

**Producción de semilla de champiñón
(*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) inoculada
en cuatro medios de cultivo**

Ana Soledad Navas Vaca

Tabla 10/12/02

301638

BIBLIOTECA WILSON POPENO
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 93
TEGUCIGALPA HONDURAS

301638

Honduras
Diciembre, 2002

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Producción de semilla de champiñón
(*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) inoculada
en cuatro medios de cultivo**

Trabajo de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado
Académico de Licenciatura.

Presentado por:

Ana Soledad Navas Vaca

Honduras
Diciembre, 2002

La autora concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.



Ana Soledad Navas Vaca

Honduras
Diciembre, 2002

DEDICATORIA

Este trabajo es el esfuerzo continuo de DIOS en mi espíritu, fortaleciéndolo día a día y animándome a seguir a pesar de las adversidades y es a Él a quien le doy todos los créditos.

A mis Padres,

A mis hermanos,

A mis abuelitos tíos y primos,

Por ser parte fundamental de mi educación

A mi Yo interior que es una parte importante de mí, que se imponía en las horas de desvelo impulsado por la fuerza de DIOS, evitando que me duerma.

AGRADECIMIENTOS

Mi eterno agradecimiento a mi Padre Celestial, que es quien me ha traído hasta aquí, me ha guiado por este camino y me ha permitido culminar un sueño más.

A mis padres Luis y Miriam por buscar siempre la superación de sus hijos, gracias por estar conmigo siempre, apoyándome desde la distancia y enseñarme a dar más de lo que me piden, gracias por ser los mejores padres del mundo.

A mi hermana Vanesa que con su cariño, sus consejos y su fortaleza me ha enseñado a poner el corazón en cada tarea que realice, a mi hermano Luis quien con sus abrazos enormes me devuelve a la vida y me regresa las energías perdidas, a mi hermanita Jacqueline quien con sus besitos y cariños me demuestra que nunca debo de dejar de ser niña y me muestra cada día la dulzura de DIOS en sus ojos.

A mis abuelitos, mis tíos, mis primos, quienes estuvieron conmigo siempre, gracias por sus cartitas, regalos y dibujitos que en la distancia ayudaron mucho.

Al señor Guillermo Mena por su apoyo tan oportuno y por su amistad.

A Fernando, gracias por darme tantos momentos preciosos, por hacer menos pesados estos últimos meses, gracias por todo el cariño recibido. T. A.

A la Ing. Dinnie de Rueda por su amistad y apoyo brindado en los inicios de este proyecto, por darme una pauta a seguir, gracias por su sonrisa.

A la Lic. Esperanza Izaguirre por ser mi luz entre tantos problemas al prestarme el laboratorio de biología, gracias por ser tan especial.

Al Ing. Rony Muñoz por haberme guiado para la elaboración de este proyecto, por ser más que un maestro. al Ing. José M. Miselem por ser como un padre y recordarme mis obligaciones, a la Ing. Judith Ordóñez y al Ing. Ulises Barahona por su amistad y cariño desinteresado y a toda la Zamoempresa de Cultivos Intensivos, por ayudarme a solucionar mis problemas.

A la Dra. María M. de Doyle por el interés mostrado en mi tesis y por todos sus consejos tan oportunos.

Al Lic. Hugo Gallo gracias por darme la oportunidad de trabajar en la biblioteca, a Doña Bertha y a Doña Cleo por ser unas buenas compañeras de trabajo y mis amigas.

A toda la comunidad Zamorana, que con su presión logra formar o reformar caracteres diferentes.

AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES

Al Fondo Dotal Suizo por haber financiado mis estudios durante los tres primeros años en Zamorano.

A la Fundación Nippon por haber financiado el cuarto año y así concluir con mis estudios.

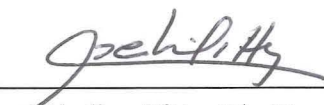
Al Instituto Ecuatoriano de Becas Estudiantiles (IECE) por haber creído en mí.

RESUMEN

Navas, Ana. 2002. Producción de semilla de champiñón (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) inoculada en cuatro medios de cultivo. Proyecto Especial de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 37p.

El champiñón es un hongo de sabor y aroma muy apetecido, posee características nutricionales que lo hacen comparable a la carne, además de propiedades terapéuticas como antibiótico y anticancerígeno natural. Los objetivos del ensayo fueron elaborar un protocolo para la producción de semilla de champiñón adaptado a las condiciones de Zamorano, Honduras. Se evaluaron cuatro medios de cultivo: Rastrojos de frijol, rastrojos de maíz, granos de sorgo, y granos de trigo. Se inocularon 40 tubos de ensayo que contenían medio PDA con semilla comercial; se dejaron una semana en la incubadora a 21° C. Se cortaron los rastrojos en trozos de 0.8 a 1 cm, luego se sumergieron en una solución de extracto de levadura por cuatro horas y se secaron bajo sombra con un ventilador. Los granos se cocieron por 15 minutos y se dejaron secar. Una vez secos los medios de cultivo se agregó 0.5% de carbonato de calcio para neutralizar el pH. Los medios se esterilizaron en frascos de 500 ml, por una hora los granos y por dos horas los rastrojos. Se introdujeron 4 g de los medios esterilizados en los tubos de ensayo que contenían el micelio en crecimiento, por quince días. Se pasó el contenido de los tubos de ensayo a los frascos de 500 ml y se incubaron a 21° C con una humedad relativa arriba de 70%. Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento. Las variables evaluadas fueron el crecimiento, la contaminación y la mortalidad del micelio en los medios. Se realizaron tres experimentos exploratorios que nos ayudaron a obtener un protocolo en el cual se prescindió del carbonato de calcio. El micelio creció en todos los medios, pero en los granos de sorgo y los rastrojos de frijol se presentó el mayor crecimiento. No es económicamente rentable producir semilla solamente para la Zamoempresa de Cultivos Intensivos. Se requeriría al menos 310 m² de producción de champiñones para justificar económicamente la producción de semilla.

Palabras clave: Carpóforo, esporocarpo, hongos comestibles, reproducción sexual.


Abelino Pitty, Ph. D.

NOTA DE PRENSA

¿ES RENTABLE LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE CHAMPIÑÓN?

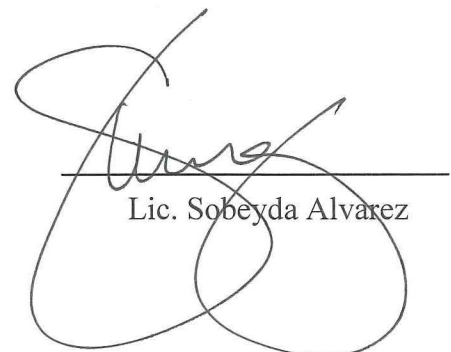
El champiñón es un producto no tradicional con una gran aceptación a escala mundial. En Honduras está iniciando su introducción en el mercado local. El insumo más importante en la producción de champiñones es la semilla, por lo que muchos productores invierten grandes cantidades de dinero para producirla.

¿Pero qué tan rentable es para un productor producir su propia semilla? En Zamorano, se realizó un experimento en el cual se evaluaron varios medios para producir semilla de champiñones. Los medios evaluados fueron de dos tipos (rastrosos y granos) y teniendo en cuenta la disponibilidad de los medios, se optó por probar rastrosos de frijol, rastrosos de maíz, y granos de sorgo. Se probó también grano de trigo importado.

Se elaboró un protocolo de acuerdo a las condiciones de Zamorano, con prácticas asépticas y un buen control en la incubación. Al final se logró la producción de semilla en todos los medios evaluados. Sin embargo el desarrollo del micelio del champiñón no fue igual en todos los casos, sobresaliendo los rastrosos de frijol y los granos de sorgo, como mejor medio de crecimiento..

Un análisis económico, comparando los costos de los cuatro medios utilizados, mostró que el medio más rentable para la producción de semilla de champiñón fueron los granos de sorgo. Sin embargo, el costo de producir semilla localmente en granos de sorgo es mucho más caro que importarla, pues costaría US\$ 66.83, comparándolo con los US\$ 7.90 que cuesta la semilla importada desde Estados Unidos.

Se concluyó que no es económicamente rentable producir semilla para un productor que tenga menos de 40 m² de producción de champiñones. Al contrario, para un productor que tenga más de 300 m², si es rentable producir su semilla localmente.



Lic. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Resumen.....	vii
	Nota de prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Índice de Cuadros.....	xi
	Índice de Figuras.....	xii
	Índice de Anexos.....	xiii
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	OBJETIVOS.....	2
1.1.1	Objetivo General.....	2
1.1.2	Específicos.....	2
2.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	DESARROLLO DEL CULTIVO DEL CHAMPIÑÓN.....	3
2.2	MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE INÓCULO PARA LA SEMILLA DE CHAMPIÑÓN.....	4
2.2.1	Reproducción sexual.....	5
2.2.2	Reproducción asexual.....	6
2.3	MEDIOS PARA MANTENER EL INÓCULO.....	7
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1	UBICACIÓN.....	9
3.2	OBTENCIÓN DE SEMILLA DE CHAMPIÑÓN.....	9
3.2.1	Inoculación del micelio en tubos de ensayo con medio PDA....	9
3.2.1.1	Preparación de granos de trigo y sorgo.....	10
3.2.1.2	Preparación de rastrojos de maíz y frijol.....	10
3.2.2	Inoculación en los tubos con micelio con los medios evaluados.....	10
3.2.3	Inoculación en frascos de 500 ml con los diferentes medios evaluados.....	11
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	13

3.3.1	Variables evaluadas.....	13
3.3.1.1	Contaminación.....	13
3.3.1.2	Mortalidad.....	14
3.3.1.3	Porcentaje de crecimiento del micelio.....	14
3.4	ANÁLISIS ECONÓMICO.....	15
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
4.1	EXPERIMENTOS.....	16
4.1.1	Inoculación de semilla de champiñón.....	16
4.1.2	Inoculación de semilla de champiñón en un ambiente más estéril.....	16
4.1.3	Inoculación de semilla de champiñón controlando totalmente la contaminación.....	17
4.1.4	Inoculación de semilla de champiñones sin carbonato de calcio y con contaminación, temperatura y humedad controlados.....	18
4.2	ANÁLISIS ECONÓMICO.....	20
5.	CONCLUSIONES.....	22
6.	RECOMENDACIONES.....	23
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag.
1.	Análisis de materiales básicos usados en la preparación de sustratos (Staments, P y Chilton, J. S. 1995).....	8
2.	Medios evaluados para el crecimiento del micelio del champiñón. Zamorano, Honduras, 2002.....	13
3.	Crecimiento del micelio del champiñón en los tubos de ensayo con los diferentes medios evaluados. Zamorano, Honduras, 2002....	18
4.	Análisis de varianza entre los tratamientos del experimento. Prueba Tukey. Zamorano, Honduras, 2002.....	19
5.	Resumen de los costos diferenciales entre los tratamientos evaluados. Zamorano, Honduras, 2002.....	20
6.	Costos totales por kilogramo de semilla de champiñón en los diferentes tratamientos relacionándolos con la semilla importada. Zamorano, Honduras, 2002.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pag.
1.	Champiñones en diferentes estados de desarrollo. (Vedder 1996).....	5
2.	Ciclo reproductivo del micelio del champiñón. (Staments, P. y Chilton, J. S. 1995).....	6
3.	Procedimiento para la reproducción asexual del champiñón. (Staments, P. y Chilton, J. S. 1995).....	6
4.	Proceso para la obtención del micelio del champiñón. (Staments, P. y Chilton, J. S. 1995).....	12
5.	Patrón y ejemplo utilizados para la estimación del desarrollo del micelio en los tubos de ensayo, con diferentes medios. Zamorano, Honduras, 2002.....	14
6.	Patrón y ejemplo utilizados para la estimación del desarrollo del micelio en los frascos de 500 ml, con diferentes medios. Zamorano, Honduras, 2002.....	15

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Pag.
1.	Análisis del laboratorio de suelos de los medios.....	25
2.	Protocolo desarrollado para la producción de champiñones.....	26
3.	Detalle de los costos diferenciales en cada uno de los tratamientos.....	28
4.1	Análisis económico para la producción de semilla de champiñones en rastrojos de frijol o en rastrojos de maíz.....	29
4.2	Análisis económico para la producción de semilla de champiñones en granos de sorgo.....	31
4.3	Análisis económico para la producción de semilla de champiñones en granos de trigo.....	33
5.	Análisis de rentabilidad.....	35

1. INTRODUCCIÓN

Los champiñones se cultivaron por primera vez en Francia, durante la segunda mitad del siglo séptimo. Los métodos utilizados fueron rudimentarios y poco efectivos, ocurriendo su producción en cuevas y sótanos; a pesar de esto fue un importante avance en el desarrollo del cultivo. Mucho tiempo ha transcurrido para que el cultivo de champiñones adquiriera la importancia económica con la que goza hoy dentro de los productos no tradicionales.

El champiñón es un hongo de sabor y aroma muy apetecido, posee características nutricionales que lo hacen comparable a la carne, además de propiedades terapéuticas como antibiótico y anticancerígeno natural. Todo lo anterior hace que se ubique como uno de los mejores alimentos orgánicos (Sinibaldi, 1996).

Actualmente la Zamoempresa de Cultivos Intensivos (ZECI) en Zamorano cuenta con una cámara de cultivo de 43 m² que ha permitido conocer más sobre el champiñón. Una de las limitantes para la producción de champiñones ha sido la disponibilidad oportuna de semilla. La ZECI utiliza semilla de champiñones importada, comprada a la empresa Sylvan con sede en Estados Unidos¹.

Dificultades en transporte, condiciones ambientales y logística en la importación de la semilla, ha provocado que en varias ocasiones se tenga que posponer un ciclo de producción e incluso desechar todos los materiales en proceso; ésta y otras circunstancias son suficientes para pensar en desarrollar técnicas y protocolos efectivos para contar con una semilla de buena calidad y a tiempo.

Muchas empresas e instituciones se encuentran desarrollando técnicas para hacer del cultivo del champiñón una actividad cada día más rentable y productiva, ocasionando una competencia desequilibrada entre las grandes empresas que pueden desarrollar tecnologías y las empresas pequeñas que se limitan a adquirir las técnicas desarrolladas, las cuales muchas veces no son brindadas en su totalidad.

¹ Comunicación oral Ing. Rony Muñoz, 2001

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Elaborar un protocolo para la producción de semilla de champiñón *Agaricus bisporus* que pueda ser aplicado bajo las condiciones de Zamorano.

1.1.2 Objetivos específicos

Evaluar en el laboratorio, cuál es el mejor medio de crecimiento para el micelio de *A. bisporus*, considerando los rastrojos de maíz y frijol y los granos de trigo y sorgo.

Realizar un análisis económico para determinar el medio de crecimiento más rentable para la semilla.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 DESARROLLO DEL CULTIVO DEL CHAMPIÑÓN

Los hongos han despertado el interés de muchos científicos y pensadores desde tiempos inmemoriales, ya sea por la variedad de colores como por sus cualidades que van desde venenosas hasta culinarias.

Los hongos comestibles han sido considerados un plato selecto desde la más remota antigüedad, pues se tiene reportes de que Cicerón, Juvenal y Plinio gustaban de diferentes platos como el hongo de los Césares (*Amanita caesarea*), además de variedades como los *Suillus*, trufas, *Pholiota* y champiñón por considerarlos exquisitos. Después estos platos fueron agregados al menú de la nobleza y el clero. Los primeros pueblos que cultivaron los hongos fueron posiblemente los chinos y japoneses. La primera mención sobre el cultivo de hongos en China se registra por el año 300 a.c. (Gea y Tello, 1997).

Según los mismos autores los primeros cultivos del “Champiñón de París” (*Agaricus bisporus*) se llevaron a cabo a mediados del siglo XVII sobre compost elaborado a partir de residuos de la cosecha de melonares, y hacia 1670 el agrónomo francés La Quintinie, lo cultivaba en mantos de paja y heno en los jardines del rey Luis XVI.

Por el año 1707 el cultivo del champiñón tuvo un buen desarrollo. Es así como el francés Pittón de Tournefort escribió una completa descripción de los métodos de cultivo, donde afirmaba que el champiñón cultivado provenía del caballo pues las esporas se encontraban de forma natural en este estiércol (Rettew, 1948). En 1780 un jardinero francés se dio cuenta de que las condiciones que prestaban las cuevas eran las adecuadas para el crecimiento de los hongos y desde ese entonces los agricultores empezaron a producir hongos en antiguos yacimientos de yeso o canteras de piedra abandonadas (Gea y Tello, 1997).

La semilla se obtenía de los prados en donde pastaban los caballos, en los alrededores de París, éste era colocado en camas de abono en las cuevas. Esta semilla era llamada “flake spawn” en Francia y “brick spawn” en Inglaterra, este último era obtenido de la mezcla de abono de caballo, vacas y marga triturada mezclada con agua. La marga es un tipo de roca compuesta principalmente por carbonato de calcio y arcilla,. Pero la utilización de la misma causó el ingreso a las cuevas de enfermedades e insectos, lo que provocaba que después de cosechar los hongos sean abandonadas las cuevas por dos años. Alrededor de 1890 J. Constantin desarrolló un método para germinar esporas de hongos, realizando así un “cultivo puro de semilla”, ésta es considerada la primera vez que las esporas de hongos fueron germinadas (Rettew, 1948).

Existen otros reportes en Inglaterra correspondientes al mismo período. Según Rettew (1948), el cultivo de Francia y el de Inglaterra eran diferentes, pues en la primera se continuaba cultivando en cuevas, mientras que en Inglaterra se empezó a cultivar en invernaderos, entre los vegetales y las cosechas de las flores.

Según Gea y Tello (1997) los primeros datos sobre la introducción del cultivo del champiñón, en condiciones controladas a Estados Unidos, lo sitúan hacia 1880 en Nueva York y en "Long Island". Luego se empezó a producir en el estado de Pensilvania especialmente donde se concentra actualmente el 40% de la producción total de esta nación, que es a su vez el primer productor mundial.

Aproximadamente en el año de 1910 se empezó a utilizar en Estados Unidos un tipo de local o casa de cultivo llamada "Standard Mushroom House", construida en gran parte de madera y aisladas de techo y paredes. La calefacción se obtenía con tubos situados a lo largo de las paredes y la ventilación por agujeros en el techo (Vedder, 1996).

Una de las contribuciones que estimuló la producción de champiñones, fue el desarrollo de técnicas para la germinación de esporas de champiñón cultivado, realizando así un "cultivo puro". Estuvo a cargo de los franceses: Constantin y Matruchot. Este cultivo fue producido de la selección de champiñones con cualidades deseables, colocando las esporas en condiciones estériles, haciendo que éstas germinen e inoculándolas en una botella que contenía compost esterilizado (Gea y Tello, 1997).

Desde entonces se han realizado muchas investigaciones sobre el proceso de producción de champiñones, las cuales han dado aportes muy valiosos para esta producción. Según Gea y Tello (1997) en 1932 Sinden patentó la semilla crecida en grano, y dedicó su atención a la producción de nuevas variedades. Diversos investigadores como Kligman y Sarazin. Tuvieron problemas con los factores de incompatibilidad en *Agaricus bisporus*, hasta que en 1971 el americano Robert Millar desarrolló un método para la hibridación de *A. bisporus*, basado en el aislamiento de esporas de basidios tetraesporados. Este hecho fue el inicio del moderno trabajo de mejoramiento de variedades.

2.2 MÉTODOS PARA LA OBTENCIÓN DE INÓCULO PARA LA SEMILLA DE CHAMPIÑÓN

El término "semilla" es un poco variable en los champiñones, pues se refiere a hifas fúngicas crecidas sobre matrices orgánicas (granos de centeno, trigo y mijo preferentemente), que funciona a modo de soporte nutritivo. Además, permiten estas matrices orgánicas una difusión fraccionada del hongo en la masa de compost (Gea y Tello, 1997).

Contrario a la creencia popular, la producción de "semilla" de hongos no es un gran secreto y se basa en un conocimiento cuidadoso y aplicado de la Micología (Rettew, 1948). Según este mismo autor es un proceso especializado y técnico, que se debe

producir bajo supervisión directa de técnicos entrenados. Es necesario trabajar en un laboratorio correctamente diseñado para producir un micelio vigoroso y uniforme.

Según Vedder (1996) partiendo de tejidos de sombrero o de pie, o también de una masa de esporas, se obtiene un cultivo puro de micelio de champiñón. Se aclara que “cultivo puro” es un cultivo que ciertas técnicas permiten obtener y proteger totalmente contra organismos extraños, de forma que el champiñón es el único que se encuentra en él.

El hongo está formado principalmente por talo y carpóforo. El talo es el pie del champiñón, mientras que el carpóforo también se lo conoce como sombrero. En el carpóforo encontramos al esporocarpio, el que contiene las laminillas en donde están las esporas. (Figura 1).

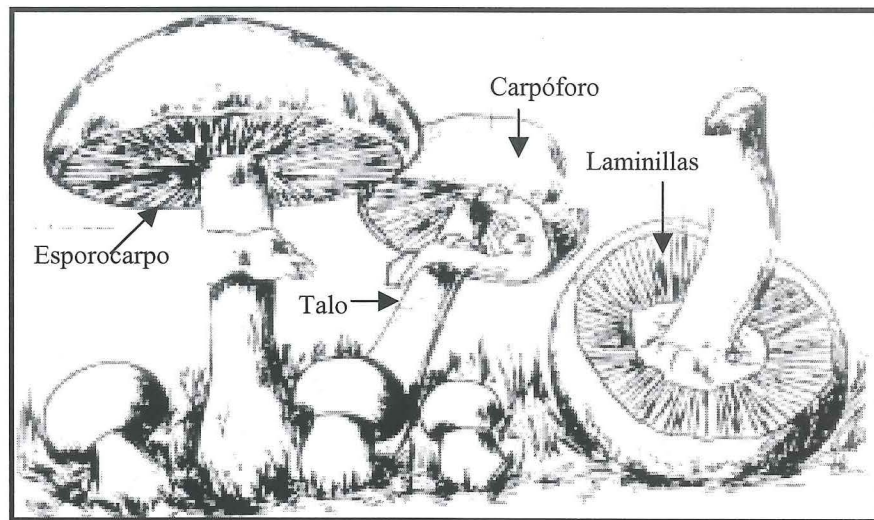


Figura 1. Champiñones en diferentes estados de desarrollo.
Fuente: Vedder, J.C. 1996. Cultivo Moderno del champiñón.

Además según Guairacaja (1999) el aislamiento del micelio puede también realizarse partiendo de esporas, micelio comercial y por fragmentación del esporocarpio; es decir por reproducción sexual y asexual.

2.2.1 Reproducción sexual

Según Guairacaja (1999) las esporas se originan de un proceso sexual, por esto el micelio obtenido está sujeto a gran variabilidad. Además, explica que para obtener éstas esporas, el hongo se cosecha antes de que abra su velo para evitar contaminación. El esporocarpio superficial debe ser esterilizado con alguna sustancia desinfectante, esta puede ser bicloruro de mercurio, posteriormente se rompe el velo con una aguja esterilizada y se suspende de un alambre en el interior de un envase igualmente esterilizado permitiendo así que las esporas caigan sobre un papel o vidrio, para luego ser recogidas e inoculadas en un medio nutritivo (Figura 2).

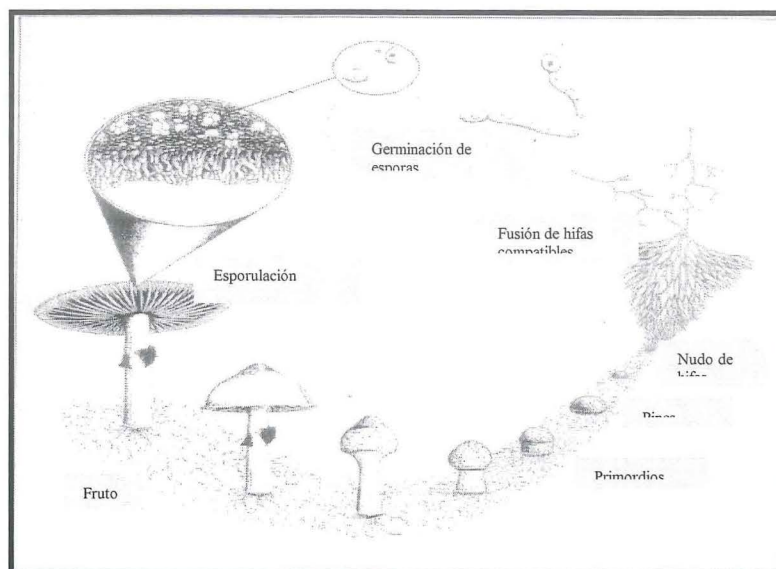


Figura 2. Ciclo reproductivo del micelio del champiñón.

Fuente: Staments, P. y Chilton, J. S. 1995. The Mushroom Cultivator.

2.2.2 Reproducción asexual

La reproducción asexual es muy utilizada en agricultura, especialmente en la propagación de algunos frutales y ornamentales. Según Guairacaja (1999) éste es un procedimiento de alta versatilidad inmejorable para la obtención del inóculo de champiñón. Para esto se elige un champiñón joven e íntegro, el cual posea el sombrero con las laminillas aún recubiertas por el velo. Con un bisturí estéril se incide longitudinalmente cortando en dos partes al esporocarpio. Luego se toma un fragmento interior del mismo, en la unión entre el sombrero y el pie, para luego colocarlo sobre el cultivo agar – agar y permitir el crecimiento del micelio (Figura 3).

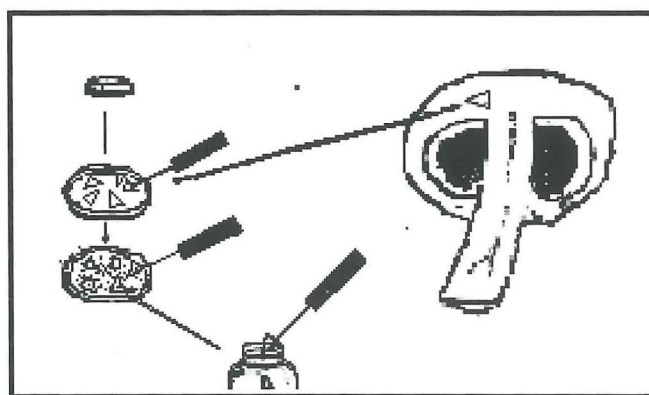


Figura 3. Procedimiento para la reproducción asexual del champiñón.

Fuente: Staments, P. y Chilton, J. S. 1995. The Mushroom Cultivator.

Según Griensven (1988) el micelio escogido para la producción de semilla debe ser de primera calidad y saludable, esto es sin dar signos de degeneración. Existe el “cultivo madre” que es el material de inicio y su calidad es probada con los frutos que produce. Un indicativo de degeneración es la poca o nula presencia del “velo” así mismo como su dureza. Griensven (1988), escribe sobre cultivos en donde se ha propagado la semilla por más de 20 años por la división del micelio, teniendo solamente alguna declinación en el rendimiento, siendo la mayoría constante. El mismo autor señala además, que si se cruza un padre con alta producción de cuerpos de mala calidad con una madre que tenga una producción baja pero con cuerpos de buena calidad, entonces sus hijos pueden ser de dos tipos de alta producción: Uno con alta y otro con baja calidad.

Adicional a lo reportado anteriormente, el método para obtener un cultivo puro de champiñones es generalmente sobre un medio nutritivo compuesto de extracto de estiércol o malta solidificada con gelosa (agar-agar), pero podría ser también líquido.

En uno de los métodos mencionados por Sinibaldi (1997) se utiliza de 2 a 3 granos de trigo invadidos por el micelio del hongo, los cuales son depositados en platos petri que contenían diferentes medios de crecimiento. Entre estos podemos mencionar, extracto de malta agar, extracto de papa y dextrosa, los dos en diferentes proporciones. Los granos usados aquí proceden de semilla comercial.

2.3 MEDIOS PARA MANTENER EL INÓCULO

Después de que se obtiene el micelio y que éste se encuentre en pleno crecimiento, se procede a inocularlo en algún material vegetal que contenga fibra, que podría ser algún carióspside, restos de cultivos o estiércol de caballo lavado, desechos industriales de tabaco, etc.

Según Ugarte *et al.* (1992) se conocen diversos medios de cultivo para el desarrollo del champiñón a partir de una célula, como así lo muestran varias patentes registradas en diferentes países. Es así como la Ex-URSS utilizó semillas de gramíneas, yeso, tiza, agua y de 35.7 – 47.1% de cerámica; otras patentes del mismo país utilizan sustancias que contienen celulosa, desechos de mataderos, medios con salvado de trigo, tiza, cascarilla de girasol y harina de soya. Alemania utiliza paja de trigo, así como también desechos que contienen celulosa de la industria y de los bosques, tales como madera, cartón, papel, celofán. Todos estos materiales requieren tratamientos diferentes para uniformizar la textura. Bulgaria utiliza hidratos de carbono enriquecidos con fósforo y nitrógeno.

El método más usado en el mundo y mencionado por Gea y Tello (1997), Vedder (1996), Ugarte *et al.* (1992) es el que utiliza los granos de trigo como medio de cultivo. Para ello se tamizan y limpian dichos granos y se cocen ligeramente en abundante agua para que la cáscara se ablande, luego se secan al sol hasta que no quede humedad entre ellos. Se distribuyen los granos en frascos individuales adicionando carbonato de calcio y solución de malta, luego se esteriliza a 121°C y con una presión de 5 psi durante 70 minutos y antes de inocular con el micelio se deja enfriar por lo menos 24 horas.

Según Van Griensven (1988) en la Estación Experimental del Champiñón en Horst, Países Bajos, se utiliza el sorgo como sustrato. Èste es preparado de la siguiente manera: Se hierven 15 kg de sorgo en 20 litros de agua aproximadamente durante 15-20 minutos. El grano debe tener su centro blando, algo suave, pero no debe desintegrarse. Si no se ha hervido lo suficiente los granos estarán secos y el micelio no crecerá bien. Además, se debe tener cuidado de no quemarlos pues se pegarán el uno al otro, causando dificultades al almacenar en las botellas al momento de sacudir e inocular y esto promueve el crecimiento de un micelio mullido indeseable. Después de hervir, se deja enfriar por unos minutos y luego se decanta sobre un tamiz para permitir que el exceso de agua se elimine. Se le añade 360 g de yeso y 103 g de piedra caliza. El yeso evita que los granos se peguen unos a otros, mientras que la caliza ejerce como un regulador de pH. Se coloca el sorgo en botellas de vidrio para proceder a su esterilización. El contenido de agua debe estar aproximadamente en 53%, con un pH de 6.8; pero después de la esterilización el contenido de agua estará en 51%, 6.2 de pH. El sorgo, según el autor, no es conveniente para trabajar a gran escala, pues las botellas deben ser sacudidas inmediatamente después de la esterilización para prevenir que el grano se pegue (Cuadro 1).

Cuadro 1. Análisis de materiales básicos usados en la preparación de sustratos.

Material	Total de materia seca	Proteína	Grasas	Fibra	Extractos libres	Minerales totales	Calcio	Fósforo	Nitrógeno	Potasio
Paja de frijol, muy seca	89.1	6.1	1.4	40.1	34.1	7.4	1.67	0.13	0.98	1.02
Paja de maíz, muy seca	91.1	7.8	2.2	27.1	47.6	6.4	0.24	0.16	1.25	0.82
Granos de sorgo	89.1	9.5	3.3	2.0	72.8	1.6	0.02	0.28	1.52	0.37
Granos de trigo	90.1	16.9	4.6	9.6	52.6	6.1	0.14	1.29	2.70	1.23

Fuente: Staments, P. y Chilton, J.S. 1995. The Mushroom Cultivator.

Ugarte *et al.* (1992) después de señalar que los cereales utilizados en la producción de semilla de champiñón son materia prima fundamental para la elaboración de otros alimentos básicos para el consumo humano, realiza una interesante propuesta para utilizar los desechos industriales de tabaco en el inóculo del champiñón. Para esto se realizaron varias investigaciones las cuales demostraron que se puede preparar un medio de cultivo con tallos secos de la planta de tabaco y restos del procesamiento de la hoja después del despadillo. Para esto se fraccionan los rastrojos de las hojas y tallos de tabaco en porciones de 0.8 – 1.0 cm se lavan con agua corriente y se dejan secar. Se humedecen con una solución de malta que contiene de 1 – 15% de sólidos solubles y se dejan en reposo por 4 horas en esas condiciones. Al final de este período se decanta y separan en porciones de 80 a 300 g, se adicionan de 0.5 – 4.0 g de carbonato de calcio y de 2-8 g de peptonas. Esas porciones se colocan en frascos de vidrio de boca estrecha de 1000 ml de capacidad y se esterilizan a 121°C durante 1.5 – 3.0 horas. Se dejan en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente y luego se atemperan entre 16 – 24 ° C durante 24 horas. Después de esto el medio está listo para la inoculación del micelio.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El estudio se ubicó en los laboratorios de Fitopatología y Biología de Zamorano la cual se encuentra en el Valle del Río Yeguaré, a 31 kilómetros al este de Tegucigalpa, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. Geográficamente está ubicada a 14° latitud norte y 87° latitud oeste y a una altura de 800 metros sobre el nivel de mar con una precipitación media anual de 1100 mm y temperatura promedio de 26.5°C.

3.2 OBTENCIÓN DE SEMILLA DE CHAMPIÑÓN

Por existir varios protocolos con los cuales se puede obtener semilla comercial de champiñones se tuvo que decidir entre ellos. Los dos factores que determinaron la decisión fueron: La facilidad de instalaciones y la disponibilidad de materia prima, pero este último fue un poco menos exigente, porque se obtuvo un material que no pertenecía a la zona donde se llevo a cabo el estudio. Se decidió usar granos de trigo, sorgo y tallos secos provenientes de rastrojos de frijol y maíz, que son cultivos que contienen lignina, celulosa y hemicelulosa, necesarios para el desarrollo del micelio.

En este experimento se evaluaron dos tipos de medios: Rastrojos y granos. En los rastrojos se incluyó al maíz y al frijol por considerarlos de fácil accesibilidad y bajo costo. En cuanto a los granos se escogió sorgo y trigo, el primero por su disponibilidad y el segundo por ser un medio sugerido por la literatura, pero por ser importado su costo era mayor (Gea y Tello, 1997), (Vedder, 1996), (Ugarte *et al.*, 1992).

El procedimiento realizado fue dividido en tres pasos, cada uno con características bien definidas, que se detallan a continuación:

3.2.1 Inoculación del micelio en tubos de ensayo con medio PDA

El experimento se comenzó preparando convencionalmente un medio de cultivo artificial con agar de papa y dextrosa (PDA) que fue colocado en tubos de ensayo. Los tubos se esterilizaron en un autoclave por 20 minutos a 121° C y luego se inclinaron (para tener

mayor área de inoculación) hasta que gelidificaron; después se taparon con papel aluminio y se sellaron con parafina, y se guardaron a 4°C.

Se colocaron en cada tubo de ensayo de 3 a 4 granos de semilla comercial de champiñón*. Se utilizaron métodos ascépticos conocidos para reducir la contaminación al momento de inocular el micelio, utilizando una cámara de flujo laminar. Los tubos se mantuvieron a una temperatura promedio de 25°C y un ambiente con una humedad alta por una semana. Estos factores fueron controlados al meter los tubos en una incubadora.

Por la distinta naturaleza de los medios en los que se propagó la semilla se utilizaron dos protocolos diferentes para cada tipo: Uno para inoculación en granos y otro para la inoculación en rastrojos.

3.2.1.1 Preparación de granos de trigo y sorgo

Se hirvieron 100 g de trigo y 100 g de sorgo en 200 ml de agua durante 15 minutos a fuego muy lento revolviendo constantemente y evitando que el grano reviente. Terminada la cocción se escurrió el agua, se dejaron secar los granos y se agregó luego carbonato de calcio para regular el pH de los medios. Luego los granos se colocaron en frascos de vidrio de boca angosta (500 ml de capacidad). Posteriormente se esterilizaron por 70 minutos a 121° C y una presión de 5 psi, se sellaron y dejaron enfriar a temperatura ambiente 24 horas antes de la inoculación.

3.2.1.2 Preparación de rastrojos de maíz y frijol

Se fraccionaron los rastrojos en porciones de 0.8 a 1.0 cm y se lavaron con agua corriente. Se preparó una solución de extracto de levadura (que sustituyó al extracto de malta) que tenía 5.0 % de sólidos solubles, esta solución es la encargada de equilibrar las necesidades nutricionales del micelio, pues queremos una micelio fuerte para que pueda invadir fácilmente los medios de cultivo. Se remojaron los trozos en esta solución y se dejaron reposar cuatro horas. Después de este período se escurrieron y se dejaron secar al ambiente. Se adicionó 0.5% de carbonato de calcio, con el mismo fin que en el procedimiento A. Posteriormente se colocaron en frascos de vidrio con boca angosta de 500 ml de capacidad y se esterilizaron a 121° C durante dos horas; para luego sellarlos y dejarlos enfriar a temperatura ambiente durante 24 horas.

3.2.2 Inoculación en los tubos con micelio con los medios evaluados

Se utilizaron los procedimientos descritos arriba para esterilizar la cantidad necesaria para llenar los tres cuartos de los tubos de ensayo con el micelio en crecimiento. Se esterilizó solo cuatro frascos de 500 ml, cada uno con 40 g de rastrojos de frijol, rastrojos de maíz,

* Semilla importada de Estados Unidos de la empresa Sylvan

granos de trigo y granos de sorgo. La esterilización En cada tubo de ensayo, con micelio en crecimiento, se pasó, del frasco esterilizado, alrededor de 4 g de cada uno de los medios antes detallados, cuidando siempre de mantener asepsia y no exponerlos mucho al ambiente. Se taparon y sellaron los tubos, guardándolos en condiciones similares a las que estaban (incubadora) hasta que los granos / rastrojos se presentaron totalmente invadidos por el micelio.

3.2.3 Inoculación en frascos de 500 ml con los diferentes medios evaluados

Una vez que el micelio invadió a los medios de propagación se comprobó su pureza y se procedió a inocularlo en los frascos que tenían el resto de los medios esterilizados, trasladando el medio con micelio, a los frascos de vidrio que contenían el resto de los granos / rastrojos.

Se incubaron los frascos inoculados con micelio a 22°C regulando constantemente la humedad relativa, por el tiempo necesario hasta que el micelio invadiera todo el contenido del frasco, posteriormente los frascos se refrigeraron a 4° C. El tiempo de incubación dependió de la agresividad del micelio para invadir el medio (Figura 4).

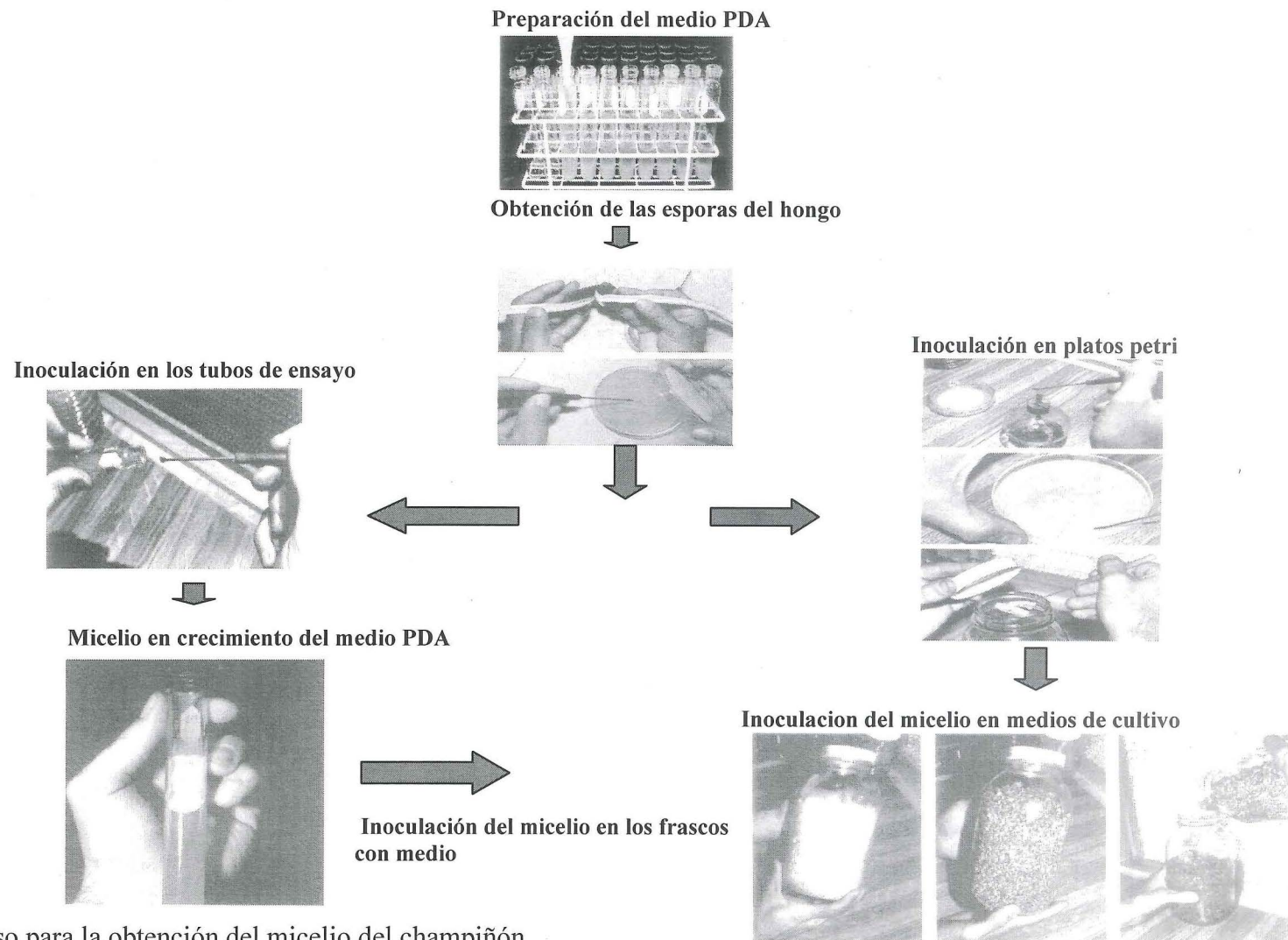


Figura 4. Proceso para la obtención del micelio del champiñón
 Fuente: Staments, P. Y Chilton, J. S. 1995. The Mushroom Cultivator.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los tratamientos evaluados, fueron de dos diferentes naturalezas, rastrojos y granos. En los rastrojos se evaluó al frijol y maíz, mientras que en los granos se evaluó al sorgo y el trigo.

Se utilizó un diseño completamente al azar, teniendo cuatro tratamientos y diez repeticiones, obteniendo en el experimento dos mediciones, correspondientes al crecimiento del micelio en: Tubos de ensayo (1) y en frascos de 500 ml (2).

Cuadro 2. Medios evaluados para el crecimiento del micelio del champiñón. Zamorano, Honduras, 2002.

Trt	Medios de cultivo		Repeticiones
	Tipo de material	Cultivo	
1	Rastrojos	Frijol	10
2		Maíz	10
3	Granos	Sorgo	10
4		Trigo	10

3.3.1 Variables evaluadas

Las variables a medir fueron tres: contaminación en los medios, porcentaje de crecimiento y mortalidad del micelio. Todos los datos fueron tomados por una sola persona para evitar variabilidad.

3.3.1.1 Contaminación

La contaminación en todo el proceso es dependiente de varios factores, principalmente del ambiente en el cual se encuentren la semilla comercial que servirá de inóculo y las condiciones en las cuales se ha inoculado. La contaminación, además es un factor muy importante pues si la semilla posee un pequeño porcentaje de contaminación podría desencadenar una serie de problemas en el proceso de producción del champiñón. En el presente experimento se evaluó la contaminación mediante la observación de los tubos y frascos en el proceso. Se conoce que el micelio de champiñón es totalmente blanco, por lo que cualquier coloración diferente a ésta se tomó como contaminación. Pues hongos de diferentes especies tienen varias coloraciones como son verde, negro, entre otros. Las exudaciones del micelio son mucho menor que las bacterias por lo que dan una apariencia de sequedad, aunque se sabe que contiene un buen porcentaje de agua. Además, la contaminación no solo se puede dar por hongos sino también por bacterias, en este caso se identificarán por las características que presentan las bacterias, como son acuosidad y coloración.

3.3.1.2 Mortalidad

Este factor depende directamente de las condiciones en que la semilla comercial se encuentre, porque el micelio del champiñón es muy susceptible a cambios bruscos de temperatura. Para el experimento se obtuvo semilla con varias condiciones, la primera era una semilla fresca, que no tenía mucho tiempo de haber sido importada; mientras que la segunda era una semilla que tenía tres a cuatro meses de haber sido importada. Una tercera semilla era fresca pero había sido sometida a estrés de temperaturas, pues los problemas de importación provocó que esté dos días sin refrigeración. En el experimento se determinó la muerte del micelio cuando éste tomaba coloraciones amarillentas y acuosas, además por la falta de crecimiento.

3.3.1.3 Porcentaje de crecimiento del micelio

El crecimiento del micelio se evaluó de la siguiente manera:

- Se evaluaron los tubos de ensayo con el micelio, en el PDA correspondiente al 25% del área total del tubo.
- Luego se llenaron los tubos con los diferentes medios, que corresponden al 75% restante del área.
- Se utilizó como patrón para estimar el crecimiento, un tubo dividido en 10 partes iguales.
- Los tubos con crecimiento de micelio fueron comparados con el patrón, para estimar el desarrollo del micelio (en %), (Figura 5).



Figura 5. Patrón y ejemplo utilizados para la estimación del desarrollo del micelio en los tubos de ensayo, con diferentes medios. Zamorano, Honduras, 2002.

Para la evaluación del crecimiento de micelio en los frascos de 500 ml, se utilizó la misma técnica, pero sin PDA, teniendo el 100% del frasco con los medios. Este patrón resultó más fácil para la evaluación, ya que el mayor tamaño de los frascos en relación con los tubos, permitió observar mejor el crecimiento del micelio (Figura 6).

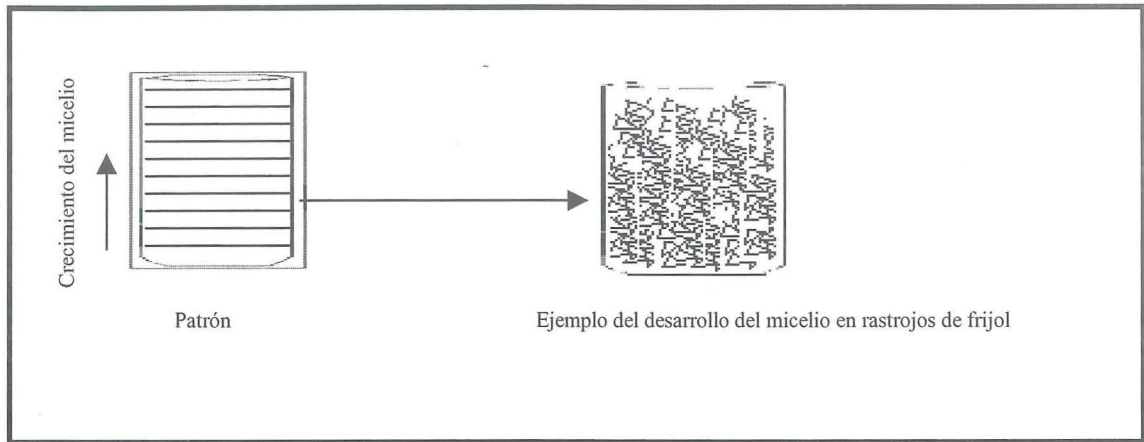


Figura 6. Patrón y ejemplo utilizados para la estimación del desarrollo del micelio en los frascos de 500 ml, con diferentes medios. Zamorano, Honduras, 2002.

3.4 ANÁLISIS ECONÓMICO

En este experimento nos interesó conocer qué costaría producir un kilo de semilla en la ZECI con cada uno de los tratamientos evaluados. Para esto se tomaron los costos fijos de un laboratorio, más los costos variables en que se incurriría en cada uno de los tratamientos. Además, de la depreciación de los equipos y demás materiales que se utilizan en un laboratorio es muy importante al momento de calcular los costos. La producción meta no se puede calcular pues no se conoce cuál sería la demanda de la semilla en la región, por esto solo se tomó como referencia la cantidad requerida por la ZECI en una año que son 148 kg.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EXPERIMENTOS

Se realizaron tres experimentos exploratorios que permitieron llegar a establecer un protocolo adaptado a las condiciones de la ZECl.

4.1.1 Inoculación de semilla de champiñón

Se inició con el protocolo elegido, se inocularon 40 tubos de ensayo para obtener diez repeticiones por tratamiento, esta se llevó a cabo en la cámara de flujo laminar ubicada en el laboratorio de Control Biológico de Zamorano. Tres días después se evaluaron los tubos encontrándose en su totalidad contaminados. Se estableció como causa de contaminación el ambiente poco estéril del laboratorio, pues este es utilizado para cultivar larvas de *Spodoptera spp*, así como también hongos muy agresivos como *Trichoderma spp*, *Verticillium*, y *Beauveriana bassiana*, los que representan problemas en el cultivo comercial del champiñón. Además, el utilizar mecheros de alcohol afectó la cantidad de calor que se necesita para esterilizar los instrumentos usados. Por estas razones el experimento fue trasladado al laboratorio de Biología, donde existen mecheros de gas que brindan mayor calor creando un ambiente menos contaminado. Por consecuente no se obtuvieron datos que puedan ser analizados, solamente nos brindó información para alcanzar uno de nuestros objetivos.

4.1.2 Inoculación de semilla de champiñón en un ambiente más estéril

Se estableció un segundo experimento en donde se inocularon 60 tubos de ensayo con medio PDA. Se decidió hacer esta cantidad de tubos tomando en cuenta el porcentaje de contaminación que hubo en el primer experimento, y así tener diez repeticiones para cada tratamiento. Se prescindió de la cámara de flujo laminar, utilizando mecheros de gas, alcohol al 75%, mascarilla y guantes en una mesa forrada con formica. Después de la inoculación en PDA, en este segundo experimento se obtuvieron 40 tubos que pudieron ser utilizados para el segundo paso en donde se inoculó con los tratamientos evaluados que consisten en: Rastrojos de frijol, rastrojos de maíz, granos de sorgo y granos de trigo. Los tubos se incubaron por una semana con una temperatura de 21° C y una humedad relativa alta, cada tratamiento fue elaborado con los procedimientos descritos anteriormente.

puede fácilmente crecer el micelio. Al igual que en los anteriores experimentos se controló al máximo la contaminación, utilizando guantes, mascarilla, mecheros de gas y alcohol al 75%. Además, los frascos se dejaron en la incubadora para mantener un ambiente controlado, teniendo las mismas temperaturas que en el anterior experimento.

Después de 15 días de realizada la inoculación en los frascos de 500 ml, se tomaron los porcentajes de crecimiento en cada tratamiento. Estos datos fueron analizados estadísticamente realizando un análisis de varianza para la variable crecimiento y la prueba Tukey al 95% de confianza. Esto nos dio como resultado una diferencia entre los tratamientos.

Los rastrojos de frijol son diferentes significativamente a los rastrojos de maíz e iguales a los granos de sorgo y trigo. Por su parte los rastrojos de maíz son significativamente diferentes a los granos de sorgo, pero iguales a los granos de trigo. Mientras que los granos de sorgo y los granos de trigo son iguales (Cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de varianza entre los tratamientos del experimento. Zamorano, Honduras, 2002.

Tratamientos		Crecimiento (%)	
Rastrojos	Frijol	24.5	*a
	Maíz	14.5	b
Granos	Sorgo	25.0	a
	Trigo	21.0	a b

Media = 21.154

CV = 41.51%

Desviación estándar = 8.993

* Letras iguales no son significativamente diferentes

El menor crecimiento en los rastrojos de maíz se cree que se debió a la presencia de sustancias no aptas para el crecimiento del micelio, como presencia de ácidos. Lamentablemente el análisis bromatológico del maíz utilizado no se pudo hacer porque no se contaba con los recursos suficientes.

Los otros experimentos no pueden ser analizados estadísticamente y ser tomados en cuenta en este experimento, porque son experimentos que llevan a determinar el protocolo que es uno de los objetivos de este trabajo. El desempeño de los tratamientos no puede ser evaluado porque existieron condiciones externas que lo dificultaron.

Con todos los datos obtenidos y análisis realizados se pudo establecer un protocolo para producción de semilla de champiñones que se adapte a las condiciones del Valle del Zamorano (Anexo 2).

4.2 ANÁLISIS ECONÓMICO

Para dar una recomendación no podemos basarnos solamente en el análisis estadístico, sino que se realizó un análisis económico considerando los costos fijos y variables de cada tratamiento.

Los costos diferenciales para este estudio fueron: Mano de obra, extracto de levadura, parafina, papel test para pH, PDA, alcohol, rastrojos de maíz, rastrojos de frijol, granos de maíz y granos de trigo y semilla comercial (Anexo 3).

Para los costos comunes se tomaron todos los materiales necesarios para montar un laboratorio, teniendo en cuenta que se arrendaba la infraestructura. Además por ser costos fijos se hizo una depreciación tomando en cuenta la naturaleza del costo: Equipo y muebles a 10 años y cristalería a dos años, esta depreciación se sumó a los costos totales. Se tomó como producción 148 kg al año, los costos totales se dividieron para esta producción, por lo que mientras más se produce menores serán los costos de producción (Anexo 4).

El resumen de los costos diferenciales entre cada tratamiento son los que realmente determinaron cuál de los tratamientos evaluados es económicamente rentable para la ZECI (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resumen de los costos diferenciales entre los tratamientos evaluados. Zamorano, Honduras, 2002.

Concepto	Unidad	T 1	T 2	T 3	T 4
Mano de obra	US/hora	2.35	2.35	0.94	0.94
Extracto de levadura	US/g	0.56	0.56	0.00	0.00
Parafina	US/mt	0.81	0.81	0.32	0.32
Papel test para pH	US/unidad	0.17	0.17	0.07	0.07
PDA	US/g	0.32	0.32	0.13	0.13
Alcohol	US/ml	0.85	0.85	0.34	0.34
Rastrojos (maíz y frijol)	US/kg	0.01	0.01	0.00	0.00
Granos de sorgo	US/kg	0.00	0.00	0.30	0.00
Granos de trigo	US/kg	0.00	0.00	0.00	1.10
Semilla commercial	US/kg	0.01	0.01	0.006	0.006
Total de costos que varían	US/kg de semilla	9.29	9.29	1.79	2.59

T 1 = rastrojos de frijol,

T 2 = rastrojos de maíz,

T 3 = granos de sorgo

T 4 = granos de trigo

Al existir diferencia estadística entre los tratamientos debemos también considerar la diferencia económica entre ellos. Según el análisis de costos realizado podemos ver que cuando utilizamos los granos de trigo como medio el costo por kilogramo aumenta en relación con los rastrojos de frijol y maíz, incluso son más altos que los costos utilizando granos de sorgo. Si se comparan los costos de cada tratamiento con lo que cuesta importar la semilla se observa una clara diferencia, pues la semilla importada tiene un valor de US\$ 7.90 y los costos en los tratamientos está arriba de los US\$ 66.00 (Cuadro 6).

Cuadro 6. Costos totales por kilogramo de semilla de champiñón en los diferentes tratamientos relacionándolos con la semilla importada. Zamorano, Honduras, 2002.

Tratamiento	Costo total por kg de semilla (US\$)
Rastrojos de frijol	71.07
Rastrojos de maíz	71.07
Granos de sorgo	66.83
Granos de trigo	67.63

La producción de semilla es justificable cuando la producción de champiñones es alta, llegando a un punto de equilibrio de 1036 kg de semilla los cuales serían ocupados en 301 m² de producción (Anexo 5).

5. CONCLUSIONES

Como principal conclusión de este estudio se encontró que es posible técnicamente la producción de semilla de champiñón con condiciones controladas en la ZECI, siendo una fuente muy útil para la investigación en la producción de champiñones.

Después de estudiar el comportamiento del micelio en cada experimento, se observó que el champiñón es un organismo muy delicado en sus inicios, y que necesita de condiciones especiales (temperaturas controladas de 20 – 22° C) para poder desarrollarse y ser explotado comercialmente.

Después de evaluar los tratamientos se concluyó que el micelio puede crecer en todos los medios utilizados teniendo entre ellos diferencias significativas. Sin embargo, el desarrollo del micelio es óptimo con los granos de sorgo y con los rastrojos de frijol, mientras que el medio generalmente usado (granos de trigo) presentó un buen crecimiento, pero no mejor que los anteriores tratamientos. Los rastrojos de maíz presentaron un menor crecimiento, siendo diferente significativamente a los anteriores tratamientos.

Según el análisis económico realizado, se comprobó que es mejor el tratamiento de granos de sorgo que el resto de tratamientos pues éste posee costos mucho menores en relación con los otros tratamientos. El costo para producir semilla de champiñón utilizando rastrojos (de cualquier tipo) resulta mucho mayor principalmente por la mano de obra en la que se incurre al cortar los rastrojos.

Con relación con la semilla importada se concluye que no es económicamente rentable producir semilla de champiñones, para productores que tengan menos de 40 m² de producción como es el caso de la ZECI. Si la demanda se incrementa, los costos por kilogramo de semilla serían menores.

La genética es también un factor importante para la producción de semilla de champiñón. Es importante tomar en cuenta el riesgo de degeneración genética durante varias generaciones de reproducción. En hongos como *A. bisporus* es posible hacer cruces y mejoramiento, pero al igual que muchos experimentos de ese tipo requieren habilidad, técnica y equipo especializado.

301638

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar granos de sorgo para la producción comercial de semilla de champiñón, porque económicamente es el medio más barato. Estadísticamente fue comprobado que es un medio adecuado para el crecimiento del micelio y está disponible localmente y no necesita importación.

Después de observar varios factores determinantes en el proceso de producción de semilla de champiñones, se recomienda que si se planea producir semilla en el Valle del Zamorano se debe contar con un laboratorio con una incubadora para poder controlar el ambiente en el que se desarrollará el micelio. El autoclave no es indispensable, pues se puede alquilar en otro laboratorio. Además se puede prescindir de la cámara de flujo laminar sustituyéndola con buenas prácticas de asepsia en un ambiente limpio.

Se recomienda que este trabajo tenga continuidad, principalmente para poder evaluar la semilla agronómicamente en la cámara de cultivo. Evaluando principalmente: El crecimiento del micelio en el compost, el rendimiento y la degeneración genética.

Además, documentar todas las investigaciones que se realicen sobre la semilla de champiñones es muy importante, ya que la literatura disponible es muy escasa.

7. BIBLIOGRAFIA

- GEA, F y TELLO, J. 1997. Micosis del cultivo del champiñón. Mundi Prensa. Madrid, España. 212p.
- GUAIRACAJA, C. 1999. Producción de semilla de champiñón (*Agaricus bisporus*) a partir de micelio comercial para las condiciones del valle de los chillos. Tesis. Escuela Superior Politécnica del Ejército. Quito, Ecuador. 2001.
- RETTEW, R. 1948. Manual of Mushroom Culture. Cuarta edición. Mushroom Supplí Company. Estados Unidos. 272p
- STAMENTS, P y CHILTON, J. S. 1995. The Mushroom Cultivator. 4th ed. Agarikon Press. Washington, EE.UU. 415p.
- SINIBALDI, E. 1996. Producción de champiñones (*Agaricus bisporus*) bajo las condiciones del Valle del Zamorano. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 36p.
- VAN GRIENSVEN, L. J. 1988. The Cultivation of Mushroom. Mushroom Experimental Station of Horst. Netherlands.
- VEDDER, P. J. 1996. Cultivo Moderno del champiñón. 4ta reimpresión. Mundi Prensa. Madrid, España. 367p.
- UGARTE. et al. 1992. Procedimiento y medio de cultivo para el inóculo del champiñón (*Agaricus bisporus*). Memoria descriptiva. La Habana. Cuba. 4p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de laboratorio de los medios

ZAMORANO

CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCION AGROPECUARIA

LABORATORIO DE SUELOS

30 DE MAYO DE 2002

Resultado de análisis de varios materiales

Solicitante: Rony Muñoz

# Lab.	Muestra	pH (H ₂ O)
574	Semilla de sorgo	8.41
575	Semilla de trigo	8.15
576	Rastrojo de frijol	7.36
577	Rastrojo de maíz	6.71

Responsable: _____
Ing. Hilda Flores

Anexo 2. Protocolo desarrollado para la producción de champiñones

Inoculación en medio PDA

Preparar un medio de cultivo artificial con agar de papa y dextrosa (PDA) según instrucciones del producto. Colocar 7ml de esta solución en tubos de ensayo tapados con papel aluminio, para luego esterilizarlos en autoclave por 20 minutos a 121° C. Una vez esterilizados inclinar los tubos para tener mayor área de inoculación, tenerlos así hasta que tengan una temperatura suficiente para poder sellarlo y después guardarlos a 4°C.

Después de 24 horas colocar en cada tubo de ensayo de 3 a 4 granos de semilla comercial de champiñón*. Utilizar en todo momento técnicas que disminuyan la contaminación al momento de inocular el micelio, utilizando mecheros de gas, alcohol al 75%, mascarilla y guantes. Después de realizada esta inoculación colocar los tubos en una incubadora con una temperatura promedio de 25°C y un ambiente con una humedad alta (con un atomizador rociar agua cada día) por una semana.

Preparar los medios definitivos en donde se propagará la semilla. Según los resultados del presente proyecto se pueden utilizar por igual los medios evaluados, por lo que su preparación es la siguiente, dependiendo de la naturaleza ellos.

Preparación de granos de trigo y sorgo

Hervir 100 g de trigo y 100 g de sorgo en 200 ml de agua durante 15 minutos a fuego muy lento revolviendo constantemente y evitando que el grano reviente. Terminada la cocción escurrir el agua y se dejar secar los granos. Luego colocarlos en frascos de vidrio de boca angosta (500 ml de capacidad). Posteriormente esterilizar por 70 minutos a 121° C y una presión de 5 psi, dejar que baje su temperatura y luego sellarlos, guardándolos a una temperatura de 4°C, 24 horas antes de la inoculación.

Preparación de rastrojos de maíz y frijol

Fraccionar los rastrojos en porciones de 0.8 a 1 cm y lavarlos con agua corriente. Preparar una solución de extracto de levadura con 5 % de sólidos solubles. Remojar los trozos en esta solución y se dejar reposar cuatro horas, después de este período se escurren y se secan al ambiente. Colocar en frascos de vidrio con boca angosta (500 ml de capacidad) y se esterilizaron a 121° C durante dos horas; luego sellarlos y dejarlos enfriar a temperatura ambiente durante 24 horas.

* Semilla importada de Estados Unidos de la empresa Sylvan

Inoculación en los tubos con micelio con los medios evaluados.

Después de tener los medios esterilizados colocar en cada tubo de ensayo con el micelio en crecimiento de 4 a 5 g del medio escogido, cuidando siempre de no exponerlos mucho al ambiente. Sellar nuevamente los tubos y volver a guardarlos en las condiciones que antes se encontraban, hasta que los granos / rastrojos se presenten totalmente invadidos por el micelio.

Inoculación en frascos de 500 ml con los diferentes medios evaluados.

Una vez que el micelio haya invadido el medio de propagación comprobar que no exista contaminación y pasar el medio a los frascos de 500 ml que contienen el resto de medio esterilizado.

Guardar los frascos inoculados con micelio a 22°C regulando constantemente la humedad relativa, por el tiempo que sea necesario hasta que el micelio invadiera todo el contenido del frasco, por lo general es de tres a cuatro semanas, posteriormente pasar a una temperatura de 4°C evitando cualquier exceso de agua.

Anexo 3. Detalle de los costos diferenciales en cada uno de los tratamientos.

Costos diferenciales en producción de semilla con rastrojos (2000g)				
Concepto	Unidad	Cantidad	Costo unitario (US\$)	Costo Total
Mano de obra				13.13
Laboratorista	horas	2.50	1.25	3.13
Corte de materiales	horas	8.00	1.25	10.00
Insumos				5.46
Extracto de levadura	g	5.00	0.23	1.13
Parafina	m	3.00	0.54	1.62
Papel para test de pH	unidad	3.00	0.11	0.33
PDA	g	2.73	0.24	0.64
Alcohol	ml	100.0	0.02	1.70
Rastrojos (maíz y frijol)	kg	2.00	0.006	0.012
Semilla comercial	kg	0.004	7.9	0.03
Total	2000g			18.59
	kg			9.29

Costos diferenciales en producción de semilla con granos de sorgo (5000g)				
Concepto	Unidad	Cantidad	Costo unitario (US\$)	Total
Mano de obra				3.13
Laboratorista	horas	2.50	1.25	3.13
Insumos				5.82
Parafina	m	3.00	0.54	1.62
Papel para test de pH	unidad	3.00	0.11	0.33
PDA	g	2.73	0.24	0.64
Alcohol	ml	100.00	0.02	1.70
Granos de sorgo	kg	5.00	0.30	1.50
Semilla comercial	kg	0.004	7.90	0.03
Total	5000g			8.95
	kg			1.79

Costos diferenciales en producción de semilla con granos de trigo (5000g)				
Concepto	Unidad	Cantidad	Costo unitario(US\$)	Total
Mano de obra				3.13
Laboratorista	horas	2.50	1.25	3.13
Insumos				9.82
Parafina	m	3.00	0.54	1.62
Papel para test de pH	unidad	3.00	0.11	0.33
PDA	g	2.73	0.24	0.64
Alcohol	ml	100.00	0.02	1.70
Granos de trigo	kg	5.00	1.10	5.50
Semilla comercial	kg	0.004	7.90	0.03
Total	5000g			12.95
	kg			2.59

Anexo 4.1 Análisis económico para la producción de semilla de champiñones en rastrojos de frijol y de maíz

Descripción	Unidad	Cantidad	Cost/Unidad	Costo/148kg m2
INSTALACION				847.20
Arriendo del local	mes	12.00	70.60	847.20
MAQUINARIA				6,353.10
Autoclave	unidad	1.00	2009.00	2009.00
Incubadora	unidad	1.00	308.00	308.00
Mueble	unidad	1.00	3884.00	3884.00
Balanza	unidad	1.00	37.50	37.50
Calentador	unidad	1.00	114.60	114.60
INSUMOS				812.15
Tubos de ensayo	unidad	400.00	0.49	196.00
Beakers de 600ml	unidad	6.00	4.05	24.30
Beakers de 250 ml	unidad	4.00	2.50	10.00
Erlenmeyer de 600ml	unidad	4.00	3.40	13.60
Probeta	unidad	6.00	12.00	72.00
Pipetas	unidad	4.00	6.45	25.80
Frascos para inocular	unidad	400.00	0.310	124.00
lentes de protección	unidad	2.00	3.25	6.50
guantes para autoclave	unidad	2.00	22.50	45.00
guantes de látex	unidad	100.00	0.20	19.75
mascarillas	unidad	50.00	0.53	26.50
Bulbo para pipetas	unidad	2.00	12.00	24.00
Mecheros	unidad	2.00	10.60	21.20
Manguera para mecheros	unidad	2.00	9.85	19.70
Pinzas Grandes	unidad	3.00	9.75	29.25
Pinzas pequeñas	unidad	3.00	7.20	21.60
Paletas	unidad	2.00	4.70	9.40
Magneto	unidad	2.00	7.20	14.40
Termómetro	unidad	2.00	5.65	11.30
Gradilla de tubos de ensayo	unidad	4.00	21.80	87.20
Encendedor	unidad	1.00	2.05	2.05
Brocha para lavar tubos	unidad	1.00	1.00	1.00
Botella para agua	unidad	2.00	3.80	7.60
Total costos fijos				8012.45

Costos variables				827.17
Mano de obra	horas	592.00	1.25	740.00
Semilla comercial	kg	7.900	0.118	0.94
Extracto de levadura	g	100.00	0.225	22.50
Rastrojos de frijol / maíz	kg	0.006	148.000	0.89
Parafina	rollo	1.00	19.90	19.90
pH papel test	caja	1.00	10.950	10.95
PDA	g	100.00	0.235	23.50
alcohol	ml	500.00	0.017	8.50

RESUMEN ECONOMICO		
Costo/148 kg		8,839.62
Costo/kg		59.73
Depreciación		11.34
Total costo por kg		71.07

Anexo 4.2 Análisis económico para la producción de semilla de champiñones en granos de sorgo

Descripción	Unidad	Cantidad	Cost/Unidad	Costo/148kg m2
INSTALACION				847.20
Arriendo del local	mes	12.00	70.60	847.20
MAQUINARIA				6,353.10
Autoclave	unidad	1.00	2009.00	2009.00
Incubadora	unidad	1.00	308.00	308.00
Mueble	unidad	1.00	3884.00	3884.00
Balanza	unidad	1.00	37.50	37.50
Calentador	unidad	1.00	114.60	114.60
INSUMOS				812.15
Tubos de ensayo	unidad	400.00	0.49	196.00
Beakers de 600ml	unidad	6.00	4.05	24.30
Beakers de 250 ml	unidad	4.00	2.50	10.00
Erlenmeyer de 600ml	unidad	4.00	3.40	13.60
Probeta	unidad	6.00	12.00	72.00
Pipetas	unidad	4.00	6.45	25.80
Frascos para inocular	unidad	400.00	0.310	124.00
lentes de protección	unidad	2.00	3.25	6.50
guantes para autoclave	unidad	2.00	22.50	45.00
guantes de látex	unidad	100.00	0.20	19.75
maskarillas	unidad	50.00	0.53	26.50
Bulbo para pipetas	unidad	2.00	12.00	24.00
Mecheros	unidad	2.00	10.60	21.20
Manguera para mecheros	unidad	2.00	9.85	19.70
Pinzas Grandes	unidad	3.00	9.75	29.25
Pinzas pequeñas	unidad	3.00	7.20	21.60
Paletas	unidad	2.00	4.70	9.40
Magneto	unidad	2.00	7.20	14.40
Termómetro	unidad	2.00	5.65	11.30
Gradilla de tubos de ensayo	unidad	4.00	21.80	87.20
Encendedor	unidad	1.00	2.05	2.05
Brocha para lavar tubos	unidad	1.00	1.00	1.00
Botella para agua	unidad	2.00	3.80	7.60
Total costos fijos				8012.45

Costos variables				200.69
Mano de obra	horas	74.00	1.25	92.50
Semilla comercial	kg	0.118	7.90	0.94
Granos de sorgo	kg	148.00	0.30	44.40
Parafina	rollo	1.00	19.90	19.90
pH papel test	caja	1.00	10.95	10.95
PDA	g	100.00	0.24	23.50
alcohol	ml	500.00	0.02	8.50

RESUMEN ECONOMICO		
Costo/148 kg		8,213.14
Costo/kg		55.49
Producción total		148.00
Depreciación		11.34
Total costo por kg		66.83

Anexo 4.3 Análisis económico para la producción de semilla de champiñones en granos de trigo

Descripción	Unidad	Cantidad	Cost/Unid	Costo/148kg m2
INSTALACION				847.20
Arriendo del local	mes	12.00	70.60	847.20
MAQUINARIA				6,353.10
Autoclave	unidad	1.00	2009.00	2009.00
Incubadora	unidad	1.00	308.00	308.00
Mueble	unidad	1.00	3884.00	3884.00
Balanza	unidad	1.00	37.50	37.50
Calentador	unidad	1.00	114.60	114.60
INSUMOS				812.15
Tubos de ensayo	unidad	400.00	0.49	196.00
Beakers de 600ml	unidad	6.00	4.05	24.30
Beakers de 250 ml	unidad	4.00	2.50	10.00
Erlenmeyer de 600ml	unidad	4.00	3.40	13.60
Probeta	unidad	6.00	12.00	72.00
Pipetas	unidad	4.00	6.45	25.80
Frascos para inocular	unidad	400.00	0.310	124.00
lentes de protección	unidad	2.00	3.25	6.50
guantes para autoclave	unidad	2.00	22.50	45.00
guantes de látex	unidad	100.00	0.20	19.75
mascarillas	unidad	50.00	0.53	26.50
Bulbo para pipetas	unidad	2.00	12.00	24.00
Mecheros	unidad	2.00	10.60	21.20
Manguera para mecheros	unidad	2.00	9.85	19.70
Pinzas Grandes	unidad	3.00	9.75	29.25
Pinzas pequeñas	unidad	3.00	7.20	21.60
Paletas	unidad	2.00	4.70	9.40
Magneto	unidad	2.00	7.20	14.40
Termómetro	unidad	2.00	5.65	11.30
Gradilla de tubos de ensayo	unidad	4.00	21.80	87.20
Encendedor	unidad	1.00	2.05	2.05
Brocha para lavar tubos	unidad	1.00	1.00	1.00
Botella para agua	unidad	2.00	3.80	7.60
Total costos fijos				8012.45

Costos variables				319.09
Mano de obra	horas	74.00	1.25	92.50
Semilla comercial	kg	0.118	7.90	0.94
Granos de trigo	kg	148.00	1.10	162.80
Parafina	rollo	1.00	19.90	19.90
pH papel test	caja	1.00	10.95	10.95
PDA	g	100.00	0.24	23.50
alcohol	ml	500.00	0.02	8.50

RESUMEN ECONOMICO		
Costo/148 kg		8,331.54
Costo/kg		56.29
Producción total		148.00
Depreciación		11.34
Total costo por kg		67.63

Anexo 5. Análisis de rentabilidad

ANALISIS DE RENTABILIDAD						
	Variación de producción y de precio por igual					
	0%	20%	30%	40%	50%	60%
Producción kg/año	148	177.6	192.4	207.2	222	236.8
Precio por kg	66.06	52.85	46.24	39.63	33.03	26.42
Ingreso Bruto/43 m2	9,776.36	9,385.30	8,896.48	8,212.14	7,332.66	6,257.20
Costo/43 m2	8098.037	8098.037	8098.037	8098.037	8098.037	8098.037
Diferencia (In - Co)	1,678.32	1,287.27	798.48	114.10	-765,38	-1,840.83
Rentabilidad %	20.73%	15.90%	9.86%	1.41%	-9.45%	-22.73%

	Variación de producción con precio de semilla importada					
	0%	90%	150%	200%	300%	600%
Producción kg/año	148	444	518	592	1036	1184
Precio por kg	7.90	7.90	7.90	7.90	7.90	7.9
Ingreso Bruto/43 m2	1,169.20	3,507.60	4,092.20	4,676.80	8,184.40	9353.6
Costo/43 m2	8098.037	8098.037	8098.037	8098.037	8098.037	8098.037
Diferencia (In - Co)	-6,928.84	-5,876.56	-4,005.84	-3,421.24	86.36	1255.563
Rentabilidad %	-86.56%	-72.57%	-63.91%	-56.69%	-42.25%	1.07%