



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN Y TAMAÑO DE SUSTRATO
SOBRE LA PRODUCCIÓN DEL HONGO *Pleurotus eryngii*.
COMPARACIÓN CON UN PROCESO COMERCIAL.**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

ALEJANDRA DE LA TORRE ORTIZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. HERMILO LEAL LARA



Ciudad Universitaria, CD. MX., 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor Hermilo Leal Lara**
VOCAL: **Profesor Aurora Irma Ortegón Ávila**
SECRETARIO: **Profesor Norma Angélica Castellanos Chávez**
1er. SUPLENTE: **Profesor Oscar Hernández Meléndez**
2° SUPLENTE: **Profesor Genaro Jiménez Reyes**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

UNAM, FACULTAD DE QUÍMICA, CONJUNTO "E",
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA, LABORATORIO 324

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Hermilo Leal Lara

SUSTENTANTE:

Alejandra De La Torre Ortiz

ÍNDICE.

TEMA	PÁGINA
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.	2
2. ANTECEDENTES.	4
2.1 EL REINO FUNGI Y SU CLASIFICACIÓN.	4
2.2 MORFOLOGIA Y CRECIMIENTO DE LOS HONGOS.	8
2.3 NUTRICIÓN.	10
2.4 CARACTERÍSTICAS Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO DE <i>Pleurotus eryngii</i>	11
2.5 HONGOS COMESTIBLES.	14
2.6 PRODUCCIÓN DE HONGOS A NIVEL MUNDIAL.	16
2.6.1 PRODUCCIÓN DE <i>Pleurotus eryngii</i>	18
3. JUSTIFICACIÓN.	20
4. OBJETIVOS.	20
5. HIPÓTESIS.	21
6. MATERIALES Y MÉTODOS.	22
6.1 MATERIAL BIOLÓGICO.	22
6.2 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PURIFICACIÓN DE LA CEPA.	22
6.3 RESIEMBRA DE LA CEPA.	22
6.4 PREPARACIÓN DEL INOCULO DE GRANO.	23
6.5 PREPARACIÓN DEL SUSTRATO.	23
6.6 INCUBACIÓN DEL SUSTRATO.	24
6.7 INDUCCIÓN A LA FRUCTIFICACIÓN Y COSECHA DE HONGOS FRESCOS.	25
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	27
7.1 EXPERIMENTO 1.	27
7.2 EXPERIMENTO 2.	34
8. CONCLUSIONES.	51
9. RECOMENDACIONES.	52
10. BIBLIOGRAFÍA.	53

ANEXO 1. RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO AL EVALUAR LAS EFICIENCIAS BIOLÓGICAS DE LOS TRATAMIENTOS REALIZADOS EN EL EXPERIMENTO 1.	55
ANEXO 2. RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO AL EVALUAR LAS EFICIENCIAS BIOLÓGICAS DE LOS TRATAMIENTOS REALIZADOS EN EL EXPERIMENTO 2.	56

RESUMEN

El cultivo de hongos en México ha ido creciendo con el tiempo llegando a producir hasta 40,000 ton/ año de hongos, principalmente champiñón, *Agaricus bisporus*. El cultivo de *Pleurotus eryngii*, sin embargo, es una práctica reciente en el país y no es altamente eficiente por lo que su precio es elevado en comparación con otro tipo de hongos (Champiñón, Shiitake, *Pleurotus*). En este estudio se logró aumentar la Eficiencia Biológica (EB) del cultivo de *Pleurotus eryngii*, modificando el tiempo de incubación que se evaluó desde 5 a 9 semanas; y el tamaño del sustrato comparando entre 1 kg y 3 kg, variables que son de suma importancia para la obtención de grandes productividades de hongo fresco, todo ello utilizando la tecnología de cultivo realizada en el laboratorio 324 del conjunto E de la Facultad de Química, así como la cepa aislada en este mismo lugar. Estos experimentos arrojaron como resultado que con sustratos de 3 kg de tamaño con 7 semanas de incubación se obtiene un máximo rendimiento significativo que expresado en Eficiencia Biológica fue de $183.0 \pm 12.4 \%$. Se comparó asimismo la productividad de una cepa comercial (MONTEBLANCO) con la de la Facultad de Química, así como el proceso de cultivo utilizado en ambas instalaciones, reduciendo un 35% el costo del hongo que se ofrece a la venta en anaquel cuando se utiliza la tecnología de cultivo aplicada en la Facultad de Química, así como la cepa de *Pleurotus eryngii* de esta misma institución.

1. INTRODUCCIÓN.

La producción de *Pleurotus eryngii* conocido como "king oyster" e introducido al mercado nacional como "trompeta real" ha crecido en popularidad en ciertas regiones de los Estados Unidos, como un producto "gourmet". En México hace algunos años se estuvo introduciendo este hongo y en la actualidad se encuentra vendiéndose en los supermercados (Superama y Wall-Mart) a un precio promedio de \$625.00 /kg, lo que lo hace un producto caro y poco accesible para los consumidores. Un incremento en los rendimientos resultaría en una mayor rentabilidad del proceso y eventualmente ayudaría a disminuir los costos de producción y el precio de venta, lo cual permitiría ofrecer una opción para introducirlo en el mercado nacional a precios más accesibles además de la posibilidad a futuro de exportar estos hongos frescos a los Estados Unidos.

En el Departamento de Alimentos y Biotecnología (Lab. 324) ya se han realizado diferentes experimentos encaminados a optimizar las condiciones de cultivo de *Pleurotus eryngii*, habiéndose encontrado una formulación del sustrato óptima, así como las condiciones ambientales necesarias para su incubación y fructificación. El tiempo de incubación y el volumen del sustrato son variables que se han explorado de forma preliminar, detectándose que puede ser determinante para incrementar la eficiencia biológica de este hongo.

Si se identifican todas las condiciones óptimas para el cultivo de *Pleurotus eryngii* entonces será más fácil reducir su precio en el mercado en cuanto a proceso del mismo, ya que gran parte de un elevado costo de producción resulta de la necesidad de conservar el sustrato en las áreas de incubación y fructificación que requieren condiciones controladas. La reducción de la permanencia del sustrato dentro de estos cuartos de incubación, se logrará evaluando las semanas necesarias de incubación que permitan al micelio el mayor aprovechamiento de los nutrientes, así como la invasión total del sustrato por parte de este, y al mismo tiempo lograr más producción con volúmenes de sustrato más grandes.

2. ANTECEDENTES.

2.1 EL REINO FUNGI Y SU CLASIFICACIÓN.

Los hongos son organismos muy interesantes que por mucho tiempo resultó difícil clasificarlos adecuadamente y fueron sujetos de estudio de distintas ramas de la ciencia; como, por ejemplo, la microbiología o la botánica.

Como las plantas, animales y protistas, los hongos son eucariotas, organismos cuyos núcleos celulares están contenidos en membranas. No obstante, los hongos presentan una combinación de características que justifica su ubicación en un reino eucariótico separado.

Por ser inmóviles y poseer una pared celular, los hongos se incluían generalmente en el reino vegetal; sin embargo, más tarde los taxónomos reconocieron que, de hecho, los hongos son muy diferentes a los vegetales y actualmente ya se reconoce que pertenecen a un reino independiente, Fungi.

Se ha propuesto la siguiente clasificación de reino Fungi en cinco phyla. (Webster., 2007)

Chytridiomycota. Se encuentran en ambientes acuáticos y terrestres y se consideran los más primitivos, por ser el único grupo dentro del reino Fungi que conserva esporas flageladas en alguna etapa de su ciclo de

2.2 MORFOLOGIA Y CRECIMIENTO DE LOS HONGOS.

Los hongos presentan una morfología variada encontrándose en la naturaleza desde formas simples como levaduras, formas filamentosas y estructuras macroscópicas denominadas hongos de sombrero (hongos comestibles).

En el caso de las levaduras son hongos unicelulares, que permanecen unidas formando pseudohifas las cuales están constituidas por células unidas débilmente y cuyo entrecruzamiento constituye el pseudomicelio.

Los hongos filamentosos están constituidos por hifas cuyo entrecruzamiento forma el micelio y las cuales son más resistentes a los efectos mecánicos que las pseudohifas.

Las hifa es un tubo de pared rígida que contiene masa citoplasmática y núcleos presentando ramificaciones laterales; el diámetro de la hifa mide comúnmente entre 3 y 12 μ siendo el largo variable pudiendo medir desde algunos centímetros hasta metros, esta variación dependerá de la disponibilidad de nutrimentos y del tipo de hongo. Las hifas pueden presentar dos estructuras: septadas, estas poseen divisiones transversales que **las dividen en "celdas" y las no septadas que carecen** de estas división; estas últimas poseen nucleos diseminados en toda su longitud, mientras que las septadas pueden tener uno o más núcleos en **cada "celda" pero existe un poro central en cada septo que permita el** paso de citoplasma y núcleos de un compartimento a otro. Por esta

razón aunque existe una diferencia morfológica entre las dos clases de hifas, todas se consideran cenocíticas.

Al conjunto de hifas se le denomina micelio y según su función se diferencia en: vegetativo y aéreo o fértil. El micelio vegetativo está constituido por hifas que crecen dentro y sobre el sustrato que contiene los nutrientes y por lo tanto cumple con las funciones de absorción. El micelio fértil está constituido por estructuras aéreas que se originan a partir del micelio vegetativo, las cuales generalmente constituyen la porción más visible de la colonia y cumple con las funciones de reproducción y formador de esporas.

Los hongos, durante la fase vegetativa (de nutrición y crecimiento), son haploides en la mayor parte de su ciclo de vida. El ciclo de vida inicia con la germinación de una de las esporas, prosigue con el crecimiento en un sustrato, aumenta la biomasa, y termina nuevamente con la esporulación y la diseminación de los propágulos.

Después de biodegradar el sustrato, el hongo en su ciclo biológico comienza a producir basidiocarpos (setas), estos están formados por hifas estériles, basidios, basidiolos y los cistidios (Schlegel., 1997). La función principal de las fructificaciones es la de producir esporas así como dispersarlas efectivamente por aire como elementos de distribución y simiente de la especie que permitirá la sobrevivencia a través del tiempo en la naturaleza. Una vez cumplida su misión, las

fructificaciones –al igual que los frutos de las plantas- se deterioran y se pudren.

El crecimiento micelial y fructificación de los hongos comestibles es afectado por diversos factores ambientales físicos, químicos y biológicos, dentro de los cuáles se encuentran; la temperatura (tolerable de 20°C hasta 32°C según especie), la humedad relativa (óptima de 70% a 90%), el pH (5-7) y la concentración de oxígeno y bióxido de carbono, que también pueden influir significativamente en el desarrollo micelial y producción de cuerpos fructíferos. Esta última es una de las condiciones importantes en la formación de basidiocarpos, sobre 0.15% de dióxido de carbono, son determinantes para la formación de setas (Sánchez y Royse., 2001).

2.3 NUTRICIÓN.

Así como los animales, los hongos son heterótrofos; pero a diferencia de ellos los hongos no ingieren el alimento, sino que lo digieren del ambiente gracias a la acción de exoenzimas que secretan al medio que los rodea, con lo cual hidrolizan las moléculas estructurales complejas en sus componentes más simples, moléculas que posteriormente son absorbidas a través de la pared celular. Los hongos están adaptados para descomponer sustancias orgánicas, entre ellas, la celulosa y la lignina de las paredes de las células vegetales.

Las láminas son decurrentes, bastante gruesas, de color blanquecino, aunque, al envejecer tornan color crema, anastomosadas al pie. El pie mide entre los 3 - 6 x 0.5 -3 cm, cilíndrico, de central a ligeramente excéntrico, atenuado en la base, de color blanco. La carne es de color blanco firme, espesa y consistente, aunque un poquito elástica. Su olor es suave, poco apreciable, y su sabor dulce y agradable. (Zervakis et al., 2001).

De acuerdo a Kirk et al. (2001), taxonómicamente se ubica:

- División: Basidiomicetes.
- Orden: Agaricales.
- Familia: Pleurotáceas.
- Género: *Pleurotus*.
- Variedad: *eryngii*.

Las especies del género *Pleurotus* son lignícolas saprobias o parásitas, pertenecientes al grupo de hongos de la pudrición blanca. Éstos son eficientes descomponedores de maderas duras y blandas, que hacen accesible la celulosa al resto de los microorganismos tras su deslignificación (Martínez et al., 2005). Las especies pertenecientes al complejo *P. eryngii* son parásitos débiles, pudiendo encontrarlas

viviendo en las raíces o en la base de los tallos de la plantas vivas o muertas, de la familia de las umbelíferas (Zhang et al., 2006).

Las capacidad de los hongos, de saprofitar abundantes fuentes o recursos lignocelulósicos, hace posible que se puedan cultivar y aprovechar una gran variedad de residuos agroforestales (Ragunathan et al., 1996; Philippoussis et al., 2001; Yildis et al., 2002). Entre los residuos usados en el cultivo de *P. eryngii* se encuentran desechos de algodón (tallos, hojas), paja de trigo, cascarilla de algodón (Royse, 1997), cáscaras de cacahuete (Philippoussis et al., 2001), paja de arroz, residuos de papel, aserrín y pastos (Yildis et al., 2002). También se ha optado por mezclar en diferentes proporciones distintos residuos, para mejorar los sustratos y darles variedad nutrimental (Sánchez y Royse, 2001).

Las características del cultivo de *Pleurotus eryngii* según Qi (2005) son:

- **Nutrición:** Requiere altos niveles de nitrógeno, la relación de carbono:nitrógeno recomendada es de 60:1 respectivamente.
- **Temperatura:** Se ha reportado que este hongo crece a temperaturas entre 6-32°C, señalando una temperatura óptima de crecimiento micelial de 24°C. La temperatura adecuada para el crecimiento de los cuerpos fructíferos es de 18°C.
- **Humedad:** El contenido de agua del sustrato y la humedad relativa para obtener altos rendimientos, deben mantenerse entre 65-70% y

75-90% respectivamente. Hay que evitar el riego directamente sobre los cuerpos fructíferos ya que puede provocar la pudrición de estos.

- **Ventilación:** Se deben mantener altos niveles de ventilación especialmente durante la etapa de fructificación, de otra manera el cuerpo fructífero crecerá lentamente y con anomalías.

- **Luz:** El micelio de *P. eryngii* crece bien en condiciones de oscuridad, pero en la etapa de fructificación es necesario mantener luz difusa.

2.5 HONGOS COMESTIBLES.

Los hongos comestibles son un excelente alimento que ha formado parte de la dieta mexicana desde épocas prehispánicas. Estos son organismos muy comunes en la naturaleza y en los últimos años su consumo se ha incrementado paulatinamente por sus características sensoriales, así como sus propiedades nutrimentales y en algunas especies sus propiedades terapéuticas (Chang y Miles., 2004).

El valor nutricional de los hongos comestibles es notable, ya que constituyen una magnífica fuente de proteínas por contener hasta 35% en base seca, este dato es significativo si se compara con el 13.2% del trigo y 25.2% de la leche. Además, contienen vitaminas como la B1, B2, B12, C y D así como ácidos grasos insaturados y un bajo contenido calórico. Otra característica relevante de los hongos es su acción medicinal, por ejemplo algunas especies presentan propiedades

antivirales, anti-tumorales, anti-hipertensión y anti-arterioesclerosis (Martínez-Carrera et al., 2000).

El valor nutritivo de *P. eryngii* es el adecuado para que forme parte de dietas pobres en proteínas. Cubre las necesidades proteicas diarias expuestas por la FAO, posee un 5,3 % de proteínas en 100 gr de peso seco, con niveles normales de aminoácidos esenciales; la fracción mineral revela altos niveles de potasio, bajos de sodio, relación muy adecuada para dietas asociadas a hipertensión; rica en vitamina B12 y niacina; en cuanto a los carbohidratos se refiere la glucosa como el azúcar presente mayoritariamente, seguido por manosa y trehalosa (La Guardia et al. 2005, Manzi et al. 1999)

La producción de hongos comestibles es una alternativa importante para satisfacer las necesidades alimenticias de la población; además de utilizar residuos agrícolas es una fuente para generar empleo. Su producción no requiere de inversiones iniciales fuertes, pero si control intensivo de todos los parámetros que aseguren una producción adecuada.

En la actualidad la biotecnología se ha convertido en una verdadera alternativa para la obtención de alimentos para el consumo humano, por la posibilidad de obtener grandes cantidades en pequeñas áreas mediante técnicas sencillas, a bajo costo, en cortos periodos de tiempo y empleando residuos agroindustriales como substrato para su cultivo,

la producción de hongos comestibles, es un claro ejemplo de cómo la biotecnología es una alternativa real para la obtención de alimentos. En este caso, el cultivo de hongos en el mundo ha tenido un significativo impacto en la producción de alimentos y ha ayudado a resolver el problema de la disposición de desechos orgánicos no comestibles. (Chang et al., 1989).

2.6 PRODUCCIÓN DE HONGOS A NIVEL MUNDIAL.

El cultivo empírico de los hongos comestibles pertenecientes al género *Pleurotus* tuvo sus inicios en Alemania, alrededor de 1917, empleando micelio silvestre para la inoculación de troncos. Sin embargo, el primer cultivo a gran escala empleando troncos como substrato sólo fue posible hasta 1969 en Hungría. A partir de entonces, el cultivo de *Pleurotus* a pequeña y gran escala se ha desarrollado rápidamente en diversas partes del mundo.

En México, el cultivo de hongos comestibles inició en 1993. La producción comercial de hongos comestibles es una actividad relevante, desde el punto de vista social, económico y ecológico. Se estima que los volúmenes de producción ascienden a más o menos 47,468 toneladas anuales de hongos frescos (Figura 5). Nuestro país genera alrededor del 59% de la producción total de Latinoamérica, ubicándose como el 16° productor a nivel mundial. Actualmente, los principales hongos

(*Pleurotus*), el shiitake (*Lentinula*), el reishi (*Ganoderma*), el maitake (*Grifola*), y el cuitlacoche (*Ustilago*).

Es probable que la producción comercial de *Pleurotus* continúe incrementándose a corto plazo, por las siguientes razones:

1) Existe un gran número de especies potencialmente cultivables; 2) Las tecnologías de producción son relativamente sencillas y de bajo nivel de inversión; 3) Se han desarrollado cepas comerciales con amplio rango de temperaturas de fructificación y sustratos de cultivo; y 4) Las fructificaciones son bien aceptadas por los consumidores en muchos países.

2.6.1 PRODUCCIÓN DE *Pleurotus eryngii*.

En épocas recientes, se ha presentado en México un marcado interés por la producción comercial de hongos comestibles, en particular de *Pleurotus spp.*, favorecido por las diversas ventajas que presenta, en especial por la posibilidad de producir alimentos de alto valor nutrimental empleando residuos agrícolas como sustrato.

P. eryngii o el rey ostra como comúnmente es llamado, crece en forma natural en la parte Sur de Europa y en áreas de Asia Central y América del Norte. Es apreciado como el mejor de todas las especies de *Pleurotus* por su excelente consistencia en sombrero y tallo, agradable aroma y cualidades culinarias. La especie silvestre es colectada

comúnmente en Europa, África y en la mayor parte de Asia excepto en Corea y Japón, lugares donde el hongo es cultivado comercialmente. En Taiwán se cultiva desde 1993, con la tecnología de cultivo en frascos. Actualmente esta especie de *Pleurotus* ha comenzado a ser popular en mercados tradicionales o supermercados de estos países. Los principales motivos de este rápido incremento en la producción de este hongo son:

- a) Los agricultores chinos fueron capaces de utilizar para los sustratos de crecimiento residuos agroforestales,
- b) Cultivos innovadores y mejores métodos adaptados a los climas y condiciones locales. (Qi., 2005)

En China los rendimientos anuales de la producción de *P. eryngii* en el 2003 fueron de 21,022 toneladas, cifra que dos años después aumentó a 114,107 toneladas lo que representa un aumento del 443% durante este período.

Actualmente la tecnología que se ocupa en el cultivo de este hongo se realiza en frascos de vidrio, sin embargo, ya se ha comenzado a utilizar recipientes plásticos e incluso bolsas, haciéndose más extensiva su producción. El cultivo se produce en oscuridad y bajo grandes demandas de asepsia en periodo de incubación. Para el sustrato se utilizan diversos residuos orgánicos de madera, cereales y materiales lignocelulósicos.

3. JUSTIFICACIÓN.

Esta investigación es parte de una serie de trabajos en busca de encontrar las mejores condiciones para incrementar el rendimiento y calidad de este hongo para su producción comercial en México.

La introducción y desarrollo del cultivo de especies con una vida anaquel larga como es la de *P.eryngii* en comparación con otras setas, puede permitir el incremento del interés por su producción y consumo.

El crecimiento de la industria del cultivo de hongos comestibles depende en gran medida de las aportaciones de los investigadores acerca del tema, lo cual hasta el momento en México, es un área que tiene limitaciones de estudios previos que ayuden a los productores a mejorar cada una de las etapas de esta actividad.

4. OBJETIVOS.

- Optimizar el cultivo de *Pleurotus eryngii* modificando el tiempo de incubación y el tamaño de la bolsa.
- Realizar pruebas de fructificación para evaluar la morfología y la eficiencia biológica de dos cepas distintas de *Pleurotus eryngii*: la cepa de la Facultad de Química (FQ) y la cepa de MONTEBLANCO (MB) en sustratos compuestos por residuos agroindustriales.

5. HIPÓTESIS.

Existirá un tiempo óptimo de incubación del sustrato para lograr una mayor producción de hongos en donde se equilibre una adecuada invasión del sustrato y una conservación de la humedad y los nutrientes necesarios

Al incrementar el volumen de sustrato utilizado para el cultivo de *P. eryngii*, se logrará un mayor crecimiento micelial y podrán formarse más cuerpos fructíferos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 MATERIAL BIOLÓGICO.

Se partió de una cepa de *P. eryngii* de la colección de hongos comestibles del laboratorio 324 del Conjunto E, Facultad de Química UNAM.

6.2 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PURIFICACIÓN DE LA CEPA.

Se utilizó medio de cultivo agar extracto de malta (EMA), el cual se preparó con 10 g de agar bacteriológico y 7.5 g de extracto de malta para obtener 500 mL de medio de cultivo. Este se esterilizó a 121°C y 15 lbs/ in² por 45 minutos. Posteriormente se llenaron cajas Petri con 20 mL de medio. Una vez gelificado el medio, se incubó a 24°C durante 48 horas para comprobar su esterilidad.

6.3 RESIEMBRA DE LA CEPA.

La cepa se resembró en placas con medio agar extracto de malta (EMA) las cuales se incubaron a 24°C durante 14 días realizando revisiones diarias para confirmar la pureza de la cepa. Una vez obtenido suficiente crecimiento micelial se continúa haciendo resiembras para conservar el micelio y preparar el inóculo de grano.

Para preparar el sustrato previamente se deba evaluar la humedad original de cada componente y su máxima capacidad de hidratación, con estos valores es posible determinar la cantidad del material original que se debe pesar para obtener una humedad final del sustrato del 65% (Tabla 1). Una vez que se determinó la cantidad de material a utilizar, éstos se mezclaron y se hidrataron con la cantidad de agua determinada durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se añadió 3% de CaCO_3 y 1% de CaSO_4 y se mezclaron. Una vez homogeneizada la mezcla se empacó en bolsas de polipropileno (1 kg para el primer experimento y de 3 kg para el segundo experimento) y se prepararon 8 réplicas para cada tiempo de incubación. Las bolsas llenas se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 lbs/in^2 de presión por dos horas. Cuando se enfriaron, se inocularon al 5% con el grano de trigo ya invadido de micelio.

La humedad de los sustratos después de esterilizar se determinó pesando seis muestras de éstos en cajas Petri a peso constante y se colocaron en la estufa a 60°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se volvieron a pesar y así se obtuvo la humedad final de los sustratos.

6.6 INCUBACIÓN DEL SUSTRATO. El sustrato ya inoculado se colocó en un cuarto de incubación a 24°C y en total oscuridad durante los

tiempos establecidos (5 a 9 semanas para el primer experimento y 7 semanas para el segundo experimento, así como para el control).

6.7 INDUCCIÓN A LA FRUCTIFICACIÓN Y COSECHA DE HONGOS

FRESCOS. Una vez completado el período de incubación, los sustratos se trasladaron al cuarto de fructificación donde las condiciones ambientales son completamente diferentes: la temperatura es de 18°C, con iluminación durante todo el día, conservando una humedad relativa de 85%. Es necesario que en el período de cosecha se revise el sustrato diariamente para evaluar el crecimiento de los hongos así como su consistencia y de esta manera evitar pérdidas de rendimiento en caso de que éstos comiencen a perder agua. Así se determina cuándo deben ser cosechados. También debe verificarse que ningún sustrato presente contaminaciones de hongos invasores; y de ser así, tendrán que ser retirados de inmediato para evitar que la contaminación no se propague a los demás sustratos.

La cosecha se realizó manualmente, y durante este periodo, se llevó un registro de hongos producidos por cada sustrato anotando el peso de cada uno.

La productividad de las cepas y del cultivo se expresó en términos de eficiencia biológica (EB):

$$EB = \frac{\textit{gramos de hongos frescos}}{\textit{100 gramos de sustrato base seca}} \times 100$$

Los valores de eficiencia biológica fueron tratados por un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente se les aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($\alpha=0,05\%$) para determinar diferencias significativas entre las producciones de las cepas.

El paquete de datos estadístico utilizado para hacer el tratamiento de los resultados obtenidos es el IBM SPSS Statistics 22.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El objetivo de este proyecto es desarrollar una metodología que permita lograr una producción rentable de *P. eryngii* en México. Una disminución de los requerimientos de área de incubación influye positivamente sobre los costos, por lo cual en un primer experimento se evaluó el menor tiempo de incubación requerido para producir este hongo.

En una segunda parte se aumentó el tamaño de la bolsa del sustrato, de 1 a 3 kg para evaluar la viabilidad de incrementar la productividad. Este experimento se realizó con dos cepas distintas (FQ y MB) y con dos sustratos, uno en donde el componente principal es cascarilla de algodón y un segundo sustrato con paja de trigo como componente principal, para así evaluar la productividad de cada una de las cepas en cada sustrato y determinar cuál de ellos es más eficiente al momento de obtener hongos frescos.

7.1 EXPERIMENTO 1.

En la Tabla 7.1 y Figura 7.1 se presentan los primeros resultados obtenidos con el primer brote de hongos, este no es suficiente para determinar la eficiencia biológica total de cada sustrato, pero permite ir diferenciando sobre la producción que tiene cada uno de estos. Se observa la producción total obtenida (g/bolsa), así como la eficiencia biológica calculada a partir de esta, para cada tiempo de incubación.

Para determinar si existe diferencia significativa entre las semanas de tiempo de incubación sobre la Eficiencia Biológica se realizó un análisis de varianza a partir de los datos del primer brote de hongos, ya que no se lograron obtener más fructificaciones. Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan donde se muestra que no existe diferencia estadísticamente significativa entre 6 y 8 semanas de incubación del sustrato, siendo estos tiempos con los que se obtiene la mayor EB.

Si bien con 6 y 8 semanas de incubación se obtuvo una EB que es significativamente mayor que el resto de los otros tratamientos, la incubación por 7 semanas produce una EB también significativamente mayor que la obtenida con 5 y 9 semanas. Por ello incubar por 6, 7 y 8 semanas es el mejor intervalo que se determinó en este experimento. De acuerdo a estos resultados y a las observaciones realizadas al cosechar los hongos, al incubar por 5 semanas el micelio no alcanza a invadir totalmente el sustrato lo que probablemente afecta la fructificación; por lo que con un menor crecimiento micelial, hay una menor producción de cuerpos fructíferos. Por otro lado, con 9 semanas de incubación, los componentes del sustrato se van consumiendo debido al excesivo desarrollo micelial y los nutrientes para la formación de hongos frescos disminuyen. A pesar de que el micelio ha invadido

formación de una gran cantidad de primordios (Figura 7.3). Para poder seleccionar los hongos que iban a desarrollarse era necesario dejar crecer los primordios para ver cuáles de estos eran los más aptos para la formación de un producto comercial. Al final se cortaban todos los primordios que tenían un crecimiento más lento, dejando a lo más, 5 hongos para su desarrollo final.

Los primordios desechados sustraen de cualquier forma nutrientes y agua lo que ocasiona una menor disponibilidad para la formación de los hongos seleccionados y posiblemente esta situación impida el crecimiento de un segundo brote.

Con estos resultados se puede decir que con 6 semanas que el sustrato permanece dentro del cuarto de incubación, el micelio alcanza a invadir completamente el sustrato y los nutrientes dentro de este se encuentran en buena cantidad para su aprovechamiento al formar los cuerpos fructíferos. Lo anterior también se logra con 8 semanas de incubación del sustrato. Tomando en cuenta que gran parte del costo es mantener las condiciones apropiadas en los cuartos de incubación y fructificación, mantener los sustratos el menor tiempo posible logrando la mejor eficiencia biológica disminuirá de manera considerable su costo en el mercado.

7.2 EXPERIMENTO 2.

A partir de los resultados del primer experimento, se eligió que el tiempo de incubación a utilizar en el segundo experimento serían 7 semanas. En esta segunda etapa del proyecto se evaluó la productividad del cultivo utilizando 3 kg de sustrato, al mismo tiempo se evaluó la productividad de dos cepas distintas de *P. eryngii*: MB, la cepa comercial utilizada por la empresa Monte Blanco y una segunda cepa: FQ, de la colección de cepas del laboratorio 324 del Conjunto E, Facultad de Química UNAM. Cada cepa se inoculó en dos sustratos: el sustrato MB, utilizado por Monte Blanco que tiene como componente mayoritario paja y el sustrato FQ, desarrollado en la Facultad de Química que es a base de cascarilla de algodón. Se establecieron estas variables para comparar la tecnología utilizada actualmente en el cultivo de este hongo en México y la tecnología propuesta en este estudio. Dentro de este mismo experimento, se utilizó un sustrato control de 1 kg, con la formulación de la Facultad de Química (mismas condiciones utilizadas en el experimento 1).

Para este segundo experimento, se modificó el área expuesta al aire libre, para el crecimiento de primordios para buscar obtener un segundo brote debido a los resultados del primer experimento. Para ello se dejaron únicamente espacios circulares de 5 cm de diámetro (Figura 7.4). Para impedir que con el crecimiento de los primordios la bolsa se

Con el uso de una menor área para fructificar el sustrato se logró que el crecimiento de los hongos se seleccionara naturalmente, sin la necesidad de escoger y cortar los primordios que no tenían un buen avance de crecimiento, porque en efecto hubo menor cantidad de formación de primordios que en el primer experimento.

En la Figura 7.5 se observa cómo dentro de cada tubo de PVC, de todos los primordios formados, únicamente logran desarrollarse un máximo de 5 o 6 hongos por cada espacio de fructificación. En éste experimento, se obtuvo también un segundo brote, debido quizás a que, por tener un área más pequeña de fructificación, no había tanto consumo de nutrientes en la etapa de formación de primordios.

En la Tabla 7.3 se muestra la productividad expresada en Eficiencia Biológica para el sustrato de la FQ colocado tanto en bolsas de 3 kg como de 1 kg, inoculado con la cepa FQ. Con el sustrato control (1 kg) se obtuvo 91.8 de EB, mientras que para la misma formulación y cepa pero con 3 kg de sustrato, la eficiencia biológica fue de 183%. Como se observa, el resultado de EB es más del doble que el sustrato control que únicamente es de 1 kg.

Es de hacer notar que no se esperaba que la EB fuera mucho mayor al aumentar el tamaño del sustrato de 1 a 3 kg, no obstante, se registró un incremento significativo de este parámetro. Adicionalmente, la

diferencia entre el sustrato de 1 kg y el de 3 kg no sólo radica en la EB, sino también en el peso promedio de los hongos cosechados ya que este factor aumenta también de 66.2 y 175.4 g al incrementar el tamaño del sustrato. Este parámetro es de importancia comercial ya que los hongos producidos son de mayor tamaño al aumentar su peso y por lo tanto presentan un mayor volumen en el estípite (pie), la parte del hongo que es muy apreciada para esta especie.

Tabla 7.3. Efecto del tamaño del sustrato (1 y 3 kg) sobre la producción total por bolsa y la eficiencia biológica de *P. eryngii* (cepa FQ, sustrato FQ)

CEPA	SUSTRATO (Kg)	PESO PROMEDIO (g / hongo)	PRODUCCIÓN TOTAL (g hongo fresco / bolsa)			EFICIENCIA BIOLÓGICA (g hongo fresco / 100 g de sustrato seco)
			BROTE			
			1	2	TOTAL	
FQ	1 (CONTROL)	74.2 ± 1.4	225.7 ± 5.7	117.4 ± 12.7	343.1 ± 16.7	91.5 ± 4.4
FQ	3	175.4 ± 8.0	1059.6 ± 95.7	998.6 ± 53.4	2058.2 ± 140.0	183.0 ± 12.4

Según el análisis de varianza realizado para estos dos tratamientos, existe diferencia significativa para las EB y el peso promedio obtenidos con cada tamaño de sustrato, lo cual sugiere que utilizar 3 kg de sustrato aumenta la productividad del cultivo conservando los mismos tiempos de incubación y fructificación que ya se venían aplicando.

Dentro de este experimento, se comparó también la Eficiencia biológica producida al cultivar dos cepas (FQ y MB) en los dos sustratos utilizados previamente (FQ y MB).

En la Tabla 7.4 y Figura 7.2 se muestran los resultados obtenidos de la productividad expresada en Eficiencia Biológica para los sustratos de la FQ y MB colocado en bolsas de 3 kg, ambos inoculados con la cepa FQ y MB.

En este experimento, las diferencias son más evidentes en cuanto a la Eficiencia Biológica del resultado entre cada cepa. Para la cepa de la Facultad de Química (FQ) independientemente del sustrato utilizado ya sea el de aserrín y paja o cascarilla de algodón con salvado de trigo, la EB rebasa el 100%; mientras que para la cepa de la empresa MONTEBLANCO está por debajo de este valor.

Cabe señalar que cada uno de los sustratos fueron tratados bajo las mismas condiciones de fructificación; sin embargo, con la cepa MB no se logró obtener un segundo brote, los escasos primordios que llegaron a fructificar no consiguieron obtener un cuerpo fructífero de buen tamaño ni consistencia. En la Tabla 7.4 se observa que para la cepa FQ la EB obtenida al cultivarla en el sustrato de FQ es de 179.8% mientras que en el sustrato de MB es de 156.3%. Para la cepa MB el resultado de EB es de 41.8% y 71.6%, respectivamente.

el doble para la cepa FQ, 150 y 175 g. En general, los cuerpos fructíferos formados por la cepa FQ presentan una morfología silvestre de este hongo, mientras la cepa MB presenta una morfología con tallos más delgados y cuerpos fructíferos más chicos.

La diferencia de tamaño entre los cuerpos fructíferos de cada cepa puede ser debida al genotipo de las mismas y/o a que no se encuentran adaptadas para las mismas condiciones ambientales.

Según el análisis de varianza realizado para estos tratamientos, si existe diferencia significativa entre cada EB obtenida, teniendo como resultado en la prueba de Duncan que el tratamiento que alcanza el máximo rendimiento es la cepa FQ sobre el sustrato FQ.

Para evaluar el desempeño de la tecnología del cultivo de *P. eryngii* propuesta en este estudio, se llevaron a cabo los mismos tratamientos (dos cepas distintas en dos sustratos de composición diferente, todos en bolsas de 3 kg de sustrato) en la empresa MONTEBLANCO bajo su sistema de producción.

Los resultados obtenidos por la empresa MONTEBLANCO para los mismos tratamientos bajo su proceso de incubación y fructificación se muestran de acuerdo a lo reportado por la institución (Tabla 7.5)

Se observa en la Tabla 7.5 y Figura 7.3 que incluso bajo el proceso de cultivo de MONTEBLANCO la EB obtenida en los sustratos inoculados con

diferencia significativa entre cada uno de los resultados, teniendo en la prueba de DUNCAN que no existe diferencia significativa entre los siguientes grupos:

Tabla 7.6. Eficiencia Biológica de los distintos tratamientos del cultivo de *P. eryngii* aplicando el proceso de la Facultad de Química y MONTEBLANCO

TRATAMIENTO (Cepa-Sustrato)*	Eficiencia Biológica** (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco)
FQ-FQ	183.0 ± 12.4^f
FQ-FQ*	50.6 ± 4.4 ^c
FQ-MB	156.3 ± 3.8 ^e
FQ-MB*	39.2 ± 2.1 ^b
MB-FQ	41.8 ± 4.1 ^b
MB-FQ*	27.5 ± 0.1 ^a
MB-MB	70.1 ± 3.0 ^d
MB-MB*	23.0 ± 0.4 ^a

* Tratamientos cultivados bajo el proceso e instalaciones de MONTEBLANCO

** Letras diferentes indican diferencia significativa en la Eficiencia Biológica

Bajo las condiciones de cultivo de MONTEBLANCO, no se detectaron diferencias significativas al utilizar la cepa MB con ninguno de los dos sustratos (MB-MB* y MB-FQ*), ambos tratamientos fueron los que arrojaron la menor Eficiencia Biológica. Por otro lado, el mayor rendimiento (EB= 183%) se obtuvo al cultivar la cepa FQ en el sustrato FQ bajo nuestras condiciones de cultivo (FQ-FQ), además de que para

cada una de las 4 condiciones experimentadas, los rendimientos obtenidos en nuestras instalaciones superaron por mucho a los registrados en MONTEBLANCO. (ver Tabla 7.6 y Figura 7.4)

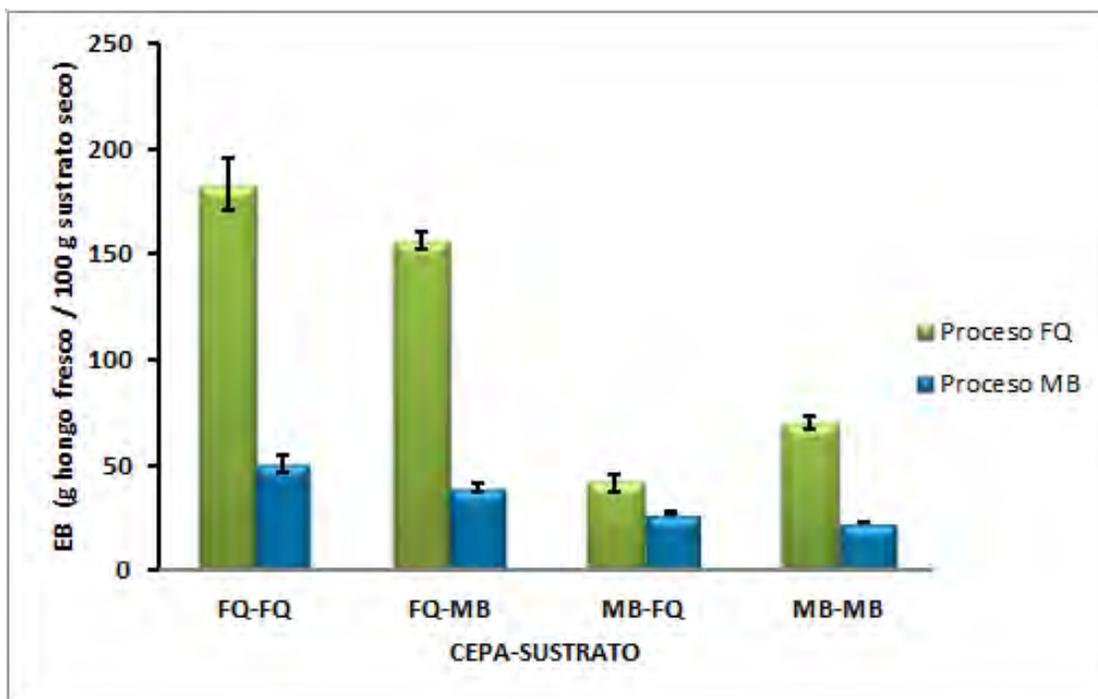


Figura 7.4. EB obtenida a partir de los tratamientos cultivados en la Facultad de Química y MONTEBLANCO

En este experimento, al cambiar el sustrato de cultivo para *P. eryngii* no se presentaron cambios drásticos en los días para obtener la primera cosecha. Sin embargo, es de destacar que a los 12 días la cepa FQ presentó cuerpos fructíferos sobre ambos sustratos, aproximadamente 7 días antes que la cepa MB (Tabla 7.7), lo cual se compara muy favorablemente con el reporte de Mahbuba Moonmoon (2010) que indica 26 días para la primera cosecha de hongos en sustratos de aserrín de 2.5 kg utilizando un periodo de incubación de 7 semanas.

Tabla 7.7. Tiempo obtenido para el primer brote de hongos, ofrecido por cada uno de los tratamientos

CEPA	SUSTRATO	Tiempo promedio (días) para la primera cosecha*
<i>P. eryngii</i> FQ	FQ	11
	MB	13
<i>P. eryngii</i> MB	FQ	20
	MB	19

* Días despues de colocar los sustratos en inducción a la fructificación.

Los valores de EB obtenidos en este estudio se encuentran dentro los valores reportados en la bibliografía e incluso superiores. Estrada y Royse (2007) reportan una EB de 53% para un cultivo de *P. eryngii* en sustratos compuestos a base de cascarilla de algodón y aserrín al utilizar bolsas de 2.5 kg. De forma similar en otro estudio realizado por los mismos autores (Estrada y Royse., 2009) en cual utilizan sustratos a base de cascarilla de algodón y aserrín agregando micronutrientes como manganeso y cobre, obtienen EB para cada tratamiento sobre un rango de 50-60% al utilizar botellas de 1050 mL para el sustrato y manteniéndolo 5 semanas en incubación.

Los tratamientos realizados en el segundo experimento una vez evaluado el tiempo de incubación óptimo (7 semanas) presentan EB superiores a las de la literatura, observando en este sentido que

calculado de 20 g, un tamaño notoriamente más pequeño que el producido en estos experimentos. Esto ofrece nuevos retos, uno sería producir hongos de tamaño más pequeño al obtenido en estos experimentos. Por otro lado, con los altos rendimientos obtenidos en esta investigación, se puede reducir el precio significativamente y ofrecer entonces este producto en un tamaño mucho más grande a un precio más competitivo ya que los precios observados para la venta en supermercados y a granel de *P. eryngii* resultan altamente elevados para la mayor parte de la población mexicana haciendo prácticamente inaccesible su consumo.

Esto último es notorio al comparar las Eficiencias Biológicas obtenidas por la empresa MONTEBLANCO en su cultivo comercial (23%) respecto a la producida en nuestras instalaciones con el sustrato FQ y nuestra cepa (FQ), 183%, representando un rendimiento 8 veces mayor al logrado comercialmente. Además de lograrse un proceso de mucha mayor eficiencia con menores costos de producción, que propiciaría una disminución en el precio de venta, resultaría en un eventual aumento en la demanda.

8. CONCLUSIONES.

Durante el proceso de incubación de los sustratos, 7 semanas es el tiempo óptimo para que el micelio invada totalmente el sustrato ofreciendo un aumento en la producción de hongos frescos en la etapa de fructificación y cosecha de hongos.

Producir sustratos de tamaño más grande y con un área de fructificación más pequeña permite la selección natural de los primordios y brinda hongos con cuerpos fructíferos más grandes debido a que se retiene más humedad en el sustrato.

El control de la humedad en los sustratos durante la etapa de fructificación es determinante para optimizar la productividad del cultivo.

Según el análisis estadístico aplicado para las producciones de MONTEBLANCO y la Facultad de Química, el tratamiento realizado con la cepa FO en el sustrato FO con el proceso de la Facultad de Química es el que ofrece un mejor rendimiento con una Eficiencia Biológica de $183.0 \pm 12.4 \%$

9. RECOMENDACIONES.

Como se observó en el apartado de resultados, a pesar de que la cepa FQ ofrece una mayor productividad y Eficiencia Biológica, los cuerpos fructíferos que se obtienen son más similares a la forma silvestre de este hongo.

Sería recomendable un estudio posterior que desarrollara una cepa comercial a través de un híbrido de estas dos cepas (FQ y MB) para lograr grandes volúmenes de hongos preservando la fisiología del cuerpo fructífero comercial de *Pleurotus eryngii*.

Se sugiere el uso de riego durante la etapa de fructificación ya que la tecnología de cultivo que utiliza MONTEBLANCO no incluye este proceso, y en este estudio se observó que posiblemente sea una condición que aumente el tamaño de los cuerpos fructíferos.

10. BIBLIOGRAFÍA.

- Chang S.T., P.G. Miles. (1989) Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press, Boca Raton.
- Chang S.T., P.G. Miles. (2004) Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Enviromental Impact. CRC Press, Boca Raton.
- La Guardia M., G. Venturella, F. Venturella. (2005) On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus* taxa growing on *Umbelliferous* Plants (Apiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 5997-6002.
- Manzi P., L. Gambelli, S. Marconi, V. Vivanti, L Pizzoferrato. (1999) Nutrients in edible mushrooms: an interspecies comparative study. Food Chemistry 65: 477- 482
- Martínez-Carrera D. (2002) Current development of mushroom biotechnology in Latin América. 61-74
- Martínez-Carrera D., A. Larqué, M. Aliphat, A. Aguilar, M. Bonilla, W. Martínez. (2000) La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. 193-207.
- Martínez-Carrera D., D. Nava, M. Sobal, M. Bonilla, Y. Mayett. (2005) Marketing channels for wild and cultivated edible mushrooms in developing countries: the case of Mexico. Micología Aplicada International. 17: 9-20.
- Martínez-Carrera D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla y W. Martínez. (2007) México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción-consumo de los hongos comestibles.
- Márquez M. (2009) Evaluación de la producción del hongo comestible *Pleurotus eryngii* empleando sustratos disponibles en México.
- Moonmoon M., Md. Uddin, S. Ahmed, S. Nasrat, K. Asaduzzaman. (2010) Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh. Saudi Journal of Biological Sciences, 17: 341-345.
- Philippoussis A., G. Zervakis, P. Diamantopoulou . (2001) Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 17: 191-200.

- Qi T. (2005) Cultivation on *Pleurotus* spp in China, Proceedings of the Fifth International Conference on Mushroom Biology. Edible Fungi Institute, Shanghai, 338-341.
- Ragunathan R., M. Palaniswamy, R. Gurusamy, K. Swaminathan. (1996) Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. Food Chemistry. 55(2): 139-144.
- Royse D., (1997) Specialty mushrooms and their cultivation. Hort. Rev
- Royse D, A.E. Estrada. (2009) Improvement of yield of *Pleurotus eryngii* var. by substrate supplementation and use of a casing overlay. Bioresource Technology, 100. 5270-5276
- Royse D., A.E. Estrada. (2007) Yield, size and bacterial blotch resistance of *Pleurotus eryngii* grown on cottonseed hulls/oak sawdust supplemented with manganese, copper and whole ground soybean. Bioresource Technology, 98. 1898-1906.
- Sanchez J., Royse D. (2001) La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Limusa. Mexico.
- Schlegel H. (1997) Microbiología general. Omega. Barcelona. 645 p.
- Webster J., R. Weber. (2007) Introduction to Fungi. Cambridge University Press
- Zervakis G., A. Philippoussis, S. Ioannidou, P. Diamantopoulou (2001) Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. Folia microbiologica 46: 231-234
- Zhang J., Huang. 2006. Genetic polymorphism of ferula mushroom growing on *Ferula sinkiangensis*. 305-308.
- Yildis S., Ü. Yildis, E. Gezer, A. Temiz (2002). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. Process Biochemistry. 38: 301-306.

11. ANEXOS

ANEXO 1. RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO AL EVALUAR LAS EFICIENCIAS BIOLÓGICAS DE LOS TRATAMIENTOS REALIZADOS EN EL EXPERIMENTO 1.

Tabla 7. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la Eficiencia biológica para *Pleurotus eryngii* empleando diferentes semanas de incubación para los sustratos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Tiempo de incubación	2060.461	4	515.115	104.254	2.74 4.14	**
Error	128.465	26	4.941			
Total	2188.926	30				

** Existe diferencia significativa entre las semanas de incubación de sustrato.

Tabla 8. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan para los diferentes Tiempos de Incubación

Tiempo de incubación (Semanas)	Eficiencia Biológica* (EB)			
9	10.64 ± 0.52 ^a			
5		31.47 ± 1.64 ^b		
7			34.71 ± 1.48 ^c	
8				35.72 ± 2.92 ^d
6				35.88 ± 2.61 ^d

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas de tiempo de incubación del sustrato

Tabla 11. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la Eficiencia Biológica para *Pleurotus eryngii* empleando diferentes las cepas y sustratos MB Y FQ, aplicando la tecnología de cultivo de la Facultad de Química.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Cepa-Sustrato	54746.546	3	18248.849	374.002	3.49 5.95	**
Error	585.521	12	48.793			
Total	55332.067	15				

** Existe diferencia significativa entre la EB obtenida al cultivar *Pleurotus eryngii* utilizando las cepas (FQ y MB) en los sustratos (FQ y MB) con el proceso de la Facultad de Química

Tabla 12. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan para las diferentes Eficiencias Biológicas empleando diferentes las cepas y sustratos MB Y FQ, aplicando la tecnología de cultivo de la Facultad de Química.

Cepa-Sustrato	Eficiencia Biológica* (EB)			
MB-FQ	41.8 ± 4.1 ^a			
MB-MB		70.1 ± 3.0 ^b		
FQ-MB			156.3 ± 3.8 ^c	
FQ-FQ				183.0 ± 12.4 ^d

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre la Eficiencia Biológica obtenida.

Tabla 13. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica para *Pleurotus eryngii* empleando diferentes las cepas y sustratos MB Y FQ, aplicando la tecnología de cultivo de MONTEBLANCO.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Cepa-Sustrato	1837.862	3	612.621	100.073	3.49 5.95	**
Error	73.461	12	6.122			
Total	1911.323	15				

** Existe diferencia significativa entre la EB obtenida al cultivar *Pleurotus eryngii* utilizando las cepas (FQ y MB) en los sustratos (FQ y MB) con el proceso de MONTEBLANCO

Tabla 14. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan para las diferentes Eficiencias Biológicas empleando diferentes las cepas y sustratos MB Y FQ, aplicando la tecnología de cultivo de MONTEBLANCO.

Cepa-Sustrato	Eficiencia Biológica* (EB)			
MB-MB	23.0 ± 0.4 ^a			
MB-FQ		27.5 ± 0.1 ^b		
FQ-MB			39.2 ± 2.1 ^c	
FQ-FQ				50.6 ± 4.4 ^d

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la Eficiencia Biológica obtenida.

Tabla 15. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la Eficiencia Biológica para *Pleurotus eryngii* empleando diferentes las cepas y sustratos MB Y FQ aplicando la tecnología de cultivo de ambos sitios

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Cepa-Sustrato	104864.255	7	14980.608	545.591	2.42 3.49	**
Error	658.982	24	27.458			
Total	105523.237	31				

** Existe diferencia significativa entre la EB obtenida al cultivar *Pleurotus eryngii* utilizando las cepas (FQ y MB) en los sustratos (FQ y MB) con ambos procesos

Tabla 16. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan para las diferentes cepas utilizadas (MB y FQ) en los distintos sustratos (MB y FQ) aplicando la tecnología de cultivo de ambos sitios.

Tratamiento (Cepa-Sustrato)	Eficiencia Biológica** (EB)					
MB-MB*	23.0 ± 0.4 ^a					
MB-FQ*	27.5 ± 0.1 ^a					
FQ-MB*		39.2 ± 2.1 ^b				
MB-FQ		41.8 ± 4.1 ^b				
FQ-FQ*			50.6 ± 4.4 ^c			
MB-MB				70.1 ± 3.0 ^d		
FQ-MB					156.3 ± 3.8 ^e	
FQ-FQ						183.0 ± 12.4 ^f

* Tratamientos cultivados bajo el sistema de producción e instalaciones de MONTEBLANCO

** Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados