



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**TESIS**

**“Efecto del espesor del sistema producción sobre el rendimiento de  
*Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril”**

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

**PRESENTA**

**Ana Laura Hernández Gutiérrez**



**MÉXICO, D.F.**

**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: HERMILO LEAL LARA**

**VOCAL: AURORA IRMA ORTEGÓN ÁVILA**

**SECRETARIO: MIGUEL ÁNGEL HIDALGO TORRES**

**1er. SUPLENTE: NORMA ANGELICA CAMACHO DE LA ROSA**

**2° SUPLENTE: KARLA MERCEDES DÍAZ GUTIÉRREZ**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**FACULTAD DE QUÍMICA, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA CONJUNTO “E”  
LABORATORIO 324, UNAM**

ASESOR DEL TEMA:

---

Hermilo Leal Lara

SUSTENTANTE:

---

Ana Laura Hernández Gutiérrez

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Padre; por su sacrificio, el apoyo, por la comprensión, por la paciencia, por creer en mi pero sobre todo por ser un ejemplo de vida porque es un luchador, ahora entiendo que todo lo que has hecho ha sido por verme triunfar. Gracias por darme siempre sabios consejos y más cuando tuve dudas de seguir en esta vocación. Ahora sé de donde aprendí a luchar hasta el final.

A mi madre; por su sacrificio, por el apoyo pero sobre todo por ser un ejemplo a seguir en honestidad, rectitud y honradez, gracias porque siempre depositaste en mí una confianza excesiva y esto me enseñó a ser más responsable cada día, eres la mejor haciendo el trabajo más difícil de todos: ser madre.

Gracias a los dos por obsequiarme la mejor arma que puedo tener en la vida, una carrera universitaria, gracias por la libertad que siempre le dieron a esta alma libre que no se cansa de descubrir cosas nuevas, gracias a ustedes he logrado mis metas propuestas porque sé que no fue nada fácil llegar a donde estamos. Su esfuerzo nunca será en vano. Los quiero mucho.

Al Doctor Hermilo Leal Lara por confiar en mí para realizar este proyecto, por su apoyo y su excelente asesoramiento en la elaboración de este trabajo, por sus consejos y compartir sus conocimientos.

Al jurado que revisó y autorizó este trabajo: Aurora Irma Ortegón Ávila y Miguel Ángel Hidalgo Torres.

A la vida por enseñarme que es una lucha constante llena de decisiones, por regalarme circunstancias para despejar mis dudas de la vocación que he decidido ejercer, porque la química no es fácil, pero es maravillosa.

A la UNAM por permitirme ser parte de la mejor universidad de México.

## DEDICATORIA

A mi padre porque es el único hombre en el mundo que siempre me adorará sin pedirme nada a cambio, porque es el mejor padre que he podido tener.

A mi madre porque es la mejor persona que he conocido, es quién se satisface con la felicidad de los que ama.

A mi querido sobrino Sebastián gracias por llegar a nuestras vidas para ser luz y alegría, espero crezcas sano y fuerte y seas dedicado, espero de todo corazón que este logro sea un reto para ti porque algún día enano escribirás una tesis.

A mi familia.

A mis amigos.

## INDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1 ANTECEDENTES .....	4
1.1.1. Generalidades.....	4
1.1.2. Características de <i>Agaricus bisporus</i> .....	6
1.1.3. Composición .....	6
1.1.4. Taxonomía y morfología .....	6
1.1.5. Ciclo de vida.....	8
1.1.6 Cultivo comercial de <i>Agaricus bisporus</i> .....	9
1.1.7 Condiciones ambientales para la formación de primordios.....	11
1.1.8 Cobertura y el uso de carbón activado.....	14
1.2 JUSTIFICACIÓN .....	16
1.3. OBJETIVOS.....	17
2. HIPÓTESIS.....	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1 Diagrama general de la metodología.....	19
3.2 Preparación del sustrato .....	20
3.3 Inoculación e Incubación del sustrato .....	21
3.4 Preparación de la perlita.....	22
3.5 Preparación de la cobertura .....	23
3.6 Preparación de contenedores y fructificación de sustratos .....	25
3.7 Cosecha de champiñones.....	26
3.8 Recolección y análisis de datos .....	27
4. EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.....	28
4.1 Preparación del sustrato y etapas de producción.....	28
4.2 Efecto del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura) sobre la producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos de trigo estéril con coberturas esterilizadas (120°C/120 minutos).....	30
4.3. Efecto del tratamiento térmico moderado de la capa de cobertura (80°C/60 minutos) sobre la producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos de trigo estéril con diferentes espesores del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura).....	34

4.4 Producción en bolsas de plástico de <i>Agaricus bisporus</i> en sustrato de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos). .....	39
5. DISCUSIÓN.....	44
6. CONCLUSIONES.....	49
7. RECOMENDACIONES.....	50
BIBLIOGRAFÍA.....	52
ANEXO 1 .....	55
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	55

## RESUMEN

El champiñón *Agaricus bisporus* es el hongo comestible más cultivado en Hispanoamérica y en todo el mundo, con ventas anuales en E.U. de 880 millones de dólares anuales (USDA 2004) y en México la producción estimada en 2011 fue de 59,349 toneladas al año (Martínez Carrera 2011). *Agaricus bisporus* es un organismo heterótrofo que se alimenta de materia orgánica vegetal con cierto grado de descomposición (saprófito) y para su producción comercial se emplean sustratos preparados por composteo de residuos orgánicos de origen vegetal o animal. Se utilizan una gran diversidad de productos, combinando materiales que aporten fibra (pajas y rastrojos de diverso tipo y olotes) con excretas animales (de pollo y caballo) que aportan nitrógeno y para activar y regular la actividad microbiana se añaden diversos tipos de materiales tales como pasto, corteza de árbol, harina de semillas de algodón, pastas de oleaginosas, salvados, subproductos de la producción de cerveza, yeso y carbonato de calcio. Estos materiales son mezclados y humedecidos al empezar el proceso. Durante el proceso de composteo se va agotando el oxígeno generándose malos olores y contaminación en las áreas vecinas lo cual se han convertido en una preocupación para los productores porque producen efectos adversos a los lugares cercanos a la planta de producción. Adicionalmente, la producción de compostas requiere de tiempos prolongados (6 a 7 semanas), un trabajo arduo y complicado, grandes áreas y una costosa infraestructura. Por lo anterior en el presente trabajo se han buscado nuevas alternativas para la producción de sustratos de producción que eviten los problemas de contaminación, malos olores, disminuir costos y tiempo de producción. El uso de sustratos no composteados es una propuesta reciente y se ha mostrado su factibilidad para la producción de champiñones pero todavía son necesarios estudios que permitan mejorar la calidad y el rendimiento.

En este estudio se produjeron champiñones en un sustrato de trigo estéril colocado sobre una capa de perlita que funciona como la reserva de agua necesaria para la formación de los champiñones y como cobertura, se utilizó turba preparada con carbonato de calcio sometida a tratamientos térmicos de severidad moderada. Se utilizaron distintos espesores del sistema de

producción y se evaluó el rendimiento ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), la eficiencia biológica (g de hongos fresco/100 g de sustrato seco) y el tamaño promedio del champiñón.

En un primer experimento, el espesor del sistema de producción se aumentó del valor control (9 cm) a 11.2, 13.5 y 15.7 cm registrándose en todos los casos una producción muy baja,  $0.2 \text{ kg}/\text{m}^2$  (11.2 cm),  $0 \text{ kg}/\text{m}^2$  (13.5 cm) y  $2.4 \text{ kg}/\text{m}^2$  (15.7 cm) aún después de 3 semanas, incluyendo al control  $0.8 \text{ kg}$ . Esto resultó probablemente de que en este experimento la cobertura fue sometida al tratamiento recomendado en la literatura, una esterilización a  $120^\circ\text{C}/120$  minutos. Por lo anterior en un segundo experimento, se disminuyó la severidad del tratamiento térmico de la cobertura que fue sometida a  $80^\circ\text{C}$  por 60 minutos. Se cambió también el tipo de suplemento, se usó Gluten: Salvado ya que con éste se lograron mejores resultados en experimentos realizados en paralelo y siguiendo el objetivo del trabajo se evaluaron espesores del sistema de producción de 10 cm como control y de espesores mayores a 11.5, 12.5 y 15 cm. El rendimiento ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) con los espesores de 12.5 y 15 cm, aumentó 139 y 153 % respecto al control, la producción para estas 4 condiciones fue de  $3.9 \text{ kg}/\text{m}^2$  para el control y de 6.7, 9.3 y  $9.8 \text{ kg}/\text{m}^2$ , respectivamente, para los espesores incrementados. En este experimento se evaluó también un aumento del 50% en el espesor de la cobertura, es decir de 3 a 4.5 cm, se observó un aumento en la producción del 73% pero también aumentó la contaminación que fue observada visualmente. La eficiencia biológica fue de 89.9% al incrementar a 12.5 cm el espesor total y 80.7% al aumentar el espesor total a 15 cm. El peso promedio de los champiñones cosechados en las 3 variables de este experimento fue menor que con el control. Finalmente, en un tercer experimento se evaluó el uso de bolsas de polietileno flexible para empacar el sustrato buscando evitar o limitar la pérdida excesiva de humedad que se observó con los contenedores empleados inicialmente. También se redujo más la severidad del tratamiento térmico de la cobertura ( $80^\circ\text{C}/30$  minutos), se compararon dos tipos de suplemento (Gluten: Salvado vs Monteblanco) y a partir de los resultados del segundo experimento, se utilizó un espesor del sistema de producción de 12.5 cm. No se observó en este caso un incremento en la producción de champiñones ni en el tamaño o la eficiencia biológica del sustrato, tampoco se encontró diferencia al añadir suplemento Gluten: Salvado al 10% ( $2 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) o al 5% ( $1.4 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) y con el suplemento Monteblanco se produjo el rendimiento más bajo ( $0.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ ). Se observó también, que al reducir el tratamiento térmico a la cobertura a  $80^\circ\text{C}$  de 60 a 30 minutos tampoco

resultó en un aumento en la producción y es importante mencionar que la producción del tratamiento control (80°C/60 minutos) fue idéntica al del experimento anterior, 8.8 y 9.3 kg/m<sup>2</sup>, respectivamente. Las eficiencias biológicas al usar bolsas de polietileno como contenedores fueron también bajas: 37.7 % con el suplemento Gluten: Salvado al 10% y 27.8% al 5% a comparación con el segundo experimento (89.9%) realizado en charolas o con el obtenido con el control de este experimento (78.6 kg/m<sup>2</sup>).

# 1. INTRODUCCIÓN.

La producción convencional de champiñones se realiza por un proceso de composteo el cual presenta distintos inconvenientes como la generación de olores desagradables producidos por los microorganismos que degradan la materia orgánica durante el composteo y que afectan a residentes que viven cerca de las granjas productoras, se generan también compuestos contaminantes del suelo, subsuelo y cuerpos de agua. Adicionalmente, para el composteo se requiere también de un tiempo de producción largo, entre 5 a 7 semanas, el uso de maquinaria altamente especializada debido a la necesidad de manejar grandes volúmenes de materiales requeridos para la preparación de dicho sustrato (Bechara, 2006). Por lo anterior resulta conveniente desarrollar un nuevo método de producción menos contaminante pero con rendimientos similares o superiores a los obtenidos con sustratos composteados. En el presente trabajo se exploraron nuevas alternativas para la producción de sustratos que evitarán contaminación, malos olores, disminuir costos y tiempo de producción.

El propósito del presente trabajo es proponer una alternativa viable de bajo impacto ambiental a la producción convencional del champiñón (*Agaricus bisporus*). Por lo tanto se propone usar semilla de trigo estéril como sustrato, que proveería nutrientes y agua al champiñón, requiriéndose además del uso de una fuente adicional de agua para la fructificación, en este caso perlita. Se ha observado en estudios realizados por Bechara (2005, 2006) que ambos factores son importantes para la obtención de buenos rendimientos reportándose producciones similares para este sistema y para sustratos composteados, 8.7 kg/m<sup>2</sup>, usando un espesor del sistema de producción de 9 cm. El propósito de este trabajo es evaluar la factibilidad de aumentar los rendimientos al incrementar el espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y cobertura).

## 1.1 ANTECEDENTES

### 1.1.1. Generalidades

*Agaricus bisporus* es un hongo cultivado que fue domesticado hace 350 años. El método para cultivar *A. bisporus* fue desarrollado en la región de París, Francia, donde los cultivadores de

melón descubrieron cómo podía propagarse este hongo e iniciaron su cultivo hacia 1650 (Royse y Schisler 1980). Alrededor de 1700, Tournefort, un botánico francés, describió el primer método de cultivo de *A. bisporus* (Vedder 1978). Él describió un método de cultivo que consistía en colocar porciones de estiércol de caballo cubiertas con moho en una cama de estiércol y cubriéndolo con una capa de suelo. En la década de 1780, Chambry, un jardinero francés, notó que *Agaricus bisporus* podía crecer sin luz y que las cuevas proveían condiciones favorables para la producción del hongo. Como resultado de ese descubrimiento, el cultivo del champiñón empezó a desarrollarse dentro de numerosas minas que habían sido excavadas para extraer yeso y material de construcción. En la actualidad, mientras que algunos cultivadores continúan produciendo los hongos en minas o cuevas, la mayor parte de la producción se realiza en naves cerradas con las condiciones ambientales adecuadas, como humedad relativa, niveles de bióxido de carbono, temperatura y ventilación controlados. Esto ha permitido a los cultivadores proveer al hongo de condiciones óptimas durante todas las etapas del ciclo de producción.

*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 la ventas anuales son de 880 millones de dólares (Bechara, 2006) y en México la producción en la actualidad alcanza las 50000 ton/año (Cruz, 2013).

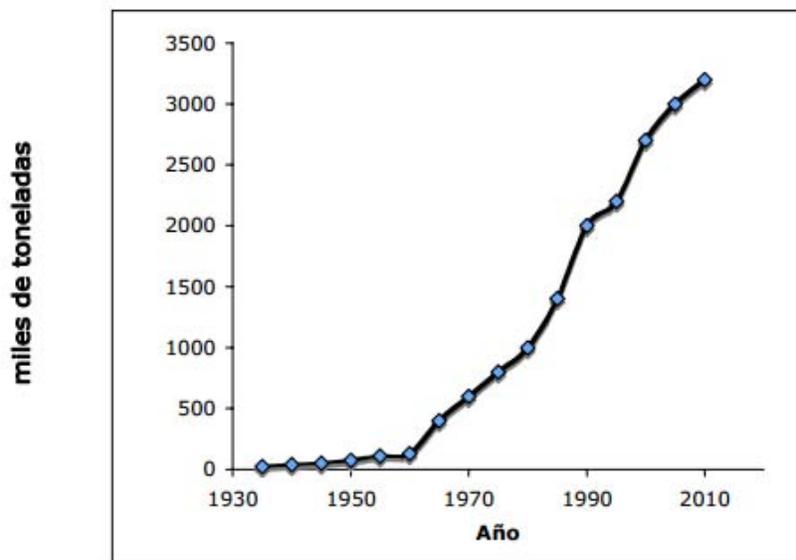


Figura 1. 1 Producción mundial de *Agaricus bisporus* desde 1935.

### 1.1.2. Características de *Agaricus bisporus*

Los hongos son organismos unicelulares o pluricelulares con estructura de talo, de nutrición quimiheterótrofa; al igual que los animales su reserva energética es de glucógeno y pared celular está compuesta por quitina y glicoproteínas. Las células se agrupan como 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). La reproducción puede ser de tipo sexual, por fusión de núcleos haploides en un basidio para generar esporas sexuales, o asexual, por medio de esporas asexuales de distinto tipo. *Agaricus bisporus* es un organismo eucariótico no fotosintético, aerobio, quimiheterótrofo, es decir que obtiene sus nutrimentos por absorción de la materia orgánica muerta, se clasifica como un hongo saprófito. La mayor parte de sus nutrimentos los obtiene de lignina, celulosa, hemicelulosa y proteína.



### 1.1.3. Composición

Los cuerpos fructíferos de *Agaricus bisporus* recién cortados poseen 91.4% de agua, 1.8 g de proteína, 0.3 g de lípidos, 4 g de hidratos de carbono, de los cuales, 2.5 g corresponden a fibra dietética. El champiñón es una excelente fuente de vitaminas como la tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3) y vitamina D (ergosterol) y de minerales como calcio (Ca), potasio (K), hierro (Fe) y fósforo (P). El valor biológico de la proteína contenida en el champiñón es comparable con la encontrada en la carne de pollo, res o cerdo, lo que explica la denominación de “carne de bosque”, pero con menos niveles de grasa y mayores contenidos de fibra.

### 1.1.4. Taxonomía y morfología

Taxonómicamente *Agaricus bisporus* según el WolframAlpha computational knowledge engine® 2011, el champiñón se clasifica dentro del Reino Fungi, División *Basidiomycota*, Clase *Basidiomycetes*, Orden *Agaricales*, Familia *Agaricaceae*, Género *Agaricus*, Especie *Agaricus Bisporus*.

Morfológicamente, en el champiñón se distinguen 4 partes fundamentales: sombrero, pie o estípite, himenio y laminillas.

- 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). Esta es la parte a la que comúnmente se le denomina champiñón.
- 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.
- d) Laminillas: Sobre estas se forman las esporas, que cuando germinan dan lugar a las hifas que posteriormente constituyen el micelio del champiñón.

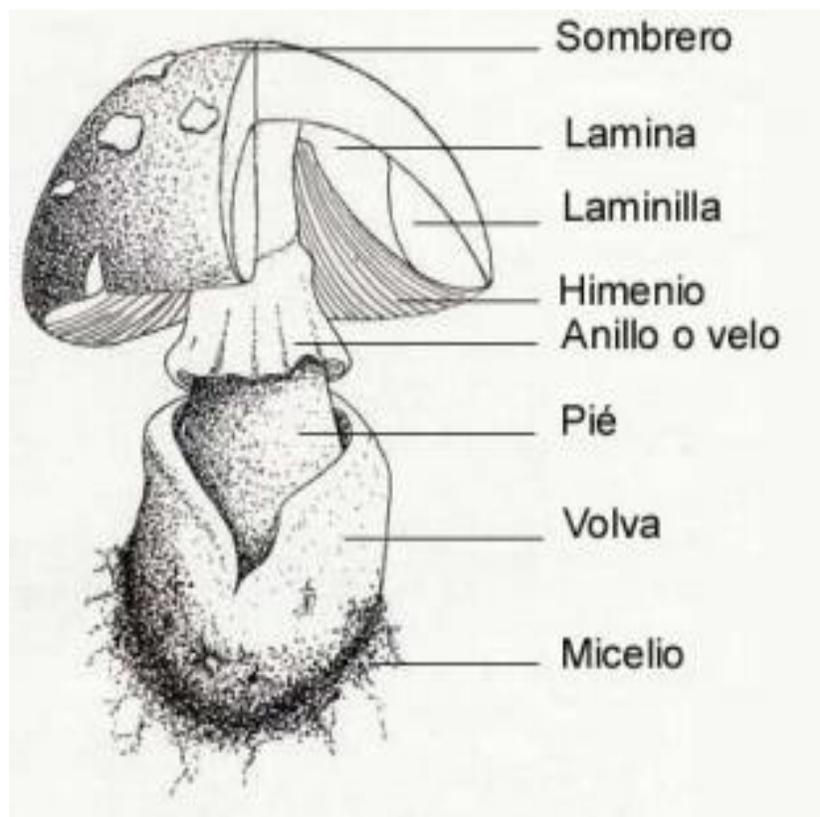


Figura 1.2 Morfología del cuerpo fructífero de *Agaricus bisporus*.

### 1.1.5. Ciclo de vida

En la Figura 1.3 se muestra el ciclo de vida de *Agaricus bisporus* el cual comienza desde la germinación de esporas hasta la formación de cuerpos fructíferos que es el producto final para su comercialización.

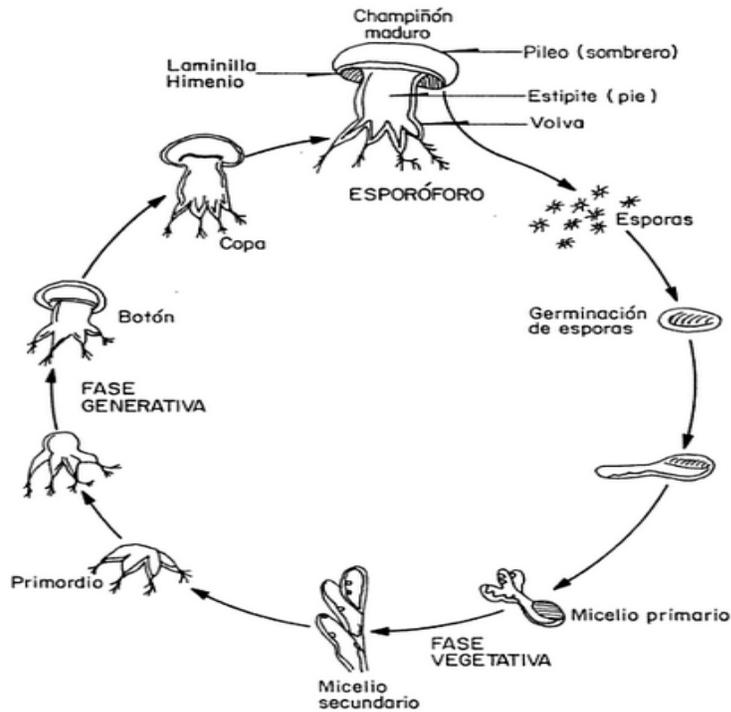


Figura 1.3 Ciclo reproductivo de *Agaricus bisporus*

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 de generación de micelio va de los 22 a 26°C con una humedad de sustrato del 65 al 70% y la humedad relativa va de un 90 a un 95% (Garibay, 1993). Posteriormente, cuando se presentan las condiciones adecuadas de humedad y ventilación, se forman los primordios, que son la estructura visible inicial que da origen al esporóforo. Cuando madura el esporóforo se generan las esporas sexuales, basidiosporas. Para que ocurra el crecimiento generativo, la temperatura debe estar entre 16 y 18°C, una humedad relativa de 80 a 85% con una mayor ventilación. Para evitar que el CO<sub>2</sub> no rebase el 0.1 %.

### 1.1.6 Cultivo comercial de *Agaricus bisporus*

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

Para la producción comercial de champiñones ha resultado ventajoso preparar entonces un sustrato que asemeje la composición y estructura del material que se encuentra en el piso de los bosques. Esto se realiza por un proceso conocido como “composteo” en donde participan tanto reacciones químicas de tipo Maillard como la fermentación producida por la comunidad microbiana que se genera durante el proceso. Se obtiene así un sustrato selectivo que es conocido como “composta” (Derikx et al., 1990). *Agaricus bisporus* es producido comercialmente con materias primas composteadas de material orgánico de plantas y/o animales se utilizan desde combinaciones de heno, rastrojo, cáscara de semilla de algodón, olote, pasto, estiércol de pollo y de caballo, corteza de árbol, harina de semillas de algodón y de soya, desechos de destilación de etanol y yeso. Estos materiales son rápidamente mezclados y mojados a saturación para someterlos a un proceso de fermentación aerobia termofílica. Ya que debe asegurarse un suministro adecuado de oxígeno, los materiales son frecuentemente mezclados y aireados o bien procesados en instalaciones especiales conocidas como bunkers o túneles de fermentación, que cuentan con sistemas de inyección de aire fresco. Éste proceso se lleva a cabo en 2 etapas conocidas como “Fase I” y “Fase II”, la primera se realiza en patios de composteo al aire libre y en instalaciones cerradas con sistemas de inyección de aire fresco, los bunkers, y en la Fase II, el proceso de preparación del sustrato selectivo se finaliza en túneles de fermentación, conocidos como túneles Fase II.

Durante la Fase I los materiales deben ser mezclados y llevados a su máxima capacidad de retención de agua para asegurar un rápido inicio de la fermentación y que las temperaturas se eleven rápidamente al rango termofílico para lograr el ablandamiento de la pared celular de las pajas y la incorporación del nitrógeno de la pollinaza. La temperatura de la composta puede

alcanzar 83°C. La pila de composta debe ser volteadas dos o tres veces para mezclar el agua y redistribuir la materia prima (Royse, 2007) El tiempo total desde la preparación de la composta y la transferencia a la fase II es de 2 semanas.

En la Fase II, se busca que todo el sustrato sea sometido a las condiciones de fermentación termofílica y a un proceso de pasteurización con el objeto de eliminar los microorganismos e insectos patógenos que durante la Fase I sobrevivieron, se eliminan hongos indeseables, insectos y nematodos que pueden ser causa de enfermedades, daño o alteraciones durante el desarrollo del champiñón. Debido a que el amonio es tóxico para el champiñón, es necesario disminuir los niveles por debajo del 0.1%. El tiempo de duración puede ser de 5 a 7 días (Fase II).

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

**Capa de cobertura.** La capa de cobertura es el material que se aplica sobre la superficie del sustrato, una vez que éste ha sido colonizado por el micelio de *A. bisporus* y sobre esta se desarrollarán los cuerpos fructíferos llamados champiñones. La capa de cobertura cumple con varias funciones: constituye un soporte físico, protege la superficie del sustrato colonizado contra la desecación y contaminaciones, absorbe agua y proporciona el agua necesaria para el crecimiento y desarrollo del micelio y de los cuerpos fructíferos, contiene y favorece los factores que inducen la fructificación y proporciona un ambiente aireado al micelio. Una variedad de materiales pueden ser empleados para la cobertura, la turba es el más frecuente pero también se emplea suelo mineral o composta agotada de la producción de champiñón (Pardo, 1997).

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

hace aproximadamente 350 millones de años, contiene cerca del 50% de materia orgánica y es considerado como el mejor producto de cobertura, principalmente porque posee una alta capacidad de retención de agua, una estructura porosa y está libre de organismos patógenos. En general, al usar turba es posible utilizar una cobertura de mayor profundidad que con suelo mineral, ya que éste tiende a compactarse fácilmente. Se debe resaltar la importancia del espesor de la capa de cobertura añadida, ya que influye directamente sobre la producción de primordios y con ello en el rendimiento/producción total de champiñones. La profundidad de la capa de cobertura más recomendable es de 4 a 4.5 cm, espesores menores de la capa genera problemas en la capacidad de retención de agua y disminuye el tamaño y rendimiento de champiñones (Sinden y Schisler 1962, Schisler y Wuest, 1982).

Una condición que debe presentar la capa de cobertura es el mantenimiento de una estructura adecuada, incluso después de ser regada varias veces. Se precisa de cierta porosidad que permita los intercambios gaseosos aunque sean limitados. Es conveniente una estructura granulosa, pues entre estas partículas puede desarrollarse cierto microclima que permite el desarrollo de los primordios (las estructuras iniciales de los cuerpos fructíferos) sin riesgo de desecación. La cobertura debe estar bien húmeda antes de colocarla sobre el sustrato, pero no en exceso porque impide su manejo al extenderla ya que debe mantener una estructura granulosa evitando que se compacte para permitir un buen intercambio de gases. Por otro lado, una vez que se tiene la cobertura lista para extenderla sobre el sustrato, se le debe repartir lo más uniforme posible. De no hacerse así, el micelio podría alcanzar la superficie en unos sitios antes que otros, lo que atrae problemas diversos: se dificulta el riego ya que las partes con menor espesor son fácilmente inundadas mientras que el resto de la cobertura permanecería seca, adicionalmente esto provocaría que los primordios se formen a distintas profundidades provocando que se produzcan champiñones sucios, con restos de tierra. La capa de cobertura debe tener un pH adecuado, entre 7.0 y 7.5, por lo que generalmente se agrega carbonato de calcio para servir como buffer debido a que durante el desarrollo de *A. bisporus* se liberan ácidos (en especial ácido oxálico).

### **1.1.7 Condiciones ambientales para la formación de primordios.**

Para la producción de cuerpos fructíferos de *A. bisporus*, es necesario proporcionar también las condiciones ambientales dentro de la nave de producción que conduzcan a la fructificación,

esencialmente se reduce la temperatura y se aumenta la ventilación para reducir el nivel de dióxido de carbono desprendido por la biomasa del hongo (Long y Jacobs 1974; Schisler, 1982). La temperatura óptima para el crecimiento del micelio es de 22-24°C y durante la formación de los primordios la temperatura deberá mantenerse entre 15-16°C. Para la incubación y el desarrollo del micelio se requieren concentraciones altas de dióxido de carbono, alrededor de 5000 ppm y posteriormente para el desarrollo de los primordios hay que aumentar la aireación para disminuir la concentración de CO<sub>2</sub> a valores entre 800-1200 ppm. Durante la etapa de la cosecha se debe mantener una buena ventilación, sobre todo si hay muchos champiñones ya que solamente con una ventilación adecuada se producen altos rendimientos con champiñones sanos y sin malformaciones.

Después de aplicar la cobertura, el micelio que ha colonizado el sustrato empieza a desarrollarse vegetativamente en la cobertura. Conforme avanza hacia la superficie de la cobertura requiere de las condiciones necesarias para el desarrollo vegetativo, es decir una temperatura promedio de 25 °C y poca ventilación con aire fresco con el objeto de mantener altos niveles de CO<sub>2</sub>, factores que favorecen el desarrollo vegetativo. Cuando el micelio se encuentra a unos milímetros de la superficie de la cobertura es el momento en que debe inducirse la transición de un desarrollo vegetativo, el crecimiento micelial, a un desarrollo generativo, en donde el organismo entra en una fase reproductiva que implica la formación de cuerpos fructíferos. Esto se logra mandándole señales al micelio para que esto ocurra, se aplican riegos fuertes que inhiben el crecimiento micelial y se modifican las condiciones ambientales. Manteniendo una alta humedad ambiental, 85%, se aumenta la ventilación con aire fresco con el objeto de disminuir los niveles de CO<sub>2</sub>. Bajo estas condiciones, el crecimiento vegetativo se detiene y el micelio se reorganiza formando pequeñas aglomeraciones de micelio, a manera de pequeñas esferas, que se conocen como "primordios", que son las estructuras iniciales que preceden a la formación de los cuerpos fructíferos.

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

Si durante esta fase se mantiene por mucho tiempo una temperatura demasiado elevada, y si el movimiento de aire sobre la cobertura es insuficiente, el micelio se desarrollará abundantemente en la superficie, sin formar primordios. Esto se conoce como “estroma” y cuando la capa de cobertura está invadida por este “estroma” casi no absorbe el agua de los riegos. Durante este período la humedad relativa del aire en la cámara de cultivo debe mantenerse a 85-90%.

Los sustratos composteados es la forma de producción que se utiliza actualmente en todo el mundo ya que presenta ventajas importantes como una alta selectividad para el desarrollo de *Agaricus bisporus* con buenos rendimientos, económicamente aceptables. No obstante su uso a gran escala esta ya resultando poco amigable con el medio ambiente (Sánchez, 2007). Tomando en cuenta el experimento del Dr. Till a principios del 1960, se descubrió que el proceso de composteo no es necesario desde el punto de vista de la asimilación de nutrimentos debido a que *Agaricus bisporus* se desarrolló en sustratos estériles sin ninguna presión de infección o competencia por otro organismo patógeno o competidor. Es decir, se demostró que *Agaricus bisporus* presenta la capacidad enzimática para la asimilación de los nutrimentos en sustratos no composteados (García, 2007)

Para la producción comercial de champiñones, los sustratos son inoculados con un inóculo preparado en granos estériles de cereales, material que se conoce como “semilla” o “blanco”. Es decir, el grano estéril completamente colonizado por el micelio de *A. bisporus* se utiliza normalmente para inocular a los sustratos composteados, pero San Antonio en 1971, reportó por primera vez la factibilidad de producir champiñones en semilla o blanco en grano de cereal demostrando que los granos de cereal no solo constituyen el vehículo para la dispersión del micelio, sino que son un elemento nutritivo para el desarrollo vegetativo y generativo del mismo (Mata, 2007).

El desarrollo de sustratos no composteados (SNC) para la producción de *Agaricus bisporus* está en su infancia, si se compara con los esfuerzos dirigidos hacia el mejoramiento de la calidad y la productividad de la composta tradicional. Los resultados reportados a la fecha con este tipo de sustratos (SNC) indican rendimientos todavía bajos de *A. bisporus*, sin embargo hay todavía posibilidades para lograr incrementos importantes para el futuro ya que en algunos experimentos, los rendimientos obtenidos con SNC han excedido por mucho los alcanzados

con composta de fase II. La producción de champiñones sobre SNC puede permitir mejorar la calidad, la vida de anaquel y la calidad medicinal del producto.

### 1.1.8 Cobertura y el uso de carbón activado

La cobertura es uno de los principales factores para la obtención de un alto rendimiento en la producción de champiñones. El papel de la cobertura es muy importante ya que da soporte y provee de agua para el desarrollo de los cuerpos fructíferos además, protege al sustrato de la desecación (Bechara, 2009). De las distintas hipótesis sobre el papel de la cobertura en la fructificación de *Agaricus bisporus*, una 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 (Bechara, 2009). Otra hipótesis sugiere que la cobertura forma un gradiente de CO<sub>2</sub> o un gas aún no identificado necesario para la fructificación.

El uso de carbón activado y el tratamiento térmico de la cobertura han desmostado reestablecer la producción de champiñones, Verbeke y Overstyns en 1991 desarrollaron una teoría en la que describen el papel de carbón activado y el tratamiento térmico de la tierra de cobertura. En resumen ellos sugieren que en una cobertura sin tratamiento térmico el CO<sub>2</sub> generado por el metabolismo de *Agaricus bisporus*, reacciona con el agua de la cobertura generando H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, el cual reaccionara con el CaCO<sub>3</sub> generando iones Ca<sup>2+</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. El calcio reacciona con oxalato, (quelante exudado por le micelio), generando un compuesto quelato (oxalato de calcio); dicho compuesto inhibe la producción de champiñones debido a que el oxalato exudado es un quelato de Fe<sup>2+</sup>, ion que inhibe igualmente la producción de *Agaricus bisporus*. En coberturas con tratamiento térmico, ocurre una reacción buffer entre el HCO<sub>3</sub> y CO<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> y compuesto ferrosos de preferencia con hierro en su forma reducida, como lo sería el oxalato de hierro para favorecer la formación de primordios.

En los estudios que realizó Bechara (2005, 2006) se recomienda un tratamiento térmico de esterilización (120°C/120 minutos) sobre la cobertura por lo que se utilizó este tratamiento en el primer experimento. No obstante, los resultados desfavorables y la experiencia en la producción

comercial de champiñones sugieren utilizar tratamientos térmicos menos severos de la cobertura para eliminar insectos y microorganismos nocivos, pero conservando de la mejor manera posible a los microorganismos benéficos para la fructificación. Con la esterilización la presencia casual de algunos patógenos podría resultar en una multiplicación masiva, al no existir en la cobertura ningún microorganismo competidor que frene su desarrollo (Steineck,1987).

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

Se mencionó anteriormente que el uso de sustratos composteados para la producción de *Agaricus bisporus* genera problemas en el ambiente, se requieren grandes áreas para los patios de composteo y para los túneles de procesamiento y también de un costoso equipamiento para el manejo de los materiales, además de que se requieren tiempos largos para la preparación de la composta. El uso de sustratos no composteados es una alternativa para los problemas ya mencionados pero para que la producción sea rentable, el rendimiento de champiñones debe ser igual o superior al conseguido en sustratos composteados.

A la fecha, la producción comercial de *Agaricus bisporus* en sustratos no composteados no se ha implementado: Se desconoce todavía si la producción en sustratos no composteados es rentable, por lo que en este trabajo se abordan algunos factores que pueden permitir su optimización, como el espesor del sistema de producción y el tipo de suplementación para lograr elevar la calidad y productividad y alcanzar las obtenidas al usar sustratos composteados.

Varias investigaciones demuestran que se pueden obtener rendimientos altos que pueden igualar o superar a aquellos obtenidos en composta, (8.7 kg/m<sup>2</sup>) (Bechara, 2006). Estos rendimientos se obtuvieron con un espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y cobertura) de 9 cm. A partir de estos resultados se propone en el presente trabajo, incrementar el espesor del sistema de producción para evaluar si esto permite aumentar significativamente el rendimiento de champiñones, el peso promedio de los mismos y la eficiencia biológica.

Aunado a esto el papel de la cobertura es muy importante ya que da soporte y provee de agua para el desarrollo de los cuerpos fructíferos, protege además al sustrato de la desecación (Bechara, 2009). De las distintas hipótesis sobre el papel de la cobertura en la fructificación de *Agaricus bisporus*, una sugiere que *Pseudomonas spp*, es una de las bacterias responsables de la fructificación por lo que entonces la esterilización de la cobertura, que Bechara recomienda (2009) puede inhibir o retardar la fructificación de champiñones. Por lo anterior se decidió considerar la posibilidad de usar tratamientos térmicos más moderados, a temperaturas menores (80°C) y tiempos más cortos (60 y 30 minutos).

## 1.3. OBJETIVOS.

### Objetivos generales

- Montaje del sistema experimental para evaluar la factibilidad la producción de *Agaricus bisporus* en un sustrato de inóculo de grano.
- Evaluar el efecto de distintas variables del sistema de producción midiendo la producción por área (kg/m<sup>2</sup>), eficiencia biológica y tamaño promedio de los champiñones.

### Objetivos particulares

- Comparar el rendimiento de *Agaricus bisporus* utilizando diferentes espesores del sistema de producción.
- Comparar el rendimiento de *Agaricus bisporus* utilizando tratamientos térmicos moderados de la cobertura.
- Comparar el rendimiento de *Agaricus bisporus* utilizando bolsas de plástico como contenedor.
- Comparar el rendimiento de *Agaricus bisporus*, utilizando distintos suplementos comerciales Monteblanco y una mezcla de Gluten y Salvado.
- Comparar el rendimiento al aumentar solo el volumen de la cobertura con un incremento del sistema de 25%.
- Comparar y evaluar el efecto en el rendimiento de *Agaricus bisporus*, utilizando diferentes proporciones de suplementos comerciales Monteblanco y una mezcla de Gluten y Salvado.

## 2. HIPÓTESIS.

Los rendimientos por área de producción (kg/m<sup>2</sup>) de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril se incrementarán al aumentar la disponibilidad de nutrientes al usar un mayor espesor del sistema de producción, con la adición de suplementos y al disminuir la severidad del tratamiento térmico de la cobertura.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1 Diagrama general de la metodología.

En la metodología seguida con los tres experimentos, se preparó un sustrato de trigo en condiciones asépticas. Posteriormente se prepararon los contenedores para la fructificación con las 3 capas del sistema de producción (perlita, sustrato de trigo y cobertura). Una vez invadida la cobertura, los contenedores se transfirieron al área de fructificación en donde se cosecharon los champiñones. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente. Sin embargo, se realizaron ciertas modificaciones en estos procedimientos para los 3 distintos experimentos llevados a cabo (Figura 3.1).



Figura 3.1. Diagrama general para la producción de champiñones en sustratos no composteados de trigo estéril

### 3.2 Preparación del sustrato

Para la producción de champiñones se utilizó como sustrato, grano de trigo; el cual primero se lavó con agua para eliminar los restos de basura u otros desechos que pudiera tener el trigo antes de utilizarlo. Posteriormente se drenó el exceso de agua y se colocó en un recipiente con agua en ebullición durante 30 a 45 minutos, con el objeto de gelatinizar el almidón presente en los granos. El grano cocido se vertió en un colador para eliminar el exceso de agua y se enfrió con chorro de agua fría para detener su cocción. El grano húmedo se pesó y se le adicionó  $\text{CaCO}_3$  (1%) y  $\text{CaSO}_4$  (0.3%) y se mezcló.

Como se muestra en la Tabla 3.1, se utilizaron distintos espesores del sistema de producción en los 3 experimentos de acuerdo al esquema indicado en la Tabla 3.1 lo cual implicó utilizar distintas cantidades de trigo húmedo para cada unidad experimental. Considerando el peso total del sustrato (trigo húmedo) (Bechara *et al*, 2005, 2006a, 2006b, 2009), se adicionó 5 o 10% de suplemento comercial MB o de una mezcla Gluten: Salvado (75:25). Una vez mezclados los ingredientes, se empacaron en bolsas de polipropileno que se colocaron dentro de costales de tela para evitar que se peguen durante la esterilización. La parte superior tanto de la bolsa de polipropileno como el costal de tela se cerraron con ligas y se esterilizaron a 120°C y 15 lbs de presión por 2 horas (Figura 3.2).

Tabla 3.1 Cantidades (g) de trigo y suplemento utilizados en los tres experimentos.

Experimento	Espesor global del sistema de producción (cm)	Suplementación			Trigo humedo (g)
		Tipo	Concentración %	Cantidad (g)	
1	11.2	MB	5	50	950
	13.5	MB		60	1140
	15.7	MB		70	1330
2	12.5	Gluten:Salvado 75:25	5	50	900
	15	Gluten:Salvado 75:25		60	1200
	11.5	Gluten:Salvado 75:25		40	800
3	12.5	Gluten:Salvado 75:25	5	50	950
	12.5	Gluten:Salvado 75:25	10	100	900
	12.5	MB	5	50	950

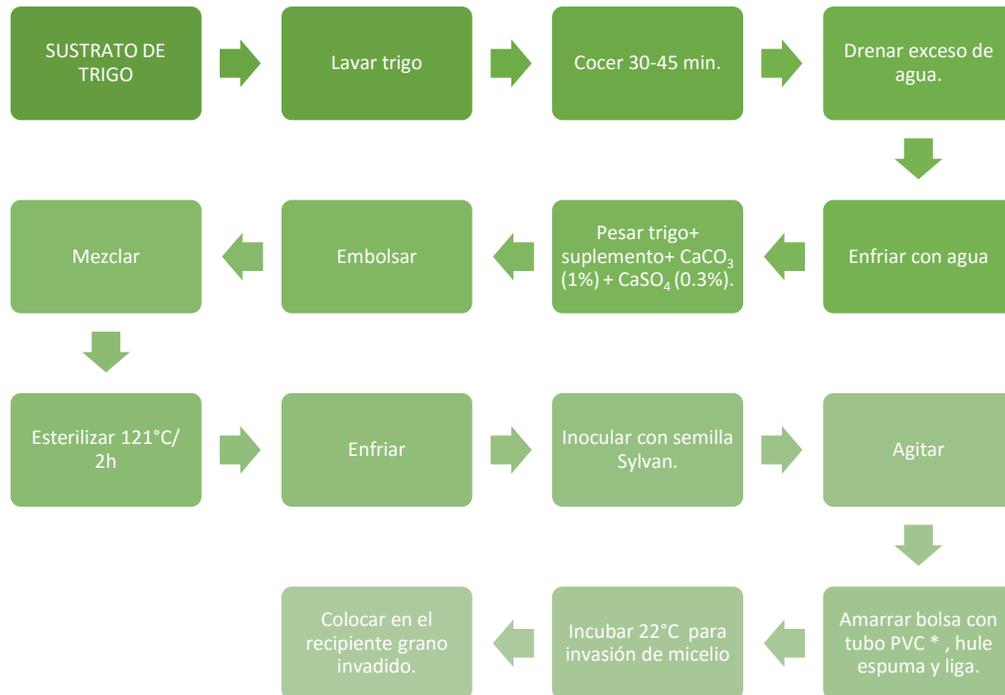


Figura 3.2 Esquema general de preparación del sustrato de grano estéril.

### 3.3 Inoculación e Incubación del sustrato

Después de la esterilización, una vez que los costales con sustrato de trigo se enfriaron, se inoculó cada bolsa con 5% de semilla de champiñón (Sylvan, cepa A15 variedad blanca de *A. bisporus*, almacenada a 5°C para evitar su crecimiento) con la cantidad que se observa en la Tabla 3.2. La inoculación se realizó en condiciones de asépticas (en campana de flujo laminar) para evitar la contaminación del sustrato. Posteriormente, las bolsas se incubaron a 22°C – 24°C y en la Tabla 3.3 se indica el tiempo de incubación hasta la invasión completa del micelio que se utilizó en cada experimento. En el caso del segundo y tercer experimento, a los 10 días de incubación, las bolsas con el trigo invadido con micelio fueron manipuladas para romper el micelio en crecimiento y favorecer así un desarrollo más homogéneo en el trigo y prevenir que al final de la incubación el sustrato presentará zonas fuertemente amarradas por un excesivo crecimiento del micelio.

Tabla 3.2 Cantidades (g) de inóculo para los tres experimentos.

Experimento	Espesor global del sistema de producción (cm)	Cantidad inóculo (g)
1	11.2	50
	13.5	60
	15.7	70
2	12.5	50
	15	60
	11.5	40
3	12.5	22
	12.5	22
	12.5	22

Tabla 3.3 Días de incubación en los tres experimentos.

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos no composteados	Tiempo (días)		
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Invasión del sustrato de grano	28	14	14

### 3.4 Preparación de la perlita.

Se utilizó perlita (Agrolita® S.A de C.V) como material retenedor de agua para suministrar los requerimientos de agua para la formación de champiñones ya que es un material silíceo poroso, granular. En bolsas de polipropileno se pesó perlita seca de acuerdo a las cantidades mostradas en la Tabla 3.4 saturándola con un exceso de agua. Después de aproximadamente 1 hora, se drenó el exceso de agua y se procedió a esterilizarla empacándola en bolsas de polipropileno que a su vez se colocaron dentro de un costal de tela sujetado con una liga a 120°C/20 minutos y 15 lbs de presión (Figura 3.3).



Figura 3.3 Esquema general de preparación de perlita.

Tabla 3.4 Cantidades utilizadas para la preparación de perlita en los tres experimentos.

Experimento	Espesor global del sistema de producción (cm)	Perlita		Volumen de agua (mL)
		Volumen (mL)	Peso (g)	
1	11.2	2500	348	825
	13.5	3000	424.5	990
	15.7	3500	495.2	1155
2	12.5	2500	348	825
	15	3000	424.5	990
	11.5	2000	278	660
3	12.5	1600	227.2	528
	12.5	1600	227.2	528
	12.5	1600	227.2	528

### 3.5 Preparación de la cobertura

Para la preparación de la cobertura se empleó la mezcla de turba con  $\text{CaCO}_3$  que se utiliza comercialmente por una empresa comercial productora de champiñones (Champiñones Monteblanco). A este material, que se recibió ya hidratado, se le agregó carbón activado (Carbotecnia® S.A de C.V Zapopan, Jalisco) en una proporción del 10 % en volumen de

acuerdo a la Tabla 3.5. Se mezclaron los ingredientes y posteriormente las unidades experimentales recibieron un tratamiento térmico de acuerdo a las condiciones mostradas en la Tabla 3.5. (Figura 3.4)



Figura 3.4 Esquema general de preparación de la cobertura.

Tabla 3.5. Cantidad de cobertura y carbón activado utilizados para los tres experimentos así como los tratamientos térmicos empleados.

Experimento	Espesor global del sistema de producción(cm)	Cobertura		Carbón activado v/v%
		Peso (g)	Tratamiento térmico	
1	11.2	837.5	120°C/120min	83.7
	13.5	1005		100.5
	15.7	1172.5		117
2	12.5	1256.25	80°C/60 min	125.2
	15	1507.5		150.8
	11.5	1507.5		150.8
3	12.5	1600	80°C/30 min	227.2
	12.5		80°C/60 min	
	12.5			

### 3.6 Preparación de contenedores y fructificación de sustratos

Para seguir el modelo utilizado por (Bechara *et al.*, 2009) lo más cercano posible, la producción de champiñones se realizó utilizando contenedores de plástico desinfectados con un área de 0.048 m<sup>2</sup> (0.3 m largo x 0.16 m ancho x 0.1 m de altura a la ceja menor). Se colocó en la base del contenedor una primera capa de perlita húmeda. Sobre esta, se distribuyó uniformemente una segunda capa con el sustrato de grano (con suplemento) invadido con micelio. Finalmente, se colocó la capa de cobertura sobre el sustrato de trigo invadido procurando una distribución homogénea, evitando lo más posible que se compactara (Figura 3.5). Estas manipulaciones se realizaron manualmente en el primer experimento y en el segundo y tercer experimento con la ayuda de una “llana” de yesero para la nivelación de cada capa.

Los contenedores ya preparados con sus 3 capas se cubrieron con una película de plástico para incrementar la concentración de CO<sub>2</sub> y se colocaron en el cuarto de incubación a 22°C-24°C. Una vez que el micelio se observaba en la superficie de la cobertura, se rascó la superficie de la cobertura para distribuir el micelio y los contenedores se transfirieron al cuarto de fructificación, en donde se mantuvo la temperatura a 16-19 °C y la humedad relativa entre 80-87. La fructificación inició aproximadamente 7 días después de haber mantenido estas condiciones.

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



Figura 3.5 Preparación de contenedores y fructificación.

### 3.7 Cosecha de champiñones.

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



Figura 3.6 Aparición de primordios de *Agaricus bisporus*.



Figura 3.7 Fructificación de sustrato invadido con micelio de *Agaricus bisporus*



Figura 3.8 Producción y cosecha de champiñones (*Agaricus bisporus*).

### 3.8 Recolección y análisis de datos

Se realizaron 5 réplicas para todos los tratamientos. Se distribuyeron aleatoriamente (Windows XP; Excel, 2013) en el cuarto de fructificación. Los resultados fueron presentados como producción total (g de hongo fresco/contenedor), producción por unidad de área ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), eficiencia biológica (g de hongo fresco/100 g sustrato seco) y peso unitario promedio (g/champiñón). Se realizó análisis estadístico en Windows XP; Excel, 2013 y IBM SPSS Statistics versión 22.

## 4. EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.

Para la producción de champiñones se requiere actualmente producir compostas a partir de residuos agrícolas por un proceso que genera efluentes contaminantes y malos olores además de que implica el movimiento de grandes volúmenes de materiales. Se han buscado nuevas alternativas para la producción de champiñones para evitar los problemas de contaminación y disminuir costos y tiempo de producción. (Bechara *et al.*, 2005, 2009) propusieron el uso de sustratos no composteados para la producción de *Agaricus bisporus*, utilizando sustratos de grano estéril, por el proceso que normalmente se emplea para la producción de la semilla que se utiliza para inocular los sustratos elaborados por composteo. Estos estudios se encuentran en una etapa inicial y a pesar de que los rendimientos por área de producción son relativamente bajos, muestran un gran potencial. La viabilidad de la propuesta de (Bechara *et al.*, 2009) depende en gran medida de lograr mayores rendimientos por área de producción y altas eficiencia biológica sin que se afecte el tamaño de los champiñones. Por lo anterior, se consideró entonces importante evaluar el efecto de incrementar el espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y material de cobertura) conjuntamente con el uso de tratamientos térmicos menos severos de la capa de cobertura y de la suplementación del sustrato con distintos materiales y a diferentes dosis, asimismo se exploró la posibilidad de simplificar el tipo de contenedores de producción usando bolsas de polietileno.

### 4.1 Preparación del sustrato y etapas de producción.

En los tres experimentos se prepararon varios lotes de semilla partiendo de un total de 7147 g de trigo seco que fue sometido a un cocimiento a ebullición con agua en exceso, se obtuvieron 10611 g de trigo húmedo, lo cual implica un aumento de 1.5 veces con respecto al peso inicial del trigo seco. Al trigo cocido se le adicionó Carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) al 1% y Sulfato de calcio ( $\text{CaSO}_4$ ) al 0.3% con base en el peso húmedo del trigo.

Para el cálculo de la eficiencia biológica es necesario determinar la humedad del sustrato, se determinó la humedad del grano de trigo esterilizado colocando muestras a 55°C por 24 horas,

se registró el peso inicial antes de introducir a la estufa y el peso final después de 24 horas. La humedad promedio fue: 53%, 52% y 47.8% para el primer, el segundo y el tercer experimento, respectivamente.

Para determinar la cantidad de perlita a utilizar se realizó por quintuplicado la equivalencia en peso (g) del volumen de perlita seca (2000 ml) a utilizar siguiendo el modelo de Bechara *et al.* (2005, 2009) dando como resultado 284 g de perlita seca. Se determinó que retiene 660 ml de agua, añadiendo agua en exceso (700 ml) a 284 g de perlita. La perlita no aumenta de volumen al hidratarse por lo que la primera capa del contenedor (con perlita) permaneció ocupando un volumen de 2000 ml.

Tabla 4.1. Tiempos requeridos para completar las diferentes etapas de la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo no composteados.

Etapas del proceso de producción de <i>Agaricus bisporus</i> en sustratos no composteados	Tiempo (días)		
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Invasión del sustrato de grano	28	14	14
Invasión de la cobertura	8	10	10
Formación de primordios	14	4	4
Cosecha de hongos	28	25	25
<b>Tiempo total</b>	78	53	53

En la Tabla 1 se puede observar que se modificaron los tiempos en las etapas de la producción a lo largo de los tres experimentos ya que se observó que el tiempo de inoculación era excesivo porque el sustrato de trigo presentaba un sobre crecimiento lo que resultaba en un endurecimiento de la capa de micelio en la superficie de las bolsas de semilla con micelio. Esto representaba una gran dificultad para su manejo al tener que transferirlas a las charolas de plástico en donde posteriormente también se presentó un sobre crecimiento de micelio sobre la cobertura ya en la etapa de producción, que impidió el riego y la fructificación adecuada.

## 4.2 Efecto del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con coberturas esterilizadas (120°C/120 minutos)

El primer experimento se realizó para confirmar si las condiciones que (Bechara *et al.*, 2005 2006a, b, 2009) propusieron en sus experimentos para producir champiñones en sustratos de grano estéril son óptimas. Si bien estos autores proponían un espesor total (perlita, sustrato de trigo estéril, cobertura) de 9 cm y un tratamiento térmico severo a la cobertura 120°C por 2 horas, algunos de sus resultados experimentales sugieren la posibilidad de lograr rendimientos mayores con el aumento del espesor. Por lo anterior se decidió en este experimento evaluar el aumento del espesor a 11.2, 12.5 y 15 cm.

De acuerdo a como se indica en la Tabla 4.2, se usó un espesor de 9 cm, como control, se aumentó el espesor total a 11.2, 13.5 y 15.7 cm. Se registró la producción diaria de champiñones por contenedor (g/contenedor) y se calculó el rendimiento en kg/m<sup>2</sup> y la eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100 g de sustrato seco) y el peso unitario del champiñón (g).

Tabla 4.2. Efecto del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con coberturas esterilizadas (120°C/120 minutos)\*.

Espesor (cm)	Producción		Eficiencia biológica (g de hongo fresco/100 g sustrato seco)	Tamaño unitario (g hongo/pieza)
	(g de hongo fresco/contenedor)	(kg de hongo fresco/m <sup>2</sup> )		
<b>CONTROL (9cm)</b>	34.5 ± 0.0	0.8 ± 0.0 <sup>a</sup>	10.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	26.5 ± 0.0 <sup>a</sup>
<b>11.2</b>	10.7 ± 24.0	0.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	3.7 ± 6.4 <sup>a</sup>	6.0 ± 10.3 <sup>a</sup>
<b>13.5</b>	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	0.0 ± 0.0 <sup>a</sup>
<b>15.7</b>	116.5 ± 132.8	2.4 ± 2.8 <sup>a</sup>	17.7 ± 19.7 <sup>a</sup>	28.7 ± 6.0 <sup>b</sup>

\* Sustratos de trigo estéril con 5% de suplemento, 3 semanas de producción.

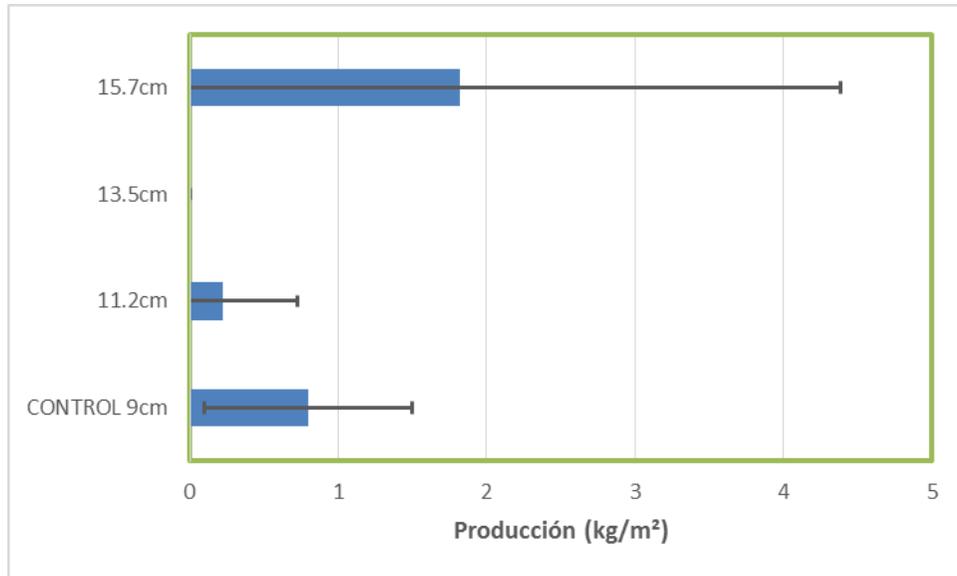


Figura 4.1 Rendimiento de champiñones (kg hongo fresco/m<sup>2</sup>) en sustratos de trigo estéril en función del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura).

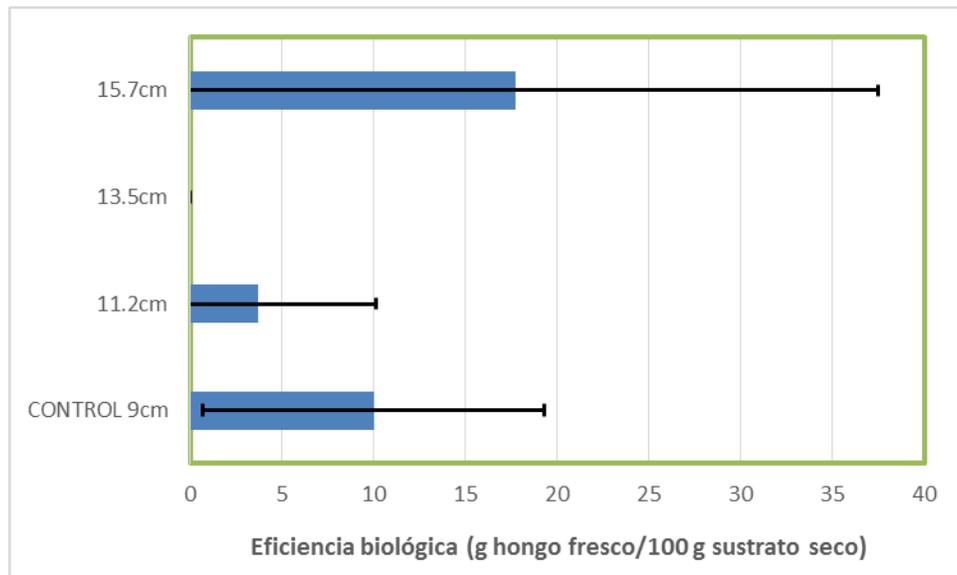


Figura 4.2 Eficiencia biológica de champiñones (g hongo fresco/100 g de sustrato seco) en sustratos de trigo estéril en función del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura).

Se observa en la Figura 4.1 y Tabla 4.2, que el aumento del espesor a 11.2, 13 y 15.7 cm en el sistema de producción (perlita/sustrato/cobertura), no incrementaron la producción de champiñones ya que la producción fue de máximo 2.4 kg/m<sup>2</sup>. Probablemente la temperatura de esterilización de la capa de cobertura mostró un efecto inhibitorio del crecimiento de los primordios porque inclusive el control no presentó producción significativa (0.8 kg/m<sup>2</sup>) aún después de 3 semanas en el área de fructificación. En la Tabla 4.1 y Figura 4.2 se muestran los valores correspondientes de la eficiencia biológica para este experimento, la eficiencia biológica fue de 10% y 0%, respectivamente.

La Figura 4.3 muestra el peso unitario de los champiñones cosechados, las piezas más pequeñas (6 g) se obtuvieron con un espesor de 11.2 cm mientras que los hongos de mayor peso unitario (28.7 g) se obtuvieron con el tratamiento con un mayor espesor, 15.7 cm. Es importante mencionar que se obtuvieron pocas piezas en ambos casos, tanto con el espesor de 15.7 cm como con 11.2 cm.

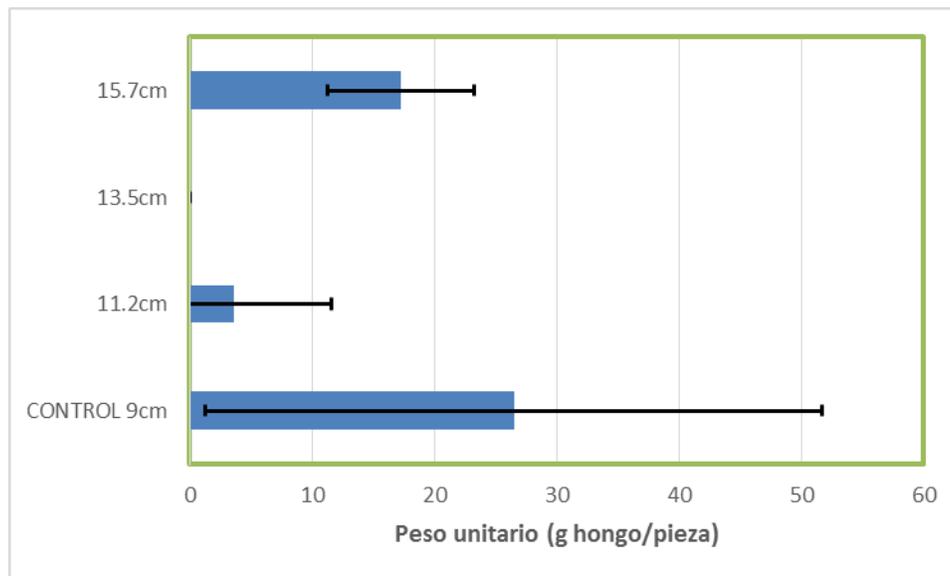


Figura 4.3 Peso unitario (g hongo fresco/ pieza) de champiñones en sustratos de trigo estéril en función del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura).

De acuerdo a la prueba Duncan (Anexo 1) fue posible identificar 2 grupos significativamente diferentes únicamente para el parámetro correspondiente al peso promedio, con el espesor de 15.7 cm se produjeron hongos significativamente más pesados (28.7 g/ pieza) que en el resto de las variables. En este caso de la producción por área (kg/m<sup>2</sup>) y la eficiencia biológica, no se presentaron diferencias significativas entre las variables.

En este experimento, se observó un abundante desarrollo micelial sobre la capa de cobertura (Figura 4.4) que provocó una inhibición del crecimiento reproductivo (fructificación) del champiñón en los tres variables y en el control. El crecimiento excesivo de micelio sobre la cobertura formó una “costra” la cual impidió la absorción y retención de agua en la capa de cobertura, lo cual es vital para la producción de cuerpos fructíferos y finalmente resultó en una disminución casi total en el rendimiento. En resumen, la producción no fue la esperada al incrementar el espesor. En este primer experimento no fue posible evaluar si un mayor espesor conlleva a una mayor producción de champiñones, un peso unitario mayor y una alta eficiencia biológica.



Figura 4.4 Crecimiento micelial excesivo sobre la superficie de la capa de cobertura.

### **4.3. Efecto del tratamiento térmico moderado de la capa de cobertura (80°C/60 minutos) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con diferentes espesores del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura).**

Aumentar el rendimiento es uno de los objetivos de este trabajo. Para aumentar la disponibilidad de nutrientes y por lo tanto posibilitar mayores rendimientos, se decidió evaluar una vez más el aumento del espesor total del sistema de producción a 12.5 y 15 cm. Ya que el crecimiento vegetativo excesivo observado en el experimento inicial podría haber sido resultado del tratamiento térmico excesivo a la capa de cobertura, por esta razón se cambió a 80°C/60 minutos. Para este segundo experimento, adicionalmente a las 2 variables anteriores, se evaluó un aumento el efecto de aumentar solamente el espesor de la capa de cobertura a 4.5 cm, resultando en un espesor total del sistema de producción de 11.5 cm. Con esto se buscó mejorar la formación de primordios y los rendimientos. Se registró la producción de champiñones por contenedor (g/ contenedor) y se calculó el rendimiento en kg/m<sup>2</sup> y la eficiencia biológica (g de champiñones frescos/100 g de sustrato seco) así como el peso unitario del champiñón (g).

Cómo se observa en la Tabla 4.3, los tres espesores evaluados presentaron un rendimiento que es el doble y el triple del control (9 cm), el espesor total de 12.5 cm presentó un rendimiento (9.3 kg/m<sup>2</sup>), superado por el espesor de 15 cm (9.8 kg/m<sup>2</sup>). Se observa que también al aumentar únicamente el espesor de la capa de cobertura (Figura 4.5), también se logró un mayor rendimiento que el control (6.7 kg/m<sup>2</sup>). En este experimento, el rendimiento se incrementó en los tres variables en comparación con los obtenidos en el primer experimento 0.2 kg/m<sup>2</sup> para 11.5 cm y 1.8 kg/m<sup>2</sup> para 15.7 cm. De acuerdo a la prueba Duncan (Anexo 1) fue posible identificar 2 grupos significativamente diferentes para cada uno de los 3 parámetros medidos. En el caso de la producción por área (kg/m<sup>2</sup>) los espesores de 12.5 y 15 cm mostraron rendimientos significativamente mayores. En cuanto a la eficiencia biológica el espesor de 12.5 cm produjo una EB significativamente mayor al resto de los espesores. En el caso del tamaño promedio, el control (10 cm) produjo los hongos con un peso significativamente mayor y el espesor de 12.5 cm se encuentra en un lugar intermedio (Tabla 4.2).

Tabla 4.3. Efecto del tratamiento térmico moderado de la capa de cobertura (80°C/60 minutos) con diferentes espesores del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril.

Espesor sistema de producción		Producción		Eficiencia biológica (g hongo fresco / 100 g sustrato seco)	Tamaño (g hongo/pieza)
		g de hongo fresco / contenedor	kg de hongo fresco / m <sup>2</sup>		
Variable	cm				
<b>Control</b>	10	186.7 ± 102.0	3.9 ± 2.1 <sup>a</sup>	47.8 ± 26.1 <sup>a</sup>	15.9 ± 16.4 <sup>b</sup>
<b>Cobertura (+50%)</b>	11.5	323.3 ± 177.5	6.7 ± 3.7 <sup>ab</sup>	55.8 ± 30.6 <sup>a</sup>	9.0 ± 2.3 <sup>a</sup>
<b>Incremento Global del sistema de producción</b>					
<b>25%</b>	12.5	446.9 ± 83.4	9.3 ± 1.7 <sup>b</sup>	89.9 ± 16.9 <sup>b</sup>	12.0 ± 2.0 <sup>ab</sup>
<b>50%</b>	15	471.6 ± 90.1	9.8 ± 1.9 <sup>b</sup>	80.7 ± 13.7 <sup>ab</sup>	7.2 ± 0.8 <sup>a</sup>

\* Sustratos de trigo estéril con 5% de suplemento, 3 semanas de producción.

Cabe mencionar que en este experimento, se utilizó como suplemento una mezcla Gluten: Salvado, en sustitución del suplemento “Monteblanco”, utilizado en el experimento anterior. El incremento del espesor del sistema de producción de 9 cm a 12.5 y 15 cm y del de la capa de cobertura a 4.5 cm, sin duda alguna generó un incremento en la producción total respecto al primer experimento. Esto fue también favorecido por el uso de un tratamiento térmico de la cobertura menos drástico, 80°C por 60 minutos, y a que el manejo fue más eficiente por la disminución del tiempo de incubación del sustrato. De igual forma, las eficiencias biológicas mayores se obtuvieron al incrementar el espesor total del sistema de producción en un 25% (12.5 cm) y en 50% (15 cm), 89.9% y 80.7% respectivamente. Sin embargo, tampoco es despreciable el incremento en la eficiencia biológica obtenida al aumentar en 50% el espesor de la cobertura, 55.8% (Figura 4.6).

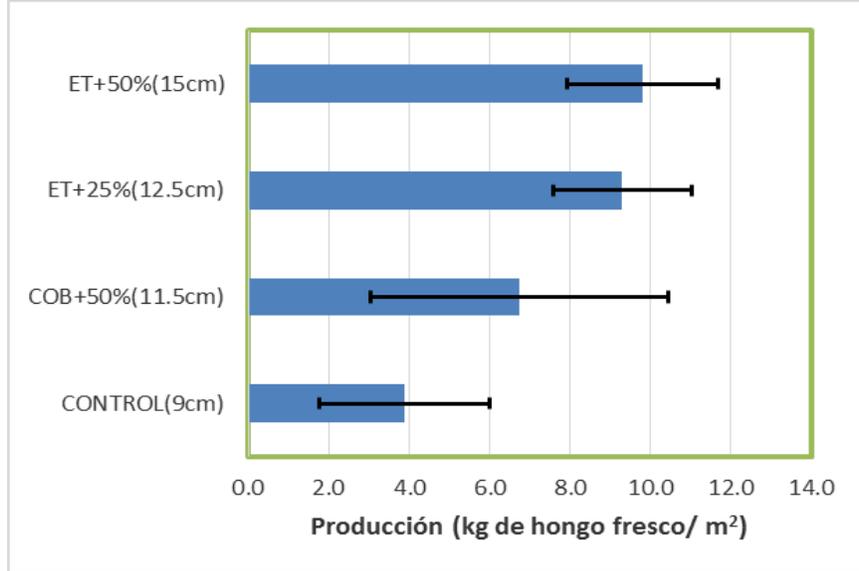


Figura 4.5 Rendimiento de champiñones (kg hongo fresco/m<sup>2</sup>) en sustratos de trigo estéril en función de tratamiento térmico 80°C/60 minutos y del espesor.

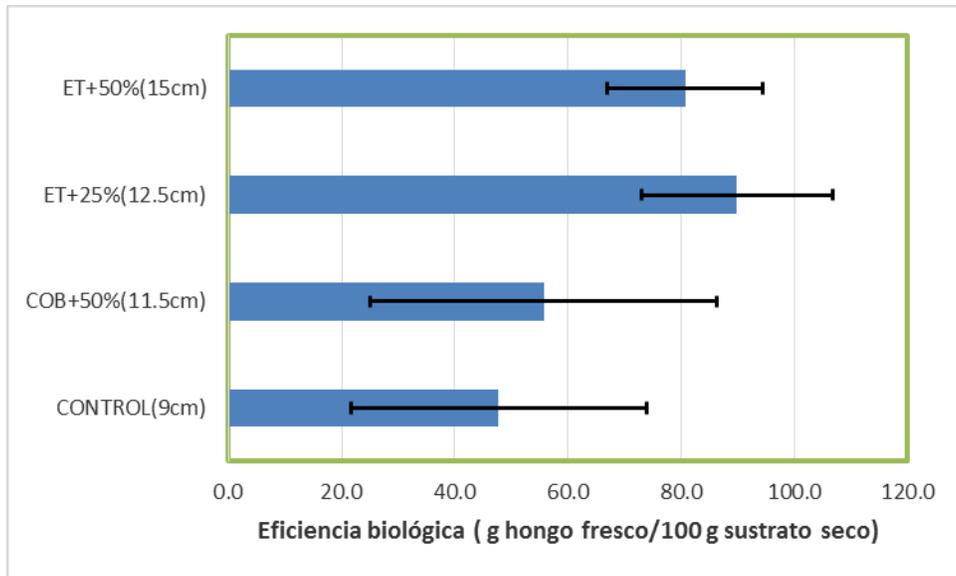


Figura 4.6 Eficiencia biológica de champiñones (g hongo fresco/100 g de sustrato seco) en sustratos de trigo estéril en función de un tratamiento térmico 80°C/60 minutos y del espesor.

Los champiñones con los mayores pesos unitarios se obtuvieron con el espesor de 12.5 cm y 11.5 cm, (12 y 9 g, respectivamente) utilizando la mezcla de Gluten: Salvado como suplemento. Es posible observar que hay una disminución en el peso unitario de las tres variables con respecto al control (Figura 4.7, Tabla 4.3).

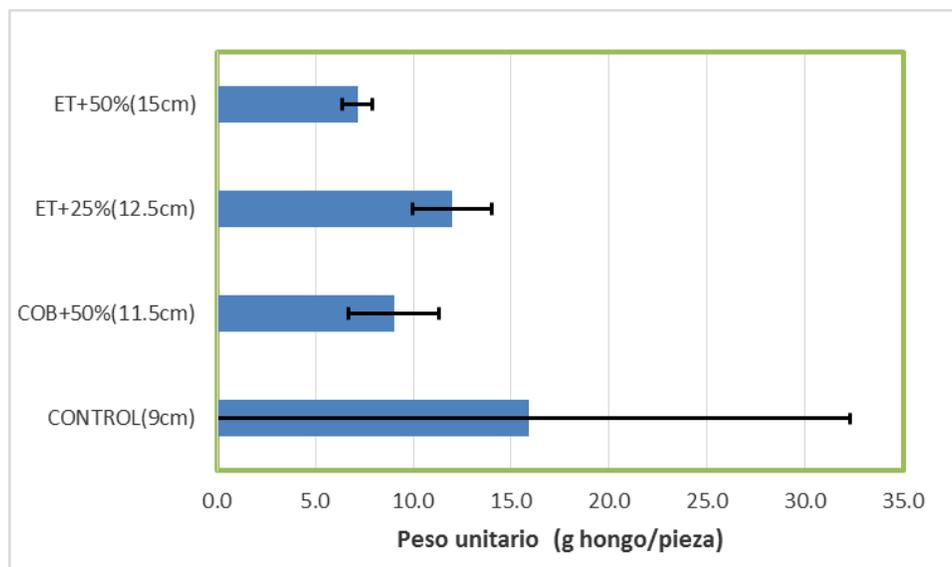


Figura 4.7 Peso unitario (g hongo fresco/ pieza) de champiñones en sustratos de trigo estéril en función de un tratamiento térmico 80°C/60 minutos y del espesor.

La inhibición de la fructificación junto con un excesivo crecimiento micelial sobre la cobertura que se observó en el primer experimento afectó los rendimientos, fue probablemente resultado de la temperatura de esterilización que se usó con la capa de cobertura (120°C/2horas). Otro factor que contribuyó fue el manejo del inóculo de grano ya que con el tiempo de inoculación prolongado, 28 días (Tabla 4.1), se compactó mucho complicándose su manejo no siendo posible lograr una aplicación uniformemente de la capa de sustrato. Lo anterior ocasionó a su vez que la capa de cobertura no se aplicara uniformemente provocando un desarrollo disparejo del micelio que en ciertas zonas fue muy abundante antes de llevar los contenedores al cuarto de fructificación.

Para evitar esta situación, en el segundo experimento se aplicaron las capas de perlita, de semilla y de cobertura, auxiliándose con “llanas” de albañilería para lograr una superficie y espesor uniforme de cada una de las capas. De esta manera se logró que el micelio se desarrollara en la cobertura de una forma más homogénea, emergiendo a la superficie de manera más uniforme. Se logró así que el desarrollo micelial sobre la cobertura fuera poco abundante (Figura 4.8), menos excesivo al observado en el primer experimento favoreciendo un mejor manejo del riego y la ventilación durante la fructificación. El uso de un tratamiento térmico de la cobertura más moderado, a 80°C/60 minutos, influyó seguramente también sobre el aumento observado en los rendimientos. El espesor óptimo del sistema de producción resultó cuando se aumentó al 25% (12.5 cm) ya que además de tenerse una alta producción por m<sup>2</sup> se logró una mejor eficiencia biológica que con un mayor espesor del sistema de producción, 15 cm. Esto demostró que al aumentar el espesor de las capas del sistema de producción, es posible incrementar el aprovechamiento del sustrato (trigo).



Figura 4.8. Crecimiento micelial no abundante, un factor que disminuye la producción.

#### **4.4 Producción en bolsas de plástico de *Agaricus bisporus* en sustrato de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos).**

A partir de los resultados de los dos experimentos previos se observó que el peso unitario disminuye al aumentar del espesor del sistema de producción y además observándose una contracción de las capas de cobertura y de sustrato de trigo traía aparejada una pérdida acentuada de la humedad en los contenedores. Se consideró adecuado evaluar la posibilidad de producir champiñones cambiando el tipo de contenedor por bolsas de polietileno ya que con este tipo de contenedor con paredes flexibles podría evitarse que la capa de cobertura se separará tan marcadamente de las paredes del contenedor evitándose así la acelerada pérdida de humedad del sistema de producción. Adicionalmente, para la producción comercial de champiñones frecuentemente se empacan los sustratos en plástico flexible. Para este experimento se decidió utilizar un tratamiento térmico de la cobertura aún más moderado (80°C por 30 minutos) para observar si de esta manera se obtiene una menor pérdida de humedad ya que con el tratamiento por 60 minutos no se observó problema alguno de contaminación y los rendimientos aumentaron respecto a la cobertura estéril (120°C por 120 minutos). En los experimentos previos, se observó también que con la adición tanto de la mezcla Gluten: Salvado como del suplemento Monteblanco, se obtenían hongos de buen peso unitario y que al aumentar el espesor de la capa de cobertura se logró controlar el abundante desarrollo micelial sobre la misma para evitar problemas durante la fructificación debido a la inhibición de la formación de primordios. Por lo anterior, en este tercer experimento se decidió utilizar el espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y cobertura) con un aumento del 25%, y suplementar el trigo estéril a diferentes niveles con los 2 suplementos ya usados previamente.

La Tabla 4.4 muestra la producción de champiñones en sustratos de trigo estéril usando distintos suplementos y niveles de los mismos no hay diferencia alguna entre el uso de suplemento Gluten: Salvado al 10% (2 kg/m<sup>2</sup>) y al 5% (1.4 kg/m<sup>2</sup>), el uso de suplemento Monteblanco obtuvo el rendimiento más bajo (0.9 kg/m<sup>2</sup>). Sin embargo Gluten: Salvado al 10% obtuvo la producción más alta (2 kg/m<sup>2</sup>). Podemos observar también que el tratamiento térmico

a la cobertura a 80°C, por 30 o 60 minutos de igual forma no mostraron un aumento en la producción (Figura 4.9), es importante mencionar que al usar un tratamiento térmico en la cobertura a 80°C por 60 o 30 minutos no hay diferencia ya que en el experimento anterior se obtuvo 9.3 kg/m<sup>2</sup> y en este 8.8 kg/m<sup>2</sup>. Sin embargo al cambiar el tipo de contenedor a bolsas de plástico observamos que los rendimientos son muy bajos en comparación con el control que se realizó en el charolas (8.8 kg/m<sup>2</sup>).

Tabla 4.4. Producción en bolsas de plástico de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación con coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos)

Contenedor	Suplementación		Producción				Eficiencia biológica (g hongo fresco/100 g sustrato seco)	Tamaño (g hongo/pieza)
	Tipo	Nivel	g de hongo fresco/ contenedor		kg de hongo fresco/ m <sup>2</sup>			
Charolas	G+S	5	423.7 ± 173.9		8.8 ± 3.6 <sup>b</sup>		78.6 ± 32.2 <sup>b</sup>	11.7 ± 3.1 <sup>a</sup>
Bolsas de plástico de polietileno		5	65.6 ± 70.4		1.4 ± 1.5 <sup>a</sup>		27.8 ± 28.9 <sup>a</sup>	9.4 ± 3.9 <sup>a</sup>
		10	95.0 ± 74.5		2.0 ± 1.6 <sup>a</sup>		37.7 ± 24.7 <sup>a</sup>	11.1 ± 2.9 <sup>a</sup>
	MB	5	43.9 ± 67.2		0.9 ± 1.4 <sup>a</sup>		17.6 ± 16.3 <sup>a</sup>	14.8 ± 6.0 <sup>a</sup>

\*Sustratos de trigo estéril. 3 semanas de producción, G+S (Gluten: Salvado), MB (Monteblanco).

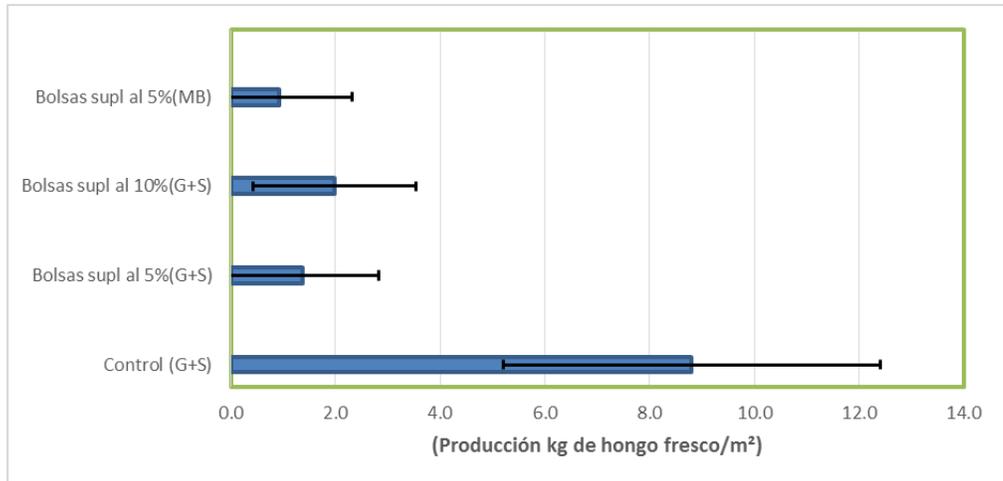


Figura 4.9 Rendimiento de champiñones (kg hongo fresco/m<sup>2</sup>) en sustratos de trigo estéril en función del efecto del suplemento y del tipo de contenedor sobre la producción de *Agaricus bisporus*.

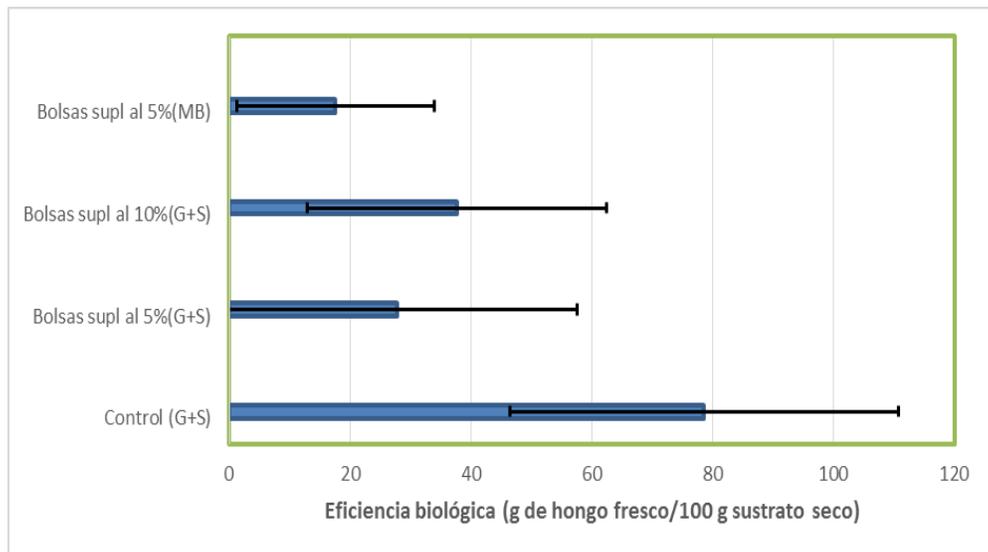


Figura 4.10 Eficiencia biológica de champiñones (g hongo fresco/100 g de sustrato seco) en sustratos de trigo estéril en función del efecto del suplemento y del tipo de contenedor sobre la producción de *Agaricus bisporus*.

Las eficiencias biológicas no fueron las esperadas con el uso de bolsas de polietileno como contenedores, fueron bajas: 37.7 % para con suplemento Gluten: Salvado al 10% y 27.8% al 5% a comparación con el segundo experimento (89.9%) realizado en charolas o con el obtenido con el control de este experimento (78.6 Kg/m<sup>2</sup>). El uso del suplemento Monteblanco obtuvo la eficiencia más baja 17.6% (Figura 4.10).

En relación al peso unitario (Figura 4.11), es notable que al usar el suplemento Monteblanco al 5% se obtuvieron hongos de un alto peso unitario (14.8g), a comparación de los pesos unitarios obtenidos del segundo experimento (12g) en este experimento, suplementados con Gluten: Salvado al 5%. Al suplementar el sustrato con Gluten: Salvado al 10% el peso unitario (11.1g) es comparable al control (11.7g). Sin embargo al suplementar con Gluten: Salvado al 5% el peso unitario fue de 9.4g. La adición de mayores concentraciones de suplementos tampoco incrementó la producción ni la eficiencia biológica, sin embargo se observó que con el suplemento Monteblanco probablemente se incrementa el peso unitario.

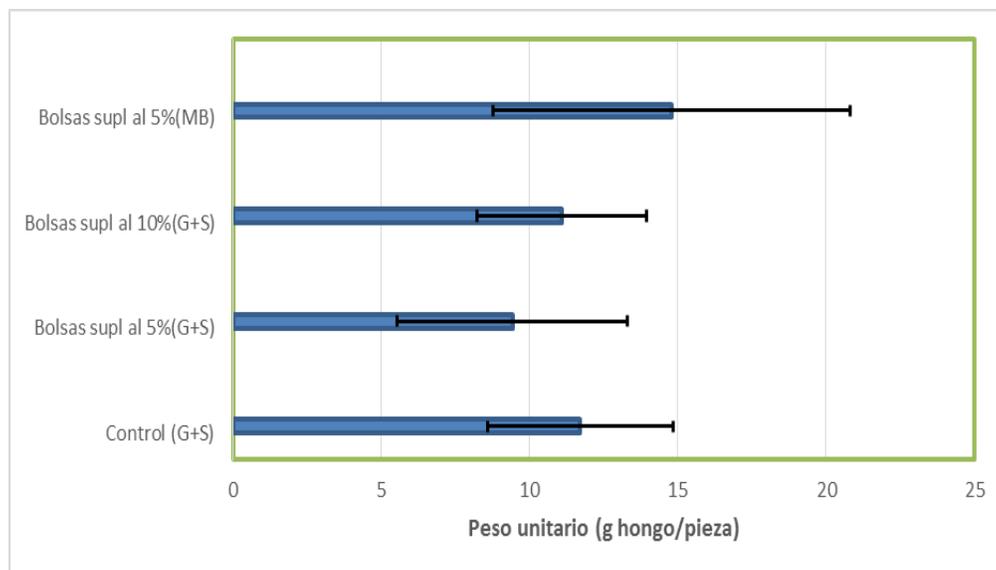


Figura 4.11 Peso unitario (g hongo fresco/ pieza) de champiñones en sustratos de trigo estéril en función del efecto del suplemento y del tipo de contenedor sobre la producción de *Agaricus bisporus*.

De acuerdo a la prueba Duncan (Anexo 1) fue posible identificar 2 grupos significativamente diferentes en 2 de los 3 parámetros reportados, siendo el peso unitario la excepción. Tanto en la producción por área ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) como la eficiencia biológica, los valores registrados con las charolas fueron significativamente superiores a los registrados al usar bolsas de polietileno como contenedor del sustrato. Así, al empacar el sustrato en las bolsas de polietileno como contenedores de producción (Figura 4.12) no se logró incrementar el rendimiento ni la eficiencia biológica o el peso unitario a pesar de que se esperaba que la humedad del sustrato se conservara mejor en este tipo de contenedor permitiendo mejores rendimientos y piezas más hidratadas y con un peso unitario mayor.

La disminución del tiempo del tratamiento térmico de 60 minutos a 30 minutos tampoco fue un factor que hiciera notorio un incremento en la producción, la eficiencia biológica y un peso unitario mayor, aunque estos parámetros fueron comparables con los del segundo experimento y finalmente, tampoco se observó en este experimento un crecimiento micelial sobre la capa de cobertura que afectara la producción de champiñones .

Es probable que la poca experiencia en el manejo de los sustratos en bolsas de plástico fue el factor que influyó mayormente para que la producción de champiñones fuera baja resultando en menores rendimientos ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) y eficiencias biológicas.



Figura 4.12. Bolsa de polietileno utilizada para la producción de champiñón.

## 5. DISCUSIÓN

Como es conocido el crecimiento micelial y la producción de *Agaricus bisporus* depende de diferentes factores tales como la temperatura, los niveles de oxígeno y CO<sub>2</sub>, la humedad y sobretodo la disponibilidad de nutrientes (Vedder, 1978, Stammets y Chilton, 1983). En los tres experimentos realizados se varió la disponibilidad de nutrientes a través de aumentar el espesor de las diferentes capas del sistema de producción (perlita, sustrato y cobertura) evaluando como parámetros el rendimiento (kg/m<sup>2</sup>), la eficiencia biológica y el peso unitario promedio.

- En el primer experimento se incrementó el espesor del sistema de producción (perlita, sustrato de trigo, cobertura) a 11.2, 13.5 y 15.7 cm, con un tratamiento térmico sobre la cobertura de 120°C por 120 minutos.
- En el segundo experimento se incrementó el espesor del sistema de producción a 12.5 y 15 cm además de aumentar solamente el espesor de la cobertura de 3 cm a 4.5 cm. El tratamiento térmico sobre la cobertura fue 80°C por 60 minutos.
- En el tercer experimento se añadieron suplementos a diferentes niveles de suplementos y se empleó un tratamiento térmico de la cobertura más moderado (80°C/30 minutos) y adicionalmente se evaluó un nuevo tipo de contenedor (bolsas de polietileno).

En el primer experimento se observó un abundante desarrollo micelial sobre la capa de cobertura (Figura 4.4) que provocó una inhibición del crecimiento reproductivo (fructificación) del champiñón en las tres variables y en el control. El crecimiento excesivo de micelio sobre la cobertura formó una “costra”, conocida como “estroma” la cual impidió la absorción y retención de agua en la capa de cobertura, factor vital para la producción de cuerpos fructíferos lo que finalmente resultó en una caída casi total en el rendimiento y la producción no fue la esperada al incrementar el espesor. Flegg describió ya en 1985 que el agua para la formación de los champiñones es obtenida directamente de la cobertura y que por lo tanto es un factor que influye sobre el crecimiento, tanto en la formación de micelio en el sustrato pero aún más sobre la formación de los cuerpos fructíferos, los champiñones. Un incremento en la cantidad de agua que puede aplicarse y ser absorbida por la capa de cobertura y que posteriormente puede ser

absorbida por los champiñones en formación está directamente correlacionada con el rendimiento de champiñones (Vedder, 1978).

En este primer experimento no fue posible evaluar si un mayor espesor conlleva a una mayor producción de champiñones, un peso unitario mayor y una alta eficiencia biológica ya que las producciones obtenidas fueron muy bajas (la máxima producción fue 1.8 kg/m<sup>2</sup> con 15.7 cm del sistema de producción) si se les compara con los valores de los estudios de (Bechara,2006) de 8.7 kg/m<sup>2</sup> con un espesor de 9 cm en su sistema de producción. Una probable causa de esta situación es que la temperatura de esterilización a la que se sometió la capa de cobertura (120°C/120 minutos) resultó en un efecto inhibitorio del crecimiento de los primordios porque inclusive el control con el mismo tratamiento térmico no presentó producción significativa (0.8 kg/m<sup>2</sup>) aún después de 3 semanas. En la producción comercial de champiñones (Vedder, 1978) la tierra de cobertura es sometida a una operación de desinfección para destruir los organismos nocivos para el cultivo, mohos e insectos principalmente, pero debe al mismo tiempo conservarse viables ciertos microorganismos presentes en el material de cobertura que son indispensables para una buena producción. La cobertura, por consiguiente, no debe esterilizarse por completo, puesto que, si se esteriliza del todo, la simple presencia de algunos parásitos podría dar lugar a una multiplicación masiva, al no existir en el material de cobertura ningún microorganismo competidor que frene su desarrollo (Steineck, 1987).

En el segundo experimento se evaluó tanto el incremento del espesor del sistema de producción de 10 cm a 12.5 y 15 cm y de solo la capa de cobertura a 4.5 cm. En este caso si se observó incremento en la producción total respecto al primer experimento. Se obtuvieron producciones de 9.3 y 9.8 kg/m<sup>2</sup> para un espesor del sistema de producción de 12.5 y 15 cm y de 6.7 kg/m<sup>2</sup> al usar una capa de cobertura de 4.5 cm, rendimientos que son mayores a los obtenidos por (Bechara,2006) de 8.7 kg/m<sup>2</sup> con un espesor del sistema de producción de 9 cm. El aumento en la producción fue probablemente favorecido por el uso de un tratamiento térmico de la cobertura menos drástico, 80°C por 60 minutos, ya que como menciona (Steineck ,1987), la capa de cobertura no debe esterilizarse por completo, puesto que al ser esterilizada, la simple presencia de algunos organismos patógenos podría dar lugar a una multiplicación masiva, al no existir en la tierra ningún microorganismo competidor que frene su desarrollo. Las eficiencias biológicas fueron de 89.9 y 80.7% para el espesor de 12.5 cm y 15 cm, respectivamente, que

en comparación con las reportadas por (Bechara,2006) presentan un incremento del 25% (12.5 cm) y 50% (15 cm). Sin embargo, tampoco es despreciable el incremento de 55.8% en la eficiencia biológica que se obtuvo al aumentar en 50% el espesor de solamente la cobertura (Figura 4.6).

La función de la capa de cobertura en la fructificación del champiñón ha sido ampliamente debatida. Primero y ante todo, la cobertura representa un soporte físico para la formación de los champiñones pero también es una reserva de agua indispensable para su formación además de que protege al sustrato de la desecación (Flegg, 1985). Deben usarse por lo tanto materiales que proveen estas condiciones para contar con una adecuada cobertura. Una hipótesis sugiere que los microorganismos dentro de la cobertura, específicamente la bacteria *Pseudomonas* spp., son responsables de la fructificación por lo que la esterilización de la cobertura inhibe o retarda la formación de champiñones (Cresswell y Hayes, 1979; Eger, 1972; Hayes et al., 1969). El espesor de la capa de cobertura es fundamental para una alta producción y en el sistema tradicional de producción sobre sustratos composteados, se recomienda utilizar un espesor de al menos 4 cm de cobertura y si se agrega un suplemento a la composta, se recomienda aumentar el grosor de la capa de cobertura hasta 5cm (Steineck, 1987). Todavía queda por definirse el espesor adecuado de la capa de cobertura cuando se usan sustratos no composteados elaborados con trigo. De hecho este tipo de sustratos fueron desarrollados por Sinden en 1932 para la propagación vegetativa de *Agaricus bisporus* como un medio para la producción de inóculos para los sustratos composteados, quedando establecido desde entonces como un procedimiento rutinario para la producción de inóculos. Se utilizan granos de trigo o de otros cereales, mijo principalmente, que primero son cocinados para hidratarles y gelatinizar el almidón, después de lo cual, los granos cocidos se envasan en algún tipo de recipiente termoresistente y se esterilizan, después de lo cual son inoculados con un cultivo puro de *Agaricus bisporus*. Entonces, este tipo de sustratos son una fuente concentrada de nutrientes de donde se pueden formar importantes cantidades de champiñones y al aumentar el espesor de la capa de sustrato de grano de trigo, se requiere también aumentar el espesor tanto de la capa de perlita como de la capa de cobertura para que el potencial productivo del sustrato pueda expresarse.

En este segundo experimento el manejo de las distintas condiciones del cultivo fue más eficiente. Esto se reflejó en una primera instancia en la disminución de 28 a 14 días en el tiempo de incubación del sustrato. Lo anterior fue posible en buena medida a que, en esta ocasión, las distintas capas del sistema de producción se distribuyeron muy homogéneamente, lo cual se realizó con la ayuda de una llana (pequeña placa metálica que se usa en albañilería). Efectivamente, ya es sabido que para lograr un adecuado y uniforme crecimiento micelial en la cobertura y un posterior desarrollo exitoso de los cuerpos fructíferos, es indispensable que la capa de cobertura tenga el mismo espesor en toda su extensión del sustrato. (Vedder, 1978). Otra mejora que incrementó la producción en este segundo experimento fue un riego más adecuado desde el principio de la etapa de inducción, en el primer experimento fue realmente deficiente y escaso, que aunado al mal rascado que se hizo de la capa de cobertura cuando se asomaban los primeros filamentos provocó una interrupción del crecimiento micelial. En este caso, la capa de cobertura se saturó con agua desde un principio, con lo cual se evita que posteriormente se tengan que aplicar riegos intensos que afectan el crecimiento micelial y dificultan el intercambio de gases. En este caso, cuando el crecimiento del micelio se interrumpe demasiado tarde, los cuerpos fructíferos tienden a formarse en zonas profundas de la cobertura, con la posibilidad de mancharse más fácilmente y de una disminución de su valor económico. Por eso es que se debe esperar a que los primordios alcancen el tamaño de un chícharo para que se pueda volver a regar intensamente (Vedder, 1978).

En el tercer experimento, con el uso de bolsas de polietileno como contenedor se pretendía disminuir las pérdidas de humedad de la cobertura y del sustrato para mejorar la producción de champiñones y eventualmente aumentar su peso unitario. No obstante. Como se observa en la Figura 4.12, tanto los rendimientos como la eficiencia biológica y el peso unitario fueron menores que con los contenedores utilizados previamente. Es recomendable sin embargo, seguir explorando las modificaciones que sean necesarias para poder utilizar contenedores más económicos y las bolsas de polietileno representa una buena opción. Es probable que se simplemente se requiera acumular experiencia en el manejo del sustrato en las bolsas de polietileno para lograr un mayor control de la producción de champiñones.

Finalmente, en este tercer experimento al disminuir el tiempo del tratamiento térmico de 60 a 30 minutos, se obtuvieron valores similares tanto en el rendimiento como la eficiencia biológica y el peso unitario, lo que representa una simplificación en el proceso y sus costos.

## 6. CONCLUSIONES.

Se demostró la factibilidad de producir champiñones (*Agaricus bisporus*) en sustratos no composteados con sustrato de grano estéril (trigo) obteniéndose buenos resultados al mejorar el manejo del sustrato.

Al incrementar el espesor del sistema de producción (perlita, sustrato de trigo y capa de cobertura) y al disminuir la severidad del tratamiento térmico de la capa de cobertura, de una esterilización a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/60 minutos) se lograron altos rendimientos de 9.3 y 9.8 kg/m<sup>2</sup> para un espesor del sistema de producción de 12.5 y 15 cm, así como altas eficiencias biológicas, 89.9% y 80.7%, respectivamente.

Al incrementar únicamente el espesor de la capa de cobertura, de 3 a 4.5 cm, se logra un rendimiento mayor al control (6.7 kg/m<sup>2</sup>). Esto indica que incrementando solamente la capa de cobertura, el rendimiento es alto y podría significar una disminución de costos.

Con el uso de bolsas de polietileno como contenedor, el rendimiento por área, la eficiencia biológica y el peso unitario disminuyeron marcadamente que cuando se utilizaron charolas. Con las bolsas de plástico se pretendía evitar las pérdidas de humedad del sustrato y por lo tanto, lograr mayores producciones. Es probable que simplemente se requiera acumular experiencia en el manejo del sustrato en las bolsas de polietileno para lograr un mayor control de la producción de champiñones.

Al disminuir el tiempo del tratamiento térmico de la capa de cobertura, de 60 a 30 minutos, se obtuvieron valores similares tanto en el rendimiento como la eficiencia biológica y el peso unitario, lo que significa que es posible utilizar 30 minutos con la consecuente simplificación en el proceso y sus costos.

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

## 7. RECOMENDACIONES.

Los resultados obtenidos con los experimentos realizados en este trabajo han mostrado que es viable la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril y da apertura a opciones de futuros trabajos. Una consistiría en seguir explorando las modificaciones que sean necesarias para poder utilizar contenedores más económicos y las bolsas de polietileno representan una buena opción. Es probable que simplemente se requiera acumular experiencia en el manejo del sustrato en las bolsas de polietileno para lograr un mayor control de la producción de champiñones.

También sería importante el evaluar incrementos mayores de 15 cm en el sistema de producción ya que los rendimientos obtenidos hasta el momento distan de los que regularmente se producen en las instalaciones comerciales con sustratos composteados, alrededor de 35 kg/m<sup>2</sup>.

Asimismo se recomendaría buscar otro grano más barato que el trigo para la producción de los sustratos, evaluando los rendimientos obtenidos, para optimizar costos y rendimientos.

Otro factor que sería interesante evaluar es una mayor disminución del tratamiento térmico al material de cobertura. Si bien los tratamientos a 80°C por 30 o 60 minutos resultaron eficaces, sería interesante evaluar tratamientos aún más “moderados”, disminuir aún más las temperaturas y tiempos más cortos, sin dejar de considerar la posibilidad de optimizar las condiciones para poder producir champiñones en coberturas sin tratamiento térmico. Del mismo modo el manejo de la capa de cobertura es crítico, debe evitarse el sobrecrecimiento del micelio, y optimizar el manejo del riego, ambos factores fundamentales para una buena fructificación.

Un factor que puede también jugar un papel importante y que se exploró poco en este trabajo es la suplementación. Probar otros tipos de suplementos y mayores niveles es una de tantas posibilidades. Debe tomarse en cuenta que al aumentar la disponibilidad de nutrientes por cualquiera de estos enfoques, un correcto y preciso control del medio ambiente (temperatura, ventilación) es fundamental.

Finalmente, para este nuevo sistema de producción de champiñones, se deben también considerar diseños de las naves de cultivo, tanto para la etapa de incubación como la de

producción ya que los diseños y arreglos existentes son adecuados para producir en sustratos composteados. Este es un factor que puede ser clave para que este nuevo sistema de producción sea rentable hablando de la cantidad de grano a emplear si se hiciera a una escala mayor, como lo es la industrial.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bechara, M. A., P. H. Heinemann, P. N. Walker, C. P. Romaine, and C. W. Heuser. 2004. Novel methods of cultivating *Agaricus bisporus*. ASAE Paper No. 047001.
- Bechara, M.A. 2004. Novel Methods for producing *Agaricus bisporus*. Master Thesis, University Park, Pennsylvania, The Pennsylvania State University, Department of Agricultural and Biological Engineering.
- Bechara, M. A., P. H. Heinemann, P. N. Walker, and C. P. Romaine. 2005. *Agaricus bisporus* grain spawn substrate with S41 and S44 nutrient supplements. ASAEpaper No. 057008
- Bechara, M., 2006a. Evaluating Non-composted Grain Substrates for the Production of *Agaricus bisporus* and *Agaricus blazei* Mushrooms. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 067089.
- Bechara, M., 2006b. Non-composted Grain-Based substrates for Mushroom Production (*Agaricus bisporus*). American Society of Agricultural and Biological Engineers, 49 (3), 819-824.
- Bechara, M., 2007. Alternative mushroom production systems using non composted grain-based substrates thesis in Agricultural and Biological Engineering. The Pennsylvania State University
- Bechara, M., 2009. Evaluating the addition of activated carbon to heat-treated mushroom casing for grain-based and compost-based substrates. Bioresource Technology, 100, 4441-4446.
- Carroll, A. D., and L. C. Schisler. 1976. Delayed-release nutrient supplement for mushroom culture. Appl. Environ. Microbiol. 31(4): 499-503.
- Chikthimmah, N., R. Beelman, and L. LaBorde 2006. Sphagnum peat-based casing soils do not permit the survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella sp.* Mush. News 54(9): 6-13.
- Cresswell, P. A., Hayes, W. A., 1979. Further investigation on the bacterial ecology of the casing layer. Mush. Sci. 10(1): 347-359.

- Eger, G. 1961. Untersuchungen über die function der deckschicht bei der Fruchtkörperbildung des kulturchampignons, *Psalliota bispora* Lange. Arch. Mikrobiol. 39: 313-334.
- Eger, G. 1972. Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *Agaricus bisporus*. Mush. Sci. 8: 719-726.
- Flegg, P. B. 1985. Crop productivity. In The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom, 179-193. Hoboken, N.J.: John Wiley and Sons.
- Fletcher, J.T, White, P. F. and Gaze, R. H. Mushrooms: Pest and disease control. Ed. Intercept Limited, 1989. Andover Hants, England. Page: 160.
- Fritsche, G. 1988. Spawn: Properties and preparation. In: The Cultivation of Mushroom 91-99 L.J.L.D. van Griensven ed. Sussex, The United Kingdom: Darlington Mushroom Laboratories.
- Gerrits, J. P. G. 1972. The influence of water in mushroom compost. Mush. Sci. 8: 43-57.
- Hall, D. A., G. M. Hitchon, and R. A. K. Szmidt. 1988. Perlite culture a new development in hydroponics. In Pro. 7th International Congress on Soilless Culture 5: 177-183.
- Hayes, W. A., P. E. Randle, and F. T. Last. 1969. The nature of the microbial stimulus affecting sporophore stimulation in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Ann. Appl. Biol. 64, 177-187.
- Hayes, W. A., 1981. Interrelated studies of physical, chemical and biological factors in casing soils and relationships with productivity in commercial culture of *Agaricus bisporus* Lange (Pilát). Mush. Sci. 11: 103-129.
- Huhnke, W., and R. Von Sengbush. 1968. Mushroom cultivation on non-composted nutritive substrates. Mush. Sci. 7: 405-409.
- Long, P. E. and L. Jacobs. 1974. Aseptic fruiting of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Transactions of the British Mycological Society 63: 99-107.
- Mamiro, D. P., D. J. Royle and R. B. Beelman. 2007. Yield, size and mushroom solids content of *Agaricus bisporus* produced on non-composted and spent mushroom compost. World J. Microbiology Biotechnology.

- Peerally, A. 1978. Sporophore initiation in *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitroquis* in relation to bacteria and activated charcoal. *Mush. Sci.* 10(1): 611-639.
- Royse, D. J., and C. P. Romaine. 2002. The effect of fungicides for control of *Trichoderma* a green mold on mushrooms. *F&N Tests* 58.
- San Antonio, J. P. 1971. A laboratory method to obtain fruit from cased grain spawn of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 63: 17-22.
- San Antonio, J. P. 1975. Commercial and small-scale cultivation of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Hort. Sci.* 5: 451-458.
- Sanchez, J. E., and D. J. Royse. 2001. Adapting substrate formulas used for *shiitake* for production of brown *Agaricus bisporus*. *Biores. Technol.* 77: 65-69.
- Sanchez, J. E., D.J. Royse y Leal L. H. 2007. Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de *Agaricus bisporus*. *Ecosur*. Págs 57-62.
- Sanchez, J. E., L. Mejia, and D. J. Royse. 2007. Pangola grass colonized with *Scytalidium thermophilum* for production of *A. bisporus*. *Biores. Technol.*
- Schisler L. C., 1957. A physiological investigation of sporophore initiation in the cultivated mushroom, *Agaricus campestris* L. ex Fr. PhD diss. University Park, PA: The Pennsylvania State University, Department of Plant Pathology.
- Schisler, L. C. 1982. Biochemical and mycological aspects of mushroom composting. In *Penn State Handbook for Commercial Mushroom Growers*, 3-10. State College, PA.: Penn State.
- Schisler, L. C. and Wuest, P. 1982. Selecting, manipulating and treating mushroom casing.
- Sinden, J. W. and Schisler, L. C. 1962. Nutrient supplementation of mushroom compost at spawning. *Mush. Sci.* 5: 223-236
- Till, O. 1962. Champignonkultur auf sterilisiertem Nahsubstrat und die wiederverwendung von abgetragendem Compost. *Mush. Sci.* 5: 127-133.
- Vedder, P.J. C. Cultivo moderno del champiñón. Ediciones Mundi-Prensa 1991, Madrid, España. Págs. 234-255.

## ANEXO 1

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

**Efecto del espesor del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con coberturas esterilizadas (120°C/120minutos).**

Tabla 1.1 Análisis de varianza para identificar diferencia en la producción kg/m<sup>2</sup>, eficiencia biológica y tamaño (g hongo/pieza) acumulada en las tres semanas de cosecha con un incremento 11.2, 13.5 y 15.7 cm.

#### ANOVA

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
producción (kg/m <sup>2</sup> )	Entre grupos	12.217	3	4.072	2.019	.190
	Dentro de grupos	16.133	8	2.017		
	Total	28.349	11			
eficiencia biológica(g hongo fresco/100 g sustrato)	Entre grupos	638.632	3	212.877	1.976	.196
	Dentro de grupos	861.835	8	107.729		
	Total	1500.467	11			
tamaño(g hongo/pieza)	Entre grupos	1681.122	3	560.374	15.725	.001
	Dentro de grupos	285.085	8	35.636		
	Total	1966.207	11			

Como resultado de la prueba Duncan se muestra que arroja dos grupos. Para la interpretación se le asigna una letra diferente a cada grupo (a y b) en este caso solo hay un subconjunto.

Tabla 1.2 Prueba Duncan producción kg/m<sup>2</sup> incremento del espesor a 11.2, 13.5 y 15.7 cm.

<b>Producción (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
			Subconjunto
	Espesor (cm)	N	1
Duncan <sup>a,b</sup>	13.5cm	3	.000
	control 9cm	3	.000
	11.2cm	3	.373
	15.7cm	3	2.428
	Sig.		.085

Tabla 1.3 Prueba Duncan eficiencia biológica (g hongo fresco/100 g sustrato) incremento del espesor a 11.2, 13.5 y 15.7 cm.

<b>Eficiencia biológica(g hongo fresco/100 g sustrato)</b>			
			Subconjunto
	Espesor (cm)	N	1
Duncan <sup>a,b</sup>	13.5cm	3	.000
	control 9cm	3	.000
	11.2cm	3	3.700
	15.7cm	3	17.716
	Sig.		.085

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) = 107.729.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = 0.05.

Tabla 1.4 Prueba Duncan tamaño (g hongo/pieza) incremento del espesor a 11.2, 13.5 y 15.7 cm.

Tamaño promedio(g hongo/pieza)				
	Espesor (cm)	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	13.5cm	3	.000	
	control 9cm	3	.000	
	11.2cm	3	5.967	
	15.7cm	3		28.738
	Sig.		.274	1.000

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

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 35.636.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = 0.05.

**Efecto del tratamiento térmico moderado de la capa de cobertura (80°C/60 minutos) sobre la producción de *Agaricus bisporus* en sustratos de trigo estéril con diferentes espesores del sistema de producción (perlita, sustrato y capa de cobertura).**

Tabla 1.5 Análisis de varianza para identificar diferencia en la producción kg/m<sup>2</sup>, eficiencia biológica y tamaño (g hongo/pieza) acumulada en las tres semanas de cosecha con un incremento de 11.5, 12.5 y 15 cm.

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
producción (kg/m <sup>2</sup> )	Entre grupos	111.465	3	37.155	6.009	.006
	Dentro de grupos	98.929	16	6.183		
	Total	210.394	19			
eficiencia biológica(g hongo fresco/100 g sustrato)	Entre grupos	5866.379	3	1955.460	3.668	.035
	Dentro de grupos	8529.110	16	533.069		
	Total	14395.489	19			
tamaño(g hongo/pieza)	Entre grupos	215.599	3	71.866	3.977	.027
	Dentro de grupos	289.113	16	18.070		
	Total	504.712	19			

Tabla 1.6 Prueba Duncan producción kg/m<sup>2</sup> incremento del espesor a 11.5, 12.5 y 15 cm.

Producción (kg/m <sup>2</sup> )				
	Espesor (cm)	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	control 10cm	5	3.889	
	11.5cm	5	6.735	6.735
	12.5cm	5		9.310
	15cm	5		9.826
	Sig.		.089	.080

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) = 6.183.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

b. Alfa = 0.05.

Tabla 1.7 Prueba Duncan eficiencia biológica incremento del espesor a 11.5, 12.5 y 15 cm.

<b>Eficiencia biológica(g hongo fresco/100g sustrato)</b>				
	Espesor (cm)	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	control 10cm	5	47.751	
	11.5cm	5	55.764	
	15cm	5	79.640	79.640
	12.5cm	5		89.870
	Sig.		.054	.494

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) = 533.069.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

b. Alfa = 0.05.

Tabla 1.8 Prueba Duncan tamaño (g hongo/pieza) incremento del espesor a 11.5, 12.5 y 15 cm.

<b>Tamaño(g hongo/pieza)</b>				
	Espesor (cm)	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	15cm	5	7.158	
	11.5cm	5	9.022	
	12.5cm	5	11.988	11.988
	control 10cm	5		15.845
	Sig.		.107	.171

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) = 18.070.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

b. Alfa = 0.05.

**Producción en bolsas de plástico de *Agaricus bisporus* en sustrato de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos).**

Tabla 1.9 Análisis de varianza para identificar diferencia en la producción kg/m<sup>2</sup>, eficiencia biológica y tamaño (g hongo/pieza) acumulada en las tres semanas de cosecha en bolsas de plástico.

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
producción (kg/m <sup>2</sup> )	Entre grupos	107.103	3	35.701	10.132	.004
	Dentro de grupos	28.187	8	3.523		
	Total	135.290	11			
eficiencia biológica(g hongo fresco/100 g sustrato)	Entre grupos	4113.923	3	1371.308	2.984	.096
	Dentro de grupos	3676.460	8	459.557		
	Total	7790.382	11			
tamaño(g hongo/pieza)	Entre grupos	44.507	3	14.836	.867	.497
	Dentro de grupos	136.963	8	17.120		
	Total	181.470	11			

Tabla 1.10 Prueba Duncan producción kg/m<sup>2</sup> en bolsas de plástico de *Agaricus bisporus* en sustrato de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos).

Producción (kg/m <sup>2</sup> )		N	Subconjunto	
	tipo de contenedor		1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	bolsa sup al 5% (MB)	3	1.525	
	bolsa sup al 5%	3	2.159	
	bolsa sup al 10%	3	2.811	
	80°C/30min © charola	3		8.984
	Sig.		.444	1.000

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

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 3.523.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.

Tabla 1.11 Prueba Duncan eficiencia biológica en bolsas de plástico de *Agaricus bisporus* en sustrato de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos).

Eficiencia biológica(g hongo fresco/100 g sustrato)				
	tipo de contenedor	N	Subconjunto	
			1	2
Duncan <sup>a,b</sup>	bolsa sup al 5% (MB)	3	29.275	
	bolsa sup al 5%	3	43.871	43.871
	bolsa sup al 10%	3	53.711	53.711
	80°C/30min © charola	3		80.039
	Sig.		.217	.083

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) = 459.557.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.

Tabla 1.12 Prueba Duncan tamaño (g hongo/pieza) en bolsas de plástico de *Agaricus bisporus* en sustrato de trigo estéril con diferentes tipos y niveles de suplementación y coberturas sometidas a un tratamiento térmico “moderado” (80°C/30 minutos).

tamaño(g hongo/pieza)			
	tipo de contenedor	N	Subconjunto
			1
Duncan <sup>a,b</sup>	bolsa sup al 5%	3	10.052
	80°C/30min © charola	3	10.101
	bolsa sup al 10%	3	11.844
	bolsa sup al 5% (MB)	3	14.789
	Sig.		.223

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) = 17.120.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.