

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS

“COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE CINCO MÉTODOS DE
DESINFECCIÓN COMO UNA ALTERNATIVA A LA PASTEURIZACIÓN
DE SUSTRATO EN EL CULTIVO DE Pleurotus ostreatus ESC 0112”

CÉSAR AUGUSTO CAMEY MONTEPEQUE
GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2002

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS

**“COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE CINCO MÉTODOS DE
DESINFECCIÓN COMO UNA ALTERNATIVA A LA PASTEURIZACIÓN
DE SUSTRATO EN EL CULTIVO DE Pleurotus ostreatus ESC 0112”**

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR:

CÉSAR AUGUSTO CAMEY MONTEPEQUE

En el acto de investidura como

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA NOVIEMBRE DE 2002.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR:

Ing. Agr. Efraín Medina Guerra

Junta Directiva de la Facultad de Agronomía

DECANO

VOCAL PRIMERO

VOCAL SEGUNDO

VOCAL TERCERO

VOCAL CUARTO

VOCAL QUINTO

SECRETARIO

Guatemala, noviembre de 2002.

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

Respetables Señores:

De conformidad con la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado,

**“COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE CINCO MÉTODOS DE DESINFECCIÓN
COMO UNA ALTERNATIVA A LA PASTEURIZACIÓN DE SUSTRATO EN EL
CULTIVO DE Pleurotus ostreatus ESC 0112”**

Como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que la presente investigación llene los requisitos académicos para su aprobación, me despido,

Atentamente,

César Augusto Camey Montepeque.

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS

LA VIRGEN MARÍA

MI PATRIA GUATEMALA

MI MADRE: Gloria Irma Montepeque de Camey

MI PADRE: Carlos Augusto Camey Alvarado

MI ESPOSA: Viviana Waleska Batres Nicolle de Camey

MIS HIJAS: Amanda Cristina y Ana Mercedes

MIS HERMANAS: Irma Sucelly y Gloria Karina

MI CUÑADO: José Efraín Lopez Ayerdi

MIS SOBRINOS (AS): Carlos Eduardo, Ana Gabriela, Maria Alejandra y Maria Fernanda

MIS ABUELOS: Vitalino Franco (QEPD), Oscar Camey (QEPD), Maria Olimpia Montepeque (QEPD), Delia Alvarado viuda de Camey.

MIS AMIGOS: Oscar Rivas y Wilber Raudales

A LAS FAMILIAS: Rivas Sanchez, Mansilla Domínguez, Montepeque.

MI FAMILIA EN GENERAL

MIS AMIGOS DE LA UNIVERSIDAD

MIS AMIGOS DEL TRABAJO

MIS AMIGOS DE VOLLEYBALL

MI ASESOR Y AMIGO: Lic. Romero Alfonso Pérez Morales, Q.B.

TESIS QUE DEDICO

A:

DIOS

LA VIRGEN MARIA

MI PATRIA

MI MADRE

MI PADRE

FAMILIA EN GENERAL

LA FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

MI ASESOR Y AMIGO

MIS EVALUADORES: Lic. Julio Chinchilla y Lic. Olga Leticia Mena

MI COLEGIO: LICEO GUATEMALA

MIS CATEDRÁTICOS DEL COLEGIO Y DE LA UNIVERSIDAD

MIS COMPAÑEROS DE COLEGIO, VOLLEYBALL, UNIVERSIDAD Y TRABAJO

AGRADECIMIENTOS

A:

DIOS

LA VIRGEN MARÍA

MI PATRIA

MI MADRE

MI FAMILIA EN GENERAL

MI ASESOR Y AMIGO

SUBAREA DE CIENCIAS QUÍMICAS, FACULTAD DE AGRONOMÍA, UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

CONTENIDO GENERAL

Página

Índice de cuadros	
Índice de figuras	
Resumen	
1. INTRODUCCIÓN	1
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Marco conceptual	3
3.1.1 Generalidades de los hongos	3
3.1.2 Taxonomía de <i>Pleurotus ostreatus</i>	4
3.1.3 Generalidades del cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	4
3.1.4 Etapas fundamentales para la producción de hongos comestibles	5
3.1.4 a Preparación del inóculo	5
3.1.4 b Preparación del sustrato	5
3.1.4 c La siembra e incubación	5
3.1.4 d La fructificación	6
3.1.5 Métodos de desinfección	7
3.1.5 a La pasteurización	7
3.1.5 b El hipoclorito de sodio	7
3.1.5 c Benomyl	8
3.1.5 d Tiabendazol	8
3.1.5 e Hidróxido de sodio	9
3.1.5 f Hidróxido de calcio	9
3.1.6 El Proyecto: Colecta, domesticación y producción de hongos nativos comestibles de Guatemala	10
3.2 Marco referencial	10
3.2.1 Localización del área experimental	10
3.2.2 Antecedentes	10
4. OBJETIVOS	11
4.1 General	11
4.2 Específicos	11
5. HIPÓTESIS	11
6. METODOLOGÍA	12
6.1 Preparación del primario	12
6.2 Preparación del sustrato	12
6.3 Métodos de desinfección	12
6.3.1 Pasteurización	12
6.3.2 Hipoclorito de sodio	12
6.3.3 Tiabendazol	13
6.3.4 Benomyl	13
6.3.5 Hidróxido de sodio	13

6.3.6 Hidróxido de calcio	13
6.4 Tratamientos con su código, agente desinfectante y concentración	14
6.5 Siembra e incubación	14
6.6 Variables de respuesta	15
6.7 Análisis estadístico	15
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
7.1 Eficiencia de los métodos de desinfección evaluados	17
7.2 Análisis estadístico	18
7.3 Coste de los métodos de desinfección evaluados	19
7.4 Facilidad de manejo de los métodos de desinfección evaluados	19
7.4.1 La Pasteurización	19
7.4.2 Hipoclorito de sodio e Hidróxido de sodio	19
7.4.3 Tiabendazol, benomyl e Hidróxido de calcio	20
8. CONCLUSIONES	20
9. RECOMENDACIONES	20
10. BIBLIOGRAFÍA	21
11. ANEXO	22
11.1 Cuantificación de la eficiencia biológica (EB) de <u>P. ostreatus</u> ESC 0112 en pulpa de café utilizando cinco métodos de desinfección diferentes a la pasteurización	22
11.2 Análisis estadístico paramétrico	23
11.3 Prueba de medias de Tukey	23
11.4 Datos de campo	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de <u>Pleurotus ostreatus</u>	4
Cuadro 2. Condiciones ideales para el desarrollo de <u>P. ostreatus</u>	6
Cuadro 3. Tratamientos codificados	14
Cuadro 4. Criterios de colonización del micelio de <u>Pleurotus ostreatus</u> ESC 0112 en los pasteles.	15
Cuadro 5. Rango promedio de colonización de los tratamientos evaluados	17
Cuadro 6. Análisis estadístico no paramétrico del rango de colonización de <u>Pleurotus ostreatus</u> ESC 0112.	18
Cuadro 7. Producción promedio por libra, eficiencia biológica, libras producidas en 6 libras De pulpa seca e ingresos brutos en los tratamientos evaluados	22
Cuadro 8. Análisis estadístico paramétrico sobre los datos de producción de <u>P. ostreatus</u> ESC 0112 en los tratamientos evaluados.	23
Cuadro 9. Prueba de medias de Tukey para los datos de producción de <u>P. Ostreatus</u> ESC en los tratamientos evaluados	23
Cuadro 10. Datos obtenidos en las repeticiones, producción bruta, promedio de producción por libra de pulpa seca, libras producidas por cada tratamiento e ingresos brutos en los tratamientos evaluados.	24

Cuadro 11. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio evaluadas	25
Cuadro 12. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de tiabendazol evaluadas	25
Cuadro 13. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de benomyl evaluadas	26
Cuadro 14. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de hidróxido de sodio evaluadas	26
Cuadro 15. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de hidróxido de calcio evaluadas	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes que conforman un basidiomiceto	
Figura 2. Porcentajes de colonización de <i>P. <u>Ostreatus</u></i> ESC 0112 en los tratamientos evaluados.	28
Figura 3. Eficiencia biológica de <i>P. <u>ostretus</u></i> ESC 0112 en los tratamientos evaluados	29
Figura 4. Costo de los agentes desinfectantes por libra de pulpa de café seca en los tratamientos evaluados.	30

“COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA DE CINCO MÉTODOS DE DESINFECCIÓN COMO UNA ALTERNATIVA A LA PASTEURIZACIÓN DE SUSTRATO EN EL CULTIVO DE Pleurotus ostreatus ESC 0112”

“ COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF FIVE DESINFECTION METHODS AS AN ALTERNATIVE FOR SUSTRATE PASTEURIZATION ON THE Pleurotus ostreatus ESC 0112 CULTURE”

RESUMEN

El proceso más común para la desinfección de sustrato en el cultivo de hongos comestibles, para este caso Pleurotus ostreatus ESC 0112 ha sido la pasteurización, la cual ha sido efectiva durante mucho tiempo, pero a la vez posee desventajas, tales como alto coste, difícil manejo del material antes de su enfriamiento y el tiempo necesario para realizar todo el proceso.

El coste de realización es la primera y mayor desventaja. Se ha estimado prácticamente que el coste de desinfección por medio de la pasteurización es de Q 0.36 (\$ 0.05) por libra de pulpa de café deshidratada. La segunda desventaja es la difícil manipulación del material luego de pasteurizado y previo a su enfriamiento, una opción sería mecanizar el proceso, pero obviamente aumentaría el coste. Y una tercera desventaja, es el tiempo que se necesita para llevar a ebullición el volumen de agua necesario para cubrir el sustrato que nos interesa pasteurizar, y su posterior enfriamiento previo a la inoculación.

Si se toma en cuenta que todo el proceso de pasteurización de un tonel de mezcla sustrato-agua (80 libras de sustrato) requiere alrededor de 8 horas de trabajo de una persona lo cual equivale al coste de un jornal (Q 30.00), el coste total se elevaría a Q 59.00 por tonel (Q 0.74 = \$ 0.10 por libra pasteurizada).

La gran diferencia de los métodos evaluados como una alternativa a la pasteurización, es que no tienen en su mayoría un coste mayor al del testigo. Segundo, no se hace difícil la manipulación debido a que en ningún momento se necesita calor para desinfectar el sustrato, y tercero, se ahorra bastante tiempo comparado con la pasteurización, debido a que en el mismo proceso de rehidratación de la pulpa se realiza la desinfección, ya que el agua para que se utiliza contiene los agentes desinfectantes que se evaluaron.

Luego de todo el proceso de desinfección, incubación y hasta la producción, se lograron obtener los tres mejores tratamientos, en su orden fueron: Pasteurización, hidróxido de calcio al 0.5 por ciento e hidróxido de calcio al 1.0 por ciento. Se observó que el tratamiento con hidróxido de calcio al porcentaje más bajo (0.5 por ciento) es significativamente más económico que la pasteurización (1750 por ciento).

Se observó que los dos mejores tratamientos de hidróxido de calcio, son de más bajo coste que la pasteurización y su manejo resultó más fácil, ya que no se utiliza calor para su desinfección, y lograron al mismo tiempo una colonización y producción similar comparado con el testigo.

1. INTRODUCCIÓN

La importancia de los hongos desde el punto de vista bioquímico y ecológico, se debe a que poseen un complejo sistema enzimático, el cual les permite degradar moléculas de elevado peso molecular que se encuentran en la mayoría de tejidos vegetales y en los rastrojos de cosecha provenientes de los cultivos de café, cacao, caña, entre otros.

En Guatemala uno de los problemas afrontados en el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y otros hongos comestibles es el encontrar un método de desinfección que sustituya a la pasteurización, que si bien es cierto, tiene un buen control de los microorganismos que pueden contaminar los sustratos utilizados, posee las desventajas de que su coste es muy elevado, requiere demasiado tiempo para llevarse a cabo y la manipulación del material durante el proceso resulta difícil.

Encontrar un método eficiente y barato, alternativo a la pasteurización provocaría que: se aumente la rentabilidad del cultivo de *Pleurotus ostreatus* ESC 0112, disminuya el tiempo para el proceso de desinfección del sustrato y que se vuelva fácil la manipulación del material en el transcurso de la desinfección.

La investigación sobre la producción de *Pleurotus ostreatus* ESC 0112 permite utilizar de mejor forma los subproductos de desecho de algunos cultivos agrícolas, situación que proporciona un incremento de la rentabilidad de dichos cultivos, pues se les da un valor agregado a estos residuos.

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La importancia de la desinfección de sustrato en el cultivo de hongos comestibles, en este caso *Pleurotus ostreatus* ESC 0112 se basa en que no se puede permitir que otro microorganismo (hongo o bacteria) compita con éste, al cultivarlo, debido que puede causar la reducción del rendimiento o incluso la muerte del micelio que se quiere producir.

La utilización de la pasteurización ha sido efectiva durante mucho tiempo, pero a la vez posee desventajas. La primera es el alto coste que tiene mantener el agua en ebullición durante una hora, mismo que será mayor si se utiliza leña para el proceso, sin tomar en cuenta el daño que se provoca en los recursos forestales. La segunda, la difícil manipulación del material en caliente previo a su enfriamiento. Por último, el tiempo, ya que se necesita un período prolongado para el proceso de desinfección y su ulterior enfriamiento.

En resumen los tres problemas principales que se le encuentran a la pasteurización son el alto coste, el difícil manejo del material antes de su enfriamiento y el tiempo necesario para realizar todo el proceso.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 MARCO CONCEPTUAL

3.1.1 Generalidades de los hongos

Los hongos son heterótrofos saprófitos pues obtienen su alimento de la materia orgánica muerta o parásitos, al alimentarse de hospederos vivos. Como saprófitos destruyen plantas y restos de animales degradándolos a formas químicas simples que pasan a formar parte del suelo y, finalmente, son absorbidas por otras generaciones de plantas.

Los hongos son microorganismos eucarióticos quimioorganotróficos, se reproducen de manera natural por medio de esporas, aunque hay algunas excepciones. No tienen clorofila. Sus cuerpos son usualmente alargados o filamentosos. Los filamentos poseen pared celular que contiene quitina o celulosa, o las dos. La mayor parte de los hongos son inmóviles, si bien pueden tener células reproductoras móviles (6).

Las esporas se producen de dos maneras en casi todas las clases de hongos: sexual y asexual. Las producidas en forma sexual tienen núcleo derivado de las células originales. Por lo regular, tanto las células antecesoras como las esporas son haploides; dos núcleos de las células antecesoras se funden para formar un núcleo diploide del cigoto. El núcleo haploide de la espora deriva de este núcleo por división nuclear reductiva. Las esporas producidas en forma asexual se desarrollan por simple diferenciación del talo en crecimiento.

Fisiológicamente, los hongos se adaptan a condiciones más severas que la mayoría de los otros microorganismos. Por ejemplo, los hongos se desarrollan en sustratos con concentraciones de azúcares altas que las bacterias no pueden tolerar, ya que los hongos son más resistentes a la presión osmótica elevada. Los hongos toleran y se desarrollan en concentraciones de acidez relativamente elevadas. Soportan escalas de pH entre 2 a 9.0, pero el pH óptimo para casi todas las especies es de 5.6.

Cuando el medio se deseca, los hongos producen esporas (clamidosporas) o pasan al estadio de resistencia, a diferencia de la mayoría de las bacterias que son inhibidas por la falta de humedad.

Casi todos los hongos son estrictamente aerobios, su crecimiento lo incrementa la presencia de abundante oxígeno; se desarrollan en condiciones de temperatura muy variadas, pero de 22 a 30 °C es el rango óptimo para la mayor parte de las especies.

En la Figura 1 se muestran las partes principales que conforma un basidiomiceto.

Figura 1. Partes que conforman un basidiomiceto.

3.1.2 Morfología y Taxonomía de *Pleurotus ostreatus*

El sombrerillo de esta seta es redondeado, con la superficie lisa, abombada y convexa cuando es joven, aplanándose luego poco a poco. El borde está algo enrollado al principio. Su diámetro oscila entre 5 y 15 cm, dependiendo de la edad del hongo. El color es variable, desde gris claro o gris pizarra hasta pardo, tomando una coloración más amarillenta con el tiempo.

En la parte inferior del sombrero hay unas laminillas dispuestas radialmente como las varillas de un paraguas, que van desde el pie o tallo que lo sostiene, hasta el borde. Son anchas, espaciadas unas de otras, blancas o crema, a veces bifurcadas, y en ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie. Estas esporas son pequeñas, oblongas, casi cilíndricas, que en gran número forman masas de polvo o esporadas, de color blanco con cierto tono lila-grisáceo.

El pie suele ser corto, algo lateral u oblicuo, ligeramente duro, blanco, con el principio de las laminillas en la parte de arriba y algo peloso en la base. Pueden crecer de forma aislada sobre una superficie horizontal o en grupo formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles. La carne de la seta es blanca, de olor algo fuerte, tierna al principio y después correosa.

En el cuadro 1 se presenta la clasificación taxonómica del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Cuadro 1. Clasificación de *Pleurotus ostreatus*.

Reino:	Mycetae (Fungi)
División:	Eumycota (Eumicetos y hongos verdaderos)
Subdivisión:	Basidiomycotina (Basidiomicetos u hongos en forma de clava)
Clase:	Hymenomycetes (Hongos de la pudrición de la raíz y de la descomposición de la madera)
Orden:	Agaricales
Género:	<u><i>Pleurotus</i></u> .
Especie:	<u><i>Pleurotus ostreatus</i></u> .

Fuente: (1)

3.1.3 Generalidades del cultivo de *Pleurotus ostreatus*

El crecimiento del género de *Pleurotus*, está supeditado a ciertos factores como son: la temperatura, la humedad del ambiente, la humedad del sustrato, el pH, las concentraciones de CO₂ y O₂ y la luz. Las condiciones más adecuadas de estos factores dependen del tipo de desarrollo que se busca del hongo, si es para crecimiento del micelio o para propiciar la fructificación (7).

El micelio de *Pleurotus* crece bien en un amplio rango de temperaturas que va desde arriba de 10 °C hasta 40 °C como límite superior; sin embargo, la temperatura óptima oscila alrededor de los 25 °C. Es de hacer notar que la observancia de una temperatura adecuada para el desarrollo del hongo incide directamente en el rendimiento obtenido.

La falta de humedad ambiental inhibe la fructificación. Para el caso específico de *P. ostreatus* se ha observado que una humedad de 80 – 85 por ciento es mejor.

En general, los hongos requieren luz de longitudes de onda cortas (cargado hacia el color azul del espectro). Si la luz se proporciona con lámparas fluorescentes, que son ricas en luz azul, la luz que se debe aportar a los hongos debe ser en cantidad suficiente para que se pueda leer material impreso (aproximadamente 150-200 lux).

La concentración de CO₂ es muy importante para el desarrollo de *Pleurotus*. Una concentración relativamente alta de 20-25 por ciento es útil para propiciar el crecimiento del micelio. Sin embargo concentraciones superiores al 0.6 por ciento inhiben la formación de primordios. Una ventilación deficiente se manifiesta en deformaciones del cuerpo fructífero.

3.1.4 Etapas fundamentales para la producción de hongos comestibles

a. Preparación del inóculo

Se refiere a la siembra y propagación del micelio a partir de un tubo inclinado que contenga la cepa original en buenas condiciones fisiológicas. La siembra se hace en caja de Petri, sobre agar malta, agar papa dextrosa, agar de sabouraud, etc. Se incuba a 18 °C durante 8 días aproximadamente en oscuridad. Al cabo de este período, el hongo se resiembra en un sustrato intermedio (grano) en cantidad suficiente para que una vez desarrollado su micelio, la mezcla grano-hongo se use como semilla en la siembra del sustrato definitivo. En este caso se busca una colonización rápida y económica que optimice la fructificación del hongo. El grano se esteriliza a 121 °C durante 30 minutos, se deja enfriar para después inocularlo en condiciones de asepsia rigurosa con micelio proveniente de 1 cm² del hongo, que se ha cultivado previamente en caja de Petri. Una vez inoculada, cada porción de 200 gramos debidamente embolsada se incuba durante 10-15 días a 28 °C en oscuridad. A cada porción así preparada se le denomina “primario”. A partir de un primario, se pueden tomar estérilmente 8-10 porciones de grano para ser sembrados en el mismo número de bolsas que contengan el sustrato intermedio estéril. Esta nueva porción se incuba a las mismas condiciones que los primarios. Una vez crecido el hongo, a estos segundos paquetes de grano-hongo se les denomina “secundarios”. La utilización de secundarios como semilla es recomendada porque se disminuye el consumo de agar y medios sintéticos, la propagación del hongo en el secundario es más rápida en razón de estar ya adaptado al grano, se puede inocular mayor cantidad de porciones y porque la transferencia de primario a secundario es más sencilla y menos delicada que la transferencia de caja de Petri a primario. No se recomienda preparar “terciarios”.

b. Preparación del sustrato

Esta parte comprende la fermentación (en el caso de la pulpa de café y bagazo de caña), el picado (en el caso de pajas), el secado y la fracturación o quiebra (en el caso de la cáscara de cacao u olote de maíz), la hidratación y escurrimiento, la desinfección y finalmente el enfriamiento (si se utiliza la pasteurización). Por último si se trata de una mezcla, el mezclado de los materiales que servirán como soporte para el crecimiento y fructificación del hongo.

c. La siembra e incubación

Se refiere al momento de inocular el sustrato con el hongo y al período de espera o reposo que se debe dar al sustrato inoculado para permitir el adecuado desarrollo del micelio. La siembra se realiza agregando y distribuyendo en capas alternas los 200 gramos de un secundario en 4-7 Kg. de sustrato. La mezcla sustrato-secundario se acomoda dentro de una bolsa de polietileno.

Al terminar la siembra, la bolsa se cierra por medio de un nudo teniendo cuidado de eliminar el aire del interior. La incubación de las bolsas ya inoculadas se realiza en un local especial para tal fin: “la sala de incubación”, donde se colocan los pasteles a 28 °C durante 10-15 días, según el sustrato. Durante la incubación, dos días después de haber efectuado la siembra, se hacen unas 800 perforaciones perfectamente distribuidas sobre toda la superficie de cada bolsa de polietileno que se ha sembrado. Esto es para permitir un mejor intercambio gaseoso y un mejor crecimiento del hongo.

d. La fructificación

Después de la incubación, cuando ya ha crecido bien el micelio y ha formado una superficie blanco-algodonosa que cubre totalmente el sustrato, es el momento de eliminar la bolsa de polietileno y pasar la masa hongo-sustrato formada a la sala de fructificación. La sala de fructificación debe ser un área limpia, dedicada exclusivamente a la fructificación del hongo. En el Cuadro 2 se detallan las condiciones necesarias para el caso de *Pleurotus*:

Cuadro 2. Condiciones ideales para el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*

Condición	Óptimo
Humedad del sustrato	50 %
pH del sustrato	6.5 – 7.0
Humedad relativa	85 – 90 %
Temperatura	26 – 28 °C
Luz	Suficiente para leer
Ventilación	4 – 6 veces el volumen de la sala/hora

Fuente: (7)

Otro aspecto importante es el riego. Generalmente aunque sea sólo en algunas horas del día, es necesario aplicar riegos en el cuarto de fructificación para aumentar la humedad y evitar el resecamiento del sustrato. Los riegos deben hacerse de preferencia por medio de pulverización hacia el ambiente. También se puede efectuar riegos directos hacia el sustrato, sin embargo el chorro de agua debe ser suave para no dañar los cuerpos fructíferos.

De 2 – 5 días después de haber llevado los pasteles a la sala de fructificación y de haber eliminado la bolsa de polietileno, empiezan a aparecer los primordios, es decir, los primeros cuerpos fructíferos. Cuatro días después, los primordios se han desarrollado bien, cubren la totalidad de la superficie del pastel y estarán en madurez comercial, listos para ser cosechados.

Para cosechar se debe esperar a que los carpóforos alcancen el mayor tamaño posible, sin permitir que el borde del píleo comience a enrizarse hacia arriba.

3.1.5 Métodos de desinfección

Tradicionalmente se ha utilizado el proceso de pasteurización como el método de referencia, sin embargo, el método es caro y de difícil manejo. En este proyecto se utilizarán además de la pasteurización, antimicóticos, antibacterianos y/o bacteriostáticos de uso agrícola y caseros, con el fin de eliminar la microbiota presente en los sustratos.

a. La pasteurización

Su función es eliminar o inhibir la mayor cantidad de organismos que puedan competir con el hongo en la utilización del sustrato. Es necesario recalcar la importancia que reviste el hecho de introducir el sustrato únicamente cuando el agua ya alcanzó la temperatura mínima de 90 °C.

Esto provoca un choque térmico, muy brusco, que es difícil de soportar por los organismos que se encuentren sobre el sustrato. Si el sustrato se agrega desde antes de que el agua alcance esta temperatura, muchos organismos termorresistentes tendrán la posibilidad de adaptarse al incremento paulatino de la temperatura y en ese caso la pasteurización no será eficiente (7).

El calor provocado por la pasteurización hace que el protoplasma celular se coagule en una masa sólida, como resultado de la desnaturalización de las proteínas y demás biomoléculas presentes en él. Las proteínas celulares, la mayoría de las cuales son enzimas, normalmente se hallan finamente divididas y dispersas en un estado coloidal. Cuando las partículas suspendidas (micelas) se aglomeran, formando un gel o coágulo, el organismo no puede seguir funcionando como una célula viva (2).

Se realizaron cálculos experimentales del coste de pasteurización de tres y media libras de pulpa seca de café, y se estimó un uso de 0.65 libras de propano consumidas en el proceso. El coste promedio por libra de gas propano es de Q 2.00 (\$ 0.26), por lo tanto el coste de pasteurizar las tres libras y media es de Q 1.30 (\$ 0.17), y el coste de una libra es de Q 0.37 (\$ 0.05), sin tomar en cuenta la mano de obra, lo cual tiene un coste de Q 0.33 por libra de pulpa seca.

b. El hipoclorito de sodio

El cloro que es un agente oxidante fuerte, logra desnaturalizar algunas enzimas celulares por la supresión de grupos sulfhidrilos (-SH) libres esenciales. Hay muchas enzimas y coenzimas en los microorganismos, cuyas cadenas laterales terminan en grupos sulfhidrilo y no pueden funcionar, a menos que estos grupos -SH permanezcan libres.

Se considera necesaria una concentración final aproximada de 0.5 a 1.0 partes por millón de cloro activo en los casos generales (2).

El coste de desinfección por libra de pulpa seca de las cuatro dosis evaluadas, 25, 50, 75 y 100 ppm de cloro activo es respectivamente en quetzales: 0.05, 0.10, 0.15 y 0.20.

c. Metil 1- (butilcarbamoil)-2-benzimidazol carbamato (benomyl, benomilo, benomil)

Este compuesto es un fungicida sistémico, con acción preventiva y curativa que protege contra una gran diversidad de hongos patógenos. Posee un alto grado de actividad contra Ascomicetos e Imperfectos, controlando incluso, algunos Basidiomicetos. El control sobre Ficomicetos es poco o ninguno. Posee un buen control de ácaros a través de su acción ovicida. El benomyl actúa sobre una proteína -la *tubulina*- componente vital de las células de los hongos e indispensable para la división celular.

El resultado es que este compuesto detiene todas las formas de desarrollo de los hongos: la germinación de las esporas, el crecimiento del micelio y la formación de apresorios y de haustorios. Con ello, los hongos quedan imposibilitados de alimentarse y mueren, evitando además, la formación de nuevas esporas, lo cual, reduce la propagación de los hongos. Los mejores resultados de la aplicación de Benomyl se obtienen aplicándolo inmediatamente después de iniciada la infección o cuando las condiciones favorezcan el desarrollo de la enfermedad. Benomil puede provocar resistencia de los hongos patógenos. Para evitarlo se alterna las aplicaciones con fungicidas de acción diferente, o se mezcla con fungicidas protectantes (p.ej. Mancozeb) (3).

El coste de desinfección por libra de pulpa seca de las cuatro dosis evaluadas (20, 40, 60 y 80 gramos de producto comercial por 100 litros de agua) es respectivamente en quetzales: 0.51, 1.02, 1.53 y 2.04.

d. 2-(4-tiazolil)-bencimidazol (Tiabendazol)

Es un compuesto estable tanto en agua a temperaturas altas y bajas, como en soluciones ácidas y alcalinas. No es volátil a temperatura ambiente; se sublima al calentarse fuertemente a 310 °C y más a la presión atmosférica normal. Es un fungicida sistémico, de amplio espectro, efectivo contra gran variedad de hongos patógenos. Es resistente al clima.

Utilizado en las dosis recomendadas no daña los tejidos de las plantas, ni a los animales ni a las personas; tampoco es tóxico para las abejas ni peligroso para los peces y la vida silvestre. No causa irritación a los trabajadores del campo, ni al personal de empaque, así como tampoco dejan sabores ni olores o residuos de aspecto desagradable en las cosechas. Puede aplicarse por aspersión, espolvoreo y en ultra bajo volumen, o bien, sublimado en aplicaciones térmicas. Puede aplicarse antes y después de las cosechas, en hortalizas, frutas, cultivos, cereales, césped, ornamentales y como tratamiento para las semillas.

En Champiñones (*Agaricus sp.*) el tiabendazol controla el nemátodo parasítico (*Aphelenchoides composticola*), la telaraña (*Dactylium dendroides*), la enfermedad de la burbuja húmeda (*Mycogone perniciosa*) y de la burbuja seca (*Verticillium fungicola*) y el moho verde (*Trichoderma spp*). El producto se puede incorporar en el material usado como sustrato y antes de la cosecha. La dosis recomendada en el sustrato es de 19 a 23 gramos de ingrediente activo por 100 Kg. de material. Durante la cosecha entre escurridas aplicar de 12 a 120 gramos de ingrediente activo por 100 m² (4).

De las dosis evaluadas de Tiabendazol (10, 20, 30 y 40 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato) el coste de desinfección por libra de pulpa seca es respectivamente, en quetzales: 0.05, 0.10, 0.15 y 0.20.

e. El hidróxido de sodio

Este provoca un cambio en el pH del medio hacia la alcalinidad, causando así un control por medio químico, ya que disminuyen la actividad catalítica de las enzimas de las células de los microorganismos contaminantes o las inactiva. Es soluble, proporciona una solución extremadamente alcalina y corrosiva. Puede desnaturalizar al sustrato.

El coste del hidróxido de sodio para desinfectar una libra de pulpa seca, en las cuatro dosis evaluadas (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento) es respectivamente, en quetzales: 0.16, 0.32, 0.48 y 0.64.

f. Hidróxido de calcio

Al igual que el anterior éste provoca un cambio en el pH del medio, causando así un control por medio químico, ya que disminuye la actividad catalítica de las enzimas de las células de los microorganismos contaminantes o las inactiva. Es poco soluble, proporciona una solución alcalina pero la concentración de OH^- no es tan grande como con el NaOH, por lo que no alterará la estructura del sustrato.

El coste de los tratamientos evaluados (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento) para desinfectar una libra de pulpa seca de café con el hidróxido de calcio es respectivamente, en quetzales: 0.04, 0.07, 0.11 y 0.15.

3.1.6 El Proyecto: Colecta, domesticación y producción de hongos nativos comestibles de Guatemala

Durante los años 1997 y 1998 la Subárea de Ciencias Químicas de esta Facultad, desarrolló experiencias sobre el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, a nivel de Laboratorio abierto y Problema especial. Debido a los resultados obtenidos y a las expectativas generadas, el Coordinador de dicha Subárea y Asesor de la presente Tesis, propuso un proyecto que permitiera la producción de especies comestibles de hongos nativos de Guatemala. El proyecto inició con el estudio de diferentes materiales que pueden ser utilizados como sustratos para la producción de este tipo de hongos y posteriormente la colecta, domesticación y producción de estas cepas nativas. El presente proyecto es una parte de este proyecto específico de la etapa de producción, que tiene el propósito de buscar por lo menos un proceso alternativo a la pasteurización, en la desinfección del sustrato definitivo, en el cual se desarrollan el micelio y cuerpos fructíferos.

3.2 MARCO REFERENCIAL

3.2.1 Localización del área experimental

La fase de laboratorio de esta investigación se realizó en los laboratorios de la Subárea de Ciencias Químicas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala; y la fase de producción en la planta privada ubicada en la 12 ave. 3-24 zona 2, Ciudad de Guatemala.

3.2.2 Antecedentes

Según la bibliografía consultada (libros, documentos e internet), no existe ningún estudio previo donde se hayan evaluado dosis de agentes desinfectantes como alternativa a la pasteurización de sustrato en el cultivo de *P. ostreatus*.

Esta investigación forma parte del Proyecto de colecta, domesticación y producción de hongos nativos comestibles de Guatemala, desarrollado por la Facultad de Agronomía de la USAC, en la cual se buscan alternativas en una parte del proceso de producción, específicamente en la fase de desinfección del sustrato definitivo.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

- 4.1.1 Comparar la eficiencia y coste de cinco métodos de desinfección de sustrato distintos a la pasteurización en el cultivo de Pleurotus ostreatus ESC 0112.

4.2 ESPECÍFICOS

- 4.2.1 Comparar la eficiencia de cinco métodos de desinfección del sustrato diferentes a la pasteurización en el cultivo de Pleurotus ostreatus ESC 0112, utilizando el porcentaje de colonización del micelio como indicador.
- 4.2.2 Determinar el coste del hipoclorito de sodio, del benomyl, del tiabendazol, del hidróxido de sodio y del hidróxido de calcio evaluados como opciones a la pasteurización en el cultivo de Pleurotus ostreatus ESC 0112.
- 4.2.3 Comparar la facilidad de manipulación del sustrato luego de la desinfección al emplear cinco métodos distintos a la pasteurización en el cultivo de Pleurotus ostreatus ESC 0112.

5. HIPÓTESIS

- 5.1 Los tratamientos con hidróxido de calcio, debido a su poca solubilidad y a la formación de una solución alcalina no extrema, presentarán la misma eficiencia en colonización, tendrán un menor coste y serán más fáciles de manejar durante el proceso que los tratamientos pasteurizados utilizados, en este proyecto, como testigo.

6. METODOLOGÍA

6.1 Preparación del primario

Se realizó la siembra y propagación del micelio a partir de un tubo inclinado que contenía la cepa original en buenas condiciones fisiológicas. La siembra se hizo en caja de Petri, sobre agar papa dextrosa (PDA). Se incubó a 25 °C durante 8 días aproximadamente en oscuridad. Al cabo de este período, el hongo se resembró en un sustrato intermedio (grano de sorgo) en cantidad suficiente para que una vez desarrollado su micelio, la mezcla grano-hongo se utilizó como semilla en la siembra del sustrato definitivo. El grano de sorgo se esterilizó a 121 °C durante 30 minutos, se dejó enfriar para después inocularlo en condiciones de asepsia rigurosa, con micelio proveniente de 1 cm² del hongo, cultivado previamente en caja de Petri. Una vez inoculada, cada porción de 200 gramos debidamente embolsada se incubó durante 10-15 días a 28 °C, en oscuridad. A cada porción así preparada se le llamó “primario”.

6.2 Preparación del sustrato

Este proceso incluyó la fermentación, que consistió en apilar la pulpa de café en toneles durante cinco días con agitaciones diarias; luego se deshidrató la pulpa para lograr así un buen almacenaje. Previo a su inoculación la pulpa se rehidrató durante 24 horas, colocando una libra de pulpa seca en una bolsa de 25 libras, utilizando 8 litros de agua por cada libra de pulpa.

6.3 Métodos de desinfección

6.3.1 Pasteurización

Después de la rehidratación, se calentó (con gas propano) suficiente agua en un medio tonel para que cubriera el material sujeto a la pasteurización, cuando alcanzó 90 °C, se agregó la pulpa dentro de sacos de tela de manta, se esperó que se alcanzara la temperatura de ebullición y se mantuvo una hora. Finalmente se sacó para eliminar el exceso de agua y se enfrió a temperatura ambiente.

6.3.2 Hipoclorito de sodio

Durante la rehidratación (24 horas), se realizó al mismo tiempo la desinfección, ya que al rehidratar la pulpa de café se hizo con agua a la que se le agregó hipoclorito de sodio (25, 50, 75 y 100 ppm). Luego del proceso rehidratación-desinfección se eliminó el exceso de solución desinfectante abriendo unos agujeros en la parte baja de la bolsa. No se realizó lavado del exceso de solución desinfectante.

6.3.3 Tiabendazol

En el período de rehidratación, se incluyó al mismo tiempo la desinfección, ya que al rehidratar la pulpa de café se hizo con agua a la que se le agregó tiabendazol (10, 20, 30 y 40 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato), finalmente se eliminó el exceso de solución desinfectante del mismo modo que se realizó con el hipoclorito de sodio. No se realizó lavado del exceso de solución desinfectante.

6.3.4 Benomyl

En el transcurso de la rehidratación se realizó al mismo tiempo la desinfección, ya que el agua que se utilizó para rehidratar se le agregó Benomyl (20, 40, 60 y 80 gramos de producto comercial al 50 por ciento por 100 litros de agua), seguido a esto se eliminó el exceso de solución desinfectante del mismo modo que se realizó con el hipoclorito de sodio. No se realizó lavado superficial del exceso de solución desinfectante de benomyl.

6.3.5 Hidróxido de sodio

En la rehidratación se realizó al mismo tiempo la desinfección, ya que en el agua para rehidratar se solubilizó hidróxido de sodio (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento), se eliminó el exceso de solución desinfectante de la misma manera que el Hipoclorito de sodio. Para el lavado superficial del exceso de hidróxido de sodio se realizó un lavado por 10 a 15 segundos con el grifo del lavamanos, con el fin de eliminar el exceso de la solución desinfectante que pudiera dañar el posterior cultivo del hongo de interés.

6.3.6 Hidróxido de calcio

Al mismo tiempo que se rehidrató el sustrato, se desinfectó, ya que el agua con que se rehidrató se le agregó hidróxido de calcio (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento). No se realizó lavado superficial del exceso de hidróxido de calcio, sólo se drenó la mayor cantidad posible de hidróxido de calcio no disuelto; con el fin de evitar daños posteriores al cultivo del hongo de interés.

Cada unidad experimental, consistió en una libra de pulpa seca de café en una bolsa plástica de 25 libras para los cinco agentes desinfectantes, la cual se rehidrató y desinfectó, con una solución de 8 litros del agente desinfectante a la dosis necesaria para una libra de pulpa. Para la pasteurización se utilizó la misma cantidad de pulpa seca en bolsas de manta.

6.4 Tratamientos con su código, agente desinfectante y concentración:

En el Cuadro 3, se detalla el código que se le asignó a cada tratamiento, en qué consistió el tratamiento y la concentración a la que se trabajó cada uno de ellos.

Cuadro 3. Tratamientos codificados

Código	Tratamiento	Concentraciones
P	Pasteurización	
Cl1	Hipoclorito de sodio	25 partes por millón
Cl2	Hipoclorito de sodio	50 partes por millón
Cl3	Hipoclorito de sodio	75 partes por millón
Cl4	Hipoclorito de sodio	100 partes por millón
T1	Tiabendazol	10 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato
T2	Tiabendazol	20 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato
T3	Tiabendazol	30 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato
T4	Tiabendazol	40 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato
B1	Benomyl	20 gramos de P.C. por 100 litros de agua
B2	Benomyl	40 gramos de P.C. por 100 litros de agua
B3	Benomyl	60 gramos de P.C. por 100 litros de agua
B4	Benomyl	80 gramos de P.C. por 100 litros de agua
Na1	Hidróxido de sodio	0.5 por ciento
Na2	Hidróxido de sodio	1.0 por ciento
Na3	Hidróxido de sodio	1.5 por ciento
Na4	Hidróxido de sodio	2.0 por ciento
Ca1	Hidróxido de calcio	0.5 por ciento
Ca2	Hidróxido de calcio	1.0 por ciento
Ca3	Hidróxido de calcio	1.5 por ciento
Ca4	Hidróxido de calcio	2.0 por ciento

6.5 Siembra e incubación

En esta fase se inoculó el sustrato con el hongo y se le dió el tiempo necesario para permitir el adecuado desarrollo del micelio. La siembra se realizó agregando y distribuyendo en capas alternas de un “primario” en la pulpa rehidratada y desinfectada proveniente de una libra de pulpa seca. La mezcla sustrato-primario se acomodó en bolsas de polietileno de veinticinco (25 libras).

Al terminar la siembra, la bolsa se cerró con un nudo teniendo el cuidado de eliminar el aire del interior. Los pasteles se colocaron a 26 °C durante el lapso transcurrido desde su inoculación hasta la colonización total del sustrato testigo (10 a 15 días). Durante la incubación, dos días después de haber efectuado la siembra, se realizaron unas 800 perforaciones con un peine de clavos estéril, perfectamente distribuidas sobre toda la superficie de cada bolsa de polietileno que se ha sembrado.

6.6 Variables de respuesta

Para medir la eficiencia de los cinco métodos de desinfección se tomaron los porcentajes de área cubierta por *Pleurotus ostreatus* ESC 0112, en la pulpa de café en todas las dosis de los diferentes agentes desinfectantes, y se les asignó el rango según el porcentaje promedio que obtuvo cada tratamiento.

Se determinó únicamente el costo del agente desinfectante, ya que en todos los tratamientos es el único costo variable.

Para comparar la facilidad de manejo se tomó en cuenta las características de la solución del agente desinfectante (viscosidad) por la dificultad que ocasiona una solución muy viscosa, y en el caso de la pasteurización se tomó en cuenta el manejo en caliente que se debe hacer durante el proceso.

En el Cuadro 4 se explica el código que se le asignó al porcentaje de colonización obtenido en los diferentes tratamientos y el rango de crecimiento que se tomaba al finalizar el experimento.

Cuadro 4. Criterios de crecimiento del micelio de *P. Ostreatus* ESC 0112 en los pasteles.

Crecimiento	Porcentaje	Código
Nulo	0	N
Regular	0 – 25	R
Bueno	26 – 50	B
Abundante	51 – 75	A
Excelente	76 – 100	E

6.7 Análisis estadístico

Para la obtención de la información se realizó un diseño experimental completamente al azar con 6 repeticiones por cada tratamiento.

El modelo estadístico para este diseño experimental fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}; \text{ donde}$$

Y_{ij} = variable de respuesta de la ij-ésima unidad experimental,

μ = media general,

α_i = efecto del i-ésimo tratamiento (dosis de algún método de desinfección)

ε_{ij} = error experimental

Para esta investigación se definió como unidad experimental las bolsas de sustrato (pasteles) desinfectados e inoculados con el micelio de *Pleurotus ostreatus* ESC 0112.

Para analizar cual de los tratamientos es mejor cualitativa y cuantitativamente se procedió a un análisis de resultados por medio de un análisis de varianza de una clasificación por rangos de Kruskal-Whallis.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Eficiencia de los métodos de desinfección evaluados

Durante los cuatro muestreos realizados en el experimento y el posterior trabajo de tabulación de datos, se determinaron los mejores tratamientos que permitieron la óptima colonización y desarrollo de *Pleurotus ostreatus* ESC 0112, los cuales fueron: la pasteurización y el hidróxido de calcio a 0.5 y 1.0 por ciento, teniendo una relación inversamente proporcional entre colonización y desarrollo versus dosis. Además se comprobó que todos los demás tratamientos evaluados con sus respectivas dosis no permiten una buena colonización ni un buen desarrollo del hongo en mención.

Como puede verse en el cuadro 7, la producción de los tres mejores tratamientos, pasteurización (701.5 g por libra de pulpa), hidróxido de calcio 0.5 por ciento (694.17 g por libra de pulpa) e hidróxido de calcio 1.0 por ciento (649.50 g por libra de pulpa) son bastante similares, lo cual se confirma en el Cuadro 9, donde se realizó la prueba de medias de Tukey, donde los tres mejores tratamiento antes mencionados no tienen diferencia significativa, y estadísticamente son iguales, bajo las condiciones que se realizó el experimento.

El tratamiento que mostró una colonización nula en sus cuatro dosis fue el hidróxido de sodio, lo cual pudo haberse dado debido a la solución extremadamente alcalina que provoca este agente desinfectante, lo cual al mismo tiempo puede desnaturalizar el sustrato y no hacerlo apto para el cultivo del hongo en interés en este estudio. Para fines del estudio el Benomyl, el Hipoclorito de sodio y el Tiabendazol, todos en sus diferentes dosis, a pesar de haber tenido una producción cuantificable no son útiles ya que no logran establecer uniformidad en colonización y existen algunas repeticiones y dosis que no son favorables para el crecimiento del hongo de interés.

En el Cuadro 5 se presenta un resumen de los resultados obtenidos en la colonización de los tratamientos evaluados:

Cuadro 5. Rango promedio de colonización de los tratamientos evaluados

Trat.	P	Ca1	Ca2	Ca3	Ca4	B1	B2	B3	B4	Cl1	Cl2	Cl3	Cl4	T1	T2	T3	T4	Na1	Na2	Na3	Na4
R. Col	E	E	E	E	A	B	B	B	R	N	R	N	R	N	B	N	B	N	N	N	N

Clave: R Col=Rango de colonización. E=Excelente (76-100 por ciento), A=Abundante (51-75 por ciento), B=Bueno (26-50 por ciento), R=Regular (0-25 por ciento) y N=Nulo (0 por ciento).

En el apéndice se presentan los resultados por cada tratamiento con su respectiva dosis y repetición obtenidos a lo largo del ensayo.

7.2 Análisis estadístico

Debido a que: los errores siguen una distribución normal e independiente con media cero y varianza constante, existe homogeneidad de varianzas entre los tratamientos y el modelo es completamente aditivo, se realizó el análisis de varianza de una clasificación por rangos de Kruskal-Whallis, obteniéndose los datos del cuadro siguiente, que como se puede observar, los tratamientos con media más alta y al mismo tiempo estadísticamente iguales son P (Pasteurización), Ca1 (Hidróxido de calcio 0.5 por ciento) y Ca2 (Hidróxido de calcio 1.0 por ciento).

En el cuadro 6 se presentan los resultados obtenidos en el análisis no paramétrico del rango de colonización.

Cuadro 6. Análisis estadístico no paramétrico del rango de colonización de *Pleurotus ostreatus* ESC 0112.

NPAR1WAY PROCEDURE

Análisis de varianza de la variable Y clasificado por Trat.

Trat	N	Mean	Among MS	Within MS
P	4	2.75000000	4.04047619	0.650793651
Ca1	4	2.75000000	F value	Prob mayor F
Ca2	4	2.75000000		
Ca3	4	2.50000000	6.209	0.0001
Ca4	4	1.75000000		
B1	4	1.00000000		
B2	4	1.00000000		
B3	4	1.00000000		
B4	4	0.75000000		
Cl1	4	0.00000000		
Cl2	4	0.75000000		
Cl3	4	0.00000000		
Cl4	4	0.75000000		
T1	4	0.00000000		
T2	4	1.25000000		
T3	4	0.00000000		
T4	4	1.00000000		
Na1	4	0.00000000		
Na2	4	0.00000000		
Na3	4	0.00000000		
Na4	4	0.00000000		

Average Scores were used for Ties

7.3 Coste de los métodos de desinfección evaluados

El único costo que varía en el proceso para todos los tratamientos evaluados es el costo del agente desinfectante de la pulpa de café, así, si se toma en cuenta que pasteurizar una libra de pulpa cuesta alrededor de Q 0.70 y se compara con el método más económico el Hidróxido de calcio 0.5 por ciento (Ca1) el cual tiene un coste de Q 0.04 y a su vez fue igual estadísticamente hablando en cuanto a colonización y producción con el primero, se sobreentiende que la rentabilidad del segundo será mucho mejor que la del testigo.

Como puede verse en el cuadro 5, los tratamientos que tienen los mejores rangos de colonización (Excelente 76 a 100 por ciento), Pasteurización, Hidróxido de calcio al 0.5, 1.0 y 1.5 por ciento, tienen una relación directamente proporcional a la producción promedio por libra de pulpa, eficiencia biológica y los ingresos brutos, que aparecen en el Cuadro 7. Tomando en cuenta la gráfica de costo de desinfección por libra de pulpa de café seca de los tratamientos que se evaluaron, vemos que los mejores tratamientos como alternativa a la pasteurización tienen al mismo tiempo los menores costos. Por lo que asumimos que bajo condiciones normales de mercado obtendríamos la mejor rentabilidad.

7.3 Facilidad de manejo de los métodos de desinfección evaluados

7.3.1 La Pasteurización

Primero debe realizarse el proceso de desinfección luego de que se ha rehidratado la pulpa. La principal desventaja que muestra el método de desinfección por pasteurización es el manejo en que debe hacerse al sumergir y sacar la pulpa envuelta en sacos en agua muy caliente, ya que puede ocasionar quemaduras en el trabajador. Además debe esperarse el tiempo necesario (cerca de 12 horas) para que se enfríe a temperatura ambiente, lo cual hace perder demasiado tiempo.

7.3.2 Hipoclorito de sodio e Hidróxido de sodio

Estas soluciones tienen la desventaja que vuelven deslizantes las superficies que entran en contacto con ellas, lo que dificulta el manejo de bolsas y otros materiales utilizados durante la desinfección y siembra de pasteles, pues vuelven al material resbaloso. En este caso el proceso se realiza al mismo tiempo que la rehidratación, lo cual implica un ahorro de tiempo.

7.3.3 Tiabendazol, Hidróxido de calcio y Benomyl

Estos agentes desinfectantes tienen características deseables en la solución al momento de manejar el proceso de desinfección y rehidratación, ya que las soluciones presentan las mismas características de manejo que el agua. Además, al igual que el proceso anterior, la desinfección se realiza al mismo tiempo que la rehidratación.

8. CONCLUSIONES

1. Con base en el porcentaje de colonización, los tres métodos más eficientes son, en orden de mayor a menor: Pasteurización, Hidróxido de calcio 0.5 por ciento e Hidróxido de calcio 1.0 por ciento, sin mostrar entre ellos diferencia significativa.
2. Los tratamientos con hidróxido de calcio 0.5 por ciento es 1750 por ciento mas económico que el testigo.
3. Los métodos cuyo manejo se hace más fácil son el Benomyl, Tiabendazol e Hidróxido de sodio.
4. Los tratamientos de hidróxido de calcio al 0.5 y 1.0 por ciento, son igualmente eficientes en colonización, tienen un menor coste y al mismo tiempo son más fáciles de manejar durante el proceso de desinfección de la pulpa que el testigo (Pasteurización).

9. RECOMENDACIONES

1. Utilizar el hidróxido de calcio (Cal comercial 0.5 por ciento, 5 g/litro de agua ó 1 Kg/200 litros de agua), como método de desinfección alternativo a la pasteurización.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. AGRIOS, G. 1996. Fitopatología. Trad. Por Manuel Guzmán Ortiz. 2ª. Edición. Balderas 95, México, D.F. Editorial Limusa. 838 p.
2. BURDON, K.; WILLIAMS, R. 1985. Microbiología. Trad. Por Antonio Oriol, Carlos de la Vega y Francisco García. México. Publicaciones cultural. 830 p.
3. DU PONT. S.f. Cualidades de Benlate, Información técnica. Guatemala. 16 p.
4. MERCK. 1991. Tecto / Mertect (Tiabendazol, MSD). Cuarta edición. Guatemala. 50 p.
5. MIYARES, R. 1986. Paquete de programas en lenguaje Basic para pruebas estadísticas no paramétricas usuales. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía. 382 p.
6. PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. 1982. Microbiología general. Trad. Por Antonio Capella Bustos y Jorge Tay Zavala. 2ª. Edición. México. 826 p. Serie McGraw-Hill.
7. SÁNCHEZ, J. 1993. Producción de hongos comestibles. Centro de investigaciones ecológicas del Sureste. San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. Editorial del CIES. 107 p.

11. ANEXO

11.1 Cuantificación de la eficiencia biológica (EB) de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café utilizando cinco métodos de desinfección diferentes a la pasteurización

Los pasteles utilizados para determinar los rangos de colonización de *P. ostreatus* ESC 0112 evaluando cinco métodos de desinfección diferentes a la pasteurización fueron llevados a producción con el objetivo de confirmar los resultados, a continuación en el Cuadro 7 se muestran los datos obtenidos, en el cuadro 8 se muestra el análisis de varianza para los datos del cuadro 7 y en el cuadro 9 se muestra la prueba de medias de tukey para el análisis de varianza realizado en el cuadro 8.

En el cuadro 7 se obtuvo la producción promedio por libra, cuantificando la eficiencia biológica y las libras de hongo comestible producidas por las seis libras de pulpa seca que se trabajó en cada uno de los tratamientos. Además se calculó los ingresos brutos en base a un precio por libra de Q15.00 (\$ 1.92)

Cuadro 7. Producción promedio por libra, eficiencia biológica, libras producidas en seis libras de pulpa seca e ingresos brutos en los tratamientos evaluados.

	X/Lb	EB	Lb	IB
P	701.50	155.89	9.27	139.05
C1	694.17	154.26	9.17	137.55
C2	649.50	144.33	8.58	128.70
C3	547.50	121.67	7.24	108.60
C4	468.50	104.11	6.19	92.85
B1	86.83	19.30	1.15	17.25
B2	95.50	21.22	1.26	18.90
B3	34.50	7.67	0.46	6.90
B4	23.00	5.11	0.30	4.50
Cl1	0.00	0.00	0.00	0.00
Cl2	88.00	19.56	1.16	17.40
Cl3	0.00	0.00	0.00	0.00
Cl4	30.50	6.78	0.40	6.00
T1	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	100.00	22.22	1.32	19.80
T3	0.00	0.00	0.00	0.00
T4	103.83	23.07	1.37	20.55
Na1	0.00	0.00	0.00	0.00
Na2	0.00	0.00	0.00	0.00
Na3	0.00	0.00	0.00	0.00
Na4	0.00	0.00	0.00	0.00

Clave: X/Lb= promedio de producción por libra de pulpa seca, EB= eficiencia biológica, Lb= libras brutas producidas en las seis libras trabajadas por cada tratamiento e IB= son los ingresos brutos estimados de las libras brutas producidas.

Con base en estos resultados se procedió a realizar un análisis de varianza y una prueba de medias de Tukey.

11.2 Análisis estadístico paramétrico

En el cuadro 8 se presenta el análisis estadístico de los resultados de producción de *Pleurotus ostreatus* obtenidos de los tratamientos evaluados.

Cuadro No. 8. Análisis estadístico sobre datos de producción de *Pleurotus ostreatus* ESC 0112.

Procedimiento de Análisis de Varianza
Variable dependiente: Gramos

Fuente	DF	Suma de Cuadrados	Mean Square	Valor de F	Pr mayor que F
Modelo	25	8149500.74603174	325980.02984127	89.37	0.0001
Bloque	5	123092.444444444	24618.488888889	6.75	0.0001
Trat	20	8026408.30158730	401320.41507937	110.02	0.0001
Error	100	364762.555555556	3647.625555556		
Corrected Total	125	8514263.30158730			

R-Square	C.V.	Root MSE	Gramos mean
0.957159	35.00388	60.39557563	172.53968254

11.3 Prueba de medias de tukey:

En el Cuadro 9 se presentan los resultados de la prueba de medias de Tukey, en el cual, los tratamientos con la misma letra son iguales. Como se puede observar P, Ca1 y Ca2 (Pasteurización e Hidróxido de calcio 0.5 y 1.0 por ciento respectivamente), muestran la letra A, obteniendo los mejores resultados, lo que confirma los datos obtenidos sobre el rango de colonización de los pasteles.

Cuadro No. 9. Prueba de medias de Tukey

	Grupo de Tukey	Mean	N	Trat
	A	701.50	6	P
	A	694.17	6	Ca1
B	A	649.50	6	Ca2
B	C	547.50	6	Ca3
	C	468.50	6	Ca4
	D	103.83	6	T4
	D	100.00	6	T2
	D	95.50	6	B2
	D	88.00	6	Cl2
	D	86.83	6	B1
	D	34.50	6	B3
	D	30.50	6	Cl4
	D	23.00	6	B4
	D	0.00	6	Na2, Na3, Na4, Cl1, T1, Cl3, T3 y Na1

Según los datos obtenidos tanto por el análisis no paramétrico de los rangos de colonización como en el análisis paramétrico de la producción, se observa que estadísticamente los tratamientos Pasteurización, Hidróxido de calcio 0.5 por ciento e Hidróxido de Calcio 1.0 por ciento, son iguales y al mismo tiempo los mejores.

11.4 Datos de Campo

En el Cuadro 10 se presentan los diferentes datos que se obtuvieron directamente de las unidades experimentales.

Cuadro 10. Datos obtenidos en las repeticiones, producción bruta, promedio de producción por libra de pulpa seca, libras producidas e ingresos brutos en los tratamientos evaluados.

	Repeticiones						gr/6lb	X/Lb	Lb	IB
	1	2	3	4	5	6				
P	659	715	728	670	692	745	4209	701.50	9.27	139.05
C1	780	678	603	751	639	714	4165	694.17	9.17	137.55
C2	618	711	564	675	633	696	3897	649.50	8.58	128.70
C3	549	513	537	582	609	495	3285	547.50	7.24	108.60
C4	570	549	387	444	468	393	2811	468.50	6.19	92.85
B1	257	264	0	0	0	0	521	86.83	1.15	17.25
B2	210	204	159	0	0	0	573	95.50	1.26	18.90
B3	207	0	0	0	0	0	207	34.50	0.46	6.90
B4	138	0	0	0	0	0	138	23.00	0.30	4.50
Cl1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
Cl2	180	132	216	0	0	0	528	88.00	1.16	17.40
Cl3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
Cl4	183	0	0	0	0	0	183	30.50	0.40	6.00
T1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
T2	177	231	192	0	0	0	600	100.00	1.32	19.80
T3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
T4	229	232	162	0	0	0	623	103.83	1.37	20.55
Na1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
Na2	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
Na3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00
Na4	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	0.00

Clave: gr/6Lb: es la cantidad de gramos producida en las seis libras de pulpa seca desinfectada en los diferentes tratamientos; X/Lb es el promedio de producción por libra de pulpa seca tratada; Lb es la cantidad bruta de libras producidas en los tratamientos evaluados e IB son los ingresos brutos estimados en base a un precio de Q 15.00 por libra.

11.5 Preparación y costo de las diferentes soluciones de los agentes desinfectantes utilizados en el experimento

11.5.1 Hipoclorito de sodio (25, 50, 75 y 100 partes por millón)

El peso molecular del hipoclorito de sodio (NaClO) es de 74.45 gramos por mol. Si se observa la relación de Cl en el NaClO es: $35.45/74.45=46.72$ por ciento. Es decir que por cada mL de NaClO puro tenemos 0.4672 mL de Cl activo. Si este porcentaje lo multiplicamos por la concentración que trae el cloro comercial de NaClO , es decir: $46.72*0.0510= 2.38$ gramos de Cl activo/100 mL de producto comercial (P.C). Es decir 0.02383 mg de Cl activo/mL de producto comercial.

En el cuadro 11 se presentan los cálculos que se realizaron para hacer las diferentes concentraciones de Hipoclorito de sodio y además se calculó el costo de cada una de ellas.

Cuadro No. 11. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio evaluadas.

Conc.	Litros de sol.	mL de PC/L	mL de PC/lb	Costo/mL PC	Costo/lb
25 ppm	8	1.05	8.4	0.0006	Q 0.005
50 ppm	8	2.10	16.8	0.0006	Q 0.01
75 ppm	8	3.15	25.2	0.0006	Q 0.015
100 ppm	8	4.20	33.6	0.0006	Q 0.02

Para la preparación de las soluciones de hipoclorito de sodio a 25, 50 75 y 100 partes por millón, se utilizó 8.4, 16.8, 25.2 y 33.6 mL de producto comercial respectivamente, por ocho litros de agua, cada uno de los cuales rehidrató y desinfectó el sustrato (una libra de pulpa seca).

11.5.2 Tiabendazol (10,20, 30 y 40 gr de Ingrediente activo /100 Kg de sustrato)

En 100 Kg hay 220 libras. Un gramo de ingrediente activo(i.a.) lo tenemos en 2 mL de producto comercial (P.C.).

En el cuadro 12 se presentan los cálculos que se realizaron para hacer las diferentes concentraciones de Tiabendazol y además se calculó el costo de cada una de ellas.

Cuadro No. 12. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de tiabendazol evaluadas.

Conc.	mL de i.a./libra	mL de P.C/libra	Q por mL de P.C.	Costo / libra
10	0.045	0.09	0.55	Q 0.05
20	0.09	0.18	0.55	Q 0.10
30	0.14	0.27	0.55	Q 0.15
40	0.18	0.36	0.55	Q 0.20

Para la preparación de las soluciones de tiabendazol a 10, 20, 30 y 40 gramos de ingrediente activo por 100 Kg de sustrato, se utilizó 0.09, 0.18, 0.27 y 0.36 mL de producto comercial respectivamente, por ocho litros de agua, cada una de las cuales rehidrató y desinfectó el sustrato (una libra de pulpa seca).

11.5.3 Benomyl (20, 40, 60 y 80 gramos de producto comercial por 100 litros de agua)

En el cuadro 13 se presentan los cálculos que se realizaron para hacer las diferentes concentraciones de Benomyl de sodio y además se calculó el costo de cada una de ellas.

Cuadro No. 13. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de benomyl evaluadas.

Conc.	Gramos de PC/8 L	Q / gramo de P.C.	Costo/libra de pulpa
20 g	1.6	0.319	Q 0.51
40 g	3.2	0.319	Q 1.02
60 g	4.8	0.319	Q 1.53
80 g	6.4	0.319	Q 2.04

Para la preparación de las soluciones de benomyl 20, 40, 60 y 80 gramos de producto comercial (P.C.) por 100 litros de agua, se utilizó 1.6, 3.2, 4.8 y 6.4 gramos de producto comercial respectivamente, por ocho litros de agua, cada uno de los cuales rehidrató y desinfectó el sustrato (una libra de pulpa seca).

11.5.4 Hidróxido de sodio (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento)

En el cuadro 14 se presentan los cálculos que se realizaron para hacer las diferentes concentraciones de Hidróxido de sodio y además se calculó el costo de cada una de ellas.

Cuadro No. 14. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de hidróxido de sodio evaluadas.

Conc (%)	Gramos/litro	En 8 litros	Costo / gramo	Q / lb pulpa
0.5	5	40 gramos	Q 0.004	0.16
1.0	10	80 gramos	Q 0.004	0.32
1.5	15	120 gramos	Q 0.004	0.48
2.0	20	160 gramos	Q 0.004	0.64

Para la preparación de las soluciones de hidróxido de sodio al 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento, se utilizó 40, 80, 120 y 160 gramos de producto comercial respectivamente, por ocho litros de agua, cada uno de los cuales rehidrató y desinfectó el sustrato (una libra de pulpa seca).

11.5.5 Hidróxido de calcio (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento)

En el cuadro 15 se presentan los cálculos que se realizaron para hacer las diferentes concentraciones de Hidróxido de calcio y además se calculó el costo de cada una de ellas.

Cuadro No. 15. Cálculo para la preparación de las soluciones y costo de las diferentes concentraciones de hidróxido de calcio evaluadas.

Conc (%)	Gramos/litro	En 8 litros	Costo / gramo	Q / lb pulpa
0.5	5	40 gramos	Q 0.00092	0.04
1.0	10	80 gramos	Q 0.00092	0.07
1.5	15	120 gramos	Q 0.00092	0.11
2.0	20	160 gramos	Q 0.00092	0.15

Para la preparación de las soluciones de hidróxido de calcio al 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 por ciento, se utilizó 40, 80, 120 y 160 gramos de producto comercial (Cal comercial) respectivamente, por ocho litros de agua, cada uno de los cuales rehidrató y desinfectó el sustrato (una libra de pulpa seca).