rendimiento del bloque del primer experimento al del segundo y al del tercero. Los resultados ahí mostrados son los que presentaron los rendimientos significativamente mayores ($p < 0.01$). En el experimento 3 no se presentaron diferencias significativas entre las 4 variables evaluadas por lo que entonces cualquiera de estos suplementos podrían presentar el mismo efecto positivo. Además dentro de este grupo se encuentran dos de los suplementos con

mejores resultados: Monte blanco® al 10% y gluten + salvado (75:25) al 5%, 6.9 y 6.3 kg/m², respectivamente.



Nota: G (gluten), S (salvado), P (Promycel®), HP (harina de pescado), MB (Monte blanco®)

Figura 5.2 Mejores rendimientos por cada experimento realizado

Los resultados positivos se deben a que probablemente la relación entre el carbono (proveniente de carbohidratos y proteína) y nitrógeno (proveniente de las proteínas) es similar, como se muestra en la Tabla 5.1. La relación C/N se calculó teóricamente, de la división del porcentaje total de Carbono entre el porcentaje total de Nitrógeno. La relación de C/N para Promycel® es de 2.7, para gluten + salvado (75:25) es de 3.3. Para la harina de pescado + salvado (75:25) es de 3.4 y por último para harina de pescado + salvado (50:50) y Monte blanco® es de 3.6. A diferencia de los valores de C/N de suplementos con abundante proteína como el gluten y el suplemento con soya. A pesar de ser valores diferentes a los de los suplementos previamente mencionados, todos los valores de la Tabla 5.1 se

encuentran por debajo de C/N=15, lo que quiere decir que todos los suplementos contienen un exceso de Nitrógeno (Román *et. al*, 2013)

Estos resultados ponen en duda la hipótesis de Dahlberg en 2004 que dice: “a mayor cantidad de carbohidratos mayor será el rendimiento, dejando de lado aquellos resultados que se conocen de los suplementos de liberación retardada ricos en proteína”. Además se comprobó que los suplementos ricos en proteína de liberación retardada son muy buena opción para aumentar rendimientos. Como el caso de Promycel®, a pesar del tratamiento térmico severo usado en la cobertura, se obtuvieron rendimientos significativamente altos.

Tabla 5.1 Relación de carbono y Nitrógeno (C/N) para cada uno de los suplementos utilizados en este trabajo

Relación de Carbono /Nitrógeno de los distintos suplementos	
Suplementación	C/N
Tipo	
Monte blanco	3.6
Promycel	2.7
Gluten + Salvado (50:50)	3.6
Gluten + Salvado (75:25)	3.3
Gluten	5.3
Harina de pescado + Salvado (50:50)	3.6
Gluten + Salvado (75:25) + soya	4.4
Harina de pescado + Salvado (75:25)	3.4

5.3 Exceso de proteína en los suplementos

La literatura reporta casos en los que grandes concentraciones de proteína y lípidos contribuye a un decremento en la producción de champiñones (Bechara *et al*, 2006). Los suplementos con soya y harina de pescado no tuvieron un efecto positivo y tienen en común dicha característica.

El rendimiento obtenido con soya al 15% en adición con gluten + salvado (75:25) al 5% fue demasiado bajo al esperado, probablemente al exceso de proteína. Ya que ambos elementos se utilizaron como primera suplementación. Bechara en uno de sus estudios en 2006 obtuvo un rendimiento de $16.9 \pm 2.0 \text{ kg/m}^2$ al utilizar soya al 15% como primera suplementación. No obstante, el suplemento al 5% se utilizó como segunda suplementación al momento de colocar la cobertura. Esta alternativa desafortunadamente no fue probada en este trabajo. Probablemente con solo el uso del frijol de soya como suplemento se obtengan buenos resultados. Porque en el estudio realizado por Bechara en 2006, con solo soya al 15%, obtuvo un rendimiento de $10.6 \pm 2.8 \text{ kg/m}^2$. Además se encontró que no es necesario el uso de la soya en conjunto con algún suplemento (como primera suplementación). Pues los resultados prueban que no existe diferencia significativa entre la mezcla de Gluten + Salvado 75:25 al 5% y la mezcla de Gluten + Salvado 75:25 al 5% + Soya (Anexo Tabla 10.5)

El caso de la suplementación con harina de pescado + salvado se ejemplifica muy bien la sobresuplementación, como se muestra en la Figura 5.3. Para el segundo experimento se probó la mezcla(50:50) al 5%; a pesar de que el tratamiento térmico de la cobertura fue el doble de tiempo, el rendimiento fue tres veces mayor ($6.2 \pm 2 \text{ kg/m}^2$) en comparación con la mezcla de (75:25) al 10% ($2.1 \pm 1.5 \text{ kg/m}^2$) del tercer experimento; en el que el tratamiento térmico de la cobertura fue menos severo y el tamaño de la cobertura fue incrementado 25% al igual que el sustrato y la perlita.

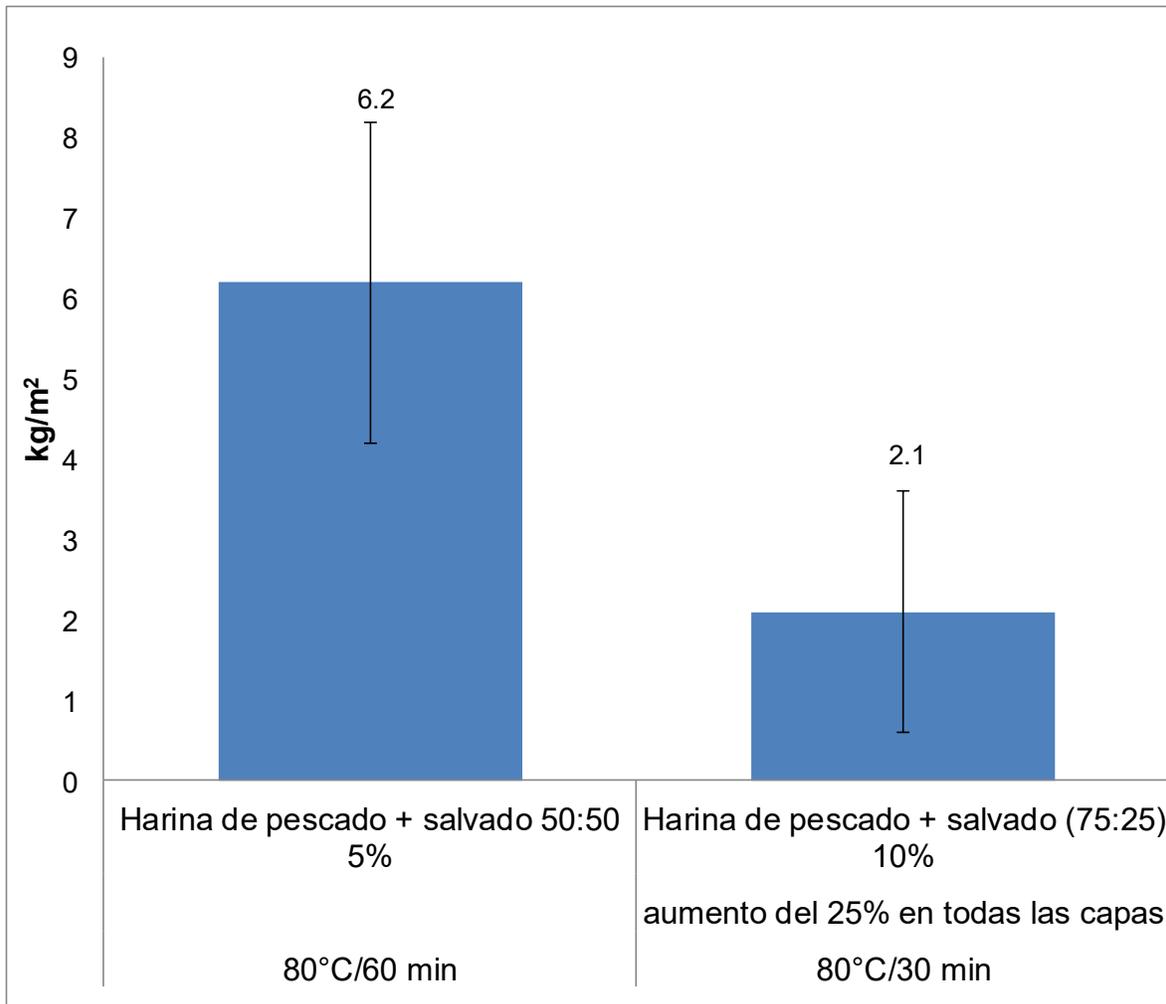


Figura 5.3. Comparación del rendimiento en kg/m² obtenido en el experimento 2 y 3 utilizando harina de pescado

5.4 El tratamiento térmico de la cobertura en combinación con el espesor

De acuerdo a los resultados experimentales, se considera que la producción de champiñones depende de varios factores. Dos de ellos es el tratamiento térmico aplicado a la cobertura y el espesor de la misma. Como ya se explicó anteriormente, se identificó que al disminuir el tratamiento térmico de la cobertura y al aumentar el espesor, existe un aumento en la producción. Lo anterior se ve reflejado en la Figura 5.4 en la que se representa el rendimiento del sustrato control (gluten + salvado (75.25) al 5%). La tendencia representada en la gráfica

se puede explicar tomando en cuenta dos aspectos: la presencia de microbiota importante para el desarrollo de cuerpos fructíferos y a las microcondiciones que se dan en la cobertura.

Existen investigaciones en los que se menciona que tratamientos térmicos prolongados pueden disminuir el rendimiento en la producción de champiñones. Y que la presencia de una microbiota en la cobertura es importante para la fructificación. Ya que existen reportes en donde la cobertura fue tratada con otros métodos no térmicos para esterilizar, observándose una reducción en la producción de champiñones (Bechara *et al*, 2009).

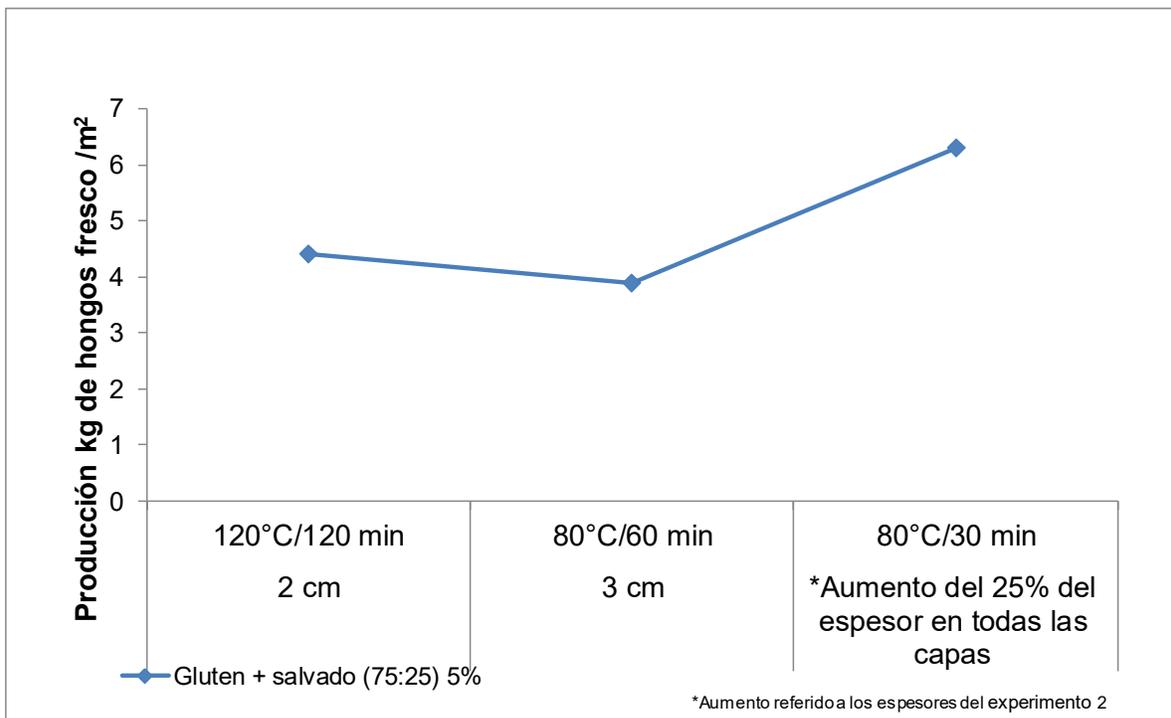


Figura 5.4. Efecto sobre la producción de champiñones del tratamiento térmico y espesor de la cobertura

En el caso del primer experimento (120°C por 120 min) se puede decir que la microbiota presente en la cobertura fue eliminada completamente. Además la presencia de algunas bacterias importantes para la fructificación, como *Pseudomona spp* (Cresswell & Hayes, 1979) no estaban presentes. Debido a lo

anterior un periodo de 120 minutos se puede considerar un periodo largo de tiempo por el bajo rendimiento obtenido, siendo que al disminuir el tiempo y temperatura del tratamiento utilizando el mismo suplemento, el rendimiento aumentó como se muestra en la Figura 5.4; a pesar de que el segundo tratamiento (80°C por 60min) el rendimiento sufrió un descenso, este no es significativo.

El segundo factor al que se hace referencia para la obtención de un buen rendimiento es el espesor de la cobertura. En el primer experimento realizado, el tratamiento térmico de la cobertura fue de 120°C por 120 min con un espesor de 2 cm, los rendimientos obtenidos con Promycel® y gluten + salvado (75:25) al 5% fueron de 148.4 ± 36.7 y 209 ± 83.9 g respectivamente. Los cuales a pesar de ser los más altos no fueron los esperados ya que Bechara en 2009 probó distintos tratamientos térmicos de 121°C por diferentes periodos de tiempo. Él obtuvo 219 ± 87 g con un tratamiento térmico a la cobertura de 121°C por 180 min con una concentración de carbón activado y suplemento igual a la de este primer experimento. Una de las explicaciones por la cual se obtuvieron resultados menores fue probablemente al espesor de la capa de cobertura. Debido al espesor de 2 cm, *Agaricus bisporus* creció sobre la misma como una capa impermeable llamada estroma. Probablemente a que el CO₂ generado por el metabolismo del microorganismo permaneció alto (5000 ppm) y a la posible presencia de Fe²⁺. El estroma fue responsable de que la cobertura no pudiera mantener la humedad apropiada para la fructificación y no propiciar espacio suficiente para el desarrollo de los pocos primordios presentes (Anexo, Figura 9.1). Por lo anterior, en los siguientes experimentos se optó por un aumento en el espesor de las capas; en los que claramente se notó un aumento en la producción: para gluten + salvado (75:25) al 5% con un tratamiento de 80°C por 30 min el rendimiento fue de 6.3 ± 4.4 kg/m² en comparación a 120°C por 120 min: (4.4 ± 1.7 kg/m²).

Conforme a los resultados representados en la Figura 5.4 y a los obtenidos en general del experimento 3, se puede decir que tanto el tratamiento de 80°C por 30 minutos como el incremento del espesor en las capas son las mejores para obtener buenos rendimientos, sin tomar en cuenta el tipo de suplemento utilizado. No obstante es importante hacer mención de lo sucedido con la producción de la

mezcla de gluten + salvado (75:25) al 10%. El mayor rendimiento se logró con el tratamiento térmico de 80°C por 60 min; es importante recordar que la producción fue de cinco semanas sin problemas de contaminación en la cobertura, a diferencia del tercer experimento con tratamiento térmico de 80°C por 30 min y aumento de 25% en el espesor de las capas. En la cual la producción solo fue de tres semanas debido al inicio de contaminación de la cobertura.

Precisamente, la contaminación de la cobertura es un factor limitante al considerar la aplicación de las condiciones 80°C por 30 minutos de la cobertura para la producción de champiñones, debido a que la inocuidad de los mismos se ve comprometida. Sin embargo, una alternativa es el uso de formaldehído como fungicida en el suplemento; como en el caso del suplemento Monte blanco® (el formaldehído es parte de su composición): una suplementación al 10% con un tratamiento a la cobertura de 80°C por 30 min y un aumento del 25% en la cobertura, sustrato y perlita, el rendimiento fue de $6.9 \pm 3.1 \text{ kg/m}^2$. En este caso el problema de contaminación fue por larvas más que por moho verde.

5.5 Eficiencia biológica y peso unitario por champiñón

La eficiencia biológica se define como: g de hongos fresco entre 100 g de sustrato seco. Se considera una buena producción si su valor se encuentra entre 70 y 90 (Schisler, 1982). Al comparar los valores de eficiencia biológica de los tres experimentos realizados como, se muestra en la Figura 5.5, solo los valores del experimento 2, en el cual se probaron diferentes niveles y tipos de suplementos con un tratamiento térmico de 80°C por 60 min para la cobertura presentan valores que se encuentran dentro del rango de 70 - 90: la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 10% y la mezcla de harina de pescado + salvado (50:50) al 5%, con valores de 73.8 ± 13.7 y 76.7 ± 24.6 respectivamente. Además fue el único experimento que presentó diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) en el uso de los suplementos. Un "inconveniente" que presentaron estas dos mezclas de suplementos es que el peso promedio unitario de los champiñones fue de $14.5 \pm 12.8 \text{ g}$ y $16.7 \pm 6.1 \text{ g}$ respectivamente. En comparación a los pesos promedios de

los demás tratamientos son pesos que pueden considerarse bajos como lo muestra la Figura 5.7 más adelante.

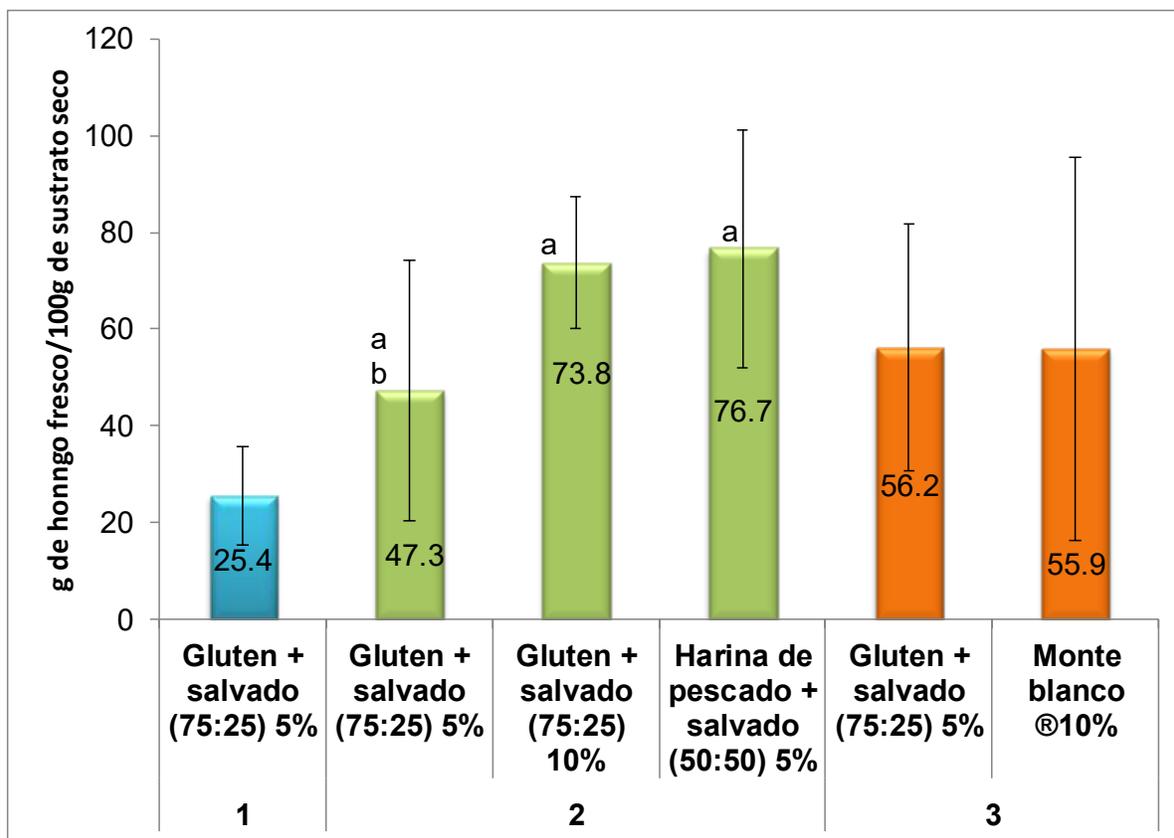


Figura 5.5. Recopilación de valores más altos de Eficiencia biológica obtenidos por cada experimento

Para el tratamiento térmico 120°C por 120 min, los valores de la eficiencia biológica son muy pequeños. El valor más alto fue de 25.4 ± 10.2. Este corresponde a la mezcla de gluten + salvado (75:25) al 5%. Siendo que para el tratamiento térmico de 80°C por 30 min y el aumento de los espesores al 25%, la eficiencia para el mismo suplemento fue de 55.9 ± 39.7, como se observa en la Figura 5.5. Esto indica que hubo un aumento de prácticamente el doble en la eficiencia. Nuevamente se ve reflejado la tendencia del efecto benéfico del tratamiento térmico moderado de la cobertura en conjunto con un aumento del espesor en la cobertura, sustrato y perlita.

Al igual que en la producción (kg/m^2) obtenida con el suplemento de Monte blanco[®]. Con la eficiencia biológica también se puede apreciar el aumento considerable con: el incremento en la concentración del suplemento, el tratamiento térmico “moderado” aplicado a la cobertura y el aumento del 25% de las capas.

El valor de la eficiencia biológica con la suplementación con Monte blanco[®] al 5% y el tratamiento de la cobertura: 120°C por 120 min fue de 10 ± 9.3 . Este es el valor más bajo, en comparación a la eficiencia de 56.2 ± 39.7 , valor más alto obtenido con el mismo suplemento al 10% en combinación con el tratamiento de 80°C por 30 min a la cobertura y el aumento del 25% de las capas como se muestra en la Figura 5.6.

A pesar que los valores de la eficiencia biológica con estas últimas condiciones mencionadas son muy similares entre sí (a excepción del suplemento harina de pescado + salvado (75:25) al 10%); hay una tendencia que favorece el uso del suplemento Monte blanco[®]. Ya que además de poseer el valor más alto en la eficiencia biológica y en la producción, el peso promedio de cada champiñón fue de 29.2 ± 0.5 g, considerado uno de los pesos de mayor tamaño como se muestra en la Figura 5.7.

El peso de cada champiñón es de importancia económica. Como se mencionó anteriormente. En la Figura 5.7 se observa la variedad de pesos obtenidos en los diferentes tratamientos que se consideran de importancia en este trabajo. El peso de cada champiñón depende de la suplementación adecuada, tratamiento, humedad y de la ejecución de la colocación de la cobertura, ésta debe de ser homogénea y porosa. Este último es uno de los aspectos que se deben de cuidar. Debido a que las microcondiciones de la cobertura deben de estar presentes en toda la superficie para evitar problemas de riego y a la vez problemas de fructificación heterogénea. Por ejemplo, pareciera que un tratamiento severo con la suplementación con gluten + salvado (75:25) al 5% es lo indicado para la obtención de champiñones más grandes. Sin embargo, como ya se mencionó debido al desarrollo del estroma fueron pocos los primordios que se desarrollaron y esos pocos aprovecharon los nutrimentos y el agua necesarios para crecer adquiriendo un mayor tamaño. Caso contrario a lo sucedido con los otros dos

tratamientos (80°C por 60min y 80°C por 30min) en los cuales el rendimiento fue prometedor aunque con champiñones de menor tamaño. Lo mismo ocurrió con el suplemento de Monte blanco® en el experimento 1. A pesar de que la suplementación fue adecuada, el tratamiento térmico y las microcondiciones de la cobertura no fueron las idóneas. Por tal razón, el rendimiento no fue viable a pesar de obtener champiñones de gran peso.

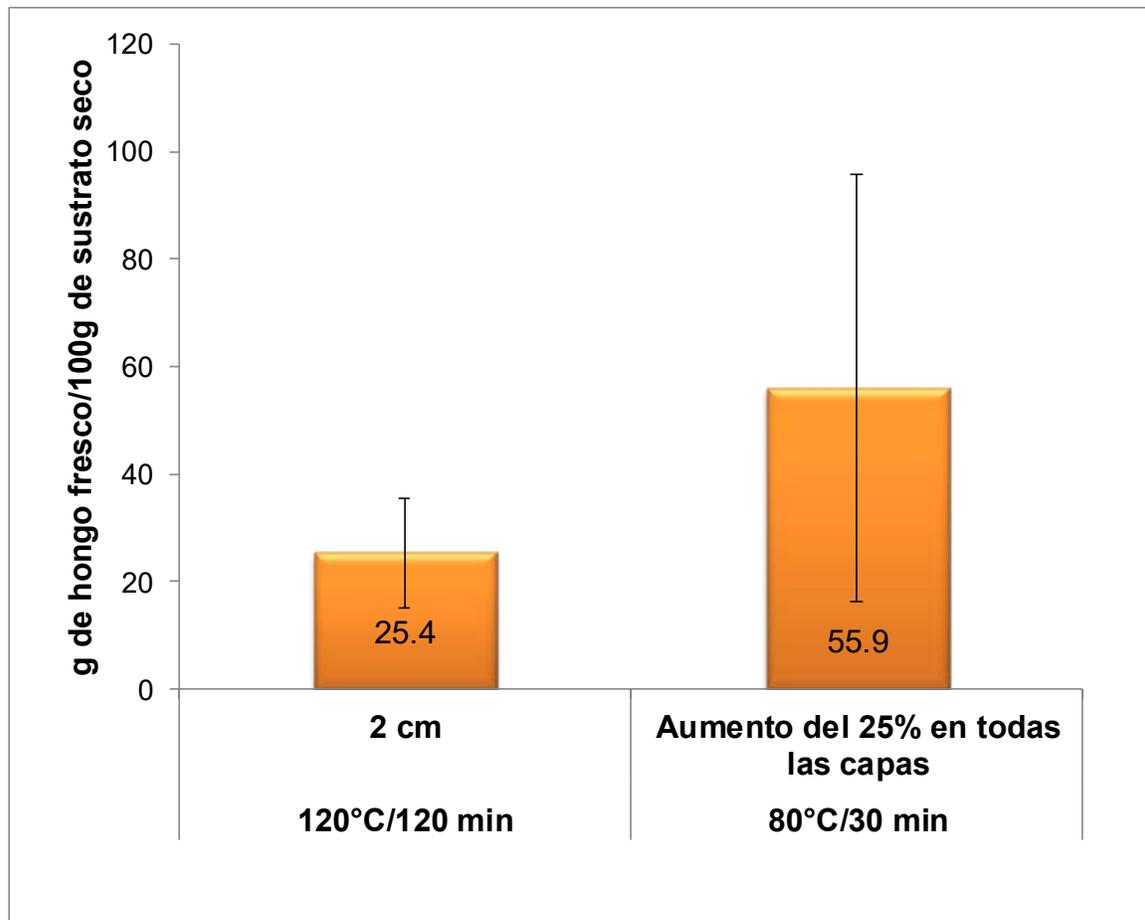
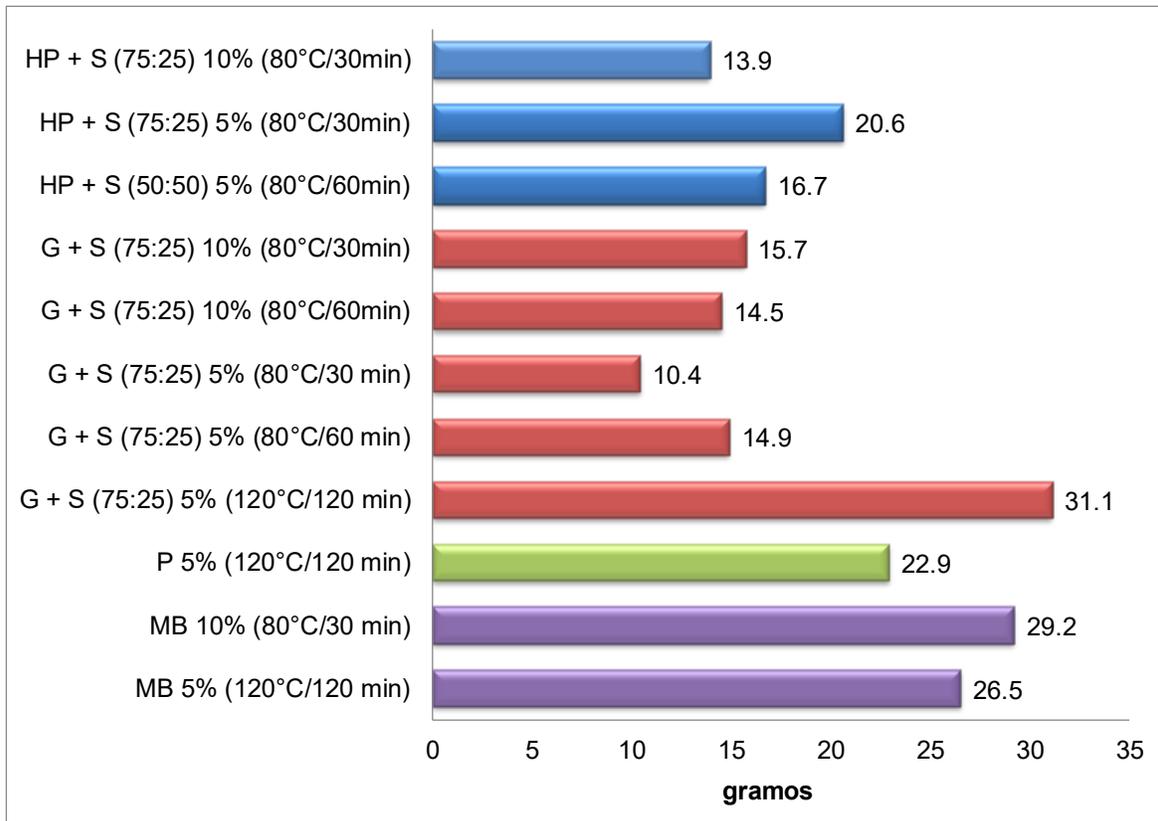


Figura 5.6. Comparación del valor de eficiencia biológica obtenido con suplemento Monte blanco® al 5 y 10%, probado en diferentes condiciones de la cobertura



*Nota: HP: harina de pescado, S: salvado, G: gluten, P: Promycel®, MB: Monte blanco®

Figura 5.7 Peso promedio (g) de champiñones por cada tratamiento significativo en producción

6. CONCLUSIONES

Una vez realizados todos los experimentos para comprobar si era posible aumentar el rendimiento de champiñones en sustrato de trigo estéril al incrementar la disponibilidad de los nutrientes por medio de diferentes suplementos, en combinación con el tratamiento térmico y el espesor de la cobertura se concluyó lo siguiente:

- El uso de semilla comercial como sustrato con una suplementación comercial al 5% en combinación con un tratamiento térmico de 120 min por 120°C a la cobertura no fue viable. Pues no hubo producción (0.8 kg/m² y 10 EB)
- El rendimiento conseguido con el uso de suplementos ricos en proteína y fibra no superó el 7.7 kg/m² que se alcanza en composta. El mayor rendimiento obtenido fue de 6.9 kg/m² con el suplemento Monte blanco® al 10% en combinación con un tratamiento “moderado” a la cobertura (80°C por 30 min). Los siguientes dos mayores rendimientos fueron de 6.4 kg/m² y 6.2 kg/m² producidos con gluten + salvado (75:25) al 10% y harina de pescado + salvado (50:50) al 5% respectivamente; en combinación con un tratamiento de la cobertura de: 80°C por 60 min y el espesor de: perlita (4.2 cm), sustrato (2.8 cm) y cobertura (3 cm)
- El uso de suplemento es de importancia en la producción de champiñones, independientemente de las condiciones térmicas a las que es sometida la cobertura; por lo que una sobresuplementación tiene el efecto contrario al de incrementar la producción. El uso de soya al 15% en conjunto con una suplementación al 5% no es viable si se realiza como primera suplementación, debido a los 3.0 kg/m² alcanzados. Se puede probar la soya al 15% como única suplementación. Los suplementos con altos porcentajes de proteína en su composición como: gluten 5%, gluten + salvado (75:25) al 15%, gluten + salvado (75:25) 5% en combinación con soya al 15% y harina de pescado + salvado (75:25) 10%; no son viables de uso a causa de un bajo rendimiento

- La esterilización de la capa de cobertura en combinación con un bajo espesor, presenta una tendencia de una disminución en el rendimiento. Por el contrario, un tratamiento térmico “moderado” como 80°C por 30 minutos y un incremento del 25% en el nivel de la perlita, sustrato y cobertura, demostró aumentar el rendimiento. Sin embargo disminuyó el tiempo de cosecha debido a una pronta contaminación.
- Los mejores rendimientos corresponden a los tratamientos térmicos de 80°C por 60 min y 80°C por 30 min. Pero al no existir diferencia significativa entre los tratamientos térmicos, si se consideran periodos cortos de producción y el costo de los suplementos. Se concluye que las mejores condiciones para la producción de champiñones en sustrato de trigo son: 80°C por 30 min usando gluten + salvado (75:25) al 5% o Monte blanco® al 10% como suplemento, con el aumento de los espesores de las capas: perlita (5.2 cm), sustrato (3.5 cm) y cobertura (3.7 cm). También es una opción el uso del tratamiento 80°C/60 min con el fin de evitar una pronta contaminación de la cobertura.

7. RECOMENDACIONES

El uso de sustratos no composteados es un nuevo campo en el que falta mucho por investigar. Destacan el uso de diferentes suplementos, diferentes sustratos, tratamientos térmicos a la cobertura, altura de la misma y el uso de materiales hidratantes, etc.

El uso de sustratos no composteados está naciendo, es importante probar otras condiciones para optimizar la producción. Esta es una línea de investigación con gran potencial y con varios factores por considerar como: el porcentaje de carbón activado en la cobertura, el uso de otras fuentes de proteína, probar la primera y segunda suplementación.

Se recomienda probar el uso de la mezcla de Gluten + salvado (75:25) al 5% como una segunda suplementación, aplicada al colocar la cobertura, utilizar únicamente soya como suplemento, incrementar el porcentaje de carbón activado en la cobertura y volver a probar el suplemento de Harina de pescado + salvado (50:50) al 5% y Gluten + salvado (75:25) al 5% con el tratamiento de 80°C por 60 min a la cobertura, manteniendo el espesor de 3.7 cm para la cobertura, 3.5 cm para el sustrato y 5.2 cm para la perlita.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Departamento de Agricultura, 2015 El sorgo y el mijo en la nutrición humana. Variantes de la composición del grano en Depósito de documentos de la FAO [En línea], disponible en: <http://www.fao.org/docrep/t0818s/T0818S0b.htm> [Accesado el día 20 de Octubre de 2015]
- Ballesteros, H., 2012. Determinación de las características productivas de cepas nativas mexicanas de champiñón *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach para su potencial uso comercial. Tesis de Licenciatura. Xalapa, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Veracruzana.
- Bechara, M.A., Heinemann P., Walker, P.N., Romaine, C.P., 2005. *Agaricus bisporus* grain spawn substrate with S41 and S44 nutrient supplements. ASAE Artículo N°057008, St Joseph, ASABE, Mich
- Bechara, M.A., Heinemann P., Walker, P.N., Romaine, C.P., 2006. Non - Composted grain - based substrates for mushroom production (*Agaricus Bisporus*). Transactions of the ASABE 49 (3), 819-824
- Bechara, M.A., Heinemann P., Walker, P.N., Romaine, C.P., Wikinson, V., 2006. Evaluating Non - composted grain substrates for the production of *Agaricus bisporus* and *Agaricus blazei* mushrooms. ASABE Artículo N°067089, St Joseph, ASABE, Mich
- Bechara, M.A., Heinemann P., Walker, P.N., Demirci, A., Romaine, C.P., 2009. Evaluating the addition of activated carbon to heat - treated mushroom casing for grain - based and compost - based substrates. Bioresource Technology 100, 4441 – 4446.
- Boa, E., 2005. Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población en Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. [En línea]. Roma, disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y5489s.pdf> [Accesado el día 10 de Septiembre de 2015]
- Briones, M., 2008. Evaluación de una polifenoloxidasas (PPO) en champiñones producidos en compostas con distintos suplementos. Tesis de Licenciatura. México, Facultad de Química UNAM.
- Carrillo, L., 2003. Hongos, Microbiología Agrícola. [En línea]. México, disponible en <http://www.bio-nica.info/biblioteca/Carrillo2003Hongos.pdf>. [Accesado el día 10 de Septiembre de 2015]
- Coello, M., 2006. Uso de *Scytalidium thermophilum* para el cultivo semi - comercial de *Agaricus spp.* Tesis para obtener Maestría en Ciencias. Oaxaca, Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional CIIDIR-IPN.
- Cresswell, P.A., Hayes, W.A., 1979. Further investigation on the bacterial ecology of the casing layer. Mush. Sci. 10 (1), 347 - 359.
- Cruz, E., 2012. Especies novedosas de champiñones (*Agaricus*) con propiedades funcionales antioxidantes y antimicrobianas, aisladas de zonas rurales de México. Tesis para obtener Maestría en Ciencias. Puebla, Institución de

- enseñanza en ciencias agrícolas, Postgrados en estrategias para el desarrollo agrícola regional. Colegio de Postgraduados
- Cruz, A., 2013. México es el principal productor de hongos en AL y aún tiene mucho potencial: experto en La Crónica de Hoy, 13 de Febrero del 2012. [En línea], disponible en: <http://www.cronica.com.mx/notas/2012/636536.html>. [Accesado el día 5 de Septiembre de 2015]
- Dahlberg, K., 2004. Carbohydrate-based mushroom supplements. Mushroom News 52, 6-11.
- Feed additives China, 2015. Feed additives China Harina de Pescado [En línea]. México, disponible en: <http://www.feedadditivechina.es/7-7-fish-meal.html> [Accesado el día 14 de Septiembre de 2015]
- Fernández, F., 2005. Manual práctico de producción comercial de champiñón. Apuntes, recolección de datos y experiencias adquiridas en el cultivo comercial de champiñones. [En línea]. Guadalajara, disponible en: http://www.academia.edu/9957251/MANUAL_PR%C3%81CTICO_DE_PRDUCI%C3%93N_COMERCIAL_DE_CHAMPI%C3%91ON_APUNTES_RECOPILACION_DE_DATOS_Y_EXPERIENCIAS_ADQUIRIDAS_EN_EL_CULTIVO_COMERCIAL_DE_CHAMPI%C3%91ONES [Accesado el día 14 de Septiembre de 2015]
- García, M., Quintero, R., López, A., 1993. Biotecnología alimentaria. México D.F. Limusa.
- García, A., 2007. Cultivo y Producción del Champiñón: Un enfoque tecnológico en Sánchez, J. (ed), Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimentaria de *Agaricus bisporus*. México. ECOSUR.
- Ingredion, 2012. Ingredion Nutrition Animal. [En línea] México, disponible en: <http://www.ingredion.mx/solucionesdeingredientes/Pages/nutricionanimal.aspx> [Accesado el día 20 de septiembre de 2014]
- Leiva, F., 2014. Producción sostenible del compostaje para el champiñón de la Rioja a través el análisis del ciclo de vida. Trabajo de investigación. Programa de Doctorado. España, Universidad de la Rioja.
- López, E., 1990. Cultivo del Champiñón, la trufa y otros hongos. AEDOS. [En línea] México, disponible en: <http://www.bionica.info/biblioteca/LopezCultivoDel%20championLaTrufa.pdf> [Accesado el día 20 de septiembre de 2014]
- Mac Canna, C., 1984. Chapter 17 From Casing Time to Harvesting en. Commercial mushroom production. Dublin, An Foras Taluntais. The Agricultural Institute.
- Mami, Y., Peyvast, G., Ghasemnezhad, M., Ziaie, F. 2013. Supplementation at casing to improve yield and quality of white button mushroom. Agricultural Science.4,(1), 27-33
- Martínez, D., 2012. Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. In: Memorias Reunión General de la Academia Mexicana de Ciencias: Ciencia y Humanismo (Agrociencias). Academia

- Mexicana de Ciencias. [En línea]. México, disponible en: http://cisnex.amc.edu.mx/congreso/Ciencias_Naturales/Agrociencias/Soberania_Seguridad/ponencias/Martinez_Carrera_1_pdf.pdf [Accesado el 30 de Octubre de 2015]
- Mata, G., Savoie, J, 2007. Producción de semilla y conservación de cepas de *Agaricus bisporus*. en Sánchez (ed), Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimentaria de *Agaricus bisporus*. México: ECOSUR.
- Pardo, A., Resis de Figueirêdo, V., Cunha, D., Pardo, J., 2012. Sustratos de cobertura y suplementación del compost en cultivo de champiñón. Brasilia, Pesquisa. Agropecuaria. Brasileira. 47 (8), 1125-1132
- Román, P., Martínez, M., Pantoja, A., 2013. Manual de compostaje del Agricultor. Experiencias en América Latina. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [En línea] Santiago de Chile, disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/i3388s/i3388s.pdf> [Accesado el 30 de Octubre de 2015]
- Romero, O., Huerta, M., Damián, M., Domínguez, F., Arellano, D. 2009. The characteristics of *Trichoderma harzianum* as a limiting agent in edible mushrooms. Bogotá, Rev. Colombiana de Biotecnología. 11 (2), 143-151.
- Royse, D., 2007. Consumo y producción de *Agaricus bisporus* en el mundo. En. Sánchez, J. (ed), Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de *Agaricus bisporus*. México: ECOSUR.
- Saenz, A., 2014. Protección vegetal. [En línea]. México, disponible en: <http://www.proteccionvegetal.com/16-suplementos>. [Accesado el 20 de septiembre de 2014]
- Salmones, D., Ballesteros, H., Zulueta, R., Mata, G., 2012. Determinación de las características productivas de cepas mexicanas silvestres de *Agaricus bisporus*, para su potencial uso comercial en Revista mexicana de micología N°36 [En línea]. México, disponible en: <http://revistamexicanademicologia.org/wp-content/uploads/2012/10/Vol.-36-p%C3%A1ginas-9-16.pdf> [Accesado el 20 de septiembre de 2014]
- Samp, R., 2007. Desarrollo de Sistemas y procesos de composta para el champiñón (*Agaricus bisporus*).en Sánchez, J (ed), Cultivo, Mercadotécnica e Inocuidad Alimenticia de *Agaricus bisporus* . México: ECOSUR.
- San Antonio, J. 1971. A laboratory method to obtain fruit from cased grain spawn of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Mycologia 63:16-21.
- Sánchez, C., 2004. Modern aspects of mushroom culture technology. Appl Microbiol Biotechnol. 64 (6), 756-762.
- Sandoval, L. 2012. Estudio de las cualidades nutritivas de cuatro sustratos para el cultivo de champiñones (*Agaricus bisporus*). Tesis de licenciatura. Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Ecuador, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

- Schisler, L., 1982. New innovations for efficient mushroom growing. In Penn State Handbook for commercial mushroom growers. Pennsylvania, University Park, Pa. The Pennsylvania State University.
- Vásquez, A., 2010. Caracterización del residuo del cultivo de *Agaricus bisporus* y su utilización de dietas para ovinos. Tesis para obtener Maestría en Ciencias Estado de México, Postgrado de recursos genéticos y productividad ganadera. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Colegio de Postgraduados.
- Verbeke , M., Overstyns, A., 1991. Interrelationship between activated charcoal, carbon dioxide, oxalate and iron chemistry for fructification of *Agaricus bisporus*. Mush. Sci 13, 737-746.
- Vedder, P, 1978. Casing soil and casing en Modern Mushroom Growing. Holanda, EDUCABOEK.

9. ANEXOS.

9.1 Fotos del desarrollo experimental

1. Preparación del sustrato de grano

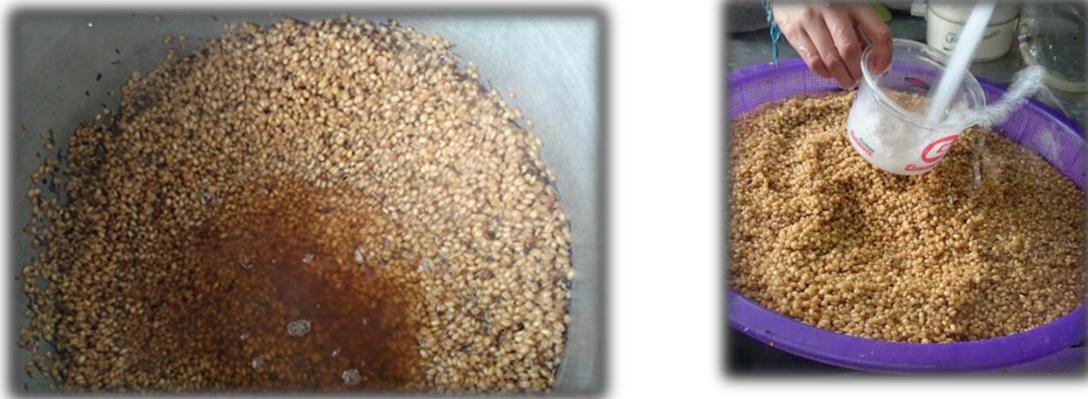


Figura 9.0. Cocción y lavado del trigo

2. Desarrollo del inóculo de grano días después de la inoculación



Figura. 9.1. Unidades experimentales 2 días después de la inoculación



Figura 9.2. Unidades experimentales 5 días después de la inoculación



Figura 9.3. Unidades experimentales 7 días después de la inoculación



Figura. 9.4 Unidades experimentales 10 días después de la inoculación



Figura 9.5 Unidades experimentales 14 días después de la inoculación

3. Capas de los contenedores para la fructificación



Figura 9.6 Representación de las capas en los contenedores

4. Desarrollo de *Agaricus bisporus* en cuarto de fructificación



Figura 9.7 Contenedores a 3 días después de la inducción a la fructificación



Figura 9.8 Desarrollo de *Agaricus bisporus* sobre la cobertura a los 14 días después de la inducción a la fructificación en el tercer experimento



Figura 9.9 Desarrollo de *Agaricus bisporus* a los 16 días después de la inducción

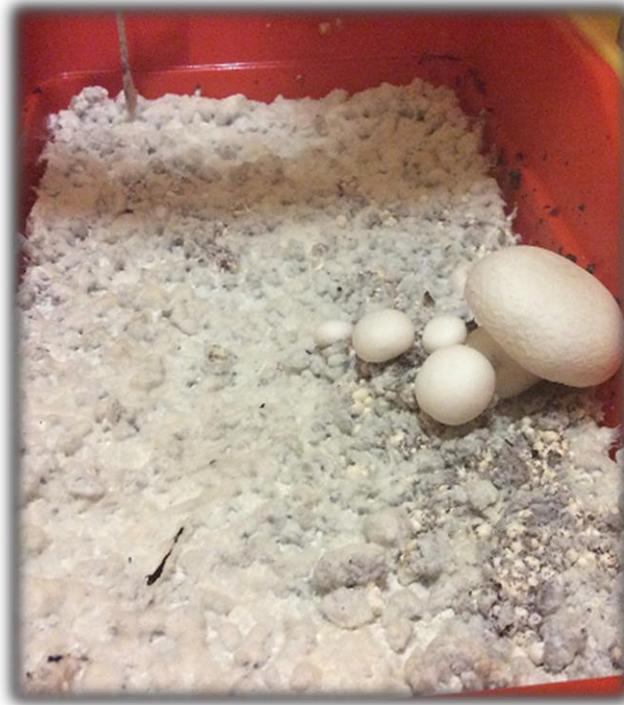


Figura 9.10. Sobre crecimiento o formación de “estroma” de *Agaricus bisporus*

9.2 Contaminación de contenedores



Figura 9.11 Contaminación después de la última cosecha



Figura 9.12 Contaminación por larvas

9.3 Tamaño de champiñones cosechados



Figura 9.13 Champiñón de peso pequeño cosechado

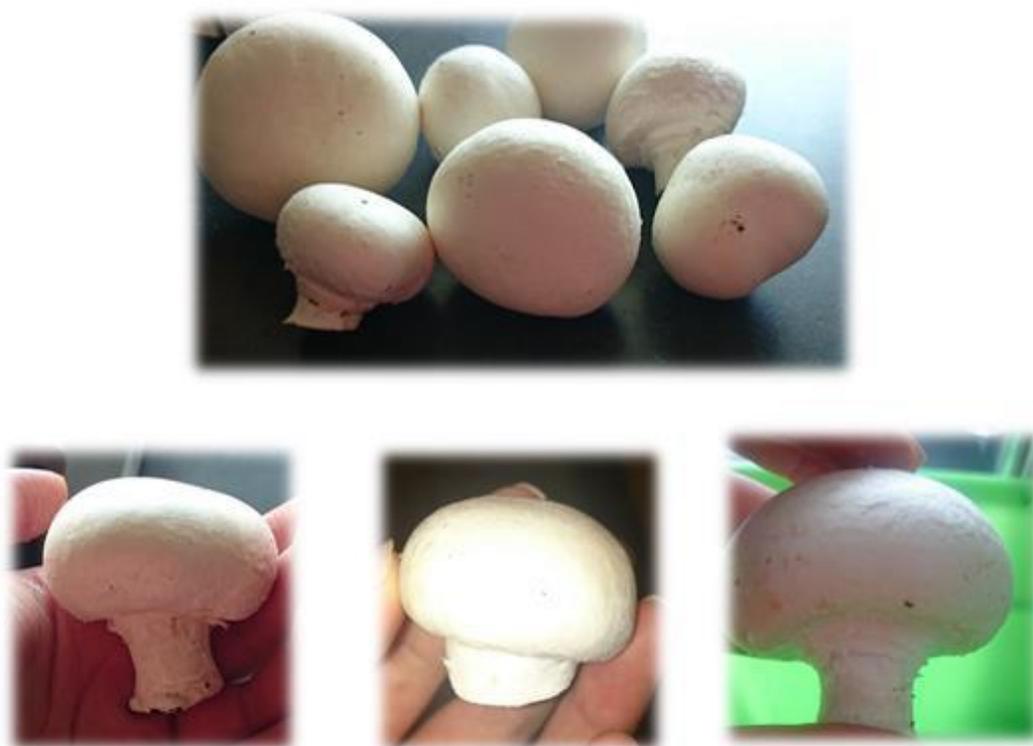


Figura 9.14 Champiñón de tamaño mediano cosechado



Figura 9.15 Champiñón de tamaño grande

9.4 Información Estadística

Tabla 9.0 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto del uso de diferentes suplementos al 5% en la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (kg/m^2) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min y altura de 2cm)

ANOVA Rendimiento en kg/m^2						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	43.916	4	10.979	5.668	9.596	**
Réplicas	28.115	4	7.029	5.668	6.144	**
Error	12.585	11	1.144			
Total corregido	74.398	19				
a. R al cuadrado = .831 (R al cuadrado ajustada = .708)						
**Diferencia Altamente Significativa $p < 0.01$		*Diferencia Significativa $p < 0.05$		NS No Significativo		

Tabla 9.1 Grupos estadísticamente diferentes del efecto del uso de diferentes suplementos al 5% en la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (kg/m^2) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min y altura de 2cm)

Duncan^{a,b,c}				
Producción: Kg/m^2				
Suplementos	N	Subconjunto		
		1	2	3
Monte Blanco	4	.8		
Gluten	5	1.3		
Gluten:salvado 50:50	3	2.3	2.3	
Promycel	4		3.1	3.1
Gluten:salvado 75:25	4			4.4
Sig.		.093	.302	0.124
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) = 1.144.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.896.				
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 = 0.05.				

Tabla 9.2 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto del uso de diferentes suplementos al 5% en la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (g de champiñones/100g de sustrato seco) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min y altura de 2cm)

ANOVA Eficiencia biológica						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	831.196	4	207.799	3.357	2.374	NS
Réplicas	660.514	4	165.129	3.570	1.887	NS
Error	962.700	11	87.518			
Total corregido	2470.977	19				
a. R al cuadrado = .610 (R al cuadrado ajustada = .327)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.3 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto del uso de diferentes suplementos al 5% en la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (peso de champiñón) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 120°C por 120 min y altura de 2cm)

ANOVA Peso champiñón						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	712.596	4	178.149	4.120	1.041	NS
Réplicas	147.826	3	49.275	4.347	.288	NS
Error	1198.202	7	171.172			
Total corregido	2098.236	14				
a. R al cuadrado = .429 (R al cuadrado ajustada = -.142)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.4 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (kg/m²) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 80°C por 60 min y altura de 3 cm)

ANOVA Rendimiento en kg/m²						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	112.960	4	28.240	5.035	7.495	**
Réplicas	2.890	4	.723	5.035	.192	NS
Error	52.748	14	3.768			
Total corregido	169.811	22				
a. R al cuadrado = .689 (R al cuadrado ajustada = .512)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.5 Grupos estadísticamente diferentes del efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (kg/m²) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 80°C por 60 min y altura de 3 cm)

Duncan^{a,b,c}				
Producción: Kg/m²				
SUPLEMENTOS	N	Subconjunto		
		1	2	3
Gluten + Salvado 75:25 15%	4	.1		
Gluten + Salvado 75:25 5% + Soya 15%	5		3.0	
Gluten + Salvado 75:25 5%	5		3.9	3.9
Harina de Pescado + Salvado 50:50 5%	5			6.2
Gluten + Salvado 75:25 10%	4			6.4
Sig.		1.000	.542	0.081
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) = 3.768.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4.545.				
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 = 0.05.				

Tabla 9.6 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (g de champiñones frescos/100g de sustrato seco) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 80°C por 60 min y altura de 3 cm)

ANOVA Eficiencia biológica						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	16154.323	4	4038.581	5.035	7.206	**
Réplicas	433.581	4	108.395	5.035	.193	NS
Error	7846.594	14	560.471			
Total corregido	24675.027	22				
a. R al cuadrado = .682 (R al cuadrado ajustada = .500)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.7 Grupos estadísticamente diferentes del efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (g de champiñones frescos/100g de sustrato seco) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 80°C por 60 min y altura de 3 cm)

Duncan^{a,b,c} Eficiencia Bilógica				
SUPLEMENTOS	N	Subconjunto		
		1	2	3
Gluten + Salvado 75:25 15%	4	0.6		
Gluten + Salvado 75:25 5% + Soya 15%	5		37.0	
Gluten + Salvado 75:25 5%	5		47.3	47.3
Gluten + Salvado 75:25 10%	4			73.8
Harina de Pescado + Salvado 50:50 5%	5			76.7
Sig.		1.000	.523	0.096
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) = 560.471.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4.545.				
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 = 0.05.				

Tabla 9.8 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación sobre la producción de champiñones en sustrato de trigo estéril (peso de champiñón) con (tratamiento térmico de capa de cobertura: 80°C por 60 min y altura de 3 cm)

ANOVA Peso champiñón						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	636.400	4	159.100	3.26	3.085	NS
Réplicas	193.800	4	48.450	3.26	0.939	NS
Error	567.376	11	51.580			
Total corregido	1571.260	19				
a. R al cuadrado = .639 (R al cuadrado ajustada = .376)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.9 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto de un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, diferentes tipos y niveles de suplementación y aumento del 25% en la alturas de las capas sobre la producción de champiñones (kg/m²) en sustrato de trigo estéril.

ANOVA Rendimiento en kg/m2						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	52.583	4	13.146	3.11	1.254	NS
Réplicas	14.985	4	3.746	3.11	.357	NS
Error	146.738	14	10.481			
Total corregido	210.999	22				
a. R al cuadrado = .305 (R al cuadrado ajustada = -.093)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.10 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto de un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, diferentes tipos y niveles de suplementación y aumento del 25% en la alturas de las capas sobre la producción de champiñones (g de champiñones/100g de sustrato seco) en sustrato de trigo estéril.

ANOVA Eficiencia biológica						
Variable dependie EB						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	3730.433	4	932.608	3.11	1.172	NS
Réplicas	1009.825	4	252.456	3.11	.317	NS
Error	11143.448	14	795.961			
Total corregido	15683.531	22				
a. R al cuadrado = .289 (R al cuadrado ajustada = -.117)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.11 Análisis de varianza para un diseño factorial en el efecto de un tratamiento térmico “moderado” (80°C por 30 min) de la capa de cobertura, diferentes tipos y niveles de suplementación y aumento del 25% en la alturas de las capas sobre la producción de champiñones (peso por champiñón) en sustrato de trigo estéril.

ANOVA Peso champiñón						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplementos	405.006	4	101.252	4.12	3.544	NS
Réplicas	96.850	2	48.425	4.737	1.695	NS
Error	200.008	7	28.573			
Total corregido	804.109	13				
a. R al cuadrado = .751 (R al cuadrado ajustada = .538)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.12 Análisis de varianza para un diseño de dos factores del efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación y tratamiento térmico de la cobertura sobre la producción de champiñones (kg/m²) en sustrato de trigo estéril

ANOVA Rendimiento en kg/m²						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplemento	174.890	11	15.899	2.617	3.054	**
Temperatura	6.057	2	3.028	3.179	.582	NS
Suplemento * Temperatura	17.328	1	17.328	4.030	3.329	NS
Error	265.487	51	5.206			
Total corregido	549.504	65				
a. R al cuadrado = .517 (R al cuadrado ajustada = .384)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		

Tabla 9.13 Análisis de varianza para un diseño de dos factores del efecto de diferentes tipos y niveles de suplementación y la altura (cm) de: la perlita, sustrato y cobertura sobre la producción de champiñones (kg/m²) en sustrato de trigo estéril

ANOVA Rendimiento en kg/m²						
Variable dependiente: kg/m ²						
Fuente de Variación	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F Tablas	F Calculada	Interpretación
Suplemento	174.890	11	15.899	2.617	3.054	**
Alturas	6.057	2	3.028	3.179	.582	NS
Suplemento * Alturas	17.328	1	17.328	4.030	3.329	NS
Error	265.487	51	5.206			
Total corregido	549.504	65				
a. R al cuadrado = .517 (R al cuadrado ajustada = .384)						
**Diferencia Altamente Significativa p < 0.01		*Diferencia Significativa p < 0.05		NS No Significativo		