

## **Evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* en mazorcas de cacao (*Theobroma cacao* L.)**

**K. Hurtado de Mendoza<sup>1</sup>, M. Huamán<sup>1</sup>, N. Bravo<sup>1</sup>, A. Silva<sup>1</sup>, R. Silva<sup>2</sup>**

(Recibido 29/03/2016 / Aceptado 26/05/2016)

### **RESUMEN**

En este estudio se describió el cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus* (Hongo ostra) utilizando mazorcas de cacao como sustrato. El cultivo de *P. ostreatus* se realizó en ocho etapas, donde se evaluaron el efecto del tiempo de fermentación (1, 3 y 7 días) y el tratamiento térmico del sustrato (pasteurización y esterilización) sobre la producción de *P. ostreatus*. Se evaluó el peso de carpóforos, % eficiencia biológica (E.B) y % rendimiento (R), en seis tratamientos con cinco repeticiones. Para el experimento se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) mediante un análisis de varianza (ANOVA). Además, se realizó la prueba de rangos múltiples de Tukey a los tratamientos. El tratamiento que resultó significativamente diferente y con mejores resultados en comparación con los demás fue el tratamiento con 3 días de fermentación tratado por esterilización (T5), que obtuvo una producción de 283g de hongos recolectados en dos cosechas, 31,22% de eficiencia biológica y 28,30% de rendimiento.

**Palabras clave:** *Pleurotus ostreatus*, mazorcas de cacao, hongos comestibles, rendimiento.

### **Evaluation of cultivation *Pleurotus ostreatus* on cocoa pods (*Theobroma cacao* L.)**

### **ABSTRACT**

This study was conducted on the growth and cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom) using as substrate cocoa pods. The cultivation of *P. ostreatus* was made in eight stages. The effect of fermentation time (1, 3 and 7 days) and heat treatment of the substrate (pasteurization and sterilization) on *P. ostreatus* production was evaluated. The variables statistically analyzed were the weight of fruiting bodies, % Biological efficiency (E.B) and % Yield (R) in 6 treatments with five repetitions. This experiment used a completely randomised design (DCA) by analysis of variance (ANOVA). In addition, the significant differences were estimated using the Tukey multiple-range test. The best treatment and significantly different compared to others was the treatment with 3 days of fermentation and sterilization (T5), which obtained a production of 283g of mushrooms which were collected in two crop, 31.22% biological efficiency and 28.30% yield.

**Keywords:** *Pleurotus ostreatus*, cocoa pods, edible mushroom, yield.

<sup>1</sup> Facultad de Química e Ingeniería Química; Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Lima-Perú

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales; Universidad Nacional de Buenos Aires; Buenos Aires-Argentina

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos comestibles representa una alternativa para el desarrollo de nuevas áreas de producción, con un impacto benéfico en el crecimiento económico y social, y la reducción del impacto medioambiental con el manejo y gestión de residuos agrícolas y agroindustriales<sup>[6,16,28]</sup>. La tecnología aplicada al cultivo de hongos comestibles permite obtener grandes producciones en relativamente poco espacio. En adición, los hongos comestibles tienen una amplia aceptación en los mercados internacionales por sus excelentes cualidades alimenticias y medicinales<sup>[4]</sup>.

Una de las especies más estudiadas, consumidas y cotizadas durante los últimos años por la relativa facilidad de su cultivo, sus características organolépticas y composición nutricional equilibrada es el *Pleurotus ostreatus* <sup>[30,31,32]</sup>. Esta especie es principalmente conocida con el nombre de “Hongo ostra” y cultivada desde hace varias décadas en Europa, Asia y Norteamérica. Los hongos comestibles del género *Pleurotus* ocupan la tercera posición en su producción, después de los géneros *Agaricus* y *Lentinula*<sup>[3,8,30]</sup>, y es previsible que su producción continúe incrementándose en todo el mundo, especialmente en los países hispanohablantes<sup>[28, 30]</sup>.

El hongo ostra se desarrolla en la naturaleza preferiblemente sobre residuos de material leñoso o ricos en fibra como troncos, ramas y bagazos en descomposición, debido a su habilidad para colonizar y degradar una amplia variedad de sustratos que contienen celulosa, hemicelulosa y lignina, que usan en su propio desarrollo<sup>[8,17]</sup>. Para su cultivo se pueden utilizar materiales que contengan una composición similar a los que utiliza para crecer en su ambiente natural; es decir, restos orgánicos como residuos agroindustriales o diferentes materiales obtenidos como subproductos de las actividades agrícolas que, generalmente, no son

reutilizados<sup>[1,6,12,31]</sup>. Por lo que el cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos lignocelulósicos representa un eficiente proceso de bioconversión ecológica<sup>[5,16, 28]</sup>.

En Perú no se ha desarrollado significativamente el cultivo de hongos comestibles debido a la escasa difusión, promoción de consumo y al desconocimiento de las bondades de los hongos comestibles en las áreas medicinal y nutritiva; sin embargo, nuestro país tiene un gran potencial para el cultivo de esta especie por la variedad de climas que posee y el abundante material de naturaleza lignocelulósica generado de las diferentes actividades agrícolas y agroindustriales. Entre los sustratos disponibles para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, se encuentran los subproductos generados del beneficio del cacao (*Theobroma cacao* L.).

Actualmente, más de 89 000 hectáreas del territorio nacional están dedicadas al cultivo de cacao y generan hasta 232 mil toneladas de cáscaras como residuos; específicamente en las zonas productoras de San Martín, Cusco, Junín, Ayacucho, Amazonas, Huánuco, Ucayali y Cajamarca, que aportan alrededor del 97% de la producción nacional<sup>[22]</sup>. Las cáscaras del cacao, también llamadas mazorcas, al no tener usos alternativos, se acumulan periódicamente en las plantaciones cacaoteras con la finalidad de permitir su lenta degradación y la subsecuente incorporación de nutrientes al suelo. Sin embargo, diversos autores indican que este manejo tradicional propicia la transmisión de problemas fitosanitarios, al constituir un sustrato para los microorganismos patógenos, favoreciendo su propagación en el cultivo<sup>[10, 15, 20, 24]</sup>.

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia de la preparación y tratamiento del sustrato (mazorcas de cacao) en la producción de *Pleurotus ostreatus* considerando el peso de carpóforos, la eficiencia biológica y el rendimiento total.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Materia prima

Para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* se utilizó como sustrato la cáscara del fruto maduro de cacao (*Theobroma cacao* L., clon CCN-51) procedente de la selva central del Perú, distrito San Martín de Pangoa, provincia de Satipo, región Junín.

### 2.2. Materiales para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* y elaboración de APD

Se utilizaron granos de trigo sin procesar, para la elaboración de inóculo primario y secundario. Papa amarilla fresca, agar y dextrosa marca Merck para preparar el medio de cultivo APD.

### 2.3. Metodología

#### 2.3.1. Análisis fisicoquímico y proximal de la mazorca de cacao

- **pH del sustrato**, por el método NMX-Y-031-SCFI-2006 (Norma mexicana).
- **Humedad**, por el método AOAC 931.04 (2012). Sección 31.1.02.
- **Cenizas**, por el método AOAC 972.15 (2012). Sección 31.1.04.
- **Proteína total**, por el método AOAC 970.22 (2012). Sección 31.1.08.
- **Grasa total**, por el método AOAC 930.09 (2012). Sección 3.5.07.
- **Fibra cruda**, por el método AOAC 930.10 (2012). Sección 3.5.08.
- **Carbohidratos**, por cálculo (por diferencia).
- **Energía total (kcal/100g)**, por cálculo.

### 2.3.2. CULTIVO Y PRODUCCIÓN DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

En la figura 1 se observa el flujo de operaciones consideradas para el cultivo y la producción de *Pleurotus ostreatus*. Las etapas del cultivo fueron las siguientes:

#### 2.3.2.1. Obtención de la cepa madre

La cepa madre, en medio de cultivo agar con papa y dextrosa (APD), se adquirió en la Facultad de Ingeniería Forestal de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

#### 2.3.2.2. Multiplicación del micelio

La cepa adquirida se multiplicó en el medio de cultivo APD, preparado con una infusión de papa (*Solanum tuberosum* L.)<sup>[11]</sup>. El medio de cultivo esterilizado se distribuyó en placas de Petri. Se tomó un fragmento del micelio de la cepa madre y se colocó sobre el medio de cultivo solidificado en placas. Estas se protegieron con parafilm y envolvieron con papel kraft; luego se incubaron entre  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , hasta que el micelio cubrió toda la superficie del agar, esto sucedió después de  $10 \pm 2$  días.

#### 2.3.2.3. Elaboración de inóculo

La elaboración de inóculo se realizó en dos etapas: inóculo primario y secundario. El inóculo primario consiste en la propagación del micelio en granos de trigo a partir de la cepa multiplicada. Los granos de trigo se prepararon considerando las siguientes operaciones: limpieza, lavado, cocción por 10 minutos después de la ebullición (relación trigo-agua, p/v 1:2), escurrido, enfriado, adición de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ , 5g por kg) y yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 5g por kg) tratados en bolsas de polipropileno durante 30 minutos en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  y  $1,1 \text{ kgf/cm}^2$ . Cada bolsa de polipropileno contenía 200g de trigo. Cuando el material

se encontró entre 25-30°C, este se inoculó con agar colonizado proveniente de una placa de Petri dentro de la cámara de flujo laminar. Las bolsas fueron envueltas en papel kraft, rotuladas e incubadas a 25-28°C en oscuridad, hasta que el micelio cubrió completamente los granos, es decir, por 13 ±2 días. El inóculo secundario se obtuvo vaciando 50 g de inóculo primario a nuevas bolsas con granos estériles (preparados de la misma forma), que fueron agitadas homogéneamente e incubadas a las mismas condiciones mencionadas para el inóculo primario<sup>11</sup>. El tiempo en incubación fue de 11 ±1 días. Esto se realizó para disponer de una mayor cantidad de inóculo para la siembra en el sustrato elegido.

#### **2.3.2.4. Obtención y preparación del sustrato**

Las cáscaras o mazorcas de cacao fueron utilizadas como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Las mazorcas fueron fracturadas en trozos de aproximadamente 2 x 2 cm y sumergidas en baldes con agua, adecuadamente tapados<sup>27</sup>, con modificaciones en esta investigación para el sustrato estudiado. La materia prima se mantuvo sumergida en agua por 1, 3 o 7 días.

Al finalizar el tiempo de fermentación, las cáscaras se escurrieron intentando eliminar la pectina que contiene el albedo de la mazorca (la cual se separó durante la preparación del sustrato). Luego, se añadió al sustrato algunos aditivos como yeso y carbonato cálcico al 1% del peso del sustrato húmedo, para lograr un valor de pH conveniente para el crecimiento del micelio; y se mezclaron homogéneamente. El sustrato se colocó en bolsas de polipropileno termorresistentes de 20,32 x 30,48 y 0,002 cm, las que fueron cerradas con ligas, para lograr la hermeticidad.

#### **2.3.2.5. Tratamiento térmico del sustrato**

Se aplicaron dos métodos de tratamiento térmico: pasteurización y esterilización.

Después de esta operación, el sustrato se manipuló con el máximo cuidado para evitar contaminación cruzada. La pasteurización (inmersión en agua caliente) se realizó sumergiendo el sustrato embolsado en agua a 80°C durante 60 minutos<sup>1</sup>. La esterilización consistió en colocar las bolsas con sustrato en autoclave a 121°C y 1.1 kgf/cm<sup>2</sup>, por 60 minutos<sup>23</sup>.

#### **2.3.2.6. Inoculación e incubación del sustrato**

Para la siembra del hongo se requiere un área cerrada, limpia y desinfectada. Por ello, el trabajo se realizó en la cabina de flujo laminar, para prevenir y evitar cualquier tipo de contaminación. La siembra (inoculación) inició cuando el sustrato estuvo a una temperatura no mayor de 30°C, de lo contrario el micelio podía perecer. Se colocó 1 kg de sustrato esterilizado y escurrido en cada bolsa de polipropileno (unidad experimental), una pequeña porción de inóculo (granos de trigo invadidos), en una proporción de 10% en peso, y se mezcló homogéneamente. Las bolsas con sustrato inoculado se colocaron en el cuarto de incubación, con una sensación térmica de 25-28°C en oscuridad. Después de tres (3) días se verificó el crecimiento del micelio y se realizaron perforaciones en cada bolsa con una aguja estéril (aproximadamente 50 agujeros por lado), para incrementar el intercambio gaseoso. Este procedimiento se realizó en un área cerrada y limpia, cerca de un mechero (para evitar la contaminación por microorganismos). Las muestras se mantuvieron en oscuridad de 21 ±1 días, tiempo durante el cual se evidenció una colonización completa del sustrato. Cada cinco días se revisaron las unidades para inspeccionar el crecimiento del micelio y verificar que se encuentren libres de contaminación.

#### **2.3.2.7. Fructificación**

Cuando el micelio del hongo colonizó completamente el sustrato, se retiraron las bolsas de plástico y se trasladaron las unidades

experimentales al área de fructificación, donde se propiciaron condiciones apropiadas de humedad (85-95%), temperatura (13-18°C), iluminación, y ventilación<sup>1</sup>. Cuando los primordios aparecieron, se aspersó agua para su desarrollo y para conservar la humedad del sustrato.

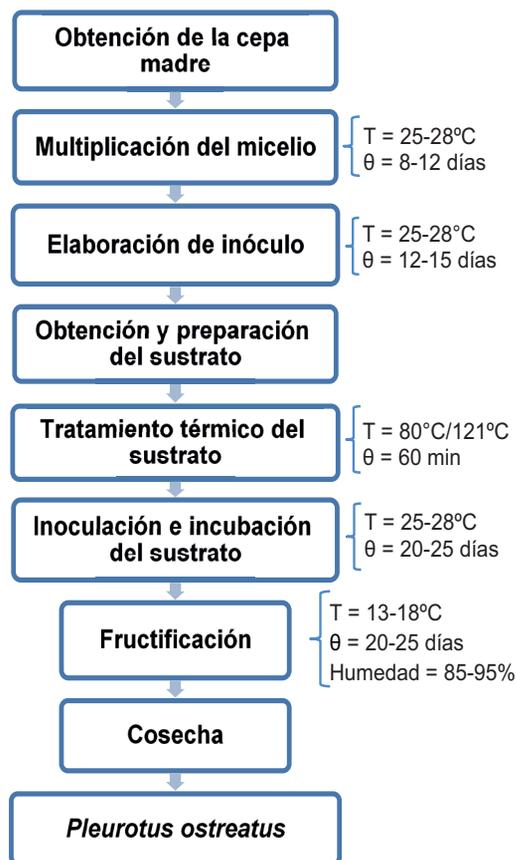


Figura 1. Flujo de operaciones para el cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus* en mazorcas de cacao

### 2.3.2.8. Cosecha

Luego de  $5 \pm 1$  días, después de que aparecieron los primordios, se recolectaron los cuerpos fructíferos. Se cortaron los carpóforos desde la base, sin dañar el sustrato, mientras los sombreros estaban compactos, turgentes y antes de que sus orillas se enrollen hacia arriba. Las setas recolectadas fueron pesadas. Se consideró la producción de dos oleadas. Al finalizar esta etapa se dispuso de los bloques de sustrato como abono, luego de pesarlos y fracturarlos.

### 2.3.3. Diseño experimental para el cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus*

Para el cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus* se realizó el diseño completamente al azar presentado en la tabla 1, considerando como variables independientes el tiempo de fermentación (días) y el tratamiento térmico (°C), evaluando seis tratamientos. La preparación del sustrato consistió en someter el material a inmersión en agua (fermentación) por 1, 3 y 7 días. Luego, tres tratamientos fueron sometidos a pasteurización y el resto a esterilización (tratamiento térmico). Los tratamientos se realizaron por quintuplicado, generando un total de 30 unidades experimentales.

### 2.3.4. Evaluaciones de la producción de *Pleurotus ostreatus*

#### 2.3.4.1. Peso fresco de carpóforos

Es el peso fresco de los carpóforos producidos por unidad experimental, inmediatamente después de la cosecha (en gramos)<sup>18</sup>.

#### 2.3.4.2. Eficiencia biológica (% E.B.)

Es la bioconversión de la energía y biodegradación del sustrato para la producción de cuerpos fructíferos<sup>11, 29</sup>.

Este parámetro permite evaluar la producción de hongos frescos sobre el sustrato seco de cultivo, expresado en porcentaje. Se calcula de la siguiente manera:

$$E.B. = \frac{(\text{Peso de carpóforos frescos (g)})}{(\text{Peso del sustrato seco (g)})} \times 100$$

#### 2.3.4.3. Rendimiento (% R)

Se calcula como la relación entre el peso fresco de los cuerpos fructíferos (g) y el peso húmedo del sustrato (g), expresado en porcentaje<sup>1, 9, 13</sup>. Se determina con la siguiente ecuación:

$$R = \frac{(\text{Peso de carpóforos frescos})}{(\text{Peso húmedo del sustrato})} \times 100$$

### 2.3.5. Tratamiento de los datos y análisis estadístico

En el cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus* se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). Se efectuó el análisis de varianza de un solo factor (ANOVA) con un nivel de significación del 5% y se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey para determinar si hay diferencia significativa entre los tratamientos evaluados, considerando las evaluaciones peso de carpóforos, % eficiencia biológica y % rendimiento. Para el tratamiento de los datos se utilizó Microsoft Excel 2012 y el software estadístico Minitab versión TRIAL.

## III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 3.1. Análisis del peso fresco de carpóforos

Se reportaron los datos de los carpóforos para cada uno de los tratamientos. Las muestras requirieron en promedio 22 días de incubación para cubrir los sustratos, observándose buen crecimiento micelial

en todos los tratamientos evaluados. En la mayoría de tratamientos, la iniciación de primordios se observó entre 24-27 días. La primera oleada se cosechó entre 29-33 días en promedio, mientras que la segunda cosecha fue alrededor de 40-45 días desde la inoculación. Cabe resaltar que más del 76 % del total de los cuerpos fructíferos fueron cosechados en la primera oleada, con un diámetro promedio de 8-10cm; mientras que los cuerpos fructíferos de la segunda oleada fueron de tamaño inferior, así como en menor cantidad. Además, se indica que el diámetro de los carpóforos (basidiocarpos) producidos por unidad experimental (bolsa de 1 kg de sustrato húmedo) no es relevante como peso fresco<sup>19</sup>.

En la figura 2 se muestra el peso fresco de los carpóforos por tratamiento (considerando las cinco réplicas), correspondiente a las dos primeras cosechas por unidad experimental. Se observa que el T5 alcanzó la mayor producción de cuerpos fructíferos con 283 g de *Pleurotus ostreatus* frescos, cifra que se mantiene lejos de T1 (217 g), T4 (215 g), T2 (208 g), T6 (198,40 g) y T3 (197 g).

Tabla 1. Diseño experimental del cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Tiempo de fermentación (días)	Tratamiento térmico (°C)
t1	Uno (1)	Pasteurización (80°C)
T2	Tres (3)	Pasteurización (80°C)
T3	Siete (7)	Pasteurización (80°C)
T4	Uno (1)	Esterilización (121°C)
T5	Tres (3)	Esterilización (121°C)
T6	Siete (7)	Esterilización (121°C)

Tabla 2. Análisis de varianza de la producción, eficiencia biológica y rendimiento de *Pleurotus ostreatus*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	p-value
<b>Producción de <i>Pleurotus ostreatus</i></b>					
Tratamientos	25710,67	5	5142,14	13,23	3,01E-06
Error	9327,20	24	388,63		
Total	35037,87	29			
<b>Eficiencia biológica</b>					
Tratamientos	369,61	5	73,92	17,28	2,88E-07
Error	102,65	24	4,28		
Total	472,26	29			
<b>Rendimiento</b>					
Tratamientos	257,11	5	51,42	13,23	3,01E-06
Error	93,27	24	3,89		
Total	350,38	29			

Tabla 3. Prueba de rangos múltiples de Tukey - Producción, eficiencia biológica y rendimiento de *P. ostreatus*

Tratamiento	Producción	Eficiencia biológica	Rendimiento
T1	217,0 <sup>b</sup>	24,46 <sup>b</sup>	21,70 <sup>b</sup>
T2	208,0 <sup>b</sup>	21,57 <sup>b</sup>	20,80 <sup>b</sup>
T3	197,0 <sup>b</sup>	21,43 <sup>b</sup>	19,70 <sup>b</sup>
T4	215,0 <sup>b</sup>	23,90 <sup>b</sup>	21,50 <sup>b</sup>
T5	283,0 <sup>a</sup>	31,22 <sup>a</sup>	28,30 <sup>a</sup>
T6	198,4 <sup>b</sup>	20,99 <sup>b</sup>	19,84 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas

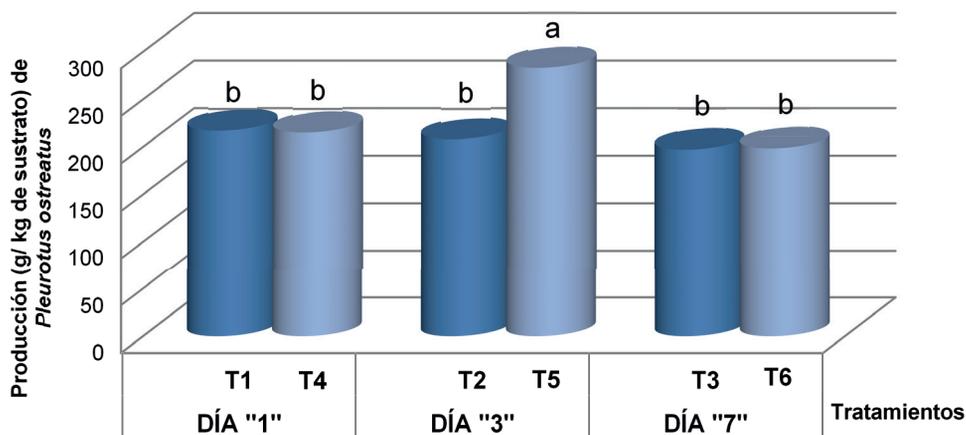


Figura 2. Peso de carpóforos de los tratamientos evaluados en la producción de *Pleurotus ostreatus*

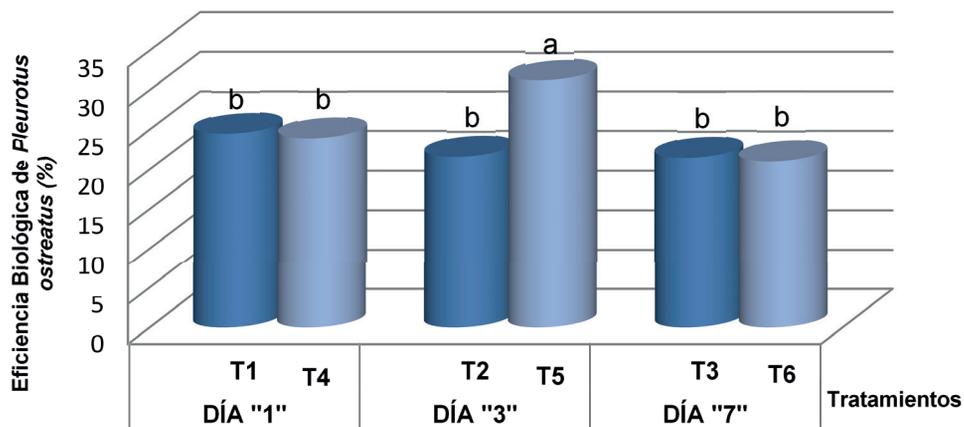


Figura 3. Eficiencia biológica de los tratamientos evaluados en la producción de *Pleurotus ostreatus*

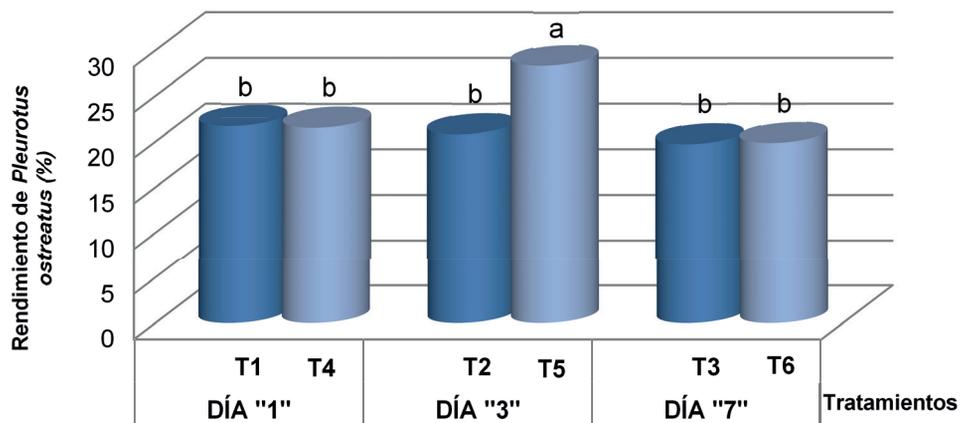


Figura 4. Rendimiento de los tratamientos evaluados en la producción de *Pleurotus ostreatus*

La tabla 2 muestra el análisis de varianza del peso fresco de *Pleurotus ostreatus*, donde se observa que existe diferencia estadísticamente significativa entre al menos dos tratamientos. El análisis comparativo de medias entre los tratamientos a través de la prueba de rangos múltiples de Tukey al 95 % de confianza, mostró que el T5 es diferente a T1, T2, T3, T4 y T6 (ver tabla 3). Sin embargo, los resultados de la producción de *P. ostreatus* por tratamiento es baja en comparación con producciones obtenidas utilizando otros sustratos, como pulpa de café y paja de cereales<sup>[13, 28, 29,32]</sup>.

Diversas investigaciones afirman que los resultados de los porcentajes de carbono y nitrógeno total de los residuos coinciden con la producción obtenida de setas<sup>[25]</sup>, evidenciando que el porcentaje de carbono total que posee un sustrato es directamente proporcional a la producción de hongos comestibles que se desea obtener<sup>[7]</sup>. La cantidad de carbono y nitrógeno en la mazorca de cacao puede ser la causante de los valores de fructificación obtenidos sobre este sustrato; pues al pasar los días el sustrato se agota y la cepa envejece debido a la disminución de su actividad enzimática<sup>[27]</sup>. Además, la reducción de carbono y nitrógeno se debe a que el hongo los utiliza para su crecimiento y formación de biomasa, es decir, para la formación de cuerpos fructíferos. Asimismo, si hay excesiva cantidad de carbono al agotarse el nitrógeno, disminuye el crecimiento y reproducción del hongo. Por otra parte, un sistema productivo bien manejado puede llegar a producciones que corresponden a un 25 % del peso del sustrato húmedo<sup>[2]</sup>, tal es el caso del T5 (3 días de fermentación, tratado por esterilización), con un promedio de 283 gramos, cifra superior al 25 % del peso húmedo del sustrato (250 g).

### 3.2. Análisis de la eficiencia biológica

La eficiencia biológica se define como el peso de carpóforos frescos cosechados sobre el peso del sustrato seco, expresado en porcentaje<sup>[13,23,29]</sup>. Esta definición para evaluar la calidad de residuo orgánico

como sustrato para el cultivo de hongos es la más aceptada. Por lo que la eficiencia biológica (% E.B.) depende básicamente del sustrato<sup>[29]</sup>. En este trabajo se evaluó dicho indicador considerando dos cosechas en cada uno de los tratamientos. La figura 3 resulta de aplicar la ecuación de eficiencia biológica antes descrita, a las medias de los datos recolectados por cada tratamiento (repeticiones).

El análisis de varianza de las medias del % E.B. de *Pleurotus ostreatus* en cada tratamiento se presenta en la tabla 2. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. En la tabla 3 se observan los resultados de la prueba de rangos múltiples de Tukey; estos indican que la mejor producción de carpóforos se obtuvo para el T5, con una eficiencia biológica de 31,22 %. Es decir que por cada 100 g de mazorca de cacao, se obtuvo 31,22 g de carpóforos frescos.

Luego se ubica el T1, con una E.B. de 24,41 %; y los tratamientos T4, T2, T3 y T6 con valores de 23,90 %, 21,57 %, 21,43 % y 20,99 %, respectivamente. No hay diferencias estadísticas significativas entre estos últimos tratamientos.

El T5 (3 días de fermentación, esterilizado) difiere estadísticamente de los otros tratamientos, debido al tratamiento térmico aplicado, donde se destaca la esterilización sobre la inmersión en agua caliente, que obtiene mejores resultados<sup>[18]</sup>. Asimismo, el tratamiento térmico en autoclave durante una hora asegura la eliminación de todo microorganismo patógeno o competitivo y permite el desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el sustrato satisfactoriamente<sup>[21]</sup>. Sin embargo, se aprecia en los resultados que los tratamientos T4 y T6, también sometidos a tratamiento térmico de esterilización, presentan una E.B. similar y no significativamente diferente a los tratamientos T1, T2 y T3 (sometidos a tratamiento térmico de pasteurización). Por lo tanto, la preparación del sustrato influyó directamente y tuvo un impacto preponderante en los resultados alcanzados.

Los valores de E.B. obtenidos en este estudio son menores que los reportados por otros investigadores utilizando mazorcas de cacao como sustrato: 82,86 %<sup>29</sup>, 84,5 %<sup>[13]</sup> y 84 %<sup>[14]</sup>. Sin embargo, las diferencias observadas entre la eficiencia biológica de este estudio e investigaciones anteriores podrían explicarse por la aplicación de tecnologías diferentes durante la preparación o adecuación del sustrato. En esta investigación se aplicó la preparación del sustrato por inmersión en agua, mientras que en las investigaciones citadas, la fermentación aerobia (sustrato seco). En adición a lo anterior, el % E.B. de otros sustratos preparados aplicando la misma tecnología fueron de 9,2 a 15,6% para la *Guadua angustifolia* Kunth<sup>[21]</sup> y 54,40 % para la pulpa de café fresca<sup>[26]</sup>. No encontrándose la técnica de preparación por inmersión en agua (fermentación) sobre mazorcas de cacao para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

### 3.3. Análisis del rendimiento

La determinación del rendimiento generalmente se realiza en base seca, sin embargo, para este propósito se ha utilizado lo recomendado por algunos investigadores, quienes presentan el rendimiento a base de materia húmeda, es decir, como la relación entre el peso fresco de los cuerpos fructíferos y el peso del sustrato húmedo, expresado en porcentaje<sup>9, 13, 14</sup>. El % de rendimiento promedio de cada uno de los tratamientos, calculado al considerar dos cosechas, se muestra en la figura 4.

En la tabla 2 se observa el análisis de varianza de las medias del rendimiento obtenido, donde se observó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Para determinar que tratamientos son diferentes, se aplicó la prueba múltiple de Tukey con un  $p \leq 0,05$ . En la tabla 3, se observa que el T5 resultó significativamente diferente a los demás tratamientos.

El T5 presentó el mejor rendimiento, con 28,30 %, lo cual indica que por cada 100 gramos de mazorca de cacao húmeda se

obtuvo 28,30 g de cuerpos fructíferos. El T1, T4, T2, T6 y T3 con rendimientos de 21,70 %, 21,50 %, 20,80 %, 19,84 % y 19,70 %, respectivamente.

Diversos autores reportaron que los tiempos de fermentación duran entre  $6 \pm 1$  días, para el caso de paja de cereales, bagazo de caña de azúcar y tabaco en rama, incubadas a 20 y 30 °C, respectivamente<sup>23</sup>. Sin embargo, cabe indicar que el tiempo de fermentación depende específicamente del contenido de azúcares fermentables en el sustrato y de la capacidad fermentativa del microorganismo. En esta investigación, se evaluó el efecto del tiempo de fermentación (1, 3 y 7 días) de las mazorcas de cacao en la producción de *Pleurotus ostreatus*, con la finalidad de obtener la mayor producción expresada en los evaluadores peso de carpóforos, % E.B. y % rendimiento del hongo ostra. Los resultados mostraron que la mejor condición para este propósito es cuando las mazorcas se fermentaron durante tres días; debido a que luego de este tiempo se agotaron las sustancias fermentables del sustrato (mazorcas de cacao), limitando el posterior desarrollo de microorganismos competidores y una contaminación con hongos no deseables durante el periodo de incubación. La acción metabólica de las bacterias permitió la acción de las enzimas del hongo sobre el sustrato, que presentó una composición óptima de nutrientes para el hongo, y la adición de carbonato de calcio amortiguó el efecto de la disminución de pH, lo que propició un ambiente adecuado para el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*.

Es posible que en el tratamiento que duró un día de fermentación, no se haya agotado completamente la fuente de azúcar fermentable, lo que propició una colonización de hongos contaminantes durante el periodo de incubación (los microorganismos compiten por los nutrientes presentes en el medio), limitando el crecimiento y la producción de *Pleurotus ostreatus*. Finalmente, en el tratamiento sometido a siete días de fermentación, pudo haberse completado el proceso de fermentación, sin embargo, el pH disminuyó a valores que no permitieron

el crecimiento normal de *P. ostreatus*. Esto se corroboró al observar los datos obtenidos de peso de carpóforos, % E.B. y % rendimiento, los cuales fueron menores que los encontrados en los tratamientos. Por otra parte, cuando se utilizó mazorca de cacao, el rendimiento fue de 22,8 y 33,2 %<sup>[13,14]</sup>. Esta diferencia podría ser parcialmente explicada, debido a que cada uno de los autores inicia la preparación del sustrato con diferente porcentaje de humedad y que rendimientos superiores al 10 % son aceptables para explotar económicamente el sustrato para el cultivo de hongos<sup>13</sup>. Todos los tratamientos en el estudio presentaron rendimientos superiores al mínimo aceptable ( $\geq 10\%$ ). Sin embargo, el T5 superó el valor reportado en hongos<sup>[13]</sup>, pero fue inferior al obtenido en mazorcas de cacao provenientes de Cuba<sup>[14]</sup>. Lo anterior podría evidenciar que, para el presente estudio, el mejor indicador de la producción de *Pleurotus ostreatus* es el rendimiento, que expresa valores que realmente pueden compararse con investigaciones anteriores, a pesar de utilizar diferentes metodologías en la preparación o adecuación del sustrato.

#### IV. CONCLUSIONES

Se logró establecer una metodología adaptada para el cultivo y producción de *Pleurotus ostreatus* en mazorcas de cacao, previamente tratadas en un proceso de inmersión en agua, ofreciendo una alternativa de valorización de estos residuos agroindustriales. La muestra fermentada por 3 días y tratada por esterilización resultó significativamente diferente a los otros tratamientos en cuanto a peso de carpóforos, eficiencia biológica y rendimiento.

Los procedimientos utilizados en el acondicionamiento del sustrato y las condiciones de cultivo empleados en este estudio son adecuados para obtener una morfología apropiada de los cuerpos fructíferos maduros del hongo, comparados a los estándares establecidos. Sin embargo, un factor importante a considerar es el rendimiento

del producto (28,30%). Estos resultados son alentadores y contribuyen como precedente para continuar estudiando la producción de estas setas en cáscaras de cacao, utilizando diferentes tecnologías.

#### V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albertó E. (2008). Cultivo intensivo de los hongos comestibles: Cómo cultivar champiñones, gírgolas, shiitake y otras especies. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur.
2. Arón C. E. La producción de los hongos comestibles [Tesis de maestría]. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2007. Recuperado de [http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2043/07\\_1932.pdf](http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2043/07_1932.pdf)
3. Cardoso J. C. P., Demenjour P. L. M. M. & Paz M. F. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotusostreatus* em bagaço de bocado e de cana de açúcar pela técnica jun-cao. Evidência. 2013; 13: 31-40.
4. Chang S. T. & Miles P. G. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact. EEUU: CRC Press; 2004.
5. Chang S. T. Mushroom cultivation using the "ZERI" principle: Potencial for application in Brazil. Micología Aplicada International. 2007; 19(2): 33-34.
6. Das N. & Mukherjee M., Cultivation of *Pleurotusostreatus* on weed plants. Bioresource Technology. 2007; 98: 2723-2726.
7. Escobar J. Programa Especial de Seguridad Alimentaria en coordinación INTECAP-FAO-PESA. Cooperación Española. Jovotan. 2002.
8. Fernandes A., Barros L., Martins A., Herbert P. & Ferreira I. C. F. R. Nutritional characterization of *Pleurotusostreatus* (Jacq.Ex Fr.) P. Kumm. Produced using paper scraps as substrate. Food Chemistry. 2015; 169: 396-400.

9. Flores G. Aprovechamiento del bagazo residual de Yuca spp. como sustrato para la producción de *Pleurotusostreatus* spp. [Tesis de postgrado]. Instituto Politécnico Nacional, México; 2012.
10. Franco-Castillo M., Ramírez-Hernández M., García-Gómez R. S., Bernal-González M., Espinosa-Aquino B., Solís-Fuentes J. A. & Durán de Bazúa C.  
Reaprovechamiento integral de residuos agroindustriales: Cáscara y pulpa de cacao para la producción de pectinas. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*. 2010; 1(2): 45-66.
11. Gaitán-Hernández R., Salmones D., Pérez Merlo R.; Mata G. . Manual Práctico del Cultivo de Setas: Aislamiento, siembra y producción (1a ed., 2da reimp). Xalapa, México: Instituto de Ecología. 2006.
12. García M. Cultivo de setas y trufas (5ta ed.). Madrid, España: Mundi-Prensa; 2007.
13. García N. Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con *Pleurotus* spp. [Tesis doctoral]. Universidad de Oriente, Santiago de Cuba; 2008.
14. García N., Bermúdez R. C. & Serrano, M. Formulaciones de sustratos en la producción de setas comestibles *Pleurotus*. *Tecnología Química*. 2011; 31(3): 15-22.
15. Girón, C., Tortolero, J., Hermoso D. & González, I. (2001). Efecto de diferentes residuos vegetales en la compostación de cáscaras de cacao. *Agronomía Tropical*, 51(4): 549-562.
16. Grodzinskaya A., Infante D. & Piven N. Cultivo de hongos comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales. *Agro-nomía tropical*. 2002; 52(4): 427-447.
17. Hadar Y., Kerem Z. & Gorodecki B. Biodegradation of lignocellulosic agricultural wastes by *Pleurotusostreatus*. *Journal of Biotechnology*. 1993; 30: 133-139.
18. Jaramillo, S. & Albertó, E. Heat treatment of wheat Straw by immersion in hot water decreases mushroom yield in *Pleurotusostreatus*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2013; 30: 125-129.
19. Magae, Y., Kakimoto, Y., Kashiwagi, Y. & Sasaki, T. Fruting body formation from regenerated mycelium of *Pleurotusostreatus* protoplasts. *Applied and environmental Microbiology*. 1995; 49: 441-442.
20. Marín, J. Manejo integrado de enfermedades en el cacao. En M. Arca (Ed.), *El cultivo de cacao en la Amazonia peruana* (pp.59-82). Lima, Perú: Ministerio de Agricultura. 2002.
21. Martínez, P. N., Garzón, J. E., Henao W. & Guarnizo A. Evaluación de la producción del hongo *Pleurotusostreatus* cultivado sobre los residuos derivados de la producción comercial del culmo de la guadua *angustifolia* kunth. *Tumbaga*. 2008;1(3): 43-53.
22. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). Cacao, Perú: Un campo fértil para sus inversiones y el desarrollo de sus exportaciones. Lima, Perú: Dirección general de Competitividad Agraria. 2013.
23. Muez M. A. & Pardo J.. La preparación del sustrato. En J. E. Sánchez & D. J. Royse (Eds.), *La biología y el cultivo de Pleurotus* spp. . Chiapas, México: Noriega Editores; 2001.
24. Parra D. & Sánchez L.. Aspectos fitosanitarios: El control de la moniliasis en el cacao. *INIA Divulga*. 2005; 6: 23-26.
25. Ríos M., Hoyos J.L. & Mosquera S.A. Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotusostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. *Biocología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*; 2010.
26. Rodríguez, N. (s/f). Manejo de residuos en la agroindustria cafetera. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/acodal/xxx.pdf>

27. Rodríguez N. & Jaramillo C. (2004). Cultivos de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" (CENICAFÉ). 2004. Disponible en <http://www.cenicafe.org/es/publications/bot027.pdf>
28. Sánchez J. E. & Royse D. J. La importancia del cultivo de *Pleurotus* spp. Estadísticas mundiales de producción, con énfasis en Hispanoamérica. En J. E. Sánchez & D. J. Royse (Eds.), *La biología y el cultivo de Pleurotus* spp. (pp. 17-26). Chiapas, México: Noriega Editores; 2001.
29. Tuchán O. Evaluación del efecto de la pulpa de café (*Coffea arábica*) en el incremento de la eficiencia biológica de la cepa INIREB-8 de *Pleurotus ostreatus* utilizando cáscara de cacao (*Theobroma cacao*) y bambú (*Bambusa vulgaris* var. *striata*) como sustrato [Tesis de pregrado]. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2004.
30. Upadhyay R. C. Oyster mushroom cultivation. En M. Singh, B. Vijay, S. Kamal & G. C. Wakchaure (Eds.), *Mushrooms cultivation, marketing and consumption*. Solan, India: Directorate of Mushroom Research (ICAR). 2011: 129-138. Disponible en <http://www.nrcmushroom.org/book-cultivation-merged.pdf>
31. Wang, D., Sakoda, A. & Suzuki, M. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. *Biosource Technol.* 2001;78: 293-300.
32. Yildiz, S., Yildiz, Ü.C., Gezer, E.D. & Temiz, A., Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochemistry.* 2002; 38: 301-306.

