

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS DE LOS RECURSOS

NATURALES RENOVABLES



**CULTIVO DE (*Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis)
UTILIZANDO DOS TIPOS DE SUSTRATOS PROVENIENTES DE
LA AGROINDUSTRIA**

Tesis

Para Optar el título de:

INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES

MENCIÓN FORESTALES

MARGARITA FONSECA ADRIANZÉN

Tingo María – Perú

2008

F01

F75

Fonseca Adrianzén, Margarita

Cultivo de *Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis Utilizando dos Tipos de Sustratos Provenientes de la Agroindustria.. Tingo María, 2009

58 h.; 6 cuadros; 7 fgrs.; 28 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero Recursos Naturales Renovables Mención: Forestales)
Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Recursos Naturales Renovables.

POLYPORUS CRATERELLUS / FUNGI COMESTIBLE / CULTIVO /
SUSTRATOS / MICELIO / BASIDIOCARPOS / TINGO MARÍA /
RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 17 de diciembre de 2008, a horas 09:15 p.m. en la Sala de Conferencias de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para calificar la tesis titulada:

“CULTIVO DE *Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis UTILIZANDO DOS TIPOS DE SUSTRATOS PROVENIENTES DE LA AGROINDUSTRIA”

Presentado por la Bachiller: **MARGARITA FONSECA ADRIANZEN**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de “BUENO”.

En consecuencia la sustentante queda apta para optar el Título de INGENIERO en RECURSOS NATURALES RENOVABLES, mención FORESTALES, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título correspondiente.

Tingo María, 11 de febrero de 2009

Mcbigo. M.Sc. CESAR SAMUEL LOPEZ LOPEZ
Presidente

Ing. M.Sc. LUIS ALBERTO VALDIVIA ESPINOZA
Vocal

Blgo. M.Sc. EDILBERTO CHUQUILIN BUSTAMANTE
Vocal



Ing. M.Sc. LADISLAO RUIZ RENGIFO
Asesor

DEDICATORIA

A DIOS: Sobre todas las cosas por iluminarme y darme sus bendiciones durante todo el proceso de mi formación profesional y terminar exitosamente mi carrera.

A mis queridos Padres: ALBERTO FONSECA DIAZ y EDITH ELVIRA ADRIANZEN SALGADO, mi más profundo agradecimiento y eterna gratitud por sus consejos y esfuerzos para la culminación de mi carrera profesional.

A mis abuelitas: TERESA y MAGNA, con mucho cariño y respeto por sus enseñanzas y sabios consejos para superarme y crecer como profesional.

A mi Hermano: Alain René por su apoyo incondicional en la ejecución del presente trabajo de investigación, mi más eterno agradecimiento.

A mis Tíos: María Teresa, Gladis, Carlos Eduardo, Alberto y Margarita, por su apoyo moral y sus consejos en el proceso de mi formación como profesional

A mis Primos: María de Guadalupe, Teresa del Rocío, Carlos Alberto y Claudia, por su apoyo y comprensión en el presente trabajo con mucho cariño.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por ser el alma mater donde culminé mi carrera profesional.

A la Facultad de Recursos Naturales Renovables, por haberme formado como profesional.

Al Dr. Leif Ryvar den por la identificación de la muestra del fungi comestible.

Al Ing^o Msc. Ladislao Ruiz Rengifo, por su valiosa orientación como patrocinador de la tesis.

Al Ing^o Alberto Fonseca Díaz, por su valiosa colaboración en la investigación.

Al Alumno Alain René Fonseca Adrianzén, por su colaboración y participación en la investigación.

Al Blgo Msc. Luis Vivar Luque, por su colaboración y participación en la investigación.

A las Bachilleres: Pamela, Verónica, Beatriz, Mayra; por su participación en la investigación.

Al Bachiller Richard Sias Rodríguez por su apoyo desinteresado en la preparación de medios de cultivo en el laboratorio de microbiología.

A la Ing^o. Jenny Vargas Mariluz, por su constante ayuda en la elaboración y análisis estadístico.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente hicieron posible la culminación del presente trabajo.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. El reino fungi.....	4
2.2. Clasificación taxonómica del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	5
2.3. Descripción del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	5
2.4. Características internas del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	6
2.5. Identificación de los fungi	7
2.6. Características morfológicas de los fungi.....	8
2.7. Características microscópicas de los fungi.....	10
2.8. Medios de cultivos usados para el crecimiento del micelio.....	12
2.9. Multiplicación del micelio.....	13
2.10. Pasteurización del sustrato.....	13
2.11. Desarrollo y crecimiento del fungi.....	14
2.12. Valor nutritivo de los fungi comestibles.....	15
2.13. Elaboración de sustratos para desarrollar fungi comestibles.....	16
2.14. Cultivo de fungi comestible utilizando desechos agrícolas e industriales.....	17
2.15. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa de café.....	19
2.16. La pulpa de café de residuo a alimento.....	20

2.17.	Composición química del aserrín.....	21
2.18.	Proceso de composteo.....	22
2.19.	Relación carbono / nitrógeno.....	23
2.21.	Condiciones ambientales para el crecimiento del fungi.....	24
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1.	Descripción del lugar de experimento.....	27
3.1.1.	Ubicación.....	27
3.1.2.	Clima y ecología.....	27
3.2.	Materiales.....	28
3.3.	Metodología.....	29
3.3.1.	Colección del fungi.....	29
3.3.2.	Descripción e identificación del fungi.....	29
3.3.3.	Preparación de medios de cultivo.....	29
3.3.4.	Limpieza del fungi.....	30
3.3.5	Desinfección y aislamiento del micelio de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk.& M. Curtis) a través de cultivos de tejidos en medios nutritivos.....	30
3.3.6.	Incubación a temperatura ambiente.....	31
3.3.7.	Multiplicación de micelio del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	31
3.3.7.1.	Preparación de medio trigo autoclavado.....	31
3.3.7.8.	Preparación del micelio (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en trigo autoclavado.....	32
3.3.8.	Obtención de basidiocarpos del fungi (<i>Polyporus</i>	

	<i>craterellus</i> Berk. & M. Curtis) a través de uso de sustratos de pulpa de café y aserrín de maderas blandas.....	32
	3.3.8.1. Obtención de sustratos.....	32
	3.3.8.2. Preparación y composteo del sustrato.....	33
	3.3.8.3. Pasteurizado del sustrato.....	33
	3.3.8.4. Siembra del micelio del fungi en los sustratos.....	33
	3.3.8.5. Incubación y propagación del fungi.....	34
	3.4. Diseño experimental.....	34
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
	4.1. Determinación del nombre genérico y específico del fungi comestible (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	35
	4.2. Aislamiento de micelio de fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	38
	4.3. Propagación del micelio en trigo autoclavado.....	41
	4.4. Producción de basidiocarpos del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en sustratos agroindustriales.....	45
V.	CONCLUSIONES.....	50
VI.	RECOMENDACIONES.....	51
VII.	ABSTRACT.....	52
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
IX.	ANEXO.....	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Otros compuestos en la pulpa de café.....	20
2.	Datos Meteorológicos correspondientes a los meses de enero a julio del 2008.....	28
3.	Descripción externa de la muestra de fungi colectada...	37
4.	Promedio del crecimiento diametral de micelio de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en placas petri a los dos (2) días de la siembra.....	40
5.	Crecimiento diario en porcentaje (%) del micelio de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) a cinco (5) días después de la siembra en medio de trigo autoclavado.....	43
6.	Prueba de significación de DUNCAN para el promedio del crecimiento (%) de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) a los cuatro (04) meses de evaluación.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras		Página
1.	Características microscópicas del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	7
2.	Fungi comestible (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) colectada en el Jardín Botánico – Universidad Nacional Agraria de la Selva.....	37
3.	Promedio del crecimiento de micelio de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en medio agar malta y agar papa dextrosa, a doce (12) días de la siembra	40
4.	Crecimiento de micelio del fungi (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en medios de cultivo (a) agar malta (b) agar papa dextrosa.....	40
5.	Promedio del crecimiento diario en porcentaje de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en las bolsas de polipropileno.....	43
6.	Progreso del crecimiento del micelio (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis) en el medio trigo autoclavado durante veinte (20) días de evaluación.....	44
7.	Promedio del crecimiento (%) a los cuatro (04) meses del micelio de (<i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M. Curtis).....	47

RESUMEN

El presente estudio fue realizado en el Laboratorio de Microbiología y Vivero Forestal de la Facultad de Recursos Naturales Renovables – Universidad Nacional Agraria de la Selva –Tingo María. Los objetivos fueron determinar el nombre genérico y específico del fungi comestible, aislar el micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Bert.& M. Curtis) a través de cultivo de tejidos en medio Agar papa dextrosa y Agar malta, propagar el micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis) en trigo autoclavado para obtener en la cantidad deseada para las pruebas de campo y producir basidiocarpos del fungi (*Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis) a través del uso de sustratos agroindustriales composteados y pasteurizados.

El experimento se desarrollo en dos fases: la primera a nivel de Laboratorio de Microbiología correspondiente a la propagación y aislamiento del micelio y la segunda al nivel de campo, para la producción de basidiocarpos con el uso de dos tipos de sustratos pulpa de café y aserrín composteados y pasteurizados.

Los resultados indican que el fungi comestible material de la presente investigación corresponde a (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis), ha sido aislado a través de cultivo de tejidos en medio Agar malta y Agar papa

dextrosa obteniéndose un promedio de crecimiento a 12 días después de la siembra de 9 y 7,1 cm respectivamente.

Las conclusiones obtenidas indican que se ha logrado propagar el micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en 600 gramos de trigo autoclavado en un lapso de tiempo de 20 días, obteniéndose a través de ello la cantidad deseada de micelio para las pruebas de campo. No ha sido posible obtener basidiocarpos del fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en los sustratos agroindustriales; logrado solamente mayor crecimiento de micelio en el sustrato a base de pulpa de café (69,64 %) en los cuatro meses de evaluación con respecto a los demás.

I. INTRODUCCIÓN

La alta biodiversidad que contienen los bosques tropicales, refleja la riqueza en especies que es necesario promover su uso para beneficio de la humanidad. Entre ellos se encuentran los organismos del reino fungi (hongos) que cada vez cobra mayor importancia por su frecuente aprovechamiento en la industria, alimentación y medicina principalmente; sin embargo en nuestra región amazónica y específicamente en la zona de Tingo María no se cuentan con estudios referido a este recurso y en consecuencia no se tiene información científica, más aun tratándose de organismos que cumplen una enorme función desde el punto de vista ecológico.

Estos recursos del bosque, considerados como productos forestales no maderables tienen un alto valor nutritivo, contienen valores considerables de carbohidratos, grasas, sales minerales e incluso algunas vitaminas y proteínas en pequeñas cantidades; lo que hace que muchos organismos fungi tengan enorme importancia futura para la alimentación humana.

Hasta la actualidad, en el mundo solo se ha podido cultivar algunas especies de fungi comestibles, la razón de que se desconoce aun todavía muchos factores necesarios para su cultivo y producción a nivel industrial, puesto que estos organismos son muy exigentes y que solo un fallo en la

temperatura, humedad o ventilación puede hacer fracasar los ensayos del cultivo.

La amazonia peruana cuenta con una alta diversidad de fungi comestibles que son aprovechadas en forma natural por un gran número de poblaciones del campo, entre ellas muchas comunidades nativas que tienen una larga tradición en su consumo. También en la población urbana existe creciente demanda por ciertos fungi comestibles que no siempre están disponibles en la cantidad deseada durante todo el año, haciéndose necesario realizar estudios que permitan el cultivo de especies comestibles promisorias, a fin de satisfacer la demanda existente.

En nuestro medio se cuenta con abundante desechos de la agroindustria, que en muchos casos se pierden porque no tiene un uso. A través del logro de una tecnología de cultivo de fungi comestibles en sustratos lignocelulosicos se estaría promoviendo su uso y en consecuencia mayor valor agregado para ciertas actividades.

Las necesidades crecientes de productos a base de fungi tanto para la alimentación como para la industria, debe motivarnos a dedicar mayores esfuerzos y obtener mayor conocimiento para que se cuente con técnicas avanzadas de propagación y producción. Por tales razones, y considerando que en este campo no se cuenta con ninguna información básica, nos hemos propuesto realizar el presente estudio planteándose los siguientes objetivos:

1. Determinar el nombre genérico y específico del fungi comestible.
2. Aislar el micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis) a través de cultivo de tejidos en medio Agar papa dextrosa y Agar malta.
3. Propagar el micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis) en trigo autoclavado para obtener en la cantidad deseada para las pruebas de campo.
4. Producir basidiocarpos del fungi (*Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis) a través del uso de sustratos agroindustriales (pulpa de café y aserrín de maderas blandas) composteados y pasteurizados.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El reino fungi

Los fungi constituyen un grupo muy extenso de organismos que se encuentran virtualmente en todo los nichos ecológicos. Se estima que existen mundialmente 1,5 millones de especies de las cuales únicamente 69 000 fueron descritas a la actualidad. Son eucariontes inferiores, su nutrición es por absorción, secretan diversas enzimas que le ayudan a predigerir los alimentos. Este reino abarca desde los mohos y levaduras microscópicas hasta los macromicetos y trufas.

Los fungi han sido importantes tanto en los procesos biotecnológicos antiguos como en los modernos, sin olvidar la gran importancia que tienen en la naturaleza. Los fungi están ligados a la vida del hombre en formas diversas de ahí la gran importancia de realizar estudios con ellos para conocer mejor su biología (GAYOSSO, 2001).

El fungi es un ser vivo uni o pluricelular, dotado de todo los elementos imprescindibles para desarrollarse en un determinado ambiente. En general todo los fungi son seres constituidos por una o infinita células, que pueden ser filamentosos o no, y con todo los elementos celulares normales existentes en los seres vivos (CALONGE, 1990).

2.2. Clasificación taxonómica del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M.

Curtis (ALVARADO, 2005; RYVARDEN, 1991)

Reino	: Fungi
División	: Basidiomycota
Clase	: Basidiomycetes
Orden	: Poriales
Familia	: Polyporaceae
Género	: Polyporus
Especie	: <i>Polyporus craterellus</i> Berk. & M.Curtis.
Nombre Común	: trueno callampa, tocino callampa

2.3. Descripción del fungí (*P. craterellus* Berk. & M. Curtis)

El fungi presenta un cuerpo fructífero con forma de trompeta, a veces semicircular, de 5 a 30 cm de diámetro. La superficie es lisa y brillante, de color pardo oscuro o crema, a veces con líneas más oscuras y el margen es incurvado. El relleno (contexto) es de 0,4 a 3,5 cm de grosor y de color blanco, la textura es carnosa y suave. La parte fértil (himenio) está formada por poros (hasta 3 por mm). El color de los poros es blanco y se pueden tornar amarillentos al secarse.

El pie (estípite) puede ubicarse en el centro o hacia un lado del sombrero (píleo). El color suele ser más oscuro que el del sombrero y la superficie puede ser velutinoso. El pie (estípite) puede ser de 1,0 a 5,5 cm de longitud y de 1 a 5 cm de ancho. El cuerpo fructífero se torna cartilaginoso y muy frágil al secarse. Crece cespitoso (con una base común) y también

disperso, se le encuentra en maderas muertas, su reproducción es por medio de esporas y se le encuentra a lo largo de todo el año.

Es una especie subtropical y presente al este de los Estados Unidos y Canadá (ALVARADO, 2005).

Polyporus craterellus Berk. & M. Curtis presenta un basidiocarpo anual con estípite centralizada o a veces lateral, con píleo plano, carnosa cuando está fresca y ligera de peso y quebradiza cuando está seco, de 12 cm de diámetro y de 2 - 8 mm de espesor, estípite de color blanco (RYVARDEN, 1991).

2.4. Características internas del fungi (*P. craterellus* Berk. & M. Curtis)

De acuerdo a ALVARADO (2005), hace referencia de las características microscópicas de *P. craterellus* Berk. & M. Curtis, apreciándose en la siguiente figura a una escala lineal de 10 micras:

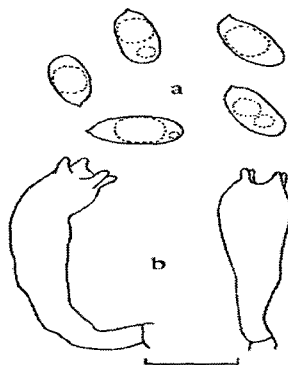


Figura 1. Esporas (a) y Basidios (b) de *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis

2.5. Identificación de los fungi

GUZMAN (1979) nos indica que el estudio de la forma del cuerpo del fungi es básico para la identificación de la especie. La morfología debido a su gran variabilidad, es muy importante en la sistemática de estos organismos. Paralelamente a la morfología, también el color, olor, sabor son caracteres de gran valor para la identificación de los fungi. Los caracteres más importantes usados en la identificación de los fungi son:

- Forma del cuerpo fructífero y color de cada una de las partes
- Presencia o ausencia de cualquier estructura o característica del cuerpo fructífero llamativo a la vista (escamas, verrugas, pelos, espinas, poros, grietas, estrías, viscosidad, carnosidad, etc.)
- Cambio de color de cualquiera de las partes, ya sea al maltratarse o al cortarse
- Presencia o ausencia de un jugo lechoso o látex al cortarse el fungi
- Olor y sabor del fungi
- Color de las esporas en masa

Los géneros de los fungi comestibles que se encuentran en los climas tropicales y subtropicales son ampliamente análogos a los que se encuentran en la micota de las regiones templadas (Lincoff, 2002; citado por BOA, 2005).

Hay dos grandes grupos taxonómicos de fungi comestibles: los basidiomicetos (agaricales, poliporales y otros) y los ascomicetos (trufas y fungi colmenillas).

Los métodos clásicos de identificación de macromicetos incluyen un examen microscópico del tejido de las esporas y de su estructura, esto nos asegura que al menos el género ha sido identificado. La identificación de las especies tropicales menos conocidas puede requerir también el examen de una buena cantidad de referencias. Es posible obtener claves visuales útiles en las fotografías de las guías de campo y hay un número creciente de sitios Web con fotografías y descripciones de las especies (BOA, 2005).

Las identificaciones de expertos pueden ser costosas, aunque pagar por una identificación proporciona la garantía de obtener respuestas a todas las dudas (Meijer, 2001; citado por BOA, 2005).

La taxonomía de los poliporos se basa en las características morfológicas macro y microscópicas del cuerpo de fructificación (ROBLEDO, 2006).

2.6. Características morfológicas de los fungi

CALONGE (1999) menciona las características morfológicas de los fungis, tales como:

- **Cutícula:** Es la membrana exterior que recubre al sombrero y pie, está formada por una o unas pocas capas de células o por una red compacta de filamentos hifales, fácil de distinguir al microscopio ordinario. En ambos casos puede contener o no sustancias colorantes almacenadas, que son las que le dan esa tonalidad de colores. La cutícula puede ser lisa, rugosa, seca, viscosa, etc., pueden estar fuertemente adheridas al sombrero o ser fácilmente separable del mismo.

- **Sombrero:** Viene a ser la parte más ancha de la seta situada encima del pie y que puede presentar una alta gama de forma y colores, las formas de las setas son muy variadas pueden ser esféricas, cónicas, etc., exteriormente el sombrero puede presentarse liso, ondulado, rugoso, viscoso, etc.

- **Himenóforo:** Se le denomina a la parte del carpóforo que sostiene el himenio donde se encuentran las esporas de origen sexual, la forma y el color son de suma importancia en la identificación, pueden ser lisos, laminas, en púas o agujones, tubos formando una masa más o menos compacta, polvorienta o gelatinosa a la madurez, estos son los himenóforos más típicos y caracterizados. Es importante la disposición del himenóforo con respecto al pie a la hora de intentar clasificar una seta.

- **Pie:** Es la parte de la seta que sostiene al sombrero pudiendo ser recto o curvado y muy comúnmente cilíndrico es la forma más generalizada, además presenta otras diversas formas. En cuanto a su estructura, lo más general es que sea fibrosa, puede ser de pie frágil o elástico y estar fusionado con el sombrero o por lo contrario estar separado.

- **Anillo:** Es lo que presentan algunos ejemplares de fungi, es en realidad el resto del velo parcial encargado de proteger el himenio del fungi joven. No todos son iguales ni se encuentran en la misma altura, si no que pueden ser altos (*Macrolepiota procera*), a media altura (*Agaricus campestris*), o relativamente bajos (*Amanita pantherina*).

- **Volva:** Cuando el velo general que cubre la mayoría de las especies del genero agarical se rompe para dejar pasar el sombrero, pueden

pasar dos cosas; que desaparezca o que queden restos al pié. Estos restos en forma de saco o funda que envuelven la base del pié se llama volva.

2.7. Características microscópicas de los fungi

CALONGE (1999) y ROBLEDO (2006) mencionan que los fungi presentan características microscópicas en las partes internas siguientes:

- **Hifas y micelio:** La hifa no es más que un filamento, que en los hongos superiores o más evolucionados, como son los Ascomicetos y Basidiomicetos, presentan tabiques transversales en forma y número regular, con un poro de comunicación en el centro, las hifas presentan distinta estructura, grosor contenido, fragilidad etc., según la especie.

El conjunto de hifas recibe el nombre de micelio y estas pueden disponerse ordenada o desordenadamente, de acuerdo a la función que tengan encomendada.

- **Ascas y parafitos:** En los Ascomicetos, las esporas procedentes de la reproducción sexual se forman en el interior de unos sacos, que se llaman ascas, en el himenio de los Ascomicetos también podemos encontrar unos filamentos delgados, tan largo como los ascos y estériles que reciben el nombre de parafitos.

- **Basidios y Cistidios:** En los Basidiomicetos existen unos órganos donde se desarrollan las esporas de origen asexual, llamado basidios, pero aquí la maduración de las esporas tiene lugar en el exterior del órgano que la produce, en el himenio de los basidiomicetos se pueden encontrar

elementos estériles como los cistidos, se les identifica porque tienen mayor dimensión y distinta morfología.

- **Pelos:** Son elementos estériles delgados de distinto grosor que las hifas ordinarias, se manifiestan sobresaliendo del nivel medio del estrato de las hifas acompañantes.

- **Esporas:** Las esporas son los encargados de perpetuar y extender la especie, las hay de tipo vegetativo o asexual, las esporas podemos considerarlas como los elementos más importantes a la hora de reconocer una seta debido a su forma, color, dimensión, etc., que hace que sea considerada como el carácter de mayor validez sistemática.

- **Setas:** Son de tipo especial de cistidio característico de la familia Himenochaetaceae. Todo políporo que posee setas pertenece a esta familia, pero no todos los representantes de la familia poseen setas. Son hifas terminales de paredes muy engrosadas y de color castaño oscuro, siempre terminadas en punta. Existen diferentes tipos de setas.

- **Clamidosporas:** Este tipo de esporas tiene origen asexual. Las clamidosporas se forman a partir de hifas dicarióticas que engrosan sus paredes y se fragmentan. Las paredes de estas esporas son generalmente muy engrosadas y su forma es irregular. Gracias al grosor de sus paredes funcionan como estructura de resistencia además de constituir otra forma de dispersión.

Este tipo de esporas está presente solo en algunas especies. Generalmente se desarrollan en la base de la fructificación, pero existen

especies que desarrollan fructificaciones especiales para la producción de estas esporas. Dicha fructificación se denomina anamórfica o fructificación clamidosporica.

2.8. Medios de cultivos usados para el crecimiento de micelio

La mayoría de los fungi crecen muy bien en medios tales como Agar papa dextrosa y Agar malta, estos medios contienen alto contenido de carbohidratos y presentan un pH que fluctúa entre 5 – 6. Existen además, algunos fungi que requieren de sus propias exigencias nutricionales, y que estas se diferencian en función a las especies (ECHANDI, 1971). Asimismo, MATEO (2006) menciona que para la multiplicación de micelio de los fungi es recomendable bajar aún más el pH, haciéndolo descender hasta 3,5.

Los medios de cultivo son soluciones estériles que contienen sustancias más o menos complejas como naturales o artificiales adecuadas para la vida, crecimiento y reproducción de los fungi xilófagos. Estos medios de cultivo llevan en su composición elementos esenciales: carbono, oxígeno, nitrógeno, hidrógenos y sales minerales. Los medios tienen que ser adecuados a la clase de fungi que se desea cultivar y de acuerdo a los fines que se persigue.

Los medios de cultivo generales son aquellos que permiten el cultivo de la mayoría de los fungi: medio de sobeuraud, Agar papa dextrosa, extracto de malta, etc. Así como también existen medios de cultivo especiales donde se agregan sustancias nutritivas especiales para otros fines.

Hay fungi que aunque puedan cultivarse en distintos medios nutritivos tienen afinidad a uno determinado, mostrando al observar un mejor desarrollo o la presencia de particularidades fisiológicas, esporulación más rápida, formación de órganos de resistencia y crecimiento rápido del micelio (GONZALES, 1985).

2.9. Multiplicación del micelio

El micelio que el productor emplea para obtener setas sobre un sustrato cualquiera, debe estar en cantidades disponibles en una forma que permita su fácil manipulación. Por ejemplo la forma granulada es muy útil porque facilita la siembra al poder mezclarse uniformemente con el sustrato y permitir el uso de maquinas mezcladoras. Ello ha inducido a multiplicarse sobre granos de cereales (trigo, cebada, sorgo, etc.) o sobre gránulos de sustancias inertes (perlita, vermiculita).

Para preparar el medio de trigo primero hay que coser el trigo en agua (un kilogramo de trigo en 1,5 litros de agua a fuego lento durante quince minutos), dejándolo luego reposar, escurrir y orear. En realidad hay que calcular el agua y el tiempo de cocción de modo que los granos de trigo no se rompan (GARCIA, 1991).

2.10. Pasteurización del sustrato

Es un proceso donde el sustrato es sometido a temperatura no muy alto pero si prolongado. El objetivo es la eliminación de microorganismos que

pueden competir con el fungi por la obtención de alimento o causar enfermedades. Durante este proceso es fundamental que se observe la temperatura que debe administrarse de acuerdo con el tipo de sustrato. Si la temperatura máxima no fue el adecuado, el sustrato no será debidamente pasteurizado igualmente los organismos indeseables no serán muertos, pasando a competir con los fungi que se quiere cultivar. Si por otro lado la temperatura sobrepasa el límite adecuado, los nutrientes (proteínas, aminoácidos y otros) generados durante el composteo, serán desnaturalizados e inactivados.

La temperatura ideal para la pasteurización es de 58 - 60 °C. En el caso de cultivo de *Pleurotus sp* usando como sustrato vagazo de caña de azúcar debe realizarse una pasteurización por un periodo de ocho horas seguidas. Para el caso de *Agaricus sp* la pasteurización debe ser durante ocho días, en los cuales durante los dos primeros días la temperatura debe ser mantenida entre 58 - 60°C y en los seis días siguientes entre 48 - 50°C. (BOTHELO y RAMOS, 1985).

2.11. Desarrollo y crecimiento del fungi

GARCIA (1991) manifiesta que para el crecimiento del fungi bien sea en la tierra, en la madera o en el medio de cultivo requiere la existencia de nutrientes adecuados que puedan ser aprovechados por las hifas del micelio, además, la temperatura y la humedad del sustrato ha de ser las convenientes para la especie que se trate. Cuando se formen las setas su crecimiento requerirá una temperatura y humedad adecuadas, así como aire que aporte el

oxígeno necesario, y, en algunos casos cierta cantidad de luz. De los factores necesarios para el crecimiento de los hongos se deducen las necesidades que tiene que satisfacer cualquier cultivo de setas. El suministrar un alimento adecuado para cada hongo es una de las dificultades que se tropieza al intentar cultivarla.

HEPPERLY *et al.* (1984) indican que los hongos son organismos multicelulares que pueden descomponer subproductos y desechos de origen vegetal y animal para utilizarlos como fuente para su propio crecimiento y desarrollo. Los hongos no tienen ninguna relación clara con animales ni con plantas y constituyen un reino de organismos por sí solos.

Los hongos cubren nuestro medio ambiente con sus redes de túbulos microscópicos llamados micelios los cuales segregan proteínas o enzimas que disuelven la materia orgánica del suelo, agua y aire. Los más conspicuos producen una estructura visible llamada sombrerillo. Estas estructuras conocidas como setas producen millones de "semillitas" microscópicas llamadas esporas las cuales propagan el hongo.

2.12. Valor nutritivo de los hongos comestibles

BOTELHO y RAMOS (1985) mencionan que los hongos son alimentos de alto valor nutritivo, con bajo contenido de carbohidratos y grasas, y significativas cantidades de proteínas y vitaminas. La composición química varía de acuerdo a la especie de hongo y el cultivo evaluado. Además los hongos son excelentes alimentos para dietas, porque no engordan. Investigaciones muestran

que 200 gramos de fungi secos son suficientes para el balance nutricional de un ser humano de 70 kilogramos.

BOA (2005) indica que muchas especies de fungi comestibles comunes tienen propiedades terapéuticas y muchos fungi medicinales son también consumidos como alimento.

Según Richards (1939) citado por BOA (2005) las especies comestibles tienen un bajo contenido de grasas, contienen aminoácidos esenciales, minerales útiles y, aunque no son alimentos que suministran energía, son una buena fuente de nutrición.

Las setas son alimentos con componentes nutritivos muy variados, contiene pequeñas cantidades (más del 80 % es agua) de proteínas de buena calidad, carbohidratos, grasa, sales minerales e incluso algunas vitaminas (GARCIA, 1991).

2.13. Elaboración de sustratos para desarrollar fungi comestibles

MIGNUCCI (1986) menciona que para el cultivo del fungi comestible *Volvariella volvacea*, básicamente se ha concentrado, en primera instancia en evaluar y manejar diferentes mezclas de sustratos, y determinar la suplementación que requiere para lograr una alta producción de setas al nivel de invernadero. Después de 10 años de investigación lograron diseñar 5 módulos para el cultivo eficiente de esta seta; que se caracteriza por su bajo consumo de energía, eficiencia operacional y reducción del tiempo de producción de la seta; los módulos consisten en: almacén, área de fermentación, módulo para

pasteurizar e inocular, módulo de crecimiento vegetativo, módulo de fructificación y cosecha.

RUIZ (1990) indica que realizó pruebas de aislamiento y cultivo del fungi comestible *Pleurotus afin ostreatus* en 11 diferentes medios de cultivo, logrando con el medio trigo autoclavado aislar y cultivar micelio del fungi. Además evaluó efectos de la temperatura, humedad y condiciones de luz en el desarrollo del micelio, logrando resultados satisfactorios a temperatura de 28 °C y con oscuridad total; mientras que para el desarrollo de basidiocarpos era necesaria la acción de la luz natural del laboratorio.

SALDARRIAGA y PINEDA (2001) manifiestan que para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* utiliza pulpa de café previamente composteada y pasteurizada. Además, indica que esta especie utiliza la lignina-celulosa de los materiales nutritivos que emplean para su cultivo. Sus enzimas liberan la celulosa y la hemicelulosa de la lignina de las paredes celulares de los tejidos vegetales.

2.14. Cultivo de fungi comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales

MAGGIE *et al.* (1988) manifiestan que los fungi comestibles colaboran al enriquecimiento de los substratos vegetales haciendo asequibles los hidratos de carbono, albúminas, fermentos, vitaminas y elementos minerales, ya que en el proceso de su crecimiento el fungi degrada la lignina y la celulosa. Otro de los rasgos importantes del cultivo de fungi comestibles, es la posibilidad de la posterior utilización del substrato como abono orgánico,

debido a que el micelio es fuente de fitohormonas y otras sustancias biológicamente activas.

Uno de los problemas más importantes asociados con el proceso de cultivo de fungi es la producción de los micelios de siembra y la selección de substratos nutritivos que resulten óptimos para la obtención de la biomasa de fungi y su posterior fructificación, así como el desarrollo de variedades o clones más productivas.

HAPPPERLY *et al.* (1984) manifiestan que los fungi y las bacterias están entre los organismos que más utilizan la celulosa y la lignina. El uso de setas comestibles producida en desechos y subproductos agrícolas y forestales es una forma de aumentar el uso y reciclaje de celulosa y lignina. El uso eficiente de estos componentes puede muy bien ayudar a alimentar a la creciente población humana.

GARCIA (1991) indica que el cultivo de setas no es cosa fácil ni que pueda cultivarse cualquier especie. Por el contrario se ha podido cultivar solo pocas especies y su cultivo se presta a grandes fracasos. Se desconoce mucho de los factores necesarios para el desarrollo de tan extraños y complicados seres, que son tan rígidos en su existencia que un fallo en la temperatura, la humedad o la ventilación pueden hacer fracasar los ensayos de cultivo. La observación de los ambientes naturales ya nos muestra que las setas unas veces salen y otras no, en los sitios que parecen adecuados, sin que sepamos porque.

2.15. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa de café

BRESSANI *et al.* (1974) indican que la pulpa de café deshidratada contiene cantidades de proteína comparables a las de los cereales, aun cuando su contenido de fibra cruda es mayor y el de extracto libre de nitrógeno es menor.

Es posible que estos dos últimos compuestos sean factores limitantes en la utilización de la pulpa de café, al igual que su contenido de cafeína y de polifenoles. La composición química proximal de la pulpa ensilada no difiere de la pulpa sin ensilar, ambas deshidratadas. Entre los minerales, el potasio se encuentra en alta concentración, y los niveles de calcio y fósforo están en proporción adecuada. El patrón de aminoácidos esenciales de la proteína de la pulpa de café es parecido o superior al de algunos concentrados proteínicos.

La proteína de la pulpa de café contiene niveles similares o más altos de aminoácidos que otros productos, como la harina de algodón y la harina de soya, así mismo, la pulpa de café muestra concentraciones generalmente más alta de aminoácidos que el maíz, pero es deficiente en los aminoácidos azufrados, el contenido relativamente alto de lisina en la pulpa, es tan alto como el de la harina de soya cuando se expresa como mg/g de nitrógeno (BRESSANI *et al.* 1972).

Cuadro 1. Otros compuestos en la pulpa de café

Compuesto	Base seca (%)
Taninos	1,80 - 8,56
Sustancias pérticas totales	6,5
Azúcares reductores	12,4
Azúcares no reductores	2,0
Cafeína	1,3
Ácido clorogénico	2,6
Ácido cafeico total	1,6

Fuente: Elías 1978.

SUAREZ DE CASTRO (1960) manifiesta que 100 libras de pulpa de café seca equivalen, con base en su composición química, a 10 libras de fertilizante inorgánico de N, P, K en las proporciones 14, 3, 37; aquí queda reflejada la alta cantidad de potasio que contiene este subproducto para ser utilizado como abono, especialmente en aquellos cultivos que manifiestan necesidades elevadas de este elemento.

2.16. La pulpa de café de residuo a alimento

PICO (1990) manifiesta que los desechos del café (pulpa) constituyen un grave problema de contaminación, ya que contienen altos valores de derivados fenólicos y taninos. Pero, con un adecuado tratamiento, los residuos pueden servir como fuente para diversos usos tanto en la alimentación, sustratos, etc.

Para aprovechar la pulpa es necesario que las sustancias antinutricionales como la cafeína, el ácido clorofénico, derivados de taninos, sean reducidos a niveles adecuados; esto es posible almacenando en silos del producto bajo ciertas condiciones físicas. El éxito está en la fermentación anaeróbica por bacterias lácticas que producen ácido láctico, disminuyendo el pH. En el proceso es importante también propiciar un ambiente con pH de 4.2, que inhiba el crecimiento de agentes patógenos y conserve las características nutricionales del producto ensilado.

2.17. Composición química del aserrín

El aserrín está compuesto en un 50 % de carbono (C), un 42 % de oxígeno (O), un 6 % de hidrógeno (H) y el 2 % de resto de nitrógeno (N) y otros elementos. Todo esto se compone formando la celulosa y la lignina.

Los componentes estructurales de la madera son la lignina que es un compuesto que aporta resistencia y rigidez a las plantas, la celulosa suele ser el polisacárido más abundante del complejo lignocelulósico y consiste en glucosa de azúcar hexacarbonica (BROWN y BETHEL, 1985).

La madera contiene pocas cantidades de compuestos simples y fáciles de degradar tales como los azúcares. Por el contrario los tres componentes principales de la madera son macromoléculas muy estables y complejas: la celulosa, hemicelulosa y la lignina; dentro de los tres el compuesto más complejo es la lignina. Los fungi principalmente políporos que se alimentan de estos componentes principales de la madera poseen

compuestos enzimáticos complejos que hacen que sean los principales responsables de la degradación de la madera (ROBLEDO, 2006).

2.18. Proceso de composteo

MONROY y VINIEGRA (1981) manifiestan que el proceso de fermentación comienza con la recolección de material orgánico que contiene gran cantidad de bacterias y fungi ellos inician el proceso de descomposición en el momento que se presentan las condiciones favorables de humedad temperatura y aireación.

- **Temperatura:** En las pilas más grandes se tendrá un aumento continuo en la temperatura, mientras que en las pilas pequeñas se presenta un estancamiento temporal de la temperatura al 40 %. Los microorganismos mesófilos responsables del calentamiento inicial son sustitutos a esta temperatura por organismos termófilos que se encargan de calentar la pila hasta temperaturas de 70 °C.

La temperatura óptima de descomposición hemofílica, tomando en cuenta la producción de CO₂, es de 56 - 60 °C obteniéndose resultados desventajosos con temperaturas mayores de 64 °C. Esta información no concuerda con otras investigaciones que señalan que la asimilación de O₂ en una mezcla en fermentación dependía directamente de la temperatura hasta 70 °C, por otro lado se ha comprobado también que la producción de calor de masas en composteo en la región hemofílica presenta un máximo a temperatura de 60 °C.

- **Humedad:** La actividad del agua es el factor que mejor describe el estado en que esta se encuentra presente y el grado de dificultad que pueden tener los diversos tipos de microorganismos para utilizarla par su crecimiento.

En el composteo de paja de cereales se necesita una humedad mayor de 70 %, en el caso de basura urbana es de casi 40 %, pero de 67 % en el caso de que contenga más de 40% de papel periódico.

- **Aereación:** Tiene dos finalidades suministrar oxigeno y extraer el calor producido,* la aereación de las pilas se realiza por medio del volteo periódico, este volteo debería basarse en la concentración de oxigeno en la pila, pero en la práctica se determina cuando la temperatura en la capa intermedia de las pilas se acerca a 70 °C ó cuando su humedad excede los 60%, se debe realizar tres volteos por semana para asegurar una fermentación aeróbica.

2.19. Relación Carbono/ Nitrógeno

MONROY y VINIEGRA (1981) mencionan que este es probablemente el aspecto más importante del composteo. La mayoría de los microorganismos usan 30 partes en peso de carbono por cada parte de nitrógeno, por lo que una relación C/N de 30 es la más conveniente para una fermentación eficiente.

Si se tienen materiales con bajo contenido de nitrógeno, como son las pajas o desechos de madera, es posible producir mezclas fermentables al añadir materiales con alto contenido de nitrógeno, como son los desechos

animales, se debe procurar el no obtener mezclas con alto contenido de nitrógeno (o bajo valor de C/N), ya que en la fermentación si no se producen tales mezclas se pierde una cantidad considerable de nitrógeno como amoníaco. Esto es favorecido durante el composteo hemofílico a causa del pH, ligeramente básico y de las temperaturas altas.

GAYOSSO (2001) indica que la formación del cuerpo fructífero está influida por la condición fisiológica y el estado nutricional del micelio. Para inducir la formación de cuerpos fructíferos es importante mantener un balance entre las fuentes de carbono y nitrógeno, por ejemplo en *Agaricus bisporus* la óptima proporción C/N en compost para la fructificación está entre 80:1 y 10:1; el metabolismo de la relación C/N y de las proteínas implicadas ha sido estudiado principalmente en *A. bisporus* y *Coprinus cinereus*.

El factor importante a considerar en el cultivo de fungi comestibles es la relación C/N en el composteo .si esta relación es inadecuada, no habrá formación de cuerpos fructíferos del fungi. La relación óptima de C/N es de 30:1 con un pH de 6,3 que es el más adecuado (BOTELHO y RAMOS 1985).

2.20. Condiciones ambientales para el crecimiento óptimo del fungi

GAYOSSO (2007) manifiesta que las condiciones ambientales son fundamentales para la formación del cuerpo fructífero, la composición del medio de crecimiento, a diferentes rangos la temperatura influye en la iniciación del cuerpo fructífero, la luz influye de manera positiva en la agregación de las hifas, la fructificación es favorecida a una humedad ambiental alta (90 – 95 %)

pero el contenido de agua en los sustratos puede ser aun más crítico, el contenido de agua óptima para los sustratos de madera es de 35 - 60 % y para otros sustratos de 60 – 80 %, el pH para el desarrollo del cuerpo fructífero de varias especies es mejor a pH neutro o ligeramente ácido entre 6 – 7, por ello para el desarrollo del cuerpo fructífero requiere condiciones ambientales específicas que también están en función al estado de desarrollo y la especie.

En las especies cultivadas las condiciones para el crecimiento y producción de cuerpos fructíferos, se han establecido de manera empírica, el ambiente natural del fungi da información valiosa respecto a cómo proceder en esta determinación. Una vez establecidas las condiciones óptimas para un determinado fungi esto ayuda al establecimiento de las condiciones de cultivo de especies relacionadas.

CALONGE (1990) indica que los factores climáticos que más influyen en el asentamiento y posterior desarrollo del fungi son la humedad y la temperatura. Para que una espora germine es precisa una humedad relativa ambiental alta en la mayoría de las especies, superior al 70 por 1000, lo cual normalmente tiene lugar después de las lluvias copiosas. La temperatura es otro de los factores climáticos esenciales que debe mantenerse entre los límites suaves, 10 y 25 % para la inmensa mayoría de los fungi. La carencia de de humedad atmosférica y el rigor de las temperaturas extremas, si bien inhiben la producción de setas o carpóforos, el resto del fungi continua con su desarrollo en el substrato se desenvuelve habitualmente, aunque con más o menos actividad.

Se debe tener en cuenta otros factores de gran repercusión dependiendo de la especie de fungi en estudio como la luz, anhídrido carbónico, oxígeno, etc. Existen especies que para llegar a formar las setas necesitan de una determinada intensidad lumínica. Hay setas que se desarrollan en oscuridad completa y otras en penumbra.

Para el desarrollo óptimo del fungi es necesario una combinación de factores ambientales como la temperatura, pH, luz, propiedades físicas del sustrato y la preparación de nutrientes (SINGER, 1964).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Descripción del lugar de experimento

3.1.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos fases, la primera en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva - Tingo María, y la fase de campo en el Vivero Forestal de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco. Geográficamente se ubica a 09°16'00" de Latitud Sur y 76° 01' 00" de Longitud Oeste y una altitud 660 m.s.n.m.

3.2.2. Clima y Ecología

La temperatura varía entre 29,4 °C máximo, 19,2 °C mínimo y 23,9 °C media. La precipitación promedió anual es 3,629.6 mm, humedad relativa de 84 %, existe mayor variación en la precipitación que en la temperatura a través del año, por lo que es casi imposible diferenciar verano de invierno desde el punto de vista térmico Hueck (1978), citado por AYALA (1991). De acuerdo al Mapa Ecológico del Perú (ONERN, 1975 y HOLDRIDGE 1982) Tingo María se encuentra en la formación vegetal de bosque muy húmedo - premontano tropical (bmh - PT).

Cuadro 2. Datos Meteorológicos correspondientes a los meses enero a julio del 2008

Meses	Precipitación (Mm)	Humedad Relativa (HR%)	Temperatura Media (°C)	Insolación (Horas sol)
Enero	501.92	84.70	24.80	97.20
Febrero	508.42	88.21	24.36	57.30
Marzo	400.45	88.54	24.37	74.10
Abril	232.38	85.16	25.26	141.70
Mayo	116.00	84.00	24.70	154.30
Junio	106.00	86.00	24.40	167.00
Julio	228.20	84.00	24.30	196.70
Total	2093.37	600.61	172.19	888.30
Promedio	299.05	85.80	24.60	126.90

Fuente: Gabinete de Meteorología y Climatología – FRNR- UNAS.

3.2. Materiales

El material genético utilizado fue el fungi comestible trueno callampa (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) procedente del Jardín Botánico de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María; recolectado de madera en descomposición de la familia mimosaceae. Las setas fueron recolectadas en marzo de 2008, periodo de invierno en la región.

Se usaron como medios de cultivos Agar papa dextrosa y Agar malta, y diversos materiales y equipos que comúnmente se usan en los laboratorios.

3.3. Metodología

3.3.1. Colección del fungi

A través de un formato se procedió a realizar la colección del fungi, donde se efectuaron las anotaciones de la ubicación del espécimen, así como las características externas más sobresalientes del fungi (Anexo A).

3.3.2. Descripción e identificación del fungi

La descripción del fungi consistió en realizar una serie de características básicamente externas, en especial referente a la forma del cuerpo fructífero, consistencia, color, olor, sabor, textura; ubicación, forma y tamaño del pie o estípote; entre otras características. Así mismo es importante la descripción del hábitat y el sustrato.

La muestra colectada fue posteriormente enviada al doctor Leif Ryvarden profesor de la Botanical.Inst.Univ.of oslo (Noruega) especialista en poliporaceos para determinar su correcta identificación a nivel genérico y específico.

3.3.3. Preparación de medios de cultivo

Agar papa dextrosa:

Se procedió a pesar 1.2 gr. de extracto de papa, 6 gr. de dextrosa y 4.5 gr. de agar para un total de 300 ml de agua destilada, mezclándose todo ello en un frasco Erlenmeyer y agitando frecuentemente hasta hervir; después de haber efectuado este proceso se ha realizado el correspondiente autoclavado a

121 °C y 15 libras de presión por 45 minutos siguiendo la metodología propuesta por (SALDARRIAGA, 2001).

Agar malta:

Se procedió a pesar 9 gr. de extracto de malta y 4.5 gr. de agar, toda la mezcla en 300 ml de agua destilada, agitando frecuentemente hasta hervir por el tiempo de 1 minuto. Posteriormente fue esterilizado en autoclave a 115 °C y 15 libras de presión durante 45 minutos siguiendo la metodología de (SALDARRIAGA, 2001).

Los medios preparados, posteriormente fueron plaqueados en 16 placas petri de 10 cm de diámetro y depositados en el ambiente de la cámara de flujo laminar para la siembra respectiva.

3.3.4. Limpieza del fungi

Con la ayuda de una pinza y el estereoscopio, se procedió a realizar la limpieza de partículas provenientes del campo de todo el basidiocarpo, con la finalidad de garantizar que las secciones estén libres de impurezas al momento de la desinfección.

3.3.5. Desinfección y aislamiento del micelio de (*P. craterellus* Berk.

& *M. Curtis*) a través de cultivo de tejidos en medios nutritivos

Se extrajo pequeñas secciones de la parte basal del himenio del carpóforo (0.5 cm de sección aproximadamente), estos tejidos fueron desinfectados en una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 1: 10 en agua destilada, seguidamente el inóculo fue sumergida por un espacio

de tiempo de 1 minuto. Al término de la desinfección, se extrajo la sección para proceder a un enjuague en agua destilada y seguidamente secarla en papel filtro. Posteriormente las secciones desinfectadas fueron sembradas en los medios de cultivo, todo este proceso se realizó en la cámara de flujo laminar. Según metodologías propuestas por (BOTHELO y RAMOS, 1975; GARCIA, 1995).

3.3.6. Incubación a temperatura ambiente

Después de haber inoculado el micelio del fungi en las placas petri se colocó en la cámara incubadora por dos semanas a temperatura ambiente y en oscuridad para su propagación. Debido a que el micelio se propaga con mayor rapidez en oscuridad según la metodología propuesta por (RUIZ, 1990). Las evaluaciones se realizaron en centímetros de crecimiento hasta el 12avo. día.

3.3.7. Multiplicación de micelio del fungi (*P. craterellus* Berk. & M. Curtis)

La multiplicación del micelio del fungi es un procedimiento que permitió obtener la cantidad de micelio para las pruebas en campo, para el cual se realizó las siguientes actividades:

3.3.7.1. Preparación de medio trigo autoclavado

Para la preparación de este medio se usó trigo sin pelar (trigo resbalado), procediendo a lavar con agua para quitar las impurezas, se hidrató sumergiendo en agua por un tiempo de 72 horas a fin de que los granos

adquieran humeado, seguidamente se procedió a escurrir el exceso de agua y luego a orear los granos extendiendo sobre papel craks. El trigo oreado ha sido suministrada 3,5 gr de carbonato de calcio por cada kilogramo con la finalidad de bajar el pH y 13 gr de yeso por kg para que los granos no se pequen unos a otros según metodología propuesta por (GARCIA, 1991). Posteriormente el trigo fue depositado en bolsas de polipropileno en una cantidad de 600 gramos/bolsa y su autoclavado correspondiente.

3.3.7.2. Propagación del micelio (*P. craterellus* Berk. & M. Curtis) en trigo autoclavado

En la cámara de flujo laminar se procedió a inocular el micelio del fungi en cada una de las bolsas conteniendo el trigo, para luego ser colocadas en una cámara a temperatura ambiente y en oscuridad según metodología propuesta por (RUIZ, 1990). Las evaluaciones se realizaron en porcentaje de crecimiento a partir del quinto día de la siembra hasta el 20 avo. día, tiempo en que el micelio ha crecido e invadido la totalidad del sustrato contenido en la bolsa.

3.3.8. Obtención de basidiocarpos del fungi (*P. craterellus* Berk. & M. Curtis) a través de uso de sustratos de pulpa de café y aserrín de maderas blandas

3.3.8.1. Obtención de sustratos

Los sustratos se obtuvieron directamente del campo, para el caso de pulpa de café de caficultores de la zona de Tulumayo y el aserrín grueso de maderas blandas de las empresas cajoneras de la zona de Naranjillo.

3.3.8.2. Preparación y composteo del sustrato

Los sustratos fueron sometidos a procesos de degradación primaria. Para el caso del aserrín de cajonerías se procedió a su composteo bajo techo, reuniendo el material en forma piramidal, cubierto con plástico negro y sometido a riegos frecuentes. Para el caso de la pulpa de café se procedió a su secado a la luz del sol.

3.3.8.3. Pasteurizado del sustrato

Los sustratos fueron sometidos a un pasteurizado a través de un equipo casero confeccionado para tal fin, utilizando dos depósitos metálicos; uno para generar vapor de agua y el otro para colocar el sustrato a pasteurizar por medio de vapor caliente y conducido por una manguera del generador de vapor hacia el cilindro conteniendo el sustrato. Este proceso se realizó a una temperatura de 70 °C por un tiempo de 120 minutos (Anexo D Figura 15).

3.3.8.4. Siembra del micelio del fungi en los sustratos

Previamente los sustratos pasteurizados tanto de la pulpa de café como del aserrín de maderas blandas se extendieron en una mesa limpia para que se enfríe hasta temperatura ambiente, luego fueron depositados en bolsas de polipropileno de dimensiones (37,5 cm x 25,5 cm), intercalando una capa de sustrato con una de inóculo en la cantidad de aproximadamente 4 % del peso del sustrato (60 gramos para 1,5 Kg. de sustrato).

3.3.8.5. Incubación y propagación del fungi

Las bolsas con los sustratos sembrados, fueron colocadas en un ambiente y en oscuridad durante más ó menos 30 días, luego de este tiempo se procedió a observar las bolsas para ver el posible crecimiento del micelio en los sustratos. Este proceso se repitió durante 4 meses, metodología propuesto por (GARCÍA, 1991) para el caso de cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

3.4. Diseño experimental

En el presente trabajo de investigación se empleó el Diseño Completamente al azar (DCA) con 3 tratamientos y 10 repeticiones. Para la prueba de comparación de medias se usaron la prueba de Duncan al 5 % de probabilidad.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación del nombre genérico y específico del fungi comestible

El fungi comestible, material del presente trabajo comúnmente conocido en la amazonia como “trueno callampa, tocino callampa”; es consumido frecuentemente por los pobladores del campo por sus características y consistencia carnosa.

En el presente trabajo de investigación se colectaron varias muestras del fungi usando para tal caso un formato de colección (Anexo A), dicho formato consiste de dos fichas; en la primera se anotaron datos referidos a la colección del fungi; es decir, la información general correspondiente al lugar de colección; en la segunda ficha se registraron la información básica del fungi; es decir anotaciones correspondiente a las características de la muestra (pileo o sombrero, himenóforo y pie o estípite).

La descripción de las características internas del fungi no fue posible realizar en su totalidad en la UNAS, debido a la carencia de equipos y reactivos; por lo que dicha muestra juntamente con la ficha de colección fue enviada a un micólogo especialista en Poliporaceos (Noruega) para determinar su identificación a nivel genérico y específico. Obteniendo como respuesta la

descripción detallada del espécimen con su nombre científico correspondiente:

Polyporus craterellus Berk. & M. Curtis.

La descripción de una muestra de cualquier fungi consiste en conocer al detalle las características y propiedades de gran valor para su identificación, por lo que se considera las características morfológicas externas e internas; referente a las características externas se describe gran parte en el campo al momento de la colección a través de un formato y el resto en gabinete apoyado de una lupa o estereoscopio, entre ellos: el sombrero o píleo, (color, presencia de cutícula, pecas, grietas, forma y aspecto del sombrero e himenio, forma y tamaño de pie etc). Las características internas se tiene que realizar en el laboratorio o gabinete con la ayuda de materiales, microscopio y reactivos. Al respecto RYVARDEN (1991), CALONGE (1999), ROBLEDO (2006) y GUZMAN (1979) mencionan que, las características tanto externas como internas son aspectos fundamentales que necesariamente tienen que tenerse en cuenta para una correcta identificación de los fungi. Además mencionan que los caracteres más importantes usados en la identificación de los fungi son: Forma del cuerpo fructífero y color de cada una de las partes; presencia o ausencia de cualquier estructura o característica del cuerpo fructífero llamativa a la vista (escamas, verrugas, pelos, espinas, poros, grietas, estrías, viscosidad, carnosidad, etc); cambio de color de cualquiera de las partes, ya sea al maltratarse o al cortarse; presencia o ausencia de un jugo lechoso o látex al cortarse el fungi; olor y sabor del hongo; color de las esporas en masa; forma, color y tamaño de esporas; tipos de hifas; tipo de micelio,

presencia o ausencia de ascas, basidios, setas, cistidios, clamidosporas, entre otras estructuras.

Por otro lado, BOA (2005) hace referencia que, los métodos clásicos de identificación de macromicetos incluyen un examen microscópico del tejido de las esporas y de su estructura, esto nos asegura que al menos el género ha sido identificado. La identificación de las especies tropicales menos conocidas puede requerir también el examen de una buena cantidad de referencias. Es posible obtener claves visuales útiles en las fotografías de las guías de campo y hay un número creciente de sitios Web con fotografías y descripciones descritas de las especies. Las identificaciones de expertos pueden ser costosas, aunque pagar por una identificación proporciona la garantía de obtener respuestas a todas las dudas. Los detalles de las características externas del fungi se describen en siguiente cuadro:

Cuadro 3. Descripción externa de la muestra de fungi comestible colectada

Sombrero ó píleo	De 10 a 30 cm de diámetro, y 0,5 a 2,5 cm de espesor, color pardo oscuro con líneas o bandas más o menos oscuras, con brillo, de consistencia carnosa, forma circular a semicircular con cierta concavidad en la parte central.
Himenóforo	De color blanco a blanco cremoso, formada por poros (2 - 3 por mm).
Pie ó estípite	De tamaño variable (0,5 – 5 cm largo x 0,5 – 4 cm de ancho) pudiéndose ubicarse en el centro o de manera lateral en sombrero. De color más oscuro que el sombrero y la superficie puede ser velutinoso.



Figura 2. Fungi comestible *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis, colectada en el Jardín Botánico – Universidad Nacional Agraria de la Selva.

4.2. Aislamiento de micelio del fungi (*P. craterellus* Berk. & M. Curtis)

El aislamiento del micelio de cualquier fungi en medios nutritivos es una tarea inicial e importante, que conduce a conocer los requerimientos nutricionales o el tipo de medio de cultivo a usar. El aislamiento del micelio se puede realizar a través de tejidos y esporas en el laboratorio, usando diversas técnicas y metodologías desarrolladas. El micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) fue aislado a partir de cultivo de tejidos en medios Agar papa dextrosa y Agar malta, siguiendo los procedimientos referidos por SALDARRIAGA, PINEDA (2001) y RUIZ (1990) donde se ha logrado cubrir la totalidad del área de la placa en doce días efectivas (Cuadro 4). Resultando para tal efecto el medio agar malta, como el medio donde el micelio ha desarrollado con más rapidez y en menor tiempo en comparación al

medio Agar papa dextrosa. Al respecto, GELMAN (1969) manifiesta que la proporción de los medios de cultivo es importante, no solo para conseguir el desarrollo del fungí fuera de su ambiente natural sino para su crecimiento en medios adecuados. Así mismo GARCIA (1991) hace referencia que, el crecimiento del fungi bien sea en la tierra, en la madera o en el medio de cultivo requiere la existencia de nutrientes adecuados que puedan ser aprovechados por las hifas del micelio, además, la temperatura y la humedad del sustrato ha de ser las convenientes para la especie que se trate.

Al respecto ECHANDI (1971) menciona que la mayoría de los fungi crecen muy bien en medios tales como Agar papa dextrosa y Agar malta, estos medios contienen alto contenido de carbohidratos y presentan un pH que fluctúa entre 5 – 6, que es el adecuado para la mayoría de los fungi. Existen además, algunos fungi que requieren de sus propias exigencias nutricionales, y que estas se diferencian en función a las especies.

Los medios de cultivo son soluciones estériles que contienen sustancias más o menos complejas que llevan en su composición elementos esenciales: carbono, oxígeno, nitrógeno, hidrógenos y sales minerales. Los medios tienen que ser adecuados a la clase de fungi que se desea cultivar y de acuerdo a los fines que se persigue. Hay fungi que aunque puedan cultivarse en distintos medios nutritivos tienen afinidad a uno determinado, mostrando al observar un mejor desarrollo o la presencia de particularidades fisiológicas, esporulación más rápida, formación de órganos de resistencia y crecimiento rápido del micelio (GONZALES, 1985).

Para el asilamiento del micelio del fungi se emplearon dos medios de cultivos (APD y AM) en placas de 10 cm de diámetro; donde los promedios del crecimiento del micelio del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis en los medios de cultivo se observan en el (Cuadro 4 y Figura 3); logrando registrar mayor promedio de crecimiento (9,0 cm) en el medio Agar Malta durante los doce días de evaluación, en comparación con el medio PDA que solo ha logrado un crecimiento de 7,1 cm durante el tiempo de evaluación.

Cuadro 4. Promedio del crecimiento diametral de micelio de *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis en placas petri a los doce días de la siembra

Medios de Cultivo	Crecimiento diario (cm)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
AM	1.4	2.6	3.2	3.9	4.4	4.9	5.6	6.2	6.9	7.5	8.2	9.0
PDA	1.8	2.0	2.2	2.7	3.1	3.7	4.3	4.8	5.3	5.8	6.4	7.1

AM = Agar Malta; PDA = Agar Papa Dextrosa

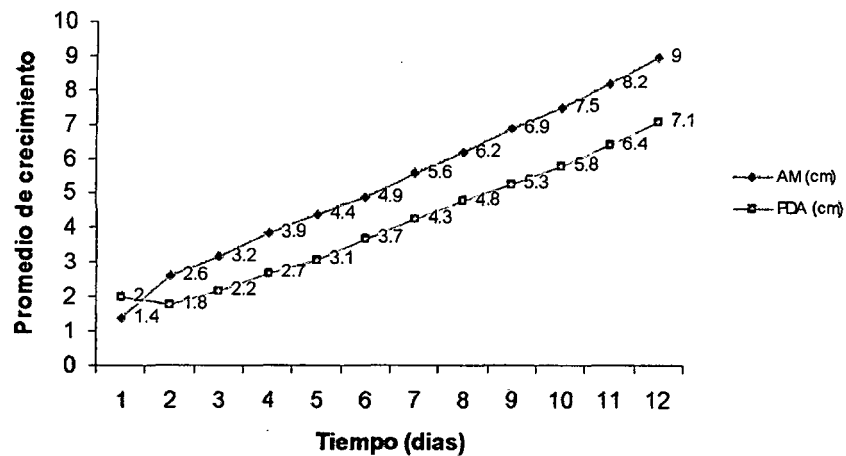


Figura 3. Promedio del crecimiento de micelio de (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en medio Agar malta y Agar papa dextrosa, a doce días de la siembra

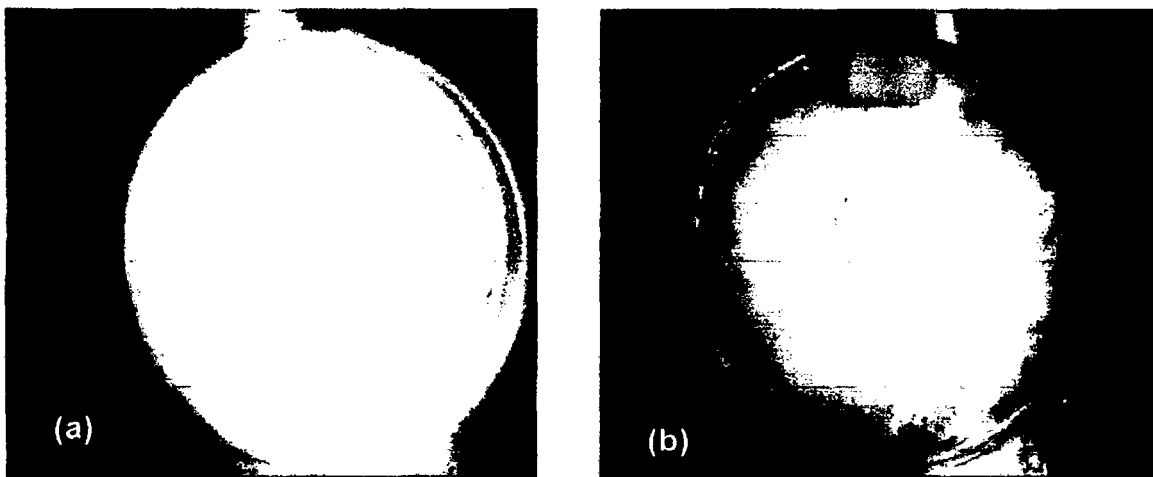


Figura 4. Crecimiento de micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en medios de cultivo (a) agar malta (b) agar papa dextrosa

4.3. Propagación del micelio en trigo autoclavado

Según los resultados obtenidos en el (Cuadro 5), nos muestra que el fungi ha logrado propagar el total del sustrato de la bolsa con trigo en un lapso de 15 días, observándose un color blanco algodónoso y brillante; como consideración

importante que se ha tenido en cuenta, es la agregación al sustrato trigo carbonato de calcio y yeso, con la finalidad de bajar el pH y obtener un medio granulado (no se peguen los granos) respectivamente (GARCIA 1991).

En la (Figura 6), se observa el crecimiento del micelio en las diferentes etapas de su desarrollo y en óptimas condiciones para ser sembradas en los sustratos correspondientes. Asimismo GARCIA (1991) manifiesta que la forma granulada es muy útil porque facilita la siembra al poder mezclarse uniformemente con el sustrato por lo cual se ha inducido a multiplicarlo sobre grano de cereales (trigo, sorgo, cebada etc.) que son los más adecuados para la multiplicación de fungi.

Se ha logrado obtener y propagar el micelio del fungi comestible, con el cual se garantiza la obtención de micelio (semilla de propagación).

En la (Figura 5), se observa el promedio del crecimiento del micelio en el medio de trigo autoclavado a los 15 días después de la siembra, tiempo en que el micelio logro invadir en un 100 % en el medio contenido en las bolsas.

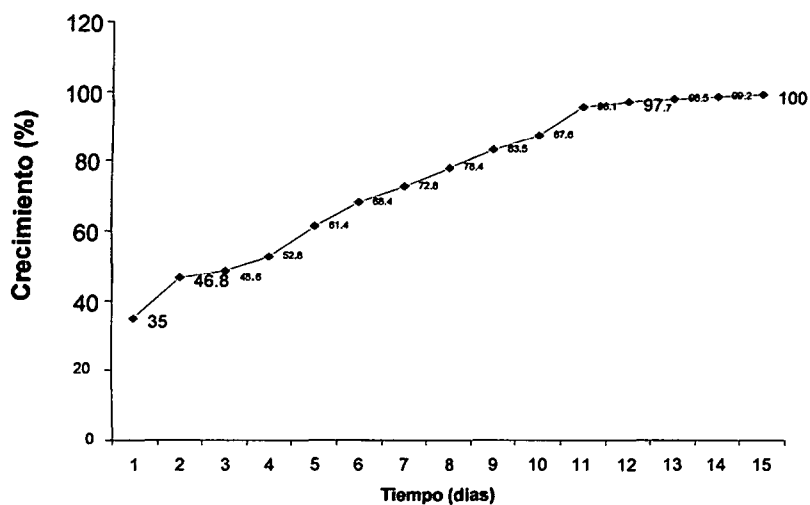


Figura 5. Promedio del crecimiento diario en porcentaje de (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en las bolsas de polipropileno.

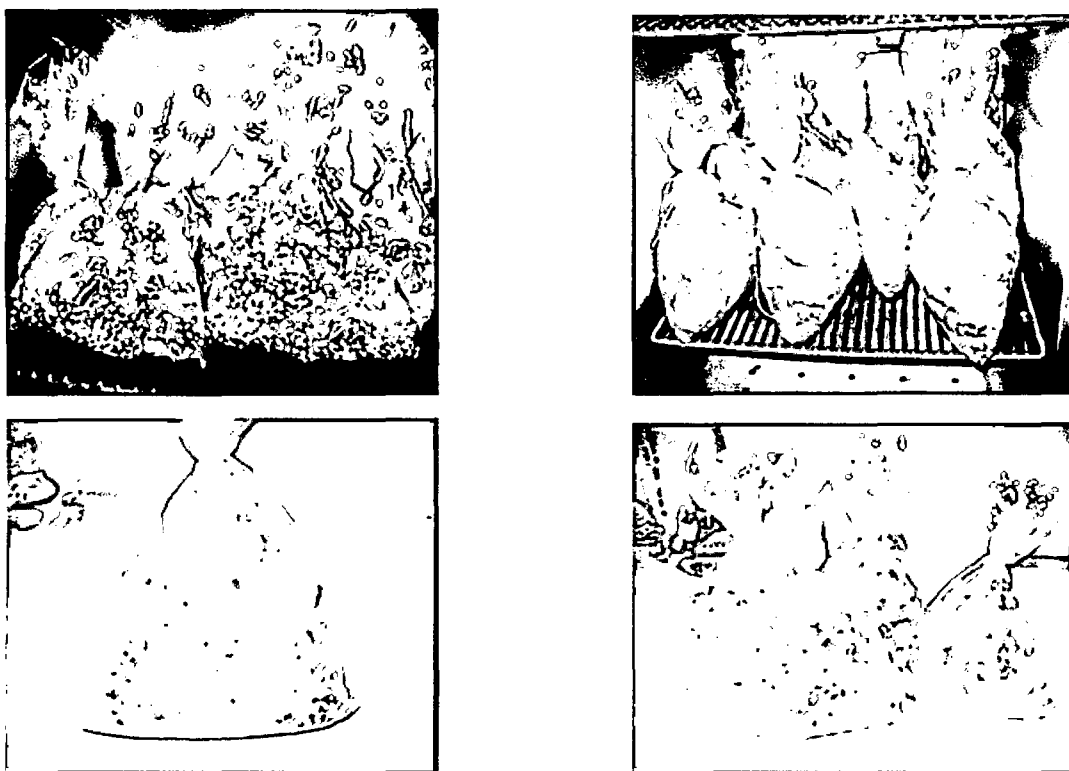


Figura 6. Progreso del crecimiento del micelio de (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en el medio de trigo autoclavado durante 20 días de evaluación.

4.4. Producción de basidiocarpos del fungí (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en sustratos agroindustriales

A través de la presente investigación y uno de sus objetivos fue la producción de basidiocarpos del fungí, es decir la parte fructificativa, usando para este caso tres tipos de sustratos provenientes de la agroindustria. Los sustratos fueron preparados con pulpa de café, aserrín proveniente de las cajonerías y la mezcla de ambos; pasando posteriormente por un proceso de composteo y pasteurizado por medio de un equipo sencillo y domestico construido para tal fin (Anexo D, Figura15). El micelio obtenido en laboratorio en bolsas de polipropileno ha servido para realizar la siembra en los sustratos preparados y en un ambiente adecuado, donde se procedió a la mezcla del sustrato con el micelio (4 % de del peso del sustrato), metodología propuesto por GARCIA (1991) para el caso del fungí comestible *Pleurotus ostreatus*.

Las evaluaciones de crecimiento del micelio se realizaron en porcentaje (%) y por cada mes, por un lapso de tiempo de cuatro meses.

En el (Cuadro 6), se observa la prueba de significación de Duncan de los promedios de crecimiento del micelio del fungí a un nivel de 5 % de probabilidad, donde el sustrato pulpa de café obtuvo mayor crecimiento (69,64 %) en comparación a la mezcla de aserrín + pulpa de café (20,95 %) y aserrín (9,77 %).

Durante el lapso de la evaluación solo se ha logrado el crecimiento parcial del micelio del fungí en los sustratos, más no la obtención del cuerpo

fructífero. La evaluación ha sido realizada hasta que el micelio paralice o se detenga su crecimiento debido a causas del proceso y factores no controlados que limitaron su crecimiento; y esto ha ocurrido a los cuatro meses de la siembra, no logrando mayor crecimiento posteriormente. Estamos seguros que el nivel de descomposición y tratamiento del sustrato, juega un papel preponderante para el logro del crecimiento del cuerpo fructífero de cualquier fungi. En este caso no ha posible medir todos los factores influyentes quizás para el logro del crecimiento del basidiocarpo y aun más teniendo en cuenta que esta especie no ha reportado estudios tendientes a su propagación. Sin embargo creemos que éste es un estudio preliminar e inicial que será la base para posteriores investigaciones en este campo, aun más tratándose de un fungi comestible común de la amazonia peruana.

De acuerdo a SINGER (1964) para el desarrollo óptimo de micelio y basidiocarpos de cualquier fungi, es necesario una combinación de factores ambientales como la temperatura, pH, luz, propiedades físicas del sustrato y la preparación de nutrientes; asimismo, GARCIA (1991) afirma que el cultivo de setas no es cosa fácil ni que pueda cultivarse cualquier especie. Por el contrario se ha podido cultivar solo pocas especies y su cultivo se presta a grandes fracasos. Se desconoce mucho de los factores necesarios para el desarrollo de tan extraños y complicados seres, que son tan rígidos en su existencia que un fallo en la temperatura, la humedad o la ventilación pueden hacer fracasar los ensayos de cultivo. La observación de los ambientes naturales ya nos muestra que las setas unas veces salen y otras no, en los sitios que parecen adecuados, sin que sepamos porque.

Los fungi como organismos autótrofos necesitan nutrirse y ello lo hacen a través de la actuación de enzimas para la degradación del sustrato, donde además debe existir otras condiciones para que se dé la fermentación y pueda ser asimilable los nutrientes; tal es así que MONROY y VINIEGRA (1981), mencionan que la mayoría de los microorganismos usan 30 partes en peso de carbono por cada parte de nitrógeno, por lo que una relación C/N de 30 es la más conveniente para una fermentación eficiente, si se tienen materiales con bajo contenido de nitrógeno, como son las pajas o desechos de madera, es posible producir mezclas fermentables al añadir materiales con alto contenido de nitrógeno, como son los desechos animales, se debe procurar el no obtener mezclas con alto contenido de nitrógeno (o bajo valor de C/N), ya que en la fermentación si no se producen tales mezclas se pierde una cantidad considerable de nitrógeno como amoníaco. Esto es favorecido durante el composteo hemofílico a causa del pH ligeramente básico y de las temperaturas altas. Así mismo, GAYOSSO (2007) reporta que las condiciones ambientales son fundamentales para la formación del cuerpo fructífero, la composición del medio de crecimiento, a diferentes rangos la temperatura influye en la iniciación del cuerpo fructífero, la luz influye de manera positiva en la agregación de las hifas, la fructificación es favorecida a una humedad ambiental alta (90 – 95 %) pero el contenido de agua en los sustratos puede ser aun más crítico, el contenido de agua optima para los sustratos de madera es de 35 - 60 % y para otros sustratos de 60 – 80 %, el pH para el desarrollo del cuerpo fructífero de varias especies es mejor a pH neutro o ligeramente ácido entre 6 – 7, por ello para el desarrollo del cuerpo fructífero requiere condiciones ambientales

específicas que también están en función al estado de desarrollo y de la especie.

Finalmente, BOTELHO y RAMOS (1985) establecen que un factor importante a considerar en el cultivo de hongos comestibles es la relación C/N durante el composteo. Si esta relación es inadecuada, no habrá formación de cuerpos fructíferos del fungi, siendo esta relación C/N optima de 30:1 con un pH de 6,3.

Cuadro 6. Prueba de significación de Duncan para el promedio de crecimiento (%) de *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis a cuatro meses de evaluación

Sustrato	Meses				Significación
	1	2	3	4	
Pulpa de café	35.23	50.23	62.09	69.64	a
Pulpa de café +aserrín	13.5	15.06	18.09	20.95	b
Aserrín	6.58	7.82	8.45	9.77	c

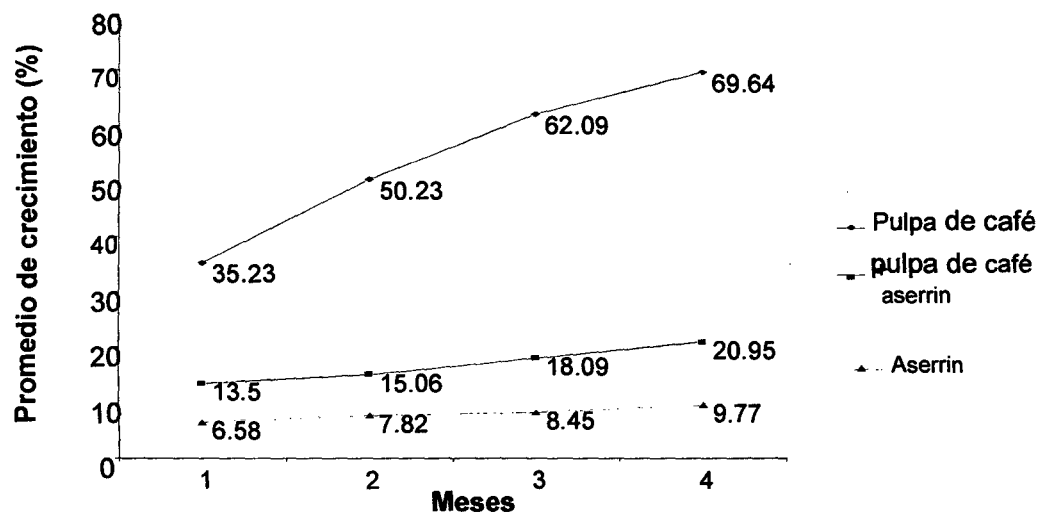


Figura 7. Promedio del crecimiento (%) a los cuatro meses del micelio de *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis

V. CONCLUSIONES

1. El fungi comestible material de la presente investigación corresponde a (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis).
2. El fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) ha sido aislado a través de cultivo de tejidos en medio agar malta y agar papa dextrosa obteniendo un promedio de crecimiento a 12 días después de la siembra de 9 y 7,1 cm respectivamente.
3. El micelio del fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) ha logrado propagarse en su totalidad en los 600 gramos de trigo autoclavado durante el lapso de tiempo de 20 días, obteniéndose a través de este procedimiento la cantidad deseada de micelio para las pruebas de campo
4. No se obtuvieron basidiocarpos del fungi (*Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis) en los sustratos agroindustriales; solo se logró mayor crecimiento del micelio en el sustrato a base de pulpa de café (69.64 %) durante los cuatro meses de evaluación.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar ejecutando trabajos de investigación en el campo de la micología, especialmente con fungi comestibles referido a su taxonomía, hábitat, especies potenciales, aspectos nutricionales, entre otros.
2. Realizar mayores pruebas con respecto al proceso de composteo de los sustratos agroindustriales, donde se tenga en cuenta condiciones de temperatura, humedad, pH, luminosidad, relación carbono nitrógeno, entre otros factores; a fin de obtener un composteo óptimo en el estudio de cualquier especie de fungi comestible.
3. Investigar la temperatura óptima y el tiempo necesario durante el proceso de pasteurizado de los sustratos.
4. Fomentar el estudio de este recurso natural diverso en la amazonia peruana para fines alimenticios, medicinales, biotecnológicos e industriales.

VII. ABSTRACT

This study was conducted at the Laboratory of Microbiology, Faculty of Forestry Nursery of Renewable Natural Resources - Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria. The objectives were to determine the generic and specific edible fungi, the mycelium of fungi isolated *Polyporus craterellus* Bert. & M. Curtis through tissue culture in potato dextrose agar and malt agar, the mycelium of fungi spread *Polyporus craterellus* Bert. M. & Curtis autoclaving for wheat in the desired quantity for testing campo.y produce basidiocarpos of fungi *Polyporus craterellus* Bert. M. & Curtis using agroindustrial substrates composted and pasteurized.

The experiments were conducted in two phases: the first at the Laboratory of Microbiology for the propagation and isolation of the mycelium and the second to level the field for the production of basidiocarpos using two types of substrates coffee pulp and sawdust composted and pasteurized. The results indicate that the fungi edible material of this investigation is to *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis has been isolated through tissue culture in malta Agar and potato dextrose agar produces an average growth of 12 days after sowing, 9 and 7,1 cm respectively.

The findings indicate that it has successfully spread the mycelium of the fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis at 600 grams of wheat autoclaving

in a time span of 20 days to obtain it through the desired amount of mycelium in the field trials. Unable to get basidiocarpos the fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis in the agro-industrial substrates, only achieved higher growth of mycelium in the substrate based on coffee pulp (69, 64 %) in the four months of evaluation with respect to others.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARADO, E. 2005. Especies disponibles *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curt. [En línea]: INBIO, (<http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/FMPro?-DB=UBIPUB.fp3&-lay=WebAll&-error=norec.html&-Format=detail.html&-Op=eq&id=6974&-Find>), documento, 27 Oct. 2008).
- AYALA, F. 1999. Inventario Taxonómico de la flora amazonia peruana. Herbario etnobotánico amazónico. Iquitos, Perú 80p.
- BOTELHO, T., y RAMOS, B. 1985. Cogumelos comestíveis; ed. Icome São Paulo, Brasil. 83 p.
- BOA, E. 2005. Los hongos silvestres comestibles, Perspectiva global de su uso e importancia para la población. Productos Forestales no maderables N° 17 de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 163 p.
- BRESSANI, R., ESTRADA, E., JARQUÍN, R. 1972. Pulpa y pergamino de café. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa. Turrialba (Costa Rica) 22: 299-304.
- BRESSANI, R. 1974. Composición química de los subproductos del café. En: Reunión Internacional sobre la Utilización de Subproductos Agrícolas e Industriales. 11-14 de junio de 1974, Turrialba, Costa Rica. Informe final. IICA. p. 13.

- BROWN y BETHEL, 1987. La industria de la madera. Editorial Limusa S.A. de C.V. México 397 p.
- CALONGE, 1990. Setas (Hongos). Guía Ilustrada. 2ª Edición. Mundi Prensa. Impreso en España. 460 p.
- ECHANDI, E. 1971. Manual de laboratorio para fitopatología general. 1era edición. Herrero hermanos, sucesores S.A. México. 59 p.
- ELIAS, L. G. 1978. Composición química de la pulpa del café y otros subproductos. División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP) Guatemala.
- GAYOSSO, C. M. 2001. Caracterización de los componentes de un extracto de primordios de *Pleurotus ostreatus* que induce su fructificación. Tesis Maestra en Ciencia Agraria Biotecnología. Tecoman. Universidad de Colima. 79 p.
- GARCIA, R. 1991. Cultivo de setas y trufas. 2ª edición. Ediciones mundi – prensa. 173p.
- GARCIA, A. 2006. Manual para la Producción y Comercialización de hongos comestibles. Situación actual de los Hongos Comestibles en la Argentina y en el Mundo Hongos Comestibles.
- GELMAN, J.C. 1969. Manual de los hongos del suelo. 2ª Edición. Compañía Editora Continental S.A. México.
- GONZALES, F. R. 1985. Técnicas y método de laboratorio para el estudio de hongos xilófagos. Boletín N° 17. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú

- GUZMAN, G. 1979 Identificación de los hongos comestibles venenosos alucinantes y destructores de la madera. Editorial Limusa S.A. México.
- HEPPERLY, P. R., TORRES, R y RIVERA, V .L. 1989. Consideraciones en torno al desarrollo de una industria de setas comestibles en Puerto Rico. Revista del colegio de Agrónomos de Puerto Rico Julio- Septiembre 10 p.
- MAGGIE, Y., Y. MATSUBARA, T. SHIRATORI and T. SASAKI. 1988. Variation in fruiting body production of protoclones of oyster mushroom. HortScience 23(6):1.065-1.066.
- MATEO, C. 2006. Diferenciación en los medios de cultivo [En línea]: WIKILEARNING (http://ww.wikilearning.com/usuarios/Rafael_amadeo_mateo_capilla/10153008, documento, 5 Set. 2008).
- MIGNUCCI, J. 1986. Perspectivas para el cultivo de setas en Puerto Rico y el Caribe; Recinto Universitario de Mayagüez, Puerto Rico. 24 p.
- MONROY y VINIEGRA, 1981. Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. Editor S.A. México 260 p.
- ONERN, 1976. Mapa Ecológico del Perú (guía explicativa). Oficina Nacional de Evaluación de los Recursos Naturales .Lima, Perú. 146p.
- PICO, A. 1990. La pulpa de café de residuo a alimento .Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Quito. [En línea]: URG (<http://www.urg.es/~ri/anteriores7dialos/inv-3.htm>), documento ,10 Set. 2008).
- ROBLEDO, G. 2006. Taxonomía, Ecología y Diversidad de poliporos. 1 5-19 mayo 2006. Cuzco, Perú. 13 p.

- RUIZ, R. 1990. Aislamiento y cultivo del hongo comestible *Pleurotus afin ostreatus* (Jacq. ex Fr) Kumm. Tingo María, Perú. 94 p.
- RYVARDEN, L. 1991. Genera of Polypores. Nomenclature and taxonomy. Synopsis Fungorum 5 Fungiflora. Oslo, Norway. 363 p.
- SALDARRIAGA, PINEDA. 2001. Manual de Micología aplicada. Medellín, Colombia, Universidad de Antioquia. 89 p.
- SINGER, L. 1964. Las setas y las trufas, la botánica, el cultivo y la utilización; Ed. Continental. México. 470 p.
- SUÁREZ DE CASTRO, F. 1960. Valor de la pulpa del café como abono. Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café. Boletín Informativo, Suplemento N ° 5. Santa Tecla, El Salvador. 5 p.

IX. ANEXOS

Anexo A

Ficha 1. Para la Colección del Fungí

N. Científico	<input type="text"/>
Det.:	
Loc.: TINGO MARIA.	
Pais:.....PERU...Prov.....LEONCIO PRADO.....Dpto:.....HUANUCO.....	
Fecha.....15-8-2008..... Colector:.....Margarita Fonseca.....A.....	
Coordenadas.....	
Sustrato.....RAIZ DE UN ARBOL PODRIDO DE BROSIMUM SP.....	
Hábitat.....JARDIN BOTANICO UNAS (UBICADO EN EL CERCADO DE LA CIUDAD).....	
OBSERVACIONES:....LAS MUESTRA FUE ENCONTRADA DEBAJO DE ÁRBOLES.....	

Ficha 2. Para las partes externas e internas del fungi

BASIDIOCARPO:	
Medidas...30...x...27...x...0.5...cm	Consistencia:.....CARNOSA.....
Forma.....	Indumento.....GLABRO.....
Color: Pileo.....COLOR CAFÉ CON BANDAS NOTORIAS DE COLOR MARRON.....	
.himenio.....BLANCO.....	
Superficie del pileo: Textura.....LISO BRILLOSO....	Margen.....ENTERO.....
LAMINAS: Forma.....	Tamaño...../mm/cm
POROS: Forma.....	Tamaño.....MUY PEQUEÑOS...../mm/cm
Capa de tubos.....	contexto.....
PIE: Forma.....CILINDRICO.....	Tamaño.....30.....cm
Color:..MARRON CLARO, CAFÉ OSCURO.....	
OBSERVACIONES	
.....	

Anexo B

Cuadro 7. Evaluaciones de Crecimiento (cm) del fungí *Polypurus craterellus*

Berk. & M. Curtis en la fase de laboratorio

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
1	1	1.8	1.2
	2	1.9	1.3
	3	2.0	1.5
	4	1.7	1.4
	5	2.5	1.4
	6	2.3	2.0
	7	1.7	1.3
	8	2.3	1.4
Promedio		2.0	1.4

Cuadro 8. Segundo día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
2	1	2.5	1.5
	2	2.4	1.6
	3	2.8	1.9
	4	2.5	1.7
	5	3.0	1.8
	6	2.8	2.6
	7	2.3	1.6
	8	2.7	1.7
Promedio		2.6	1.8

Cuadro 9. Tercer día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
3	1	3.5	2.0
	2	2.9	1.8
	3	3.3	2.3
	4	2.9	2.5
	5	3.6	2.1
	6	3.3	2.9
	7	2.9	1.8
	8	3.5	2.3
Promedio		3.2	2.2

Cuadro10. Cuarto día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
4	1	4.1	2.6
	2	3.5	2.3
	3	3.9	2.6
	4	3.6	2.9
	5	4.5	2.6
	6	3.8	3.3
	7	3.5	2.5
	8	3.9	2.8
Promedio		3.9	2.7

Cuadro 11. Quinto día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
5	1	4.8	3.5
	2	4.1	2.8
	3	4.6	2.9
	4	3.8	3.3
	5	5.3	2.8
	6	4.3	3.7
	7	3.9	2.9
	8	4.5	3.1
Promedio		4.4	3.1

Cuadro 12. Sexto día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
6	1	5.6	3.9
	2	4.8	3.1
	3	4.9	3.4
	4	4.1	4.1
	5	5.9	3.6
	6	4.9	4.5
	7	4.1	3.5
	8	4.9	3.6
Promedio		4.9	3.7

Cuadro 13. Séptimo día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
7	1	6.3	4.3
	2	5.3	3.6
	3	5.5	3.8
	4	4.6	4.9
	5	6.6	4.1
	6	5.8	5.6
	7	4.8	3.9
	8	5.8	4.1
Promedio		5.6	4.3

Cuadro 14. Octavo día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
8	1	6.9	4.7
	2	3.9	4.1
	3	6.0	4.3
	4	4.9	5.6
	5	7.8	4.6
	6	6.1	5.9
	7	5.3	4.3
	8	6.5	4.8
Promedio		6.2	4.8

Cuadro 15. Noveno día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
9	1	7.8	5.6
	2	6.5	4.3
	3	6.8	4.7
	4	5.3	5.9
	5	8.3	5.2
	6	7.5	6.3
	7	5.6	4.5
	8	7.3	5.6
Promedio		6.9	5.3

Cuadro 16. Decimo día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
10	1	8.5	6.0
	2	7.9	4.7
	3	7.3	5.6
	4	5.8	6.1
	5	6.6	5.8
	6	7.9	6.9
	7	6.3	5.3
	8	8.0	5.9
Promedio		7.5	5.8

Cuadro 17. Onceavo día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
11	1	9.2	6.7
	2	8.6	5.6
	3	7.9	6.1
	4	6.3	6.8
	5	9.1	6.3
	6	8.6	7.3
	7	6.9	6.1
	8	8.7	6.4
Promedio		8.2	6.4

Cuadro 18. Doceavo día

Días	Número de placas	Agar malta	Agar Papa Dextrosa
12	1	10.0	7.6
	2	9.8	5.9
	3	8.9	6.5
	4	6.9	7.5
	5	9.7	6.9
	6	9.5	8.1
	7	7.8	6.8
	8	9.6	7.3
Promedio		9.0	7.1

Cuadro 19. Evaluación del Crecimiento del fungí *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis en la fase de campo (Primer mes).

Número de Bolsas	Sustratos		
	Pulpa de Café	Aserrín	Pulpa de café + Aserrín
	%	%	%
1	38.18	9.55	12.27
2	42.27	7.27	10.00
3	43.18	13.18	24.09
4	28.18	6.36	7.73
5	29.09	4.55	13.18
6	25.45	2.27	12.27
7	42.27	10.45	6.36
8	38.18	5.91	7.27
9	29.09	2.70	20.91
10	36.36	3.60	20.91
Promedio	35.23	6.58	13.50

Cuadro 20. Evaluación del Crecimiento del fungí en la fase de campo
(Segundo mes)

Número de Bolsas	Sustratos		
	Pulpa de café	Aserrín	Pulpa de café + Aserrín
	%	%	%
1	56.36	10.00	15.00
2	63.18	7.73	12.27
3	64.09	14.09	25.91
4	38.18	7.27	9.09
5	37.73	5.45	16.82
6	37.27	3.18	13.18
7	60.00	10.45	8.18
8	53.18	6.36	10.91
9	41.36	6.82	22.27
10	50.91	6.82	25.00
Promedio	50.23	7.82	15.86

Cuadro 21. Evaluación del Crecimiento del fungí en la fase de campo (Tercer mes)

Número de Bolsas	Sustratos		
	Café	Aserrín	Pulpa de café + Aserrín
	%	%	%
1	63.18	10.45	18.18
2	83.18	8.18	15.45
3	68.18	15.45	28.18
4	54.09	7.27	11.36
5	55.91	5.45	18.18
6	45.45	3.18	14.09
7	68.18	10.91	9.55
8	61.36	7.23	12.27
9	53.18	7.23	24.09
10	68.18	9.09	29.55
Promedio	62.09	8.45	18.09

Cuadro 22. Evaluación del Crecimiento del fungí en la fase de campo (Cuarto mes)

Número de Bolsas	Sustratos		
	Pulpa de Café	Aserrín	Pulpa de Café + Aserrín
	%	%	%
1	68.18	11.82	23.18
2	94.09	9.09	15.91
3	75.91	16.36	31.36
4	70.91	7.73	12.73
5	54.09	5.91	19.09
6	74.09	3.64	18.18
7	65.91	11.82	12.27
8	61.36	8.18	15.91
9	59.09	11.82	25.91
10	73.18	11.36	35.00
Promedio	69.64	9.77	20.95

Anexo C

Cuadro 23. Análisis de varianza para la variable crecimiento del micelio en el primer mes

Fuente	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	Significación
Tratamiento	2	4467.14	2233.57	68.75	*
Error	27	877.148	32.487		
Total	29	5344.29			

* =Significativo a un nivel de 5% de probabilidad

Cuadro 24. Análisis de varianza para la variable crecimiento del micelio en el segundo mes

Fuente	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	Significación
Tratamiento	2	10146.9	5073.46	90.76	*
Error	27	1509.34	55.9014		
Total	29	11656.3			

* =Significativo a un nivel de 5% de probabilidad

Cuadro 25. Análisis de varianza para la variable crecimiento del micelio en el tercer mes

Fuente	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	Significación
Tratamiento	2	16355.8	8177.91	141.44	*
Error	27	1561.14	57.8201		
Total	29	17917.0			

* =Significativo a un nivel de 5% de probabilidad

Cuadro 26. Análisis de varianza para la variable crecimiento del micelio en el cuarto mes

Fuente	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	Significación
Tratamiento	2	20261.8	10130.9	154.12	*
Error	27	1774.81	65.7336		
Total	29	22036.6			

* =Significativo a un nivel de 5% de probabilidad

Cuadro 27. Relación Carbono Nitrógeno del aserrín de maderas blandas realizado en el laboratorio de suelos de la UNAS.

Carbono %	Nitrógeno %
57.69	0.108

Fuente: Laboratorio de Suelos de la UNAS

Anexo D



Figura 7. Proceso de extracción del tejido del fungi comestible *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis



Figura 8. Siembra de tejidos del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis

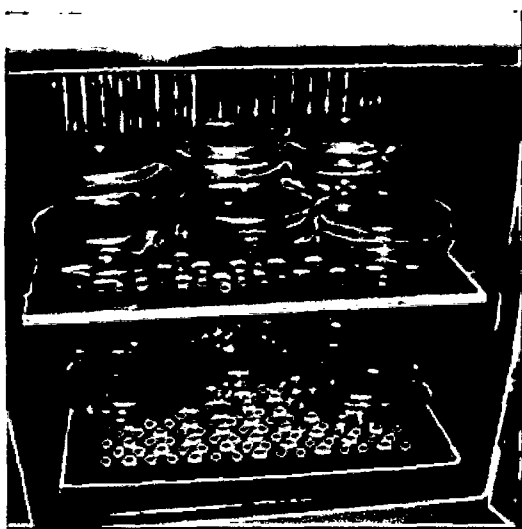


Figura 9. Medios de cultivo en la cámara incubadora con el inoculo del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis



Figura 10. Propagación de micelio del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis en medio Agar Malta

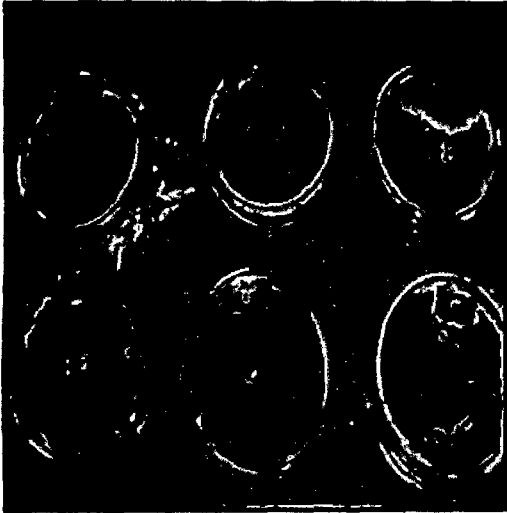


Figura 11. Propagación de micelio del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M. Curtis en medio Agar papa dextrosa



Figura 12. Proceso de composteo constante del sustrato aserrín de maderas blandas



Figura 13. Riego constante del sustrato aserrín de maderas blandas

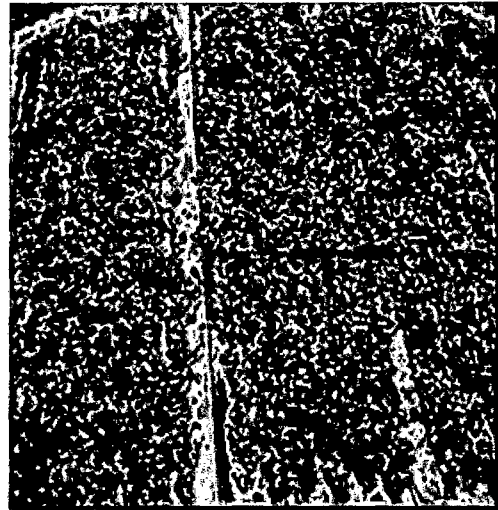


Figura 14. Proceso de secado de la pulpa de café al sol



Figura 15. Pasteurizador casero y sencillo



Figura 16. Micelio del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M para la siembra en los sustratos



Figura 17. Siembra del micelio en los sustratos de pulpa de café y aserrín de maderas blandas



Figura 18. Colocando los sustratos en un ambiente para su propagación



Figura 19. Micelio del fungi comestible *Polyporus craterellus* Berk. & M en pulpa de café



Figura 20. Micelio del fungi *Polyporus craterellus* Berk. & M en la mezcla de pulpa de café+ aserrín de maderas

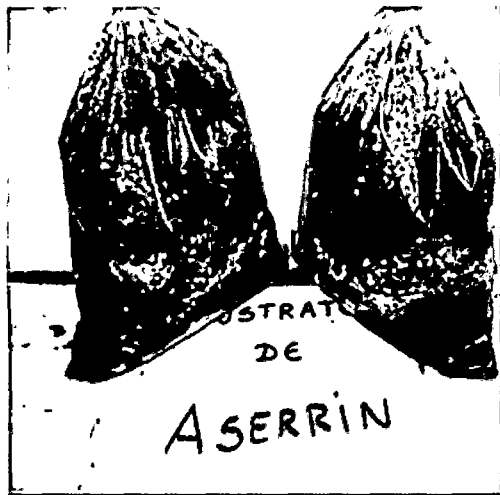


Figura 21. Micelio del fungi comestible *Polyporus craterellus* Berk. & M aserrín de maderas blandas