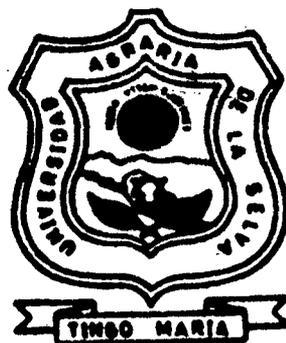


Universidad Nacional Agraria de la Selva
Tingo María

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
Departamento Académico de Ciencias de los
Recursos Naturales Renovables



« **Biología del Hongo Comestible Pleurotus
afin ostreatus (Jacq. ex Fr) Kumm y su
Posible Propagación sobre Especies
Forestales en Tingo María** »

TESIS

PARA OPTAR EL TITULO DE
Ingeniero en Recursos Naturales Renovables

LADISLAO RUIZ RENGIFO

PROMOCION 1987

“Hacia la Revolución Agro - Silvo - Pecuario - Industrial”

Tingo María - Perú

1990

A mis padres:

HERNAN y LOLA

mi eterna gratitud
y estimación.

A mis hermanos:

LELIS, HERNAN, LUISA,

MIRTHA, VICTOR, ROSA

y GENNY

Con el cariño de siempre

A mi tía ROSA, por su
apoyo incansable y es
timación hacia mi per
sona.

A mi esposa ROSARIO y mi
hija ANGGEILA, quienes me
dieron el apoyo y cariño
diario.

MIS AGRADECIMIENTOS

Al Ing. MSc. ROLANDO RIOS RUIZ, por patrocinar el presente trabajo, su dedicada orientación en la definición y ejecución de los trabajos de laboratorio, así como su a poyo en la redacción del mismo.

A la Dra. MAGDALENA PAVLICH HERRERA, por su colaboración en la identificación del hongo, en especial referente a la especie.

Al Dr. SALVADOR CRUZ CRUZ, por su aporte en la ejecución del presente trabajo.

Al Ing. ENRIQUE AREVALO GARDINI, por su orientación y col aboración.

AL CONCEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA, por el apoyo encuanto a la finalización económica parcial para la realización de este trabajo de investigación.

Al Ing. MAURO RODRIGUEZ CERRON, por su valiosa colaboración

Al Sr. MIGUEL RAMIREZ RENGIFO, por apoyar en algunos aspec tos etnológicos referente a hongos comestibles.

Finalmente a todas aquellas personas que de uno y otro modo me dieron su aliento moral para que éste trabajo se hiciera posible.

INDICE GENERAL

	<u>Pág.</u>
I. INTRODUCCION	12
II. ANTECEDENTES	14
1. Importancia de los hongos comestibles	14
2. Valor nutritivo de los hongos comestibles .	15
3. Consideraciones generales sobre el cultivo de hongos comestibles	18
A. Medios de cultivo para el desarrollo de micelio	18
B. Elaboración de sustrato para el desarro llo de hongos comestibles	20
C. Nutrición de las setas	21
D. Influencia de factores ambientales	23
4. División taxonómica del hongo en estudio ..	25
III. MATERIALES Y METODOS	26
1. Ubicación del experimento	26
2. Materiales	26
3. Métodos en su fase de laboratorio	27
4. Métodos en su fase de campo	35
IV. RESULTADOS	43
V. DISCUSION	79
VI. CONCLUSION	94
VII. RECOMENDACIONES	95
VIII. RESUMEN	97

	<u>Pág.</u>
IX. BIBLIOGRAFIA	99
X. APENDICE	101

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		<u>Pág.</u>
1	Forma del asilamiento y cultivo del tejido del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> en el laboratorio	40
2	Forma de la instalación de las "camas de trozas" y manera de como se efectuó el riego en el experimento de propagación en trozas forestales del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> .	41
3	Forma de inoculación del micelio del hongo <u>P. afín ostreatus</u> en los agujeros de las trozas forestales	42
4	Prueba preliminar de inoculación de micelio en trozas pequeñas en el laboratorio	42
5	Colocación de las trozas después de la inoculación con porciones de medio mas micelio del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u>	42
6	Aspecto del micelio del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> cultivado a partir de tejidos de sinfectados	45
7	Características del micelio del hongo <u>P. afín ostreatus</u> purificado mediante trasgresiones sucesivas	45
8	Aspecto del micelio del hongo comestible <u>P. a-</u>	

FIGURA		<u>Pág.</u>
	fín <u>ostreatus</u> y basidiocarpos emergiendo a 31- días de sembrado	47
9	Forma del basidiocarpo del hongo comestible <u>P.</u> <u>afín ostreatus</u> cultivado en laboratorio a 23 días de sembrado	47
10	Disposición de las láminas del himenio del hon- go comestible <u>P.</u> afín <u>ostreatus</u>	47
11	Medios de cultivos estudiados para el desarro- llo del hongo comestible <u>P.</u> afín <u>ostreatus</u> en el laboratorio	60
12	Tratamientos de luz, estudiados en el desarro- llo vegetativo del hongo comestible <u>P.</u> afín -- <u>ostreatus</u> en el laboratorio	60

INDICE DE CUADROS

CUADRO	<u>Pág.</u>
1	Evaluación diaria (cm) del aislamiento de tejidos y basidiocarpos del hongo con inoculos sin desinfectar 44
2	Evaluación promedio diario (cm) del aislamiento de tejidos y basidiocarpos del hongo con inoculos desinfectados 44
3	Análisis de su valor nutritivo del hongo <u>P. afín ostreatus</u> 48
4	Resumen del ANVA para el desarrollo micelial - en el estudio de efectos de medios de cultivos del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> 50
5	Prueba estadística de Tukey para el desarrollo micelial en el estudio de efectos de medios de cultivos, del hongo <u>P. afín ostreatus</u> 51
6	Resumen del ANVA para el número de primordios - en el estudio de efecto de medios de cultivos, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> 52
7	Prueba estadística de Tukey para el número de primordios en el estudio de efecto de medios - de cultivos, del hongo <u>P. afín ostreatus</u> 53
8	Resumen del ANVA pra el número de basidiocarpos en el estudio de efecto de medios de cultivos, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> .. 55

CUADRO	<u>Pág.</u>
9 Prueba estadística de Tukey para el número de basidiocarpos en el estudio de efectos de medios de cultivos, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u>	56
10 Resumen del ANVA para el crecimiento micelial en el estudio del efecto de luz, del hongo <u>P. ostreatus</u>	58
11 Prueba estadística de Tukey para el crecimiento micelial en el estudio del efecto de luz, de la seta <u>P. afín ostreatus</u>	59
12 Resumen del ANVA para el número de primordios en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u>	61
13 Prueba estadística de Tukey para el número de primordios en el estudio del efecto de luz, del hongo <u>P. afín ostreatus</u>	62
14 Resumen del ANVA para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u>	63
15 Prueba estadística de Tukey para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto de luz, del hongo <u>P. afín ostreatus</u>	64
16 ANAVA para el período de fructificación en el	

CUADRO	<u>Pág.</u>
estudio del efecto luz, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u>	66
17 Prueba estadística de Tukey para el período de fructificación del hongo comestible <u>P. afín -- ostreatus</u> en el estudio del efecto de luz	67
18 Resumen del ANVA correspondiente al crecimiento en el estudio del efecto temperatura, del hongo <u>P. afín ostreatus</u>	68
19 Prueba estadística de Tukey para el crecimiento micelial en el estudio del efecto temperatura, del hongo <u>P. afín ostreatus</u>	69
20 Resumen del ANVA correspondiente al número de primordios en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> ...	71
21 Prueba estadística de Tukey para el número de primordios en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> ...	72
22 Resumen del ANVA para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto temperatura, del hongo <u>P. afín ostreatus</u>	73
23 Prueba estadística de Tukey para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> .	74

CUADRO	<u>Pág.</u>
24 ANVA para el período de fructificación del hongo comestible <u>P. afín ostreatus</u> en el estudio del efecto temperatura	75
25 Prueba estadística de Tukey para el período de fructificación del hongo comestible <u>P. afín - ostreatus</u> en el estudio del efecto temperatura	76

I. INTRODUCCION

Nuestro país, al igual que la mayoría de los países del orbe tienen que enfrentar el problema cada día más agudo del incremento de la población, el mismo que está ocasionando, entre otros resultados que los habitantes dispongan en promedio, de menos tierra cultivable y carencia cada vez más de productos alimenticios. Esta circunstancia nos debe estimular a incrementar la eficiencia productiva y con ello aprovechar mejor los productos orgánicos que se derivan directa o indirectamente del sector agropecuario.- De ésta manera lo que antes se consideraba desperdicio, ahora debe valorarse como materia prima para su aprovechamiento alimentario o industrial.

Nuestra amazonia peruana, está constituido de una vasta y variada cantidad de recursos naturales micológicos, entre ellos los hongos comestibles que poco o nada se aprovechan a pesar de contener un gran contenido proteico; éstos hongos constituyen un recurso del bosque que frecuentemente, no se toman en cuenta en los estudios etnobotánicos y a menudo son comestibles para los indígenas amazónicos y constituyen un importante alimento para algunas tribus, -- quienes lo denominan "Oreja de palo", "Callampa" y que es un plato favorito por sus cualidades culinarias.

Hongos usados como alimento (comestibles), por lo menos cerca de 600 especies son conocidas en el mundo; de és

tas apenas algunas, aproximadamente 20, son utilizadas comercialmente, como por ejemplo la Lentinus edodes Berc. -- (Shiitake), el Pleurotus sp., la Volvariella sp; etc. En nuestro país no tenemos referencia de cultivo de hongos comestibles bajo ninguna escala, especialmente comercial.

Para tener un cultivo comercial de hongos comestibles es necesario conocer las especies prevaescentes en la región y determinar los factores que influyen en su desarrollo y crecimiento, por ello los objetivos del presente trabajo fueron:

Estudiar "invitro" la metodología más adecuada de desarrollo de la seta comestible P. affín ostreatus y su posterior propagación en camas de trozas de especies forestales.

II. ANTECEDENTES

1. Importancia de los hongos comestibles

GHILLIEAN (9), Manifiesta que un considerable número de hongos comestibles se aprovechan en Zaire, Africa.- (Thoen et al, 1973; Prent y Thoen 1978) citado por Ghilliean (1980), descubrieron que el contenido de proteínas era relativamente alto (22.7 % en promedio) y concluyeron que los hongos constituyen un alimento suplementario importante para las poblaciones locales.

LAMBERT (13), indica que el cultivo del champiñon- (Agaricus sp) en los Estados Unidos su siembra abarca una extensión anual de más de 837 hectáreas de espacio de almácigo; la producción total anual ha sido calculado en 72,576 toneladas. Emplean de 15 a 20 mil trabajadores para cultivar y enlatar los hongos.

SINGER (16), menciona que Japón tiene una fuente de ingresos subsidiarios en muchas granjas, y algunos grandes productores especializados han establecido grandes plantaciones con un programa rotativo riguroso en los bosques que proporcionan la materia prima. La seta Shiitake (L. edodes) no es la única especie que habita en la madera y que se puede producir sobre camas de trozas, pero es la única de este grupo ecológico -- que se produce en gran escala con métodos modernos y sobre una base comercial.

MIGNUCCI (15), establece que el cultivo de setas - comestibles son de un ciclo de vida corto, requieren poco espacio y son de alto valor nutritivo. De otro modo indica que la producción de setas tropicales podría alcanzar niveles que permitan su explotación a mercados de Norteamérica que ahora la importan en su totalidad de países asiáticos. Así por ejemplo la V. volvacea - que se produjo en Asia 49,000 Ton. en 1,979, siendo ésta la cuarta seta de mayor importancia en el mundo.

2. Valor nutritivo de los hongos comestibles

LAMBERT (13), manifiesta que los hongos cultivados ocupan su lugar en la alimentación, no sólo por su sabor sino también por los positivos valores nutritivos que poseen. Contienen mucho menos proteína que la carne y el pescado, pero se comparan favorablemente con la mayoría de los vegetales frescos en cuanto a contenido de proteínas, y constituyen buenas fuentes de vitaminas y minerales, tales como hierro y cobre. Los champiñones son una fuente excelente de riboflavina y ácido nicotínico, así como de ácido pantoténico. Contienen también cantidades apreciables de tiamina y biotina. Estas vitaminas se conservan bien cuando los champiñones se cocinan, se enlatan o se congelan.

ANDERSON & FELLERS (1), indicaron que las proteínas

en las setas frescas que contienen 89.50 % de agua, caso de Agaricus bisporus llegan al 3.94 %. Según los análisis de éstos autores en 100 gramos de setas frescas contienen:

VITAMINAS

ANada
B (Tiamina)0.12 miligramos
B ₂ (Riboflavina)0.52 miligramos
C (Acido ascórbico)8.60 miligramos
DNada
ENada
KPoca
Niacina5.85 miligramos
Acido pantoténico2.38 miligramos

ATWATER y BRIANT, citado en SINGER (16), publicaron sobre las setas los siguientes datos constituyentes:

	Porcentaje
Agua	88.1 %
Proteínas	3.5 %
Grasa	0.4 %
Hidratos de carbono	6.8 %
Ceniza	1.2 %

RAUTAVAARA, mencionado en SINGER (16), indicó que un kilogramo de setas cultivadas frescas contienen en

calorías aproximadamente:

<u>A. bisporus</u>	480 calorías
<u>L. edodes</u>	345 calorías
<u>Boletus sp</u>	340 calorías
<u>Lactarius deliciosus</u>	480 calorías

Referido de ésta manera la mayor parte de los análisis modernos conducen a la conclusión sin disyuntivas de que las setas, en general, se pueden comparar en valor nutritivo, calorías y vitaminas con los productos-hortícolas, tales como la coliflor. La mayor parte de las setas tienen un bajo contenido de vitamina A, o carecen de ella, pero lo compensan por sus valores elevadados de riboflavina y ácido nicotínico.

BOTELHO y RAMOS (2), manifiestan que los hongos son alimentos de alto valor nutritivo con bajo contenido - de carbohidratos y de grasas y significativas cantidades de proteínas y vitaminas. La composición química-varía de acuerdo a la especie de hongo y el cultivar evaluado.

Si comparamos al hongo comestible con otros alimentos encontramos lo siguiente:

	Peso fresco (Porcentaje)				
	Agua	Calorías	Prot.	Carbohidratos	Grasa
Hongo	90.92	28	3 a 5	4.4	0.3
Huevos	74.00	163	12.9	0.9	11.9
Leche	87.00	65	3.5	4.9	3.5
Zanahoria	88.00	42	1.1	9.7	0.2

El hongo comestible es rico en vitaminas incluyendo tiamina, riboflavina, niacina, biotina y ácido ascórbico, así como otros relacionados al complejo B. Contienen minerales también, así como fosfato, sodio y potasio. Los hongos son además excelentes alimentos para dietas, por que no engordan. Investigaciones muestran que 200 gramos de hongos secos son suficientes para el balance nutricional de un ser humano normal de 70 kilogramos.

3. Consideraciones generales sobre el cultivo de hongos comestibles

A. Medios de cultivos para el desarrollo del micelio

SINGER (16), indica que el micelio de la seta L. edodes crece bien sobre aserrín mezclado con salvado de arroz, esterilizado en autoclave e inoculado con tejido celular o con esporas (usualmente con tejido del hongo) y se conservan en incubadoras termostáticas manteniéndolo a temperaturas -

que fluctúen entre los 24 a 28 °C. El medio está formado de 2 % de salvado de arroz, siendo el resto de aserrín.

BAXTER (3), afirma que las exigencias nutricionales de algunos hongos y de los microorganismos - en general, son muy variados; mientras unos son capaces de crecer en condiciones diversas, otras tienen necesidades mucho más determinadas.

Los medios tienen que ser adecuado a la clase de hongo que se desea cultivar y de acuerdo a los fines que se persiguen.

La preparación de los medios es importante, no sólo para conseguir el desarrollo de los hongos fuera de su ambiente natural, sino por que en su crecimiento en medios adecuados los hongos muestran una serie de propiedades de gran valor para su identificación o utilización (GILMAN, 1973).

BOYCE (4), confirma que hay hongos que aunque pueden cultivarse en distintos medios nutritivos, tienen afinidad a uno determinado mostrando al observarlos un mejor desarrollo o la presencia de particularidades fisiológicas; esporulación más rápida, formación de órganos de resistencia y crecimiento rápido del micelio.

Los medios de cultivo para hongos así como para los microorganismos pueden clasificarse en: generales, esenciales, selectivos y diferenciales. - (FERGUS, 1963), citado en GONZALES 1969.

B. Elaboración de sustratos para el desarrollo de hongos comestibles

SINGER (16), establece que el sustrato que se usa para el cultivo de la seta L. edodes, es madera en lugar de camas y el cultivador usa trozas de ciertas maderas, y los da el nombre de "camas de trozas".

Un aspecto importante que se tiene que considerar cuando se determina el tiempo de tala es el contenido de azúcar en la madera que, en el caso del roble comienza a elevarse considerablemente cuando una tercera parte de las hojas se han vuelto de color rojo, en el otoño, y continúan aumentando hasta la floración en la primavera. Consecuentemente, el micelio encuentra un alto porcentaje de carbohidratos de los que puede disponer con facilidad en la madera que se cortó entre la parte final del otoño y el principio de la primavera.

LEAL (14), indica que el sustrato tradicional para la producción del champiñón comercial (Agari-

cus sp) ha sido la composta preparado con estiércol de caballo o mezclas de pajas de cereales con una suplementación de nitrógeno. Es posible usar composta urbana como sustrato para el cultivo de Agaricus sp y hongos similares a él desde un punto de vista nutricional.

BOTELHO y RAMOS (2), mencionan que el Pleurotus sp. es cultivado de una manera más práctica en composta de bagazo de caña de azúcar pasteurizado y colocados en bolsas de plástico. El local ideal para almacenar las bolsas inoculadas debe ser una área ventiladas sujetas a una iluminación natural, cuidando que el sol no incida directamente sobre las bolsas para prevenir resecamientos.

MIGNUCCI (15), hace mención que para el cultivo de la Volvariella volvacea en Puerto Rico básicamente se ha concentrado en primera instancia en evaluar y manejar diferentes mezclas de sustratos (desechos del beneficio del café, bagazo de caña y pajas de arroz) y determinar la suplementación que requiere para lograr una alta producción de setas, todo ello a nivel de invernadero.

C. Nutrición de las setas

TRESCHOW (17), indica que el calcio es un nu--

triente indispensable para el micelio. El calcio-
siendo fisiológicamente antagónico con el potasio-
y el magnesio, domina el efecto inhibitorio que és
tos elementos tienen sobre el crecimiento del mice
lio.

Se considera establecido que los hongos en ge-
neral necesitan la presencia del potasio y el mag-
nesio, así como la del azufre y el fósforo.

El fósforo es extremadamente importante para
el crecimiento del micelio. Se usa en proporciones
de menos de 0.0017 molécula gramo.

Los hongos champiñones se cultivan en abono -
compuesto de materia orgánica que contiene carbohi
dratos además de minerales y el nitrógeno necesario
para las plantas verdes (LAMBERT, 1972).

LEAL (14), reporta que la cantidad de minerales
presente en los sustratos al término de la fermen-
tación teniendo 10 % en base húmica y 30 % en base
seca, asegura que en ningún momento la carencia de
algún mineral será elemento limitante para el desa-
rrollo de los hongos comestibles, ya que éstos son
directamente absorbidos y 50 % de la materia orgá-
nica se consume para producir la energía para su
crecimiento.

SINGER (16), manifiesta que el micelio hace uso de los azúcares, incluyendo los carbohidratos - del grupo del almidón, de las gomas, pectinas, hemicelulosa, lignina, turbas, extracto del suelo rico y proteínas.

D. Influencia de factores ambientales

LEAL (14), indica que las condiciones que favorecen la propagación vegetativa no son las mismas que las que propician el cambio a la fase productiva.

Existe una influencia significativa de la temperatura sobre el desarrollo vegetativo (micelio) de cada hongo; por ejemplo el A. bisporus, 25 °C; la V. volvacea, 35 °C; la Lepista nuda, 20 °C. Las temperaturas de fructificación de cada hongo son - por lo común inferiores a las óptimas para el desarrollo vegetativo del mismo.

Por otro lado la cantidad de CO₂ en el ambiente ejerce una influencia selectiva sobre el tipo de organismo presente, y un aumento de la actividad biológica produce un aumento en la concentración de CO₂ en el sistema. La propagación vegetativa de cada especie de basidiomicetos es influida de forma directa según la concentración de CO₂ en la at

mósfera circundante, en función della especie y de la cepa en particular. En el caso de A. bisporus se presenta un efecto estimuladorio a una concentración de 0.5 %, con P. ostreatus de 28 %. La tolerancia a altas concentraciones de CO₂ es un fenómeno muy común entre los hongos destructores de la madera; Formes sp. soporta concentraciones de CO₂ mayores de 40 %. Desde el principio del proceso fermentativo se presenta un aumento de la concentración de CO₂ y una disminución de O₂; no obstante, ningún hongo puede crecer anaeróbicamente, por lo cual necesita una cierta difusión de oxígeno en el sustrato. Este hecho se puede emplear como factor para obtener un sustrato selectivo para el cultivo de hongos comestibles, haciendo que su propagación vegetativa se realice en ambientes algo cerrados, lo cual se puede efectuar muy fácilmente cubriendo el sustrato con un plástico (LEAL, 1981).

El pH es un factor determinante para la selectividad del sustrato. La mayor parte de los hongos se desarrollan de preferencia en un pH ligeramente ácido. Muchos de los hongos comestibles producen, metabolitos que tienden a hacer que el pH del sustrato disminuya.

4. División taxonómica del hongo en estudio

REYNO : Vegetal
DIVISION : Fungi
CLASE : Basidiomicetos
ORDEN : Agaricales
FAMILIA : Agaricaceae
GENERO : Pleurotus
ESPECIE : afín ostreatus

III. MATERIALES Y METODOS

1. Ubicación del experimento

El estudio del presente trabajo se realizó en el laboratorio de fitopatología y la microestación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María; ubicado geográficamente a 75°35' longitud oeste, 09°09' de longitud sur y 670 m.s.n.m.; donde la temperatura media es de 24 °C con una humedad relativa promedio de 82 % y con referencia a la formación ecológica según Holdridge (1982), corresponde a un bosque montano húmedo subtropical (bmh-st).

2. Materiales

A. Procedencia de los basidiocarpos

El material micofílico (P. afín ostreatus), se colectó del Jardín Botánico y bosques adyacentes de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

B. Materiales de laboratorio

-Materiales de vidrio

Tubos de prueba de 16 x 125, cajas petri, vasos de precipitación, pipetas, frascos erlenmeyer, baquetas, láminas porta y cubre objetos y termómetros.

-Equipos

Autoclave, horno Pasteur, estufa o incubadora, mechero de Bunsen, balanza analítica, destilador de

agua, baño maría, refrigeradora, microscopio, es
tereoscopio y cámara de cultivo.

-Reactivos

Medios de cultivo, alcohol de 90°, hidróxido de -
sodio al 1 %, agua destilada, papel filtro, hipoclorito de sodio (clórox).

-Materiales de campo:

Sustrato

Para las "camas de trozas", de propagación de las setas se usó oetico (Cecropia sp), y guaba (Inga-sp), en condiciones secas y humedecidas, cortadas en trozas de 0.5 metros de largo y de 10 a 20 cm. de diámetro.

Herramientas

Motosierra, palas, navajas, martillo, barrenas, a
lambre de amarre, clavos, lápices y libretas.

3. Métodos en su fase de laboratorio

A. Componentes en estudio

- a. Setas comestibles (P. afín ostreatus)
- b. Medios de cultivos
- c. Condiciones ambientales; se estudió efectos de crecimiento micelial, brotamiento de primordios y basidiocarpos sometidos a diferentes condiciones de luz y temperatura.

B. Diseño experimental

Se ha empleado el diseño experimental completo al azar con cinco repeticiones para todos los componentes estudiados.

C. Tratamientos en estudio

1. Método de aislamiento y purificación

a. Observación y recolección del hongo

La muestra del hongo se recolectó del Jardín Botánico y bosques adyacentes de la UNAS, observando con sumo cuidado sus características tales como: sabor, olor, forma, tamaño, sustrato donde desarrolla, hábitad, disposición de sus láminas, etc., - su recolección se hizo, cogiendo el hongo del sustrato (madera) y empacándolo en papel, anotado sus características, luego fue trasladado hacia el laboratorio para su estudio.

b. Aislamiento y cultivo de esporas

Para aislar esporas se tuvo que limpiar bien al hongo recolectado, ayudado de una pinza y un estileta; luego se colocó en una placa petri dispuesto el himenio del hongo hacia la placa, posteriormente de ocho-

a diez horas se notó en el fondo de la placa una esporada en forma de polvillo blanco, el mismo que está constituido de millones de esporas.

Las esporas diluidas en lejía en proporción de 1:10 con agua destilada, y esporas diluidas únicamente en agua, se inocularon o sembraron en los medios de cultivos (trigo autoclavado) en cantidad de una gota de la dilución en el centro de la placa.

c. Aislamiento y cultivo de tejidos

Al hongo se procedió a lavar cuidadosamente en agua corriente, enseguida se cortó asépticamente pequeños fragmentos (cerca de 2 a 3 mm) del plecténquima del cuerpo fructificante, posteriormente el pedazo de tejido se introdujo por un tiempo de un minuto en una solución de 1:10 de hipoclorito de sodio (lejía de lavar), y se sembró en la placa petri conteniendo medio de cultivo. Esta operación se hizo con una pinza junto a la llama de un mechero (Figura 1).

d. Purificación de los cultivos

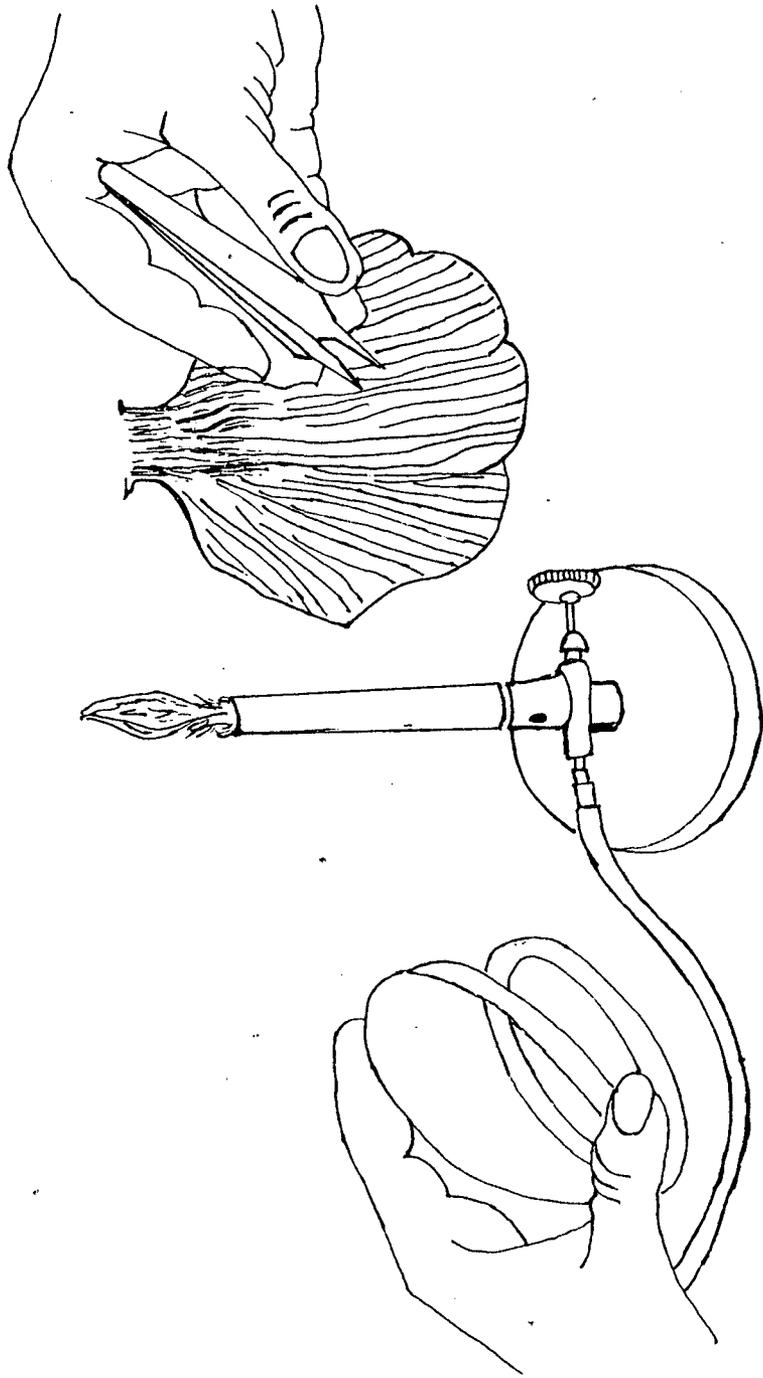


FIGURA 1. Forma del aislamiento y cultivo del tejido del hongo comestible P.
afin ostreatus en el laboratorio (BOTELLO Y RAMOS 1985).

La purificación de las cepas (micelio) se consiguió transfiriendo discos o pedazos de disco micelial del borde de la colonia hacia otros medios de cultivos, y así se logró obtener cada vez cultivos más puros que sirvieron para efectuar la siembra en los tratamientos estudiados.

Todos los métodos y técnicas de laboratorio usados fueron los referidos por --- ECHANDI, (1967), GONZALES (1969) y FRENCH (1984).

2. Uso y comparación de once medios de cultivos en el desarrollo micelial y de basidiocarpos

Se estudiaron los siguientes medios:

<u>Clave</u>	<u>Descripción</u>
Trigo	Medio trigo autoclavado
Arroz	Medio arroz autoclavado
Aserrín	Medio aserrín semidescompuesto
V - 8	Extracto de ocho verduras
E - Z	Extracto de zanahorias
A.P.D.	Agar papa dextrosa
T. H.	Tierra humificada
E. G.	Estiércol de ganado vacuno
T. M.	Medio trozitos de madera

- A+t Medio aserrín mas trigo
A+a Medio aserrín mas arroz.

a. Preparación de los medios de cultivos

La preparación de éstos medios de cultivos, mayormente naturales, se basó en ensayos preliminares efectuados, encunto al procedimiento general para preparar cada medio de cultivo, la cantidad o volumen de agua que se debe agregar a un determinado peso de sustrato, a fín de que dicho medio obtenga una humedad adecuada y a las exigencias nutritivas del hongo comestible en estudio.

b. Siembra del micelio del hongo en los medios de cultivo

Para la siembra se usó un patrón de inóculo para todos los tratamientos, que consistió en un disco del micelio de 7 mm. de diámetro el mismo que se obtuvo de la cepa de micelio joven purificado, mediante un sacabocado estéril junto a la llama de un mechero. Las placas en tratamiento posteriormente fueron colocados en una estufa a temperatura de 27 °C. Cada tratamiento --

constituyó de cinco placas y cada placa u
na repetición.

3. Efecto de la luz en el desarrollo micelial y
del basidiocarpo del hongo

Se estudiaron los siguientes tratamientos:

<u>Clave</u>	<u>Descripción</u>
L.N.L.	Luz natural del laboratorio
O.T.	Oscuridad total
O.T.+ L.N.L.	Oscuridad total mas luz natural del laboratorio
L.N.L.+O.T.	Luz natural del laboratorio mas oscuridad total.

Para este efecto se empleó el medio trigo-
autoclavado, ya que fue el medio de cultivo, -
que mejores resultados nos proporcionó en base
al estudio de comparación de medios.

a. Siembra del micelio en el medio de cultivo

De igual manera la siembra se hizo con
fragmentos de micelio purificado del hongo
(7 mm de diámetro), colocado el disco miche-
lial en el centro de la placa. Cada trata-
miento constituyó de cinco placas y cada -
placa una repetición.

b. Tratamiento de las placas

Las placas correspondientes al tratamiento luz natural del laboratorio, fueron colocados en un ambiente apropiado dentro del laboratorio. Las placas sometidas a oscuridad total, fueron empacadas con papel oscuro y puestos a la estufa en total oscuridad.

Las placas tratadas a oscuridad total mas luz natural del laboratorio, fueron colocados a oscuridad por un tiempo de 12 días y posteriormente sacadas al ambiente del laboratorio.

Finalmente las placas tratadas a luz natural del laboratorio mas oscuridad total, fueron puestos en el ambiente del laboratorio por 12 días y luego se empacaron con papel oscuro y colocados a la estufa en total oscuridad.

4. Efecto de la temperatura en el desarrollo micelial y del basidiocarpo del hongo comestible

Se estudiaron los siguientes tratamientos:

<u>Clave</u>	<u>Descripción</u>
T°A.L.	Temperatura ambiente del laboratorio
T°27°C	Temperatura de 27 °C

$T^{\circ}\text{A.L.} + T^{\circ}27^{\circ}\text{C}$ Temperatura ambiente del laboratorio mas temperatura de 27°C
 $T^{\circ}27^{\circ}\text{C} + T^{\circ}\text{A.L.}$ Temperatura de 27°C mas temperatura ambiente del laboratorio

Para el estudio de éste efecto se usó una estufa graduada de 27°C y el ambiente del laboratorio.

En cuanto al medio de cultivo empleado y a la técnica de siembra, fue igual al que se hizo en el estudio del efecto de luz.

D. Sistema de evaluación

Para todos los efectos estudiados se evaluaron:

- El diámetro de la colonia medida en centímetros durante los días en que el micelio logró invadir todo el área de la placa (diámetro de la placa 9 cm), ayudado de una regla graduada y el estereoscopio.
- Número de primordios, contados durante los primeros cuatro días desde su aparición.
- Número de basidiocarpos desarrollados, contados durante cuatro días consecutivos desde su aparición.
- Período de fructificación del hongo en días.

4. Método en su fase de campo

A. Componentes en estudio

a. Uso de dos tipos de especies forestales como -
sustrato

a₁. Guaba (Inga sp)

a₂. Cetico (Cecropia sp)

b. Uso de micelio reproductor como inoculante

b₁. Inoculación por medio del micelio reproducuc
tor (discos miceliales)

B. Diseño experimental

Se ha empleado el diseño experimental completo
al azar.

C. Tratamiento en estudio

a₁ b₁: Guaba inoculado con micelio reproductor

a₂ b₁: Cetico inoculado con micelio reproductor

D. Características del área experimental

Número total de parcelas	8
Número de parcelas por tratamiento	4
Número total de trozas	48
Número de trozas por parcela	6
Area total del experimento	8 m ²
Area de cada parcela	1 m ²

E. Ejecución del experimento

1. Elección del lugar

Para realizar el trabajo de campo se eligió la microestación de la UNAS, por lo apropiado de algunas infraestructuras, y la cercanía para la respectiva manipulación.

2. Preparación del terreno experimental

a. Preparación del terreno

Consistió en eliminar algunas malezas existentes en las camas, y su nivelado con tierra y arena para facilitar el sostén de las trozas en forma perpendicular.

b. Protección del experimento

Esta actividad consistió en hacer un --tinglado a una altura de 1.8 m. a base de ripas de bambú y hojas de palmera, tejido y atado con alambre de amarre; con la finalidad de regular la entrada de luz y así - tratar de evitar cambios bruscos de humedad y temperatura. Finalmente se procedió a - cercar con bambú una área de 24 m² para evi- tar perjuicios de animales como de personas.

c. Sistema de riego por goteo

Aquí se usó un tanque alimentador de agua de 40x40x50 cm. de dimensiones, el mis-

mo que fue puesto a una altura de 2 m; del cual fluía el agua hacia tres canaletas hechas de bambú de 8 m de largo cada uno, dispuestos a lo largo de la cama, de tal forma que mediante unos agujeros pequeños escape el agua y caiga por gravedad en forma de gotas hacia las trozas dispuestas perpendicularmente a la misma (Figura 2).

d. Preparación de las camas de trozas

El sustrato que se ha usado para el estudio del hongo comestible (P. afín ostreatus), fueron trozas de cetico y guaba de 0.5 m de largo y 10 a 20 cm de diámetro, - dichas trozas fueron cortadas de las especies en estudio 10 meses antes, para su secado oportuno al aire libre.

e. Humedecimiento de las trozas

Después de que las trozas permanecieron al aire libre, se procedió a humedecerlos, colocándolos en las camas en forma perpendicular al riego por goteo por un tiempo de 20 días, hasta que las trozas adquirieran agua en su estructura suficiente-

L E Y E N D A

1. Tanque alimentador de agua
2. Canaleta distribuidor de agua
3. Canaletas de bambú perforadas para el riego
4. Trozas de madera
5. Camas para las trozas
6. Protección para sombra

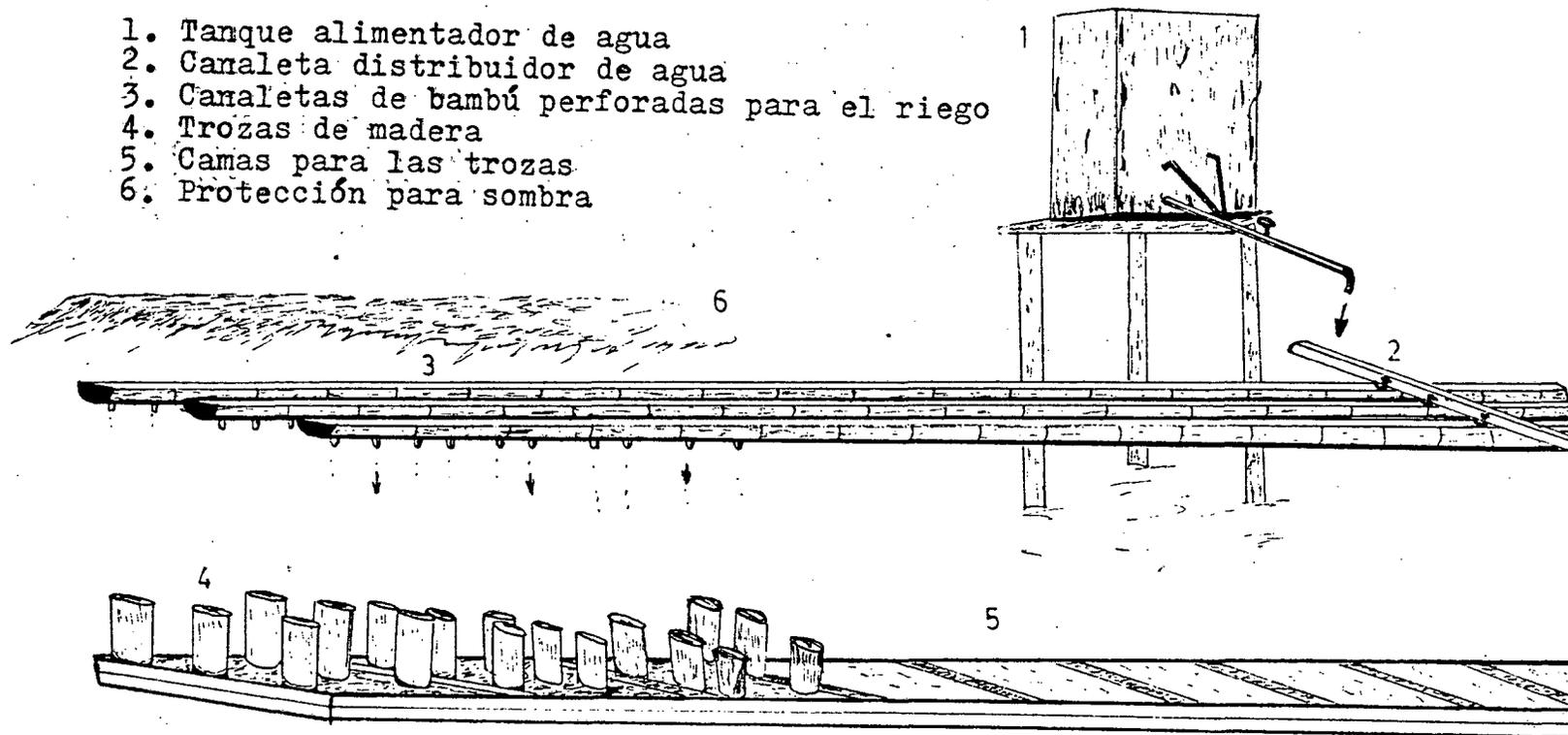


FIGURA 2. Forma de la instalación de las "Camas de trozas" y manera de como se procedió el riego en el experimento de propagación de trozas forestales del hongo comestible P. affín ostreatus en Tingo María

mente, para favorecer el desarrollo del micelio.

f. Perforaciones de las trozas

Luego que las trozas absorvieron agua en su estructura mediante el riego; se procedió a perforar ayudado de una barrena de 2 cm de ancho, y un martillo, a cada 10 cm a lo largo de la troza.

El agujero o incisión de la madera fue a la profundidad de la albura.

g. Inoculación del micelio en las trozas

El micelio cultivado en el laboratorio se procedió a inocular en las perforaciones de la madera, ayudado de una pinza y con el cuidado necesario de no maltratar el disco micelial (Figura 3).

Esta metodología fue adaptada por SINGER, 1964; BOTELHO y RAMOS, 1985. Antes de su ejecución final se realizó pruebas preliminares en condiciones de laboratorio (Figura 4).

h. Colocación

Las trozas después de inoculados se colocaron en una posición favorable para el desarrollo del micelio, es decir, en una



FIGURA 3. Forma de inoculación del micelio del hongo P. affinostreatus en los agujeros de las trozas forestales.



FIGURA 4. Prueba preliminar de inoculación de micelio - en trozas pequeñas en el laboratorio.

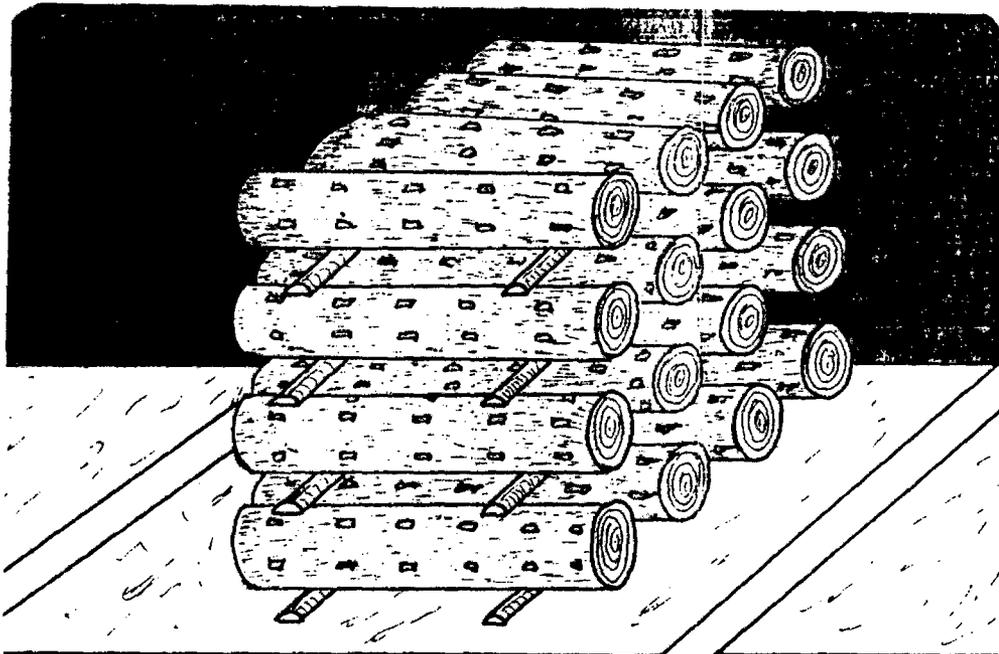


FIGURA 5. "Colocación" de las trozas después de la inoculación con porciones de medio mas - micelio del hongo comestible P. affinostreatus

posición oblicua en relación al piso. Se colocaron además varas unitarias, en forma cruzada para que descansen sobre ellas las trozas inoculadas lo que permite la aereación (Figura 5).

A 20 días posteriormente a la colocación se procedió a ordenar las trozas en las camas en forma perpendicular y bajo riego según como era necesario.

F. Observaciones registradas durante el experimento

Las evaluaciones se efectuó desde la inoculación en forma interdiaria, hasta el posible prendimiento del micelio en las trozas, para el cual se tomaron en cuenta las evaluaciones externas e internas mediante un raspado en el lugar inoculado, por un período de cuatro meses.

IV. RESULTADOS

1. Aislamiento y cultivo a partir de tejidos y basidiocarpos

Los resultados sobre la técnica de aislamiento y cultivo de micelio a partir de tejidos y basidiocarpos del hongo con inóculo sin desinfectar, se presenta en el cuadro 1, donde se puede apreciar, para el cultivo a partir de tejidos, un crecimiento micelial durante los dos primeros días, pero posteriormente con contaminaciones de bacterias y otros hongos.

Resultados sobre la técnica de aislamiento y cultivo de micelio a partir de tejidos y basidiocarpos del hongo con inóculos desinfectados se presenta en el cuadro 2, donde se observa un crecimiento normal del micelio, el mismo que se puede apreciar en la figura 6. Se observó un pequeño crecimiento durante los dos primeros días en el cultivo de basidiosporas, pero posteriormente éstos fueron invadidos y contaminados.

2. Purificación de los cultivos

Los resultados mediante ésta técnica fueron positivas, puesto que el micelio que desarrollo mediante las transferencias sucesivas de micelios mostraron características externas de robustez, agresividad y virulencia, como se aprecia en la figura 7.

CUADRO 1. Evaluación diaria (cm) del aislamiento de tejidos y basidiosporas del hongo con inóculos sin desinfectar.

Aislamiento	Evaluación diaria en cm				
	1º día	2º día	3º día	4º día	5º día
Tejido	1.0	1.2	x	x	x
Basidiosporas	x	x	x	x	x

CUADRO 2. Evaluación promedio diario en cm del aislamiento de tejidos y basidiosporas del hongo con inóculos desinfectados.

Aislamiento	Evaluación diaria en cm				
	1º día	2º día	3º día	4º día	5º día
Tejido	1.3	2.7	4.0	5.4	7.2
Basidiosporas	0.8	1.2	x	x	x

x = Medios de cultivos contaminados.

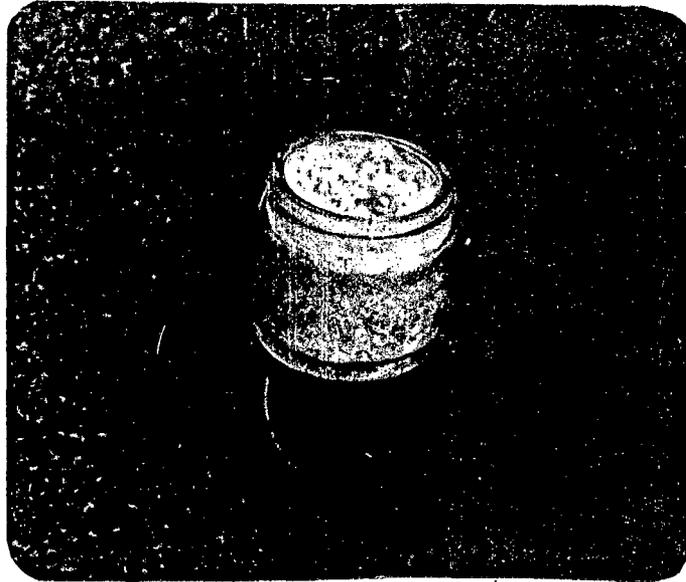


FIGURA 6. Aspecto del micelio del hongo comestible P. affinis ostreatus cultivado a partir de los tejidos desinfectados.



FIGURA 7. Característica del micelio del hongo P. affinis ostreatus purificado mediante trasgresiones sucesivas.

3. Identificación del hongo

Para la identificación del espécimen se tuvo que recurrir básicamente a estudiar sus características externas, así como internas o microscópicas, ayudado de claves de identificación existentes, con la confirmación respectiva de profesionales específicos en el ramo.

Características externas

El píleo mide de 3 a 7 cm de ancho, presenta una coloración de blanco a parduzco y marrón claro hacia la base. Su forma es semejante a pétalos de flor, al secarse se torna de color marrón claro, las láminas son de color blanquecinas no divididas longitudinalmente y no muy apretadas entre sí, sin fragilidad apreciable; su pie es lateral, corto, consistente y de color del sombrero; es subcarnosa con olor y sabor agradable; crecen solitarias o en conjunto sobre troncos podridos en los bosques; su estructura es sólida y al envejecer se putrefacta, siendo efímera. Algunas características se puede apreciar en las figuras 8, 9, 10.

Características internas

Las esporas vistas al microscopio carecen de color y son completamente hialinas. En grandes acumulaciones aparecen de color blanco y, por lo tanto no cambia el



FIGURA 8. Aspecto del micelio del hongo comestible P. affinis ostreatus y basidiocarpos emergiendo a 31 días de sembrado.



FIGURA 9. Forma del basidio carpo del hongo comestible P. affinis ostreatus cultivado en laboratorio a 33 días de sembrado.



FIGURA 10. Disposición de las láminas del himenio del hongo comestible P. affinis ostreatus.

color de las laminillas cuando las setas están en sazón, son binucleadas y de forma elipsoide, miden de 4 a 5 micras.

Las características arriba mencionadas coinciden con las especificadas para el género *Pleurotus*, según clave de identificación de GUZMAN, 1977.

Muestras de micelio, basidiocarpos secos y conservados en solución de formol-alcohol-agua (FAA), fueron enviados posteriormente a la Universidad Peruana Cayetano Heredia, que confirmó pertenecer este hongo al género *Pleurotus* y a la especie, *afín ostreatus*.

CUADRO 3. Análisis de su valor nutritivo del hongo *P. afín ostreatus*

Componentes	Valor nutritivo (%)
Proteínas	18.90
Grasa	1.59
Fibra	25.00
Ceniza	9.80
Humedad	17.85

4. Efecto de medios de cultivo

Los resultados del Análisis de Variancia para el e

fecto de medios de cultivo en el desarrollo micelial - se presenta en el cuadro 4, se observa en ella alta significación estadística entre medios de cultivos estudiados para los cinco días de evaluación. Esto puede visualizarse con mayor detalle en el cuadro 5, de la prueba estadística de Tukey (P : 0.05).

Se observa en ello que los medios de cultivos: Extracto de ocho verduras y extracto de zanahorias son superiores estadísticamente con respecto a los demás, - entretanto éstas presentaron un crecimiento micelial muy superficial. En cambio los medios de cultivo de aserrín, trozitos de madera, tierra humificada, trigo, arroz, arroz mas trigo y arroz mas aserrín; tuvieron un crecimiento micelial semejante entre sí, apreciable por la invasión del micelio hasta el fondo de la placa.

Resultados del análisis de Variancia para efecto - de medios de cultivos en el número de primordios desarrollados se presenta en el cuadro 6. Se observa una alta significación estadística entre medios de cultivos. En el cuadro 7, se presenta la prueba estadística de Tukey (P : 0.05). Según éstos el medio de cultivo trigo autoclavado fue superior estadísticamente con respecto a los demás medios, considerándose el mejor para ésta evaluación; y los medios arroz y arroz mas

CUADRO 4. Resumen del Análisis de Variación para el desarrollo micelial en el estudio de efectos de medios de cultivos, del hongo comestible P. afín ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios				
		1° Día	2° Día	3° Día	4° Día	5° Día
Tratamiento	10	0.4520 x x	1.9530 x x	2.7187 xx	9.3110 xx	12.4990 x x
Error	55	0.0430	0.0205	0.0671	0.0602	0.0540
C. V. (%)		17.0	6.4	6.8	3.9	2.8

x x : Altamente significativo, al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba de F.

CUADRO 5. Prueba estadística de Tukey para el desarrollo micelial en el estudio de efectos de medios de cultivos, del hongo comestible P. affinis ostreatus.

Tratamiento <u>1/</u>	Promedio diario en cinco evaluaciones <u>2/</u>				
	1º Día	2º Día	3º Día	4º Día	5º Día
V - 8	1.63 a	3.22 a	5.22 a	7.16 a	8.90 a
E - Z	1.42 a	3.03 ab	5.05 ab	6.73 ab	8.70 ab
Aserrín	1.33 a	2.75 b	4.63 bc	6.72 ab	8.68 ab
T. H.	1.32 a	2.45 c	4.32 cd	6.42 bc	8.68 ab
T. M.	1.32 a	2.28 cd	4.10 d	6.30 bc	8.68 ab
Trigo	1.30 a	2.27 d	4.08 d	6.27 bc	8.52 abc
Arroz	1.30 a	1.87 e	4.07 d	6.17 c	8.42 bc
A + t	1.27 a	1.83 e	3.90 de	6.00 c	8.34 bc
A + a	1.15 ab	1.77 ef	3.48 ef	5.27 d	8.20 c
A.P.D.	0.77 bc	1.72 ef	3.07 f	3.42 e	5.50 d
E.G.	0.65 c	1.55 f	3.05 f	3.40 f	4.50 e
C. V. (%)	17.0	6.4	6.8	3.9	2.8

1/ Tratamientos: V-8=Extracto de ocho verduras, E-Z= Extracto zanahorias, Aserrín, T.H.= Tierra humificada, T.M.= Trozitos de madera, Trigo, Arroz, A+t= Aserrín mas trigo, A+a= Aserrín mas arroz, A.P.D.= Agar papa dextrosa, E.G.= Estiércol de ganado.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

CUADRO 6. Resumen del Análisis de Variancia para el número de primordios en el estudio de efecto de medios de cultivos, del hongo comestible P.-afin ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>			
		1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
Tratamiento	10	10.9261 x x	15.4460 x x	16.531 x x	17.003 x x
Error	55	0.1131	0.138	0.148	0.151
C. V. (%)		18.97	18.97	19.5	19.4

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$
 x x Altamente significativo, al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 7. Prueba estadística de Tukey para el número de primordios en el estudio de efectos de medios de cultivos, del hongo comestible *P. - afín ostreatus*.

Tratamiento <u>1/</u>	Promedio diario en cuatro evaluaciones <u>2/</u>			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
Trigo	6.30 a	7.32 a	7.50 a	7.59 a
Arroz	2.76 b	3.15 b	3.35 b	3.42 b
A + t	2.66 bc	2.85 bc	2.92 bc	2.99 bc
A + a	1.81 d	2.16 d	2.19 d	2.22 d
V - 8	1.52 de	1.63 de	1.63 de	1.63 de
E - Z	1.21 de	1.29 e	1.29 e	1.37 e
Aserrín	1.00 e	1.00 e	1.00 e	1.00 e
A.P.D.	1.00 e	1.00 e	1.00 e	1.00 e
T.H.	1.00 e	1.00 e	1.00 e	1.00 e
E.G.	1.00 e	1.00 e	1.00 e	1.00 e
T.M.	1.00 e	1.00 e	1.00 e	1.00 e
C. V. (%)	18.97	19.00	19.50	19.40

1/ Tratamientos: Trigo, Arroz, A+t= Aserrín mas trigo, A+a= aserrín mas arroz, V-8= Extracto de ocho verduras, E-Z= Extracto zanahorias, Aserrín, A.P.D.= agar papa dextrosa, T.H.= Tierra humificada, E.G.= Estiércol de ganado, T.M.= Trozitos de madera.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

trigo fueron los segundos mejores medios de cultivo, - quienes diferieron de los demás.

Los resultados del Análisis de Variancia para el efecto de medios de cultivo en el número de basidiocarpos se presenta en el cuadro 8, donde observamos una alta significación estadística entre medios de cultivos. El cuadro 9, muestra la prueba estadística de Tukey (P : 0.05). El medio trigo autoclavado fue el que produjo el mejor número de basidiocarpos cuando comparamos con los demás.

El comportamiento de los medios de cultivos en relación a la producción de basidiocarpos se observa en la figura 11.

5. Efecto de luz

Resultados del Análisis de Variancia para el efecto de luz en el desarrollo micelial que se presenta en el cuadro 10, muestra la existencia de una alta significación estadística entre los tratamientos de luz estudiados, lo que se puede ver con mayor detalle en el cuadro 11, de la prueba estadística de Tukey (P : 0.05)

Los tratamientos, oscuridad total mas luz natural-laboratorio y oscuridad total, son superiores estadísticamente referente a los demás.

El efecto de luz para éste estudio se puede apre--

CUADRO 8. Resumen del análisis de Variancia para el número de basidiocarpos en el estudio de efecto de medios de cultivos, del hongo comestible P. afín ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>		
		1º Día	2º Día	3º Día
Tratamiento	10	0.24068 x x	0.56717 x x	0.92171 x x
Error	55	0.01569	0.02419	0.01657
C. V. (%)		11.2	13.0	10.3

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$
 x x Altamente significativo, al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 9. Prueba estadística de Tukey para el número de basidiocarpos en el estudio de efectos de medios de cultivos, del hongo comestible P. afin ostreatus.

Tratamiento <u>1/</u>	Promedio diario en tres evaluaciones <u>2/</u>		
	1º Día	2º Día	3º Día
Trigo	1.653 a	1.992 a	2.284 a
A + t	1.395 b	1.658 b	1.776 b
Arroz	1.390 bc	1.536 bc	1.719 bc
A + a	1.207 bcd	1.329 cd	1.451 d
Aserrín	1.000 d	1.000 e	1.000 e
V - 8	1.000 d	1.000 e	1.000 e
E - Z	1.000 d	1.000 e	1.000 e
A.P.D.	1.000 d	1.000 e	1.000 e
T.H.	1.000 d	1.000 e	1.000 e
E.G.	1.000 d	1.000 e	1.000 e
T.M.	1.000 d	1.000 e	1.000 e
C.V. (%)	11.2	13.0	10.3

1/ Tratamientos: Trigo, A+t= Aserrín mas trigo, Arroz, A+a= Aserrín mas arroz, Aserrín, V-8= Extracto ocho verduras, E-Z= Extracto zanahorias, A.P.D.= Agar papa dextrosa, T.H.= Tierra humificada, E.G.= Es tiércol de ganado, T.M.= Trozitos de madera.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

ciar en la figura 12.

Los resultados del Análisis de Variancia para efectos de luz, en el desarrollo de primordios que se presenta en el cuadro 12, muestra una alta significación estadística entre tratamientos de luz estudiados para los cuatro días de evaluación. Este puede verse detalladamente en el cuadro 13, de la prueba estadística de Tukey (P : 0.05). Los tratamientos, luz natural del laboratorio mas oscuridad total mostraron superioridad estadística con respecto a los demás.

Resultados del Análisis de Variancia para el efecto de luz en el desarrollo de basidiocarpos o fructificación se presenta en el cuadro 14, donde observamos que no existe diferencia significativa durante los tres primeros días de evaluación, siendo solamente significativo el último día que corresponde al cuarto. El cuadro 15, muestra la prueba estadística de Tukey (P : 0.05).

Todos los tratamientos estudiados para este fin no difieren estadísticamente, a excepción del tratamiento sometido a oscuridad total que mostró ser el último -- con respecto a los demás.

Resultados del Análisis de Variancia para el efecto de luz en el período de fructificación del hongo que

CUADRO 10. Resumen del Análisis de Variancia para el crecimiento micelial en-
el estudio del efecto de luz, del hongo comestible P. afín ostrea-
tus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>			
		1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
Tratamiento	3	0.3627 x x	2.7250 x x	6.9073 x x	6.7882 x x
Error	20	0.0139	0.0195	0.0274	0.0147
C. V. (%)		9.0	4.8	3.1	1.7

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$
x x Altamente significativo al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 11. Prueba estadística de Tukey para el crecimiento micelial en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible P. afín ostreatus.

Tratam. <u>1/</u>	Promedio diario en cuatro evaluaciones <u>2/</u>			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
OT+LNL	1.533 a	3.533 a	6.218 a	8.283 a
OT	1.517 ab	3.533 ab	6.224 ab	8.266 ab
LNL+OT	1.117 c	2.350 c	4.352 c	6.472 c
LNL	1.083 c	2.333 c	4.330 c	6.400 c
C. V. (%)	9.0	4.8	3.1	1.7

1/ Tratamientos: OT+LNL= Oscuridad total mas luz natural del laboratorio, OT= Oscuridad total, LNL+OT= Luz natural del laboratorio mas oscuridad total, LNL= Luz natural del laboratorio.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).



FIGURA 11. Medios de cultivos estudiados para el desarrollo del hongo comestible P. affín ostreatus en el laboratorio.

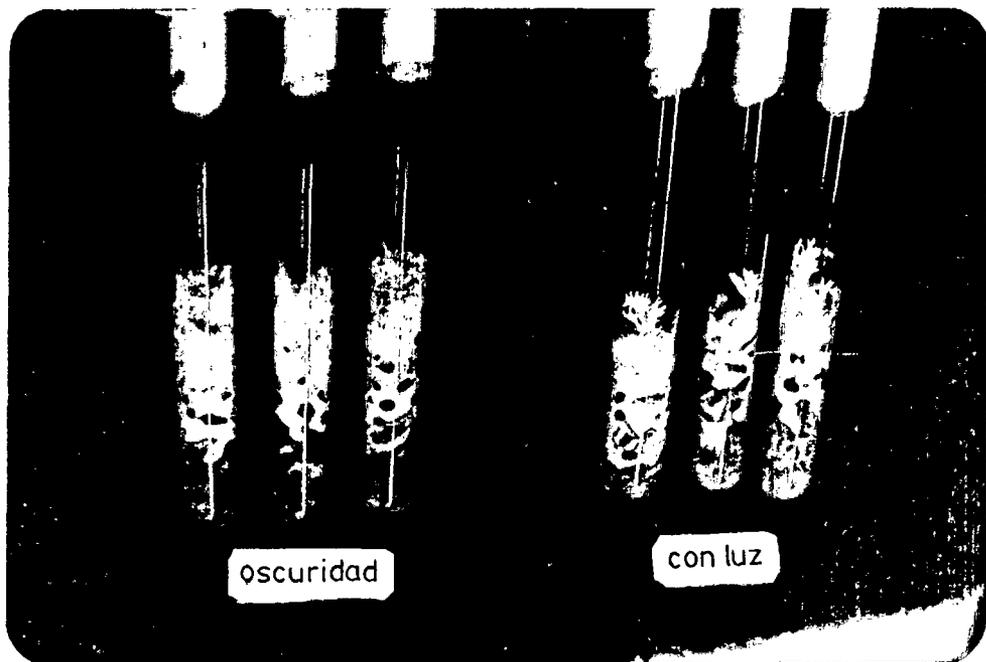


FIGURA 12. Tratamientos de luz, estudiados en el desarrollo vegetativo del hongo comestible P. affín ostreatus en el laboratorio.

CUADRO 12. Resumen del Análisis de Variación para el número de primordios en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible P. afín ---- ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>			
		1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
Tratamiento	3	14.548 x x	13.966 x x	14.875 x x	14.914 x x
Error	20	0.163	0.147	0.140	0.142
C. V. (%)		7.13	6.4	6.1	6.11

1/ Para el Análisis de Variación los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$
 x x Altamente significativo al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 13., Prueba estadística de Tukey para el número de primordios en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible P. afín ostreatus.

Tratam. <u>1/</u>	Promedio diario en cuatro evaluaciones <u>2/</u>			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
LNL	7.033 a	7.328 a	7.495 a	7.516 a
LNL+OT	6.499 ab	6.727 b	6.970 ab	7.006 ab
OT+LNL	5.645 c	5.932 c	6.141 c	6.181 c
OT	3.668 d	3.834 d	3.923 c	3.946 c
C. V. (%)	7.13	6.4	6.1	6.11

1/ Tratamientos: LNL= Luz natural del laboratorio, LNL+OT= Luz natural del laboratorio mas oscuridad total, OT+LNL= Oscuridad total mas luz natural del laboratorio, OT= Oscuridad total.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

CUADRO 14.- Resumen del Análisis de Variancia para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible P. afin -- ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>			
		1º Día	2º Día	3º Día	4º Día
Tratamiento	3	0.060 NS	0.158 NS	0.396 NS	0.542 x
Error	20	0.099	0.111	0.143	0.127
C. V. (%)		22.7	21.0	21.1	19.1

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$

x Significativo al nivel de 5 % de probabilidad, por la prueba F.

NS No significativo.

CUADRO 15. Prueba estadística de Tukey para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto de luz, del hongo comestible P. afín ostreatus.

Tratam. <u>1/</u>	Promedio diario en cinco evaluaciones <u>2/</u>			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
LNL	1.504 a	1.768 a	2.099 a	2.207 a
LNL+OT	1.382 a	1.641 a	1.852 ab	1.936 ab
OT+LNL	1.382 a	1.549 a	1.730 ab	1.852 ab
OT	1.260 a	1.382 a	1.480 b	1.480 b
C. V. (%)	22.7	21.0	21.1	19.1

1/ Tratamientos: LNL= Luz natural del laboratorio, LNL+OT= Luz natural del laboratorio mas oscuridad total, OT+LNL= Oscuridad total mas luz natural del laboratorio, OT= Oscuridad total.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

se presenta en el cuadro 16, muestra la existencia de alta significación estadística entre los tratamientos de luz estudiados. El cuadro 17, detalla la prueba estadística de Tukey (P : 0.05).

Los tratamientos de luz natural del laboratorio y oscuridad total más luz natural del laboratorio, mostraron ser estadísticamente superiores a los demás referente al período de fructificación.

6. Efectos de temperatura

Los resultados del Análisis de Variancia para el efecto de temperatura en el desarrollo micelial que se presenta en el cuadro 18, muestra la existencia de alta significación estadística entre los tratamientos de temperaturas estudiados para los cuatro días de evaluación. Este puede verse con detalle en el cuadro 19, de la prueba estadística de Tukey (P : 0.05).

Los tratamientos de temperatura de 27 grados centígrados y temperatura de 27 grados centígrados más temperatura ambiente del laboratorio, son superiores estadísticamente con referencia a los demás tratamientos.

Resultados del Análisis de Variancia para efectos de temperaturas en el desarrollo de primordios que se presenta en el cuadro 20, muestran la existencia de alta significación estadística entre tratamientos de -

CUADRO 16. Análisis de Variancia para el período de fructificación en el estudio del efecto luz, del hongo comestible P. afín ostreatus.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Sig. <u>1/</u>
Tratam.	3	4.265	1.422	76.03	x x
Error	20	0.373	0.019		
C. V. (%)					11.9

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$

x x Altamente significativo al nivel de 5 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 17. Prueba estadística de Tukey para el período de fructificación del hongo comestible P. afín ostreatus en el estudio del efecto de luz.

Tratamiento <u>1/</u>	Promedio	Sig. <u>2/</u>
LNL	4.6887	a
OT+LNL	4.7595	a b
LNL+OT	5.4912	b
OT	5.6254	b
C. V. (%)		11.9

1/ Tratamientos: LNL= Luz natural del laboratorio, OT+LNL= Oscuridad total mas luz natural del laboratorio, LNL+OT= Luz natural del laboratorio mas oscuridad total, OT= Oscuridad total.

2/ Los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

CUADRO 18. Resumen del Análisis de Variancia correspondiente al crecimiento - micelial en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible P. afín ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios			
		1º Día	2º Día	3º Día	4º Día
Tratamiento	3	0.335 x x	2.920 x x	7.673 x x	7.671 x x
Error	20	0.010	0.008	0.019	0.020
C. V. (%)		7.7	3.2	2.6	2.0

x x Altamente significativo al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 19. Prueba estadística de Tukey para el crecimiento micelial en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible P. affinis ostreatus

Tratam. <u>1/</u>	Promedio diario en cuatro evaluaciones <u>2/</u>			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
T ⁰ 27°C	1.517 a	3.500 a	6.283 a	8.317 a
T ⁰ 27°C+T ⁰ AL	1.500 ab	3.500 ab	6.233 ab	8.283 b
T ⁰ AL+T ⁰ 27°C	1.117 c	2.300 c	4.300 c	6.350 c
T ⁰ AL	1.083 c	2.283 c	4.300 c	6.333 c
C. V. (%)	7.7	3.2	2.6	2.0

1/ Tratamiento: T⁰27°C= Temperatura de 27 grados centígrados, T⁰27°C+AL= Temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente del laboratorio, T⁰AL+T⁰27°C= Temperatura ambiente del laboratorio mas temperatura de 27 grados centígrados, T⁰AL= temperatura ambiente del laboratorio.

2/ En cada columna los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

temperaturas estudiados para los cuatro días de evaluación. Este se detalla en el cuadro 21, de la prueba estadística de Tukey (P : 0.05).

Los tratamientos de temperatura ambiente del laboratorio y temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente del laboratorio, mostraron superioridad estadística sobre los demás.

Los resultados del Análisis de Variancia para efectos de temperatura en el número de basidiocarpos que se presenta en el cuadro 22, donde se observa que no existe diferencia significativa entre tratamientos para los primeros dos días de evaluado, y siendo significativa y altamente significativa entre ellos el tercero y cuarto día respectivamente. El cuadro 23, muestra la prueba estadística de Tukey (P : 0.05).

Los tratamientos de temperatura ambiente del laboratorio y temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente del laboratorio, fueron estadísticamente los mejores respecto a los demás.

Resultados del Análisis de Variancia para el efecto de temperatura en el período de fructificación del hongo que se presenta en el cuadro 24, muestra alta significación estadística entre tratamientos. En el cuadro 25, se visualiza con detalle la prueba estadís

CUADRO 20. Resumen del Análisis de Variancia correspondiente al número de primordios en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible P. afín ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>			
		1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
Tratamiento	3	14.981 x x	15.944 x x	16.113 x x	16.047 x x
Error	20	0.304	0.268	0.261	0.272
C. V. (%)		9.4	8.5	8.2	8.3

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$

x x Altamente significativo al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 21., Prueba estadística de Tukey para el número de primordios en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible P. afín ostreatus

Tratam. 1/	Promedio diario en cuatro evaluaciones 2/			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
T°AL	7.182 a	7.560 a	7.734 a	7.778 a
T°27°C+T°AL	6.863 ab	7.067 ab	7.089 ab	7.121 ab
T°AL+T°27°C	5.594 c	5.731 c	5.964 c	6.034 c
T°27°C	3.699 d	3.915 d	3.996 d	4.034 d
C. V. (%)	9.4	8.5	8.2	8.3

1/ Tratamientos: T°AL= Temperatura ambiente del laboratorio, T°27°C+T°AL= Temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente -- del laboratorio, T°AL+T°27°C= Temperatura ambiente del laboratorio mas temperatura de 27 grados centígrados, T°27°C= Temperatura de 27 grados centígrados.

2/ Los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

CUADRO 22. Resumen del Análisis de Variancia para el número de basidiocarpos-
 en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible P. afín
ostreatus.

F. de V.	G.L.	Cuadrados medios <u>1/</u>			
		1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
Tratamiento	3	0.093 NS	0.090 NS	0.212 x	0.349 x x
Error	20	0.071	0.052	0.050	0.048
C. V. (%)		20.3	15.0	13.2	11.8

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$

x Significativo al nivel de 5 % de probabilidad, por la prueba F.

x x Altamente significativo al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

NS No significativo.

CUADRO 23. Prueba estadística de Tukey para el número de basidiocarpos en el estudio del efecto temperatura, del hongo comestible P. afín - - - ostreatus.

Tratam. 1/	Promedio diario en cuatro evaluaciones 2/			
	1° Día	2° Día	3° Día	4° Día
T°AL	1.451 a	1.671 a	1.866 a	2.118 a
T°27°C+T°AL	1.382 a	1.573 a	1.808 ab	1.950 ab
T°27°C	1.207 a	1.451 a	1.626 abc	1.768 bc
T°AL+T°27°C	1.207 a	1.398 a	1.451 c	1.557 c
C. V. (%)	20.3	25.0	13.2	11.8

1/ Tratamientos: T°AL= Temperatura ambiente del laboratorio, T°27°C+T°AL= Temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente del laboratorio, T°27°C= Temperatura de 27 grados centígrados, T°AL+T°27°C= Temperatura ambiente del laboratorio mas temperatura de 27 grados centígrados.

2/ Los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

CUADRO 24. Análisis de Variancia para el período de fructificación del hongo comestible P. affín ostreatus en el estudio del efecto temperatura.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Sig. <u>1/</u>
Tratam.	3	3.9498	1.3166	29.4541	x x
Error	20	0.8945	0.0447		
C. V. (%)					4.15

1/ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 1}$

x x Altamente significativo al nivel de 1 % de probabilidad, por la prueba F.

CUADRO 25. Prueba estadística de Tukey para el período de fructificación del hongo comestible P. afín ostreatus en el estudio del efecto -- temperatura.

Tratamiento <u>1/</u>	Promedio	Sig. <u>2/</u>
T° 27°C + T° AL	4.5440	a
T° 27°C	4.8119	a b
T° AL + T° 27°C	5.3997	c
T° AL	5.6114	c
C. V. (%)		4.15

1/ Tratamientos: T°27°C+T°AL= Temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente de laboratorio, T°27°C= Temperatura de 27 grados centígrados, T°AL+T°27°C = Temperatura ambiente del laboratorio mas temperatura de 27 grados centígrados, T°AL= Temperatura ambiente del laboratorio.

2/ Los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, P = 0.05).

tica de Tukey ($P : 0.05$).

Los tratamientos de temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente del laboratorio y el de temperatura ambiente del laboratorio simplemente, desarrollaron basidiocarpos en menor tiempo (28 días en promedio), siendo generalmente bajo condiciones de temperatura normales, de 31 a 33 días.

7. Propagación en trozas forestales

La metodología utilizada fue la propagación del hongo Pleurotus sp. adaptada de otros autores ya señalados; fue primeramente probada en condiciones de laboratorio, inoculándose trozas pequeñas y proporcionando condiciones de humedad para su desarrollo (Figura 4).- Metodología ésta, que según evaluación cualitativa a los 30 días manifestaba inicio de desarrollo, por lo tanto inicio de colonización de la madera, permitiendo con ello determinar su posible propagación en condiciones de campo.

Realizada la metodología de propagación descrita en materiales y métodos, y después de la inoculación se efectuó la evaluación inicialmente cada dos días y posteriormente cada semana con la metodología ya descrita.

A los 15 días muchos lugares de inoculación, aparecían como que el micelio del hongo desaparecía, quedaban

do tan solo el medio de trigo; otros en cambio mostraban una apariencia de desarrollo.

A los 60 días realizado un raspado próximo al lugar de inoculación, mostraban la apariencia de colonización de la madera y desarrollo del micelio del hongo.

Las evaluaciones continuaron hasta los cuatro meses después de la inoculación, donde infelizmente no se obtuvo resultados positivos de propagación del hongo en estudio.

Según referencias de literatura (SINGER, 1984), manifiesta que en condiciones normales, especies de este género pueden lograrse su reproducción hasta los cuatro meses.

V. DISCUSION

1. Aislamiento y cultivo

Se llegaron a obtener resultados favorables en cuanto a cultivo a partir de tejidos del basidiocarpo del hongo, se debe éste posiblemente a que el inóculo (tejido interno del hongo) haya tenido una buena desinfección, antes de que fuese sembrado en el medio, o sea estuvo libre de agentes contaminantes el cual permitió un buen desarrollo del micelio del hongo, sin problemas de inhibición especialmente por bacterias.

BOTELHO Y RAMOS (1985), recomiendan hacer aislamientos y cultivo a partir de tejidos de basidiocarpos, por ser un método mas eficiente.

El cultivo realizado a partir de basidiosporas no logró desarrollo micelial, apesar de que se desinfectó la emulsión de esporas con hipoclorito, posiblemente esto se deba a:

- Una mala desinfección de las basidiosporas,
- Un grado o porcentaje de germinación muy bajo,
- Una pérdida del poder germinativo de las basidiosporas por el modo de tratamiento de desinfección realizado.

BOTELHO Y RAMOS (1985), hacen mención que los inóculos a sembrarse en los medios de cultivos deben desinfectarse previamente, de acuerdo a la especie de hongo en estudio.

De todo lo antes indicado, deducimos de que no es posible obtener cultivos puros apartir de basidiosporas y tejidos sin antes lograr una técnica adecuada de desinfección para su posterior siembra en el medio de cultivo, ya que al recolectar los basidiocarpos del campo ya vienen contaminados de otros microorganismos, especialmente de bacterias que desarrollan con mayor rapidez en el medio.

2. Purificación de los cultivos

En cuanto a la purificación de cultivos de micelio, se obtuvo buenos resultados, siempre y cuando la operación de traspase o siembra de discos miceliales a otro medio, se realice rigurosamente con asepsia en el interior de una cámara de cultivo cerca a la llama de un mechero.

Cabe indicar por otro lado que en pruebas efectuadas encuanto a mantenimiento de éstas cepas, se notó una degeneración de las mismas a partir de los cuatro meses de edad, observando en ésta el desarrollo del micelio de una forma débil, incipiente, tornándose de un color pardo grisáceo así como de una forma de masa algodonosa pelusante, sin sus características de brillo bajo sus condiciones normales.

LEAL (1981), trabajando con Agaricales, reporta --

que existe el fenómeno de senescencia de las cepas, después de un largo almacenamiento, y esto se debe principalmente a su constitución genética del hongo, y los medios nutritivos usados.

3. Identificación del hongo

Referente a la identificación del espécimen, se tuvo muestras representativas que fueron confrontadas a claves de identificación, las que se detalla en sus características externas así como internas, complementado con su estudio y comportamiento propio en el laboratorio.

Según sus características externas e internas ya señaladas, al hongo comestible en estudio pertenece al género Pleurotus. Reconfirmada el género e identificada a nivel de especie en la Universidad Peruana Cayetano Heredia (PAVLICH, H. 1991).

4. Medios de cultivos

A. Crecimiento micelial

Los medios de cultivos extracto de ocho verduras y extracto de zanahorias, estadísticamente mostraron ser los mejores encunto a un crecimiento rápido del micelio, pero esto sin tener en cuenta la capacidad de penetrabilidad del micelio en los medios mencionados; talv ez sea un error el no haber

tenido encuentra en la evaluación, la robustéz y buena conformación del micelio en los medios.

Es notable que el micelio en éstos medios indicados haya tenido la ventaja de crecer con rapidéz comparando con los demás, porque el crecimiento fue superficial y no así homogéneo con una invasión total del micelio dentro del medio.

Los medios de cultivos aserrín, tierra humificada, trozitos de madera, trigo, arroz, arroz mas trigo, y arroz mas aserrín; mostraron un desarrollo micelial con mayor robustéz, compactibilidad y decrecimiento micelial uniforme tanto en el fondo así como en la parte superficial del medio; permitiendo al micelio mayor penetrabilidad y con ello mayor asimilación de sus nutrientes.

SINGER (1964), afirma que para el A. bisporus, puede ser óptima para el desarrollo del micelio, una combinación de factores, tales como temperatura, pH, luz, propiedades físicas del sustrato y la proporción de los factores nutritivos. De otro modo GILMAN (1963), manifiesta que la preparación de los medios de cultivos es importante, no sólo para conseguir el desarrollo del hongo fuera de su ambiente natural, sinó porque en su crecimiento en medios

adecuados, los hongos muestran una serie de propiedades de gran valor para su identificación o utilidad.

B. Número de primordios

El medio de cultivo de trigo autoclavado según el cuadro 7, nos muestra un mayor número en cuanto a emisión de primordios; seguidos de los medios de arroz, arroz mas trigo, y arroz mas aserrín; éste se debe a que éstos cereales contienen un alto contenido o porcentaje de carbohidratos de los que -- puede disponer con facilidad el micelio del hongo, según lo especificado por SINGER (1964).

Es necesario anotar por otro lado que los medios de cultivos de extracto de ocho verduras y de zanahorias, no hayan tenido la capacidad de producir primordios y menos basidiocarpos por las mismas razones de que no tuvieron un desarrollo micelial debidamente conformado, ya que para la formación de primordios y basidiocarpos es necesario una condensación de las hifas miceliales del hongo.

Referente a los medios de cultivos de aserrín y trozitos de madera, apesar de tener un desarrollo micelial regular no brotaron primordios, debido posiblemente a que dichos sustratos no estuvieron des

compuestos en un buen porcentaje para que el micelio pueda aprovechar los nutrientes necesarios y tenga la capacidad de emerger primordios.

Referente al medio de tierra humificada, se no tó desarrollo micelial, pero no emergió primordios, debido en lo posible a que éste hongo es lignocelulósico en gran medida, y que en suelo húmico existe poca lignina, el cual es insuficiente para el desarrollo de primordios.

LEAL (1981), menciona que los Pleurotus sp, L. edodes, se encuentra en los troncos de árboles, ello no excluye de ninguna manera, que pudieran ser cultivados en ciertos tipos de desperdicios lignocelulósicos. Tal como el caso del P. ostreatus que se puede cultivar en olotes de maíz y diversos tipos de pajas.

Referente al medio estiércol de ganado vacuno- tampoco se obtuvo primordios, posiblemente debido a que dicho estiércol estuvo un poco fresco y el contenido de amoníaco era relativamente alto, el cual inhibe el crecimiento del micelio.

TRESCHOW (1944), mencionado en SINGER (1964), indica que las sales de amonio de ácidos fuertes de sarrollan con rapidéz un sustrato tan ácido que el

micelio se inhive y eventualmente se muere.

C. Número de basidiocarpos

El medio de cultivo trigo autoclavado estadísticamente fue el mejor, referente al número de basidiocarpos desarrollados, sin duda alguna posiblemente ésto se deba a que el trigo sea el medio que mejor se adapte a la biología y exigencias nutricionales del hongo estudiado, bajo condiciones del laboratorio.

Seguidamente los medios arroz mas trigo, arroz, arroz mas aserrín; también demostraron gran afinidad encuanto al desarrollo de basidiocarpos.

SINGER (1964), manifiesta que los cereales contienen gran cantidad de carbohidratos, y son por lo tanto, la que éstos hongos necesitan para su desarrollo.

5. Condiciones de luz

A. Crecimiento micelial

Los tratamientos de oscuridad total mas luz natural del laboratorio y oscuridad total, resultaron ser los mejores estadísticamente referente al crecimiento del micelio, siéndo ésta de una manera más rápida que los demás. Nos indica por lo tanto que el micelio de éste hongo desarrolla mejor en condi

ciones de oscuridad, y los estímulos de la luz inhiben en cierta medida el crecimiento del micelio; - si comparamos éstos con su condición natural, donde el micelio desarrolla en un ambiente poco iluminado, el cual es su característica prevalescente.

Cabe indicar que la oscuridad sólo tiene influencia en forma positiva en cuanto al crecimiento del micelio del hongo, mas no así en el desarrollo del basidiocarpo.

Características de la influencia de la oscuridad en el crecimiento micelial de los hongos es referido por los autores (LEAL, 1981; SINGER, 1964).

B. Número de primordios

Referente al número de primordios, se nota que los tratamientos de luz natural del laboratorio y el de luz natural del laboratorio mas oscuridad total, permitieron el brotamiento de mayor número de primordios, determinándose que la luz influye en la fase reproductiva del hongo en estudio.

LEAL 1981, SINGER 1964; manifiestan que las condiciones que favorecen la propagación vegetativa no son las mismas que las que propician el cambio a la fase productiva (fructificación).

Este efecto se notó claramente en los experimentos

tos preliminares realizados en tubos de ensayo donde los tratados con luz obtuvieron un desarrollo de primordios muy notorio, en comparación a los tratados a oscuridad que sólo se nota un mayor desarrollo del micelio hasta en las paredes y en la parte superior del tubo.

C. Número de basidiocarpos

Los tratamientos que respondieron a un mayor desarrollo de primordios antes mencionados, también tuvieron un buen comportamiento hacia el desarrollo del basidiocarpo y ésto principalmente se debe a que la luz influye en la formación de basidiocarpos.

D. Período vegetativo del hongo en el laboratorio

Con respecto a éste estudio, los tratamientos de luz natural del laboratorio y oscuridad total mas luz natural del laboratorio resultaron ser estadísticamente los mejores referente a su fructificación en menor tiempo (28 días), a diferencia de los demás tratamientos que desarrollaron en mayor tiempo (33 días).

PASSECKER (1933), mencionado en SINGER (1964); en uno de sus experimentos trabajando con L. eddes y en la oscuridad los cuerpos fructificantes apare

cieron después de los ocho meses, lo que comúnmente debe aparecer a los tres meses en condiciones normales de luz.

Por otro lado SINGER (1964), indica que en los A. bisporus la influencia de la luz no va más allá de provocar una tendencia a favorecer la síntesis de un pigmento en la cutícula del pileo de algunas razas, pero esto no parece influenciar positiva o negativamente ni el crecimiento de las hifas, ni la fertilidad o la germinación. Las razas "Blanca nieve" tienen una tendencia a crecer relativamente con un color menos intenso, por lo menos cuando jóvenes, así se excluye completamente la luz.

6. Condiciones de temperatura

A. Crecimiento micelial y número de primordios

El Análisis estadístico nos muestra que existe diferencia significativa referente a crecimiento micelial entre los tratamientos de temperatura estudiados. Así los tratamientos a temperatura de 27 grados centígrados y temperatura ambiente del laboratorio, mostraron ventaja sobre el resto. Esto significa que entre 25 a 29 grados centígrados de tempe

ratura es el rango óptimo para el crecimiento y desarrollo del hongo estudiado.

LEAL (1981), manifiesta al respecto que existe una influencia significativa de la temperatura sobre el desarrollo vegetativo (micelio) de cada hongo; por ejemplo la V. volvacea tiene un óptimo de 35 °C, A. bisporus de 25 °C; las temperaturas de fructificación de cada hongo son por lo común inferiores a las óptimas requeridas respecto a su desarrollo vegetativo.

En referencia al número de primordios mediante los tratamientos estudiados a diferentes rangos de temperatura, alcanzan superioridad estadística los de temperatura ambiente del laboratorio y el de temperatura de 27 °C mas temperatura ambiente del laboratorio, significando que ésta temperaturas se acercan al óptimo encunto al desarrollo de primordios.

B. Número de basidiocarpos

No existe mucha diferencia significativa referente a los tratamientos estudiados con respecto al número de basidiocarpos emergidos, ésto talvéz nos induzca a manifestar que la diferencia de temperatura entre tratamientos que se estudió no tenga un

valor alejado del óptimo encunto al desarrollo del basidiocarpo del hongo P. afín ostreatus.

La fructificación en los tratamientos de temperatura de 27 grados centígrados mas temperatura ambiente del laboratorio y el de temperatura de 27 - grados centígrados simplemente, se produjo en menor tiempo el desarrollo del basidiocarpo, demostrando cierta influencia de la temperatura en acelerar el desarrollo productivo del hongo.

PASSEKER (1933), mencionado en SINGER (1964),- en estudios efectuados con el hongo L. edodes, encontró que a temperatura de 18 a 24 °C producían cuerpos fructificantes dentro de los tres meses a proximadamente, y utilizando temperaturas mas bajas y con un sustrato exótico resultaba cuerpos -- fructificantes en mayor tiempo.

7. Propagación en trozas forestales

Bajo las condiciones del estudio, no fue posible obtener propagación en las trozas inoculadas. Creemos que éste depende de una serie de factores externos así como internos que en realidad es necesario estudiarlos. A continuación hago relacionar algunos factores que pudieron haber influido en los resultados:

- La humedad en el sitio de colocación tiene implica-

ciones importantes para el prendimiento del micelio como lo manifiesta SINGER 1964. Posiblemente se requiere de más humedad para permitir desarrollo del micelio sobre la troza, bajo el sistema de riego que se adoptó en este trabajo.

- Pueden ser óptimas para el desarrollo una combinación de factores como temperatura, potencial hidrógeno, luz, propiedades físicas del sustrato y la proporción de los factores nutritivos según nos manifiesta LEAL 1981. Pueden que algunos de éstos factores sean limitantes en el desarrollo del micelio.
- Períodos de excesiva humedad y/o sequedad, causan inhibición en el desarrollo micelial y por tanto improducción de éstos hongos (SINGER, 1964). Después de inoculados el micelio en las trozas, existió fuertes y constantes precipitaciones (Enero-Abril; Cuadro 1 del apéndice), que con cuyo exceso de lluvias posiblemente no permitió el desarrollo normal del inóculo.
- La cantidad de agua en el sustrato juega un papel de primerísima importancia en el cultivo de hongos comestibles (Agaricus sp.), ya que los cuerpos fructificantes constan de 90 % de agua. Así mismo es de suma importancia la cantidad de agua para el curso

correcto de la fermentación del sustrato LEAL, 1981).

Por este motivo acredito que el humedecimiento de las trozas en el interior ántes del proceso de inoculación, es un tema de estudiarlo, talvés modificarlo el método aquí empleado, ésto es, sumergiendo las trozas en agua a diferentes niveles y tiempo se logro suceso.

- Un proceso común en la inoculación, es la inhibición del desarrollo del micelio por otros microorganismos existentes en el medio y el sustrato; por tanto, como fue observado, muchos locales de inhibición fueron invadidos por otros microorgnismos-saprófitos.
- El método de inoculación empleado en éste trabajo fue el sugerido por SINGER 1964, colocándose poco micelio en los sitios y en forma dispersa en las trozas, entretanto BOTELHO Y RAMOS 1985, indica que para el cultivo del P. afín ostreatus en pedazos de troncos de árboles debe la semilla o inóculo ser colocados en troncos de aproximadamente 30 cm de diámetro formando una especie de "Sandwich", método éste muy empleado en Canadá, es de suponer entonces que con éste método existe mayor cantidad -

de inóculo en el área, y por otro, permite mayor área de contacto entre el inóculo y la troza y por lo tanto existe mayor probabilidad de desarrollo del micelio y colonización de la madera, resultando en suceso la propagación del hongo comestible - haciendo uso de la madera. Por lo tanto es necesario que con éste método descrito sea realizado nuevas pruebas de inoculación del hongo comestible P. afín ostreatus, identificado en éste trabajo.

- También BOTELHO Y RAMOS (1985), sobre el cultivo-- del Pleurotus sp. en pedazos de troncos, manifiesta que "no es aconsejable la utilización de madera de Pinus o Eucaliptus". Con ésta premisa, deducimos que hongos del género Pleurotus no crecen en algunas maderas, por lo tanto un estudio de su prevalescencia en condiciones naturales es necesario, - antes decidir aleatoriamente los sustratos de madera para su propagación.

- Por último SINGER 1964, manifiesta que los hongos-comestibles pueden ser obtenido su producción de 3 a 8 meses, al terminarse el trabajo de la fase de campo a 4 meses no se logró suceso.

VI. CONCLUSIONES

Las observaciones y análisis de los resultados obtenidos bajo las condiciones del presente trabajo, permitió llegar a las siguientes conclusiones:

1. De los dos tipos de aislamientos y cultivos efectuados el cultivo de tejidos de basidiocarpos desinfectados-- permitió mejores resultados.
2. La identificación del hongo pertenece al género - Pleurotus sp de acuerdo a claves de identificación de hongos comestibles Pleurotáceos.
3. Para efectos de medios de cultivos; el desarrollo micelial, de primordios y basidiocarpos dan resultados satisfactorios al cultivarse en trigo y arroz autoclavado.
4. Para efectos de condiciones de luz, el crecimiento micelial se adapta mejor bajo tratamientos sometidos a oscuridad. Mientras que para desarrollo de primordios y basidiocarpos es necesario la influencia de la luz.
5. Para efectos de condiciones de temperatura, el desarrollo micelial mostró eficiencia sometida bajo temperatura de 27 °C, mientras que el desarrollo de primordios y basidiocarpos necesita temperatura mas bajas.
6. En términos generales no fue posible obtener propagación en las trozas forestales inoculadas con el micelio del hongo comestible P. afín ostreatus.

VII. RECOMENDACIONES

En referencia a las conclusiones dadas en el presente experimento es posible dar las siguientes recomendaciones:

1. Para el aislamiento de hongos comestibles y preparación del inóculo para su propagación, deberá ser realizada mediante el cultivo a través de tejidos del basidiocarpo desinfectado. Así mismo para la purificación de los cultivos es necesario usar cepas jóvenes (hasta un mes de edad).
2. Aunque varios medios de cultivos pueden ser utilizados, se recomienda usar el medio trigo autoclavado, bajo condiciones de laboratorio.
3. Para el desarrollo micelial del hongo comestible estudiado, proporcionar la condición de oscuridad, para la producción de basidiocarpos es necesario administrarle luz. Ambos procesos con un rango de temperatura entre 25 a 29 °C.
4. Efectuar trabajos referente a genética y mantenimiento de cepas miceliales del hongo P. afín ostreatus identificado en éste trabajo.
5. Realizar estudios similares con otros hongos comestibles que existen en la zona, y probar sustratos lignocelulósicos tales como en olotes de maíz, bagazo de caña, y diversos tipos de pajas, previamente esterilizados.

6. Probar condiciones mas precisas en que deben encontrarse las trozas y el ambiente al momento de la inocula--
ción para propagar en campo hongos comestibles.

VIII. RESUMEN

El presente experimento se ejecutó en el laboratorio de Fitopatología y la Microestación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva-Tingo María, con la finalidad de estudiar su biología y adaptación del hongo comestible P. afín ostreatus.

El experimento se distribuyó mediante el Diseño Completo al Azar con cinco repeticiones.

Inicialmente se estudiaron aislamiento y cultivo del hongo a partir de tejidos y basidiosporas, purificación de cultivos e identificación; posteriormente se evaluaron efectos de medios de cultivos, efectos de luz, y efectos de temperaturas en el desarrollo micelial, de primordios y basidiocarpos, así como su posible propagación en condiciones de campo.

La evaluación de los parámetros se realizaron en forma diaria, lográndose los siguientes resultados:

- Mayor promedio de desarrollo micelial se consiguió a partir de aislamiento y cultivo de tejidos del hongo previa desinfección.
- La purificación de los cultivos tuvieron eficiencia mediante el traspace de discos miceliales de cepas jóvenes hacia medios de cultivos (trigo autoclavado) en forma consecutiva.
- Para la identificación del espécimen se tuvo como base

las claves de identificación de hongos comestibles descritas por GUZMAN 1977.

- Mejor desarrollo micelial, mayor formación de primordios y basidiocarpos se tuvo mediante el medio de cultivo de trigo autoclavado.

- Para efectos de condiciones de luz, mayor desarrollo micelial se consiguió usando los medios de cultivos de trigo autoclavado sometidos a oscuridad, mientras que para el desarrollo de primordios y basidiocarpos resultó mejor los tratamientos sometidos a luz.

- Para efectos de temperatura, el desarrollo de micelio, primordios y basidiocarpos, dió mejores resultados los tratamientos sometidos a temperaturas de 27 °C.

- En términos generales no fue posible obtener propagación en las trozas forestales inoculadas con el micelio del hongo comestible P. afín ostreatus.

Estudios iniciales con hongos comestibles en nuestra región, es de necesidad prioritaria ya que permitirá su mejor aprovechamiento.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. ANDERSON, E. E. y FELLERS, C. R. 1942. The food value of mushrooms (*Agaricus campestri*). Proc. Amer. - soc. Hort. Sci, 41, 301-4.
2. BOTELHO, T. S. y RAMOS, B.V. 1985. Cogumelos comestí veis; São Paulo-Brasil, Ed. Icome. 83 p.
3. BAXTER, D. V. 1952. Patology in forest practice Joh Wiley & Gons, Inc 2° Ed. London-New york.
4. BOYCE, J. S. 1961. Forest Patology Negraw Hill Book Co. 3° Ed. London-New York.
5. ECHANDI, E. 1967. Manual de laboratorio para fitopato logía general; Instituto Interamericano de Cien- cias Agrícolas de la O.E.A. Lima-Perú. 51 p.
6. FRÉNCHE, E. B. y HERBERT, T. T. 1982. Métodos de in- vestigación fitopatológico, San José-Costa Rica. - 290 p.
7. GONZALES, F. R. y ABAD, C. J. 1969. Técnicas y méto- dos de laboratorio para el estudio de los hongos - xilófagos; Universidad Nacional Agraria-La Molina, Lima-Perú. 34 p.
8. GUZMAN, H. G. 1977. Identificación de los hongos; co mestibles, venenosos, alusinantes y destructores - de la madera. Ed. Limusa S.A. México. 236 p.
9. GHILLEAM, T. P. 1987. The use of Edible Fungy by Ama zonia Indians. 11 p.

10. GILMAN, J. C. 1963. Manual de los hongos del suelo-
2da. Ed. Compañía Editora Continental S.A. Mexico.
11. HOLDRIDGE, L. R. 1982. Ecología basada en zonas de
vida. 2da. reimpresión San José-Costa Rica. 216
p.
12. HUMFIELD, H. 1948. The Production of mushrooms Myce-
lium (Agaricus campestri). in Submerged culture
Science.
13. LAMBERT, E. B. 1977. El cultivo del champiñon, Cen-
tro Regional de Ayuda Técnica; México/Buenos Aires
12 p.
14. LEAL, L. H. 1981. Producción de hongos comestibles;
ROY y VINIEGRA, D. F. Ed. A.G.T. S.A. 10 p.
15. MIGNUCCI, J. 1986. Perspectivas para el cultivo de
setas en Puerto Rico y el Caribe; Recinto Univer-
sitario de Mayaguez, Puerto Rico. 24 p.
16. SINGER, L. 1964. Las Setas y las Trufas, la Botáni-
ca, el Cultivo y la Utilización; Ed. Continental.
México. 470 p.
17. TRESCHOW, C. 1944. Nutrición of the Cultivated mu-
shroom Dansk Bot. Ark. 180 p.

X. A P E N D I C E

CUADRO 1A. Datos meteorológicos registrados durante el ex
perimento de campo.

Mes	Temperatura °C			H° R° (%)	pp. mm.
	Máxima	Promedio	Mínima		
Noviembre	29.9	25.1	20.4	81	235.0
Diciembre	29.7	25.3	20.9	93	156.5
Enero	28.5	24.3	20.2	85	618.1
Febrero	29.4	25.0	20.7	81	248.7
Marzo	29.5	25.0	20.5	93	204.7
Abril	29.5	25.1	20.7	84	215.5
Total	176.5	149.8	123.4	517	1668.5
Promedio	29.4	24.9	20.6	81.1	278.0

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

BACHILLER : LADISLAO RUIZ RENGIFO.
TITULO DE LA TESIS : "Biología del Hongo Comestible Pleurotus sp.
y su Posible Propagacion Sobre Trozas Fo
restales en Tingo Maria".

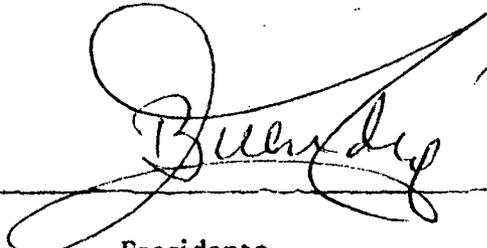
JURADO CALIFICADOR :

Presidente : Ing^o. For. BUENDIA ZARATE, Rafael C.
 Vocal : Ing^o. RNR. AGUIRRE ESCALANTE, Casiano.
 Vocal : Ltgo. GUERRA LU, José K.
 Patrocinador : Ing^o. Agr. RIOS RUIZ, Rolando.
 Co-Patrocinador :

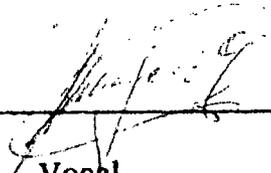
FECHA DE SUSTENTACION : 15 de enero de 1991
HORA DE SUSTENTACION : 11.00 horas del día
CALIFICATIVO : Bueno.
RESULTADO : Aprobado.

OBSERVACIONES : En hoja anexa

Tingo María, 15 de enero de 1991.



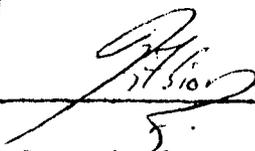
Presidente



Vocal



Vocal



Patrocinador