

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**Evaluación de las cáscaras de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae)
como sustrato para el cultivo de tres especies de hongos ostra:
Pleurotus spp., *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer y
P. pulmonarius (Fr.) Quél., Pleurotaceae.**

Gabriela Fernández Lépiz

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la Universidad
de Costa Rica para optar por el grado académico de Licenciatura
en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

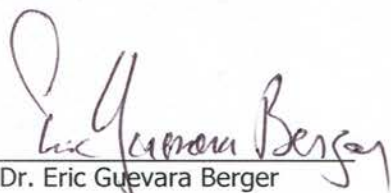
San José, Costa Rica

Julio, 2012

**EVALUACIÓN DE LAS CÁSCARAS DE *Jatropha curcas* L.
(EUPHORBIACEAE) COMO SUSTRATO PARA EL CULTIVO DE TRES
ESPECIES DE HONGOS OSTRA: *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* (JACQ. EX
FR.) KUMMER Y *P. pulmonarius* (FR.) QUEL., PLEUROTACEAE**

**Tesis presentada para optar por el grado académico de Licenciatura
en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia.**

TRIBUNAL EXAMINADOR


Dr. Eric Guevara Berger

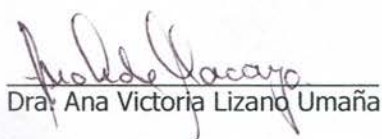
Presidente del Tribunal


M.Sc. Giselle Alvarado Retana

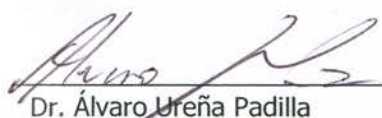
Directora de Tesis


M.Sc. Oscar Acuña Navarro

Miembro del Tribunal


Dra. Ana Victoria Lizano Umaña

Miembro del Tribunal


Dr. Álvaro Ureña Padilla

Miembro del Tribunal


B.Sc. Gabriela Fernández Lépiz

Sustentante

San José, Julio, 2012

Dedicatoria

*A Dios (1 Tim 1:17) y a mi familia, en especial a mis papás
y a mi abuelita que son ejemplo de trabajo, solidaridad
y respeto, mi mayor motivación para seguir adelante.*

Gaby

Agradecimientos

Primero agradezco a Dios por tantas bendiciones y por darme la fortaleza necesaria para concluir este proyecto. Agradecer a mi papá Mario, a mi mamá Lilliana, a mis hermanas Cinthia y Lorena, a mi hermano Mario Alberto, por estar siempre a mi lado, creer en mí, por su amor, sus oraciones y apoyarme día a día, en especial a mi abuelita Claudia por tantos cuidados y cariño.

A mi directora de tesis Ing. Agr. Giselle Alvarado Retana M.Sc. por su guía, sus consejos, por compartir sus conocimientos y su sincera amistad.

A los lectores: Dra. Ana Victoria Lizano y Dr. Álvaro Ureña por su valiosa colaboración en este proyecto y al Ing. Agr. Óscar Acuña Navarro M.Sc. por su colaboración y amistad de muchos años en el Laboratorio de Bioquímica, así como a los compañeros (as) del laboratorio, especialmente a mi amiga Evelyn Ramírez White por ayudarme con el transporte del sustrato desde la Zona Sur.

Al Dr. Álvaro Ureña y al Dr. Franklin Herrera por contactarme con el Lic. Amancio Alvarado de ASD Costa Rica, a quien le agradezco haber proporcionado los frutos de tempate indispensables en este trabajo.

A mis amigos José Pablo Mora Apuy, Humberto Arguedas, Melissa Romero, Jeremy Henry, Jodard Picado, Florita Solano, Hellen Sánchez, Cindy López, Marcela Latino, Julio Montero, Michael Castro y Álvaro González por ayudarme en la realización de la tesis, infinitas gracias.

A la Ing. Agr. Floria Bertsch, coordinadora del Laboratorio de Suelos y Foliar del CIA, a Yessenia Rivas y sus compañeros del laboratorio por toda la colaboración brindada en el análisis de las muestras de sustratos y hongos.

A la M.Sc. Giselle Lutz por el apoyo en el desarrollo de este proyecto, así como la gran ayuda de B.Sc. Carlos Vega, B.Sc. Hermes Alvarado y B.Sc. Diego Aguirre.

A la Dra. Alice Pérez y a la Lic. Lorena Hernández por su invaluable ayuda en el análisis de toxicidad del sustrato de *Jatropha curcas* y los hongos.

Al profesor Juan Ramón Navarro por sus consejos para el análisis estadístico de este trabajo y al profesor Rodolfo WingChing por sus valiosos consejos.

A mi amiga Jendry Portilla Segura por toda la ayuda brindada con el análisis estadístico de los datos.

A mis compañeras y amigas: Andrea Holst Sanjuán y Katia Carvajal Tobar, por su **valiosa amistad y gran apoyo durante tantos años. Siempre "una por otra"**.

A muchos amigos y amigas que con sus palabras de aliento y consejos hicieron que continuara a pesar de los obstáculos enfrentados.

¡Qué Dios los bendiga!

Gabriela Fernández Lépiz

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS HONGOS COMESTIBLES	5
Descripción de <i>P. ostreatus</i> y <i>P. pulmonarius</i>	6
Biología	7
Sustratos	8
Necesidades ambientales	9
Valor nutricional y medicinal	10
Contaminantes y plagas	10
CARACTERÍSTICAS DE <i>Jatropha curcas</i>	12
Descripción	12
Importancia	12
Valor medicinal.....	14
Insecticida/plaguicida.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
UBICACIÓN	17
PROCEDENCIA DEL MATERIAL UTILIZADO	17
PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LOS SUSTRATOS	17
Preparación de los sustratos	17
Inoculación de los sustratos.....	18
CARACTERIZACIÓN DE LA COSECHA.....	20

Unidad y diseño experimental	21
Variables consideradas para la evaluación del crecimiento de los hongos.....	21
Variables evaluadas para la determinación del rendimiento de los hongos	21
Composición química de los hongos	22
Análisis estadístico de datos	22
Caracterización de los sustratos	22
Contenido mineral	22
Composición de los sustratos.....	23
ANÁLISIS DE TOXICIDAD	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
CRECIMIENTO DE LOS HONGOS	24
RENDIMIENTO DE LOS HONGOS	26
Diámetro de los basidiomas.....	26
Número de basidiomas.....	29
Peso fresco de la cosecha total	30
Peso seco de la cosecha total	31
Eficiencia biológica.....	32
Rendimiento base húmeda	33
Rendimiento base seca	34
Caracterización del sustrato	35
Contenido mineral	35
Relación Carbono/Nitrógeno	36
Composición de los sustratos.....	37
Composición química de los hongos	39
ANÁLISIS DE TOXICIDAD	40
CONCLUSIONES.....	44
RECOMENDACIONES	45
LITERATURA CITADA	46
ANEXOS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. a. Cáscaras secas de los frutos de <i>J. curcas</i> . b. Paja seca de <i>D. decumbens</i>	18
FIGURA 2. Perforaciones realizadas a la bolsa.....	19
FIGURA 3. Ramo en estado óptimo de cosecha: píleo casi plano.	20
FIGURA 4. Medición del diámetro del basidioma con una regla graduada en milímetros.	20
FIGURA 5. Porcentaje de fructificaciones de las cepas 1-20 (<i>P. ostreatus</i>), 1-26 (<i>P. pulmonarius</i>) y 1-37 (<i>Pleurotus</i> spp.), producidas en tempate (<i>J. curcas</i>) y paja (<i>D. decumbens</i>), agrupadas por tamaño de basidiomas, expresado como ámbitos de diámetro.....	26
FIGURA 6. Diámetro promedio de los basidiomas de la cosecha total de las tres cepas de <i>Pleurotus</i> spp., en los sustratos de <i>D. decumbens</i> y <i>J. curcas</i>	27
FIGURA 7. Fotografías de los basidiomas de cada cepa en ambos sustratos.	28
FIGURA 8. Número de basidiomas de la cosecha total de las tres cepas de <i>Pleurotus</i> spp.	29
FIGURA 9. Peso fresco en gramos de la cosecha total de las tres cepas de <i>Pleurotus</i> spp.	30
FIGURA 10. Peso seco en gramos de la cosecha total de hongos producidos en los sustratos de <i>D. decumbens</i> y <i>J. curcas</i>	31
FIGURA 11. Eficiencia biológica de la cosecha total de las tres cepas de <i>Pleurotus</i> spp., en los sustratos de <i>D. decumbens</i> y <i>J. curcas</i>	33
FIGURA 12. Rendimiento base fresca en porcentaje de la cosecha total de las tres cepas de <i>Pleurotus</i> spp.....	34
FIGURA 13. Rendimiento base seca en porcentaje de la cosecha total de hongos desarrollados en los sustratos de <i>D. decumbens</i> y <i>J. curcas</i>	35
FIGURA 14. Cromatogramas. a. PMA estándar. b. Semilla de <i>J. curcas</i> autoclavada. c. Hongos de la cepa 1-37 (<i>Pleurotus</i> spp.) crecidos en <i>J. curcas</i> . d. Hongos de la cepa 1-26 (<i>P. pulmonarius</i>) crecidos en <i>J. curcas</i>	42
FIGURA 15. Cromatogramas. a. PMA estándar. b. Cáscaras secas de <i>J. curcas</i> . c. Hongos de la cepa 1-20 (<i>P. ostreatus</i>) crecidos en <i>J. curcas</i>	43

ÍNDICE DE CUADROS

- CUADRO 1.** Periodo de desarrollo de cada fase del cultivo de *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* y *Pleurotus* spp. después de la inoculación de *J. curcas* y *D. decumbens*.25
- CUADRO 2.** Análisis químico de los sustratos iniciales y de los sustratos finales de las cepas *P. ostreatus* (1-20), *P. pulmonarius* (1-26) y *Pleurotus* spp. (1-37).35
- CUADRO 3.** Análisis de proteína cruda (PC), cenizas (Ce), digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS), lignina (Lig), celulosa (Celu) y hemicelulosa (Hemi), en porcentaje, de los sustratos iniciales y de los sustratos finales37
- CUADRO 4.** Porcentaje de cenizas y proteína (base seca) de una muestra representativa de cada cepa de *Pleurotus* spp. en los sustratos *J. curcas* y *D. decumbens*.39

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Resultado del Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para el periodo de desarrollo de cada fase del cultivo del hongo ostra.....	56
ANEXO 2. Resultado del Análisis de la Varianza (SC Tipo I).....	56
ANEXO 3. Resultado del Análisis de la Varianza (SC Tipo III) del diámetro de los basidiomas, agrupados por tamaño.	57
ANEXO 4. Porcentaje de fructificaciones de cada cepa de hongo ostra obtenido de cada grupo de diámetro de basidioma.....	57
ANEXO 5. Cromatograma del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA) estándar.	57
ANEXO 6. Cromatografía Total de Iones (TIC) del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA) estándar.....	58
ANEXO 7. Reporte de la masa exacta del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA) estándar, con una desviación de 1,3 ppm.....	58

Fernández-Lépiz, G. 2012. Evaluación de las cáscaras de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) como sustrato para el cultivo de tres especies de hongos ostra: *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer y *P. pulmonarius* (Fr.) Quéél., Pleurotaceae.

Palabras clave: *Jatropha curcas*, *Pleurotus* spp., hongo ostra, tempate, paja, Transvala, eficiencia biológica.

RESUMEN

Se evaluaron las cáscaras de los frutos de *Jatropha curcas* como sustrato para la producción de tres especies de hongo ostra: *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*. Se utilizó la paja de Transvala (*Digitaria decumbens*) como sustrato testigo. Se evaluó el efecto del sustrato sobre el crecimiento de los hongos, mediante los días transcurridos en cada una de las etapas del cultivo y el efecto sobre la producción de los hongos considerando los indicadores de peso fresco, peso seco, eficiencia biológica, rendimiento base fresca, rendimiento base seca, número de basidiomas y diámetro de los mismos. En ambos sustratos, la colonización total se dio a los 15 días después de la inoculación (ddi); el menor periodo de producción se obtuvo con *P. ostreatus* (70 ddi en *D. decumbens* y 81 ddi en *J. curcas*) y el mayor periodo con *P. pulmonarius* (87 ddi en *J. curcas* y 90 ddi en *D. decumbens*).

En cuanto al número de basidiomas total y su diámetro, la cepa *Pleurotus* spp. presentó la menor cantidad de cuerpos fructíferos (cerca de 22) y el mayor diámetro promedio, el cual fue de 8,3 cm en *D. decumbens*. La cosecha total por unidad de 1 kg de sustrato húmedo fue para *P. ostreatus* de 360,8 g en promedio, siendo el mayor peso fresco; mientras que el menor peso fresco lo dio *P. pulmonarius*, con un promedio de 303,1 g.

En el sustrato de cáscaras de los frutos de *J. curcas* se obtuvieron las mayores eficiencias biológicas, *P. ostreatus* obtuvo el mayor valor con 165,4%, seguido por 156,8% con la cepa *Pleurotus* spp. y por último, *P. pulmonarius* con 134%. El sustrato testigo dio eficiencias biológicas de 96,2% con *P. pulmonarius* a 113,6% con *P. ostreatus*.

Se realizó un análisis de digestibilidad *in vitro* de la materia seca de los sustratos poscosecha, presentándose cambios por el crecimiento de los hongos; las cáscaras de los frutos de *J. curcas* lo incrementaron de 57,2 a 75,27% y en la paja de *D. decumbens* de 46,82 a 66,09%.

Se evaluó la presencia del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA, por sus siglas en inglés) en semillas y cáscaras de los frutos de *J. curcas*, y en las tres cepas del hongo ostra desarrolladas en las cáscaras; no se detectó trazas del PMA, responsable de la toxicidad de esta planta.

INTRODUCCIÓN

Existe alrededor de un centenar de hongos en el mundo que pueden ser cultivados, todos saprófitos, ya que se alimentan básicamente por la absorción de nutrientes disponibles en el sustrato (Cho, 2004).

Según Mata (2003), en Costa Rica se conocen 2000 especies de hongos, de las cuales 95 se reportan como comestibles. Sin embargo, a nivel comercial predominan los hongos *Agaricus bisporus* (Champiñón), *Lentinula edodes* (Shiitake) y *Pleurotus* spp. (hongo ostra) que representan cerca del 71,4% de las especies cultivadas del mundo (Chang, 2006; citado por SENA, 2012).

Dentro del género *Pleurotus*, la de mayor importancia comercial es la especie *P. ostreatus* (Jacquin ex Fries) Kummer y se encuentra ampliamente distribuida en zonas templadas. Sin embargo, otras especies como lo es *P. pulmonarius* (Fries) están adaptadas para ámbitos de temperaturas más altas (18-25 °C), con lo que se propicia su crecimiento en zonas tropicales y subtropicales (Kong, 2004).

En Costa Rica se han estudiado diversos desechos de la agroindustria tales como aserrín, bagazo de caña de azúcar, paja de arroz, virutas de madera, granza de arroz, entre otros, resultando aptos para el cultivo de los hongos ostra (Macaya-Lizano, 1988), debido a que éstos obtienen sus requerimientos nutricionales de una amplia gama de sustratos ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa (Upadhyay *et al.*, 2002).

El hongo ostra reúne otras características tales como una menor inversión económica comparada con otros hongos de producción comercial y su método de producción es más sencillo (Gaitán-Hernández *et al.*, 2002); lo que favorece la diversificación de la producción nacional.

Dentro de la trayectoria del Proyecto de Hongos Comestibles del Laboratorio de Bioquímica del Centro de Investigaciones Agronómicas, se han evaluado cepas con potencial de cultivo comercial. La principal cepa evaluada utilizando el sustrato de zacate Transvala (*Digitaria decumbens*) es la cepa 1-20 (*Pleurotus ostreatus*)

(WingChing-Jones y Alvarado, 2009) y dentro de las cepas con potencial productivo a evaluar por el proyecto está la cepa 1-26 (*P. pulmonarius*) y la cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.) (Alvarado, 2012. Comunicación personal).

Uno de los sustratos que se podría aprovechar para el cultivo del hongo ostra, es el desecho de las cáscaras de los frutos de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae, originaria de México y Centroamérica), una planta de gran potencial para la producción de biocombustible, ya que produce semillas con un alto contenido de aceite (58-60%) (Martínez-Herrera *et al.*, 2004); que puede ser procesado como biocombustible o como materia prima para la industria (Toral *et al.*, 2008).

En Costa Rica, la Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria (SEPSA) propone la diversificación de las materias primas para la producción de biodiesel, con especial atención en *J. curcas*, por ser una especie rústica y alternativa a la palma (principal planta oleaginosa del país) (CEPAL, 2007).

Según Cifuentes-Jara y Fallot (2009), en el país se viene implementado el Plan Nacional de Biocombustibles, que contempla el fomento de etanol y biodiesel como fuentes complementarias para la generación energética, por lo que existe mucho interés entre pequeños productores, cooperativas y algunas empresas con capital extranjero para la siembra de *J. curcas* con ese fin. Sin embargo, su valor comercial aún no se ha establecido con claridad (Ureña, 2012. Comunicación personal).

Para el 2009 se contaban con aproximadamente 1250 hectáreas de plantaciones de *J. curcas* en el país (Cifuentes-Jara y Fallot, 2009), en Bagaces y Tempisque (Guanacaste), Pacífico Central y Zona Sur (Lobo, 2009) y hoy en día se realizan gestiones para el manejo más sostenible de los residuos de la industrialización de la *J. curcas*, **ya que según Vega (2012) "únicamente se está apreciando el aceite obtenido de las semillas sin mayores posibilidades de agregación de valor para los subproductos"**.

A nivel mundial, todas las partes de la planta tienen algún uso en diversos campos de la medicina y como plaguicida a causa de los compuestos como los ésteres de forbol presentes en las plantas tóxicas de *J. curcas* (Makkar *et al.*, 1998a).

Las plantaciones registradas para el cultivo *J. curcas* como biocombustible en Costa Rica se establecieron en el 2005-2006 (Cifuentes-Jara y Fallot, 2009), lo que conlleva a la búsqueda de ideas para el aprovechamiento de los desechos. Un 35% de los subproductos corresponden a las cáscaras que se generan durante el procesamiento de los frutos de *J. curcas* para la obtención del aceite (INE, 2008). Debido a la toxicidad que presenta esta planta, posiblemente no se emplean los residuos como sustrato para la producción de los hongos comestibles, por lo que es importante evaluar adecuadamente este sustrato para establecer su uso y aprovechamiento potencial.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar las cáscaras de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) como sustrato para el cultivo de tres especies de hongos ostra: *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer y *P. pulmonarius* (Fr.) Quél., Pleurotaceae.

Objetivos Específicos

- Evaluar el crecimiento de las cepas *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* sobre las cáscaras de *J. curcas* como sustrato.
- Determinar el rendimiento de *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* sobre las cáscaras de *J. curcas* como sustrato.
- Analizar la presencia del compuesto tóxico (éster de forbol) en las setas frescas de *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* desarrolladas sobre el sustrato de *J. curcas*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Características generales de los hongos comestibles

Los hongos comestibles han sido recolectados y consumidos por las personas durante miles de años. Las crónicas de China y Japón indican que hongos Shiitake (*Lentinula edodes*) eran recolectados y ofrecidos a los emperadores como un tributo (Oei, 2003).

Los hongos pertenecen al reino Fungi, se encuentran en la división Eumycota y en el orden de los Basidiomycetes (Stamets, 1993). Estos organismos carecen de clorofila, por lo que no pueden generar nutrimentos mediante fotosíntesis; se alimentan básicamente por la absorción de nutrimentos disponibles en el sustrato (Cho, 2004).

La reproducción sexual se da por medio de estructuras especializadas (basidiósporas), de ellas se originan unos pequeños filamentos llamados hifas, cuando se ramifican, forman lo que se conoce como micelio (Oei, 2003); cuando éste se encuentra en óptimas condiciones de temperatura, humedad y nutrición es posible obtener la formación de un primordio, que es la fase inicial del futuro cuerpo fructífero (Cho, 2004).

Hay más de un centenar de hongos que pueden ser cultivados, todos saprófitos. Aunque a nivel mundial más de la mitad de la producción de hongos comestibles corresponde a la especie *Agaricus bisporus*, las setas especializadas tales como *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Pleurotus* spp. y *Flammulina velutipes* están aumentando su popularidad en el mercado mundial (Breene, 1990).

Las especies mayormente cultivadas crecen en una amplia variedad de sustratos orgánicos, incluyendo los desechos de las producciones de algodón, café y arroz (Oei, 2003), tal es el caso de *Pleurotus* spp. y otras especies relacionadas, que en el año 1996 el 24% de la producción mundial de hongos comestibles correspondía a este hongo (Mantsumoto, 1996; citado por Cardona, 2001).

Descripción de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*

Los hongos ostra pertenecen al género *Pleurotus*, que posee aproximadamente 70 especies de hongos comestibles. La mayoría de ellos son descomponedores primarios de la madera (Kong, 2004); pues tienen la habilidad de degradar la lignina para acceder a la hemicelulosa y celulosa, sus verdaderos sustratos primarios (Quintero, 2011).

La clasificación taxonómica es la siguiente: reino Fungi, phylum Basidiomycota, clase Basidiomycetes, orden Agaricales, familia Pleurotaceae, género *Pleurotus* (Kong, 2004).

Pleurotus ostreatus:

P. ostreatus es el hongo de mayor importancia comercial dentro de este género, tiene un olor y sabor agradable (Mata, 1999). Además, se encuentra ampliamente distribuido en zonas templadas y se adapta bien a un amplio rango de climas y sustratos por lo que también se puede cultivar en el trópico (Kong, 2004; Quimio *et al.*, 1990).

Según Mata (1999), las características macromorfológicas son: un píleo de 3–12 cm de diámetro, con forma de abanico o concha, algunas veces semicirculares, o planos con una depresión en el centro; la superficie es lisa, de color blanco o blanco-grisáceo, gris amarillento pálido o gris-parduzco; y el margen se encuentra un poco enrollado y a veces lobulado. Su contexto consta de 0,3– 1 cm de ancho y de coloración blanca.

El himenio está formado por lamelas y lamélulas, blancas cuando jóvenes, pero se tornan amarillentas conforme maduran, se encuentran muy próximas, son lisas y de 0,3–0,6 cm de ancho. Su esporada es blanca.

El estípote se encuentra ausente o reducido, aproximadamente de 0,3 a 1 cm de longitud y de 0,5 a 1,5 cm de ancho, con forma de tapón, posición lateral, superficie lisa a finamente aterciopelada principalmente hacia la base y de color blanco a blanco-grisáceo.

Pleurotus pulmonarius:

Según Stamets (2000), al igual que todas las especies del género *Pleurotus* spp., al principio del desarrollo del píleo el margen se encuentra enrollado y conforme la estructura madura, se aplana hasta llegar al punto máximo de la madurez en donde el borde se levanta hacia arriba. Por lo general este borde es ondulado y puede llegar a tener de 5-20 cm o más de diámetro.

La coloración del píleo tiende a ser de colores pardos, sin embargo, esta coloración está determinada no sólo por la cantidad de luz presente en el ambiente, si no que también por las temperaturas. De esta manera, conforme aumenta la cantidad de luz y la temperatura, los colores son más claros.

Rara vez se forman ramos de más de 5-6 hongos en *P. pulmonarius*, característica que sí se puede encontrar en la especie *P. ostreatus*.

Biología

El ciclo de vida de los hongos basidiomycetes se inicia en el basidio ubicado directamente debajo del basidioma (sombrija), donde se realiza la cariogamia y meiosis, dando como resultado cuatro esporas uninucleadas haploides por basidio (Silveira, 1995). En la superficie del basidio hay cuatro finas proyecciones llamadas esterigmas, cada una sostiene una basidióspora y en algún momento las liberan fuertemente (Stamets, 1993).

Cuando una basidióspora se establece en un entorno adecuado, ésta puede germinar y ramificar para formar el micelio, que es haploide y en general no es capaz de la reproducción sexual. Sin embargo, cuando dos micelios sexualmente compatibles se encuentran, se pueden fusionar para formar un llamado micelio secundario, binucleado y dicariótico, por lo que la célula es diploide (Oei, 2003), al entrelazarse las hifas, se origina el micelio terciario capaz de producir basidiomas después de acumular nutrimentos (Stamets, 1993) e iniciar de nuevo el ciclo.

Sustratos

El material sobre el cual el micelio crece es llamado sustrato. Algunos hongos pueden usar un amplia variedad de sustratos, mientras que otros son muy selectivos (Oei, 2003). Los hongos comúnmente cultivados son saprófitos, se alimentan de la materia orgánica en la que están creciendo. El hongo ostra puede crecer sobre materiales sin previa descomposición, debido a que posee enzimas lignocelulolíticas que los pueden degradar (Cho, 2004).

Según Ortega *et al.* (2005) el proceso de degradación de los sustratos lignocelulósicos (por ejemplo, las cáscaras de los frutos de *J. curcas*) constituye un fenómeno bastante complejo, ya que existe una estrecha relación entre la biodegradación de la celulosa y la hemicelulosa por la acción de las enzimas celulasas y xilanasas; y de la lignina por acción de ligninaperoxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa.

Pleurotus spp. al ser un descomponedor primario, éste puede crecer de manera natural en troncos muertos o en diferentes materiales obtenidos como subproductos de las actividades agrícolas. En Costa Rica es posible cultivarlos en desechos de la agroindustria tales como: bagazo de caña de azúcar, brácteas de piña y broza de café (Rodríguez, 2004); combinaciones de paja y granza de arroz, aserrín, entre otros (Macaya-Lizano, 1988).

El método de cultivo de los hongos es relativamente simple y se pueden cultivar utilizando tecnologías no sofisticadas, de ahí la ventaja de producir alimento para consumo humano a partir de desechos agrícolas y por ende, ayudar al rápido reciclaje de tales desechos. Por otra parte, los residuos del cultivo de las setas pueden ser utilizados como mejoradores de suelo, así como complemento en la alimentación de ganado (Gaitán-Hernández *et al.*, 2002).

Los hongos ostra obtienen sus requerimientos nutricionales de un sustrato rico en lignina, celulosa y hemicelulosa usados para su cultivo, además del nitrógeno, elemento esencial para las funciones celulares, para el crecimiento y varias actividades metabólicas particularmente en la síntesis de proteínas y enzimas. Por ello, al haber variación de nutrimentos en los sustratos, hay diferentes rendimientos de los hongos (Upadhyay *et al.*, 2002).

Según Stamets (2000), distintas cepas de hongos pueden variar en su habilidad para convertir los materiales del sustrato en basidiomas (eficiencia biológica), de ahí que se obtengan distintos resultados. Además, según Gaitán y Salmones (1996, citados por Cardona, 2001), la eficiencia biológica de *Pleurotus* spp. en un sustrato determinado depende entre otros factores de la preparación de éste, condiciones ambientales (humedad y temperatura) óptimas requeridas por la especie del hongo y aún entre las cepas de la misma especie.

De ahí que otros trabajos de investigación informen de porcentajes variados de eficiencia biológica, por ejemplo Magingo *et al.* (2004) recopilaron algunos datos, en los que se logró 40% de eficiencia biológica con *P. ostreatus* en paja de trigo y 83% con *P. pulmonarius* en aserrín. Después de evaluar varios agro-desechos Ahmed *et al.* (2009), obtuvieron la mayor eficiencia biológica de *P. florida* en residuo de soya, con 87,56% y Upadhyay *et al.* (2002) en su evaluación del efecto de la suplementación nitrogenada con esa misma cepa, alcanzaron eficiencias biológicas entre 53,2 - 112,3%. En la evaluación de desechos de la viticultura biodegradados por *Pleurotus* spp., se obtuvieron eficiencias biológicas en un rango de 37,2 a 78,7% (Sánchez *et al.*, 2002).

Además se puede utilizar el hongo ostra para descontaminar desechos con derrames de petróleo, en un proceso que se conoce como biorremediación (Stamets, 2000; Oei, 2003). En una investigación sobre el uso de *Pleurotus* spp. en la degradación de residuos de combustible, no sólo descompuso el aceite, sino que los hongos frescos no tuvieron residuos de petróleo (Stamets, 1999; citado por Stamets, 2000).

Necesidades ambientales

Cada etapa de la producción de hongos requiere de factores ambientales específicos de humedad relativa, ventilación, luminosidad y temperatura, aparte de las condiciones internas del sustrato y de la cepa que se utilice (Oei, 2003).

En la etapa de incubación (cuando el micelio coloniza el sustrato), muchas especies requieren una temperatura ambiental de 25 °C, además de una alta concentración de CO₂ y oscuridad. Por otra parte, en la etapa de fructificación Oei (2003) recomienda una temperatura de 20-25 °C para el buen desarrollo de los cuerpos fructíferos de *P.*

ostreatus y *P. pulmonarius*. La humedad relativa debe mantenerse entre 85-90%, con una baja concentración de CO₂ en el ambiente y un requerimiento lumínico mínimo de 4 horas (Stamets, 2000).

Valor nutricional y medicinal

Muchos estudios consideran al hongo ostra un complemento en la dieta diaria del ser humano, ya que sus proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales, incluyendo leucina y lisina (ausente en la mayoría de cereales). Asimismo, este hongo es rico en carbohidratos, vitaminas, fibra, minerales y posee un bajo contenido de grasas (Romero *et al.*, 2000; citados por López-Rodríguez *et al.*, 2008).

Presenta entre 57 y 61% de carbohidratos con base en su peso seco (0% agua), 26% de proteína y un contenido de fibra del 11,9%. Contiene vitaminas como la niacina, tiamina (vitamina B1), vitamina B12 y la vitamina C o ácido ascórbico. Además tienen minerales como el potasio, fósforo, calcio, entre otros. Su contenido de grasas es de 0,9 a 1,8% con base en su peso seco y su valor nutricional es cercano al 30% (Gaitán-Hernández *et al.*, 2002).

Además del valor nutricional de los hongos comestibles, cada día crece el interés por el estudio de sus propiedades medicinales (Breene, 1990), en el caso de *Pleurotus* spp., éste se conoce como estimulador del sistema inmune del organismo, reduce los niveles de colesterol disminuyendo el riesgo de presentar enfermedades cardíacas, previene la presión alta, tiene efecto antitumoral, antiviral y antibacterial (Quimio, 2004).

Contaminantes y plagas

Las contaminaciones generalmente se desarrollan en la fase de incubación, muchas veces por deficiente pasteurización del sustrato, por falta de higiene en el cuarto de siembra o en el momento de la siembra (Quimio *et al.*, 1990).

Según Gaitán-Hernández *et al.* (2002), las contaminaciones pueden ser causadas por hongos, bacterias, virus y levaduras, siendo los de mayor importancia los hongos como *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* sp., *Neurospora crassa* y *Coprinus lagopus*. Los autores mencionan que estas contaminaciones aparecen en forma de

manchas verdes, amarillentas, negras o anaranjadas sobre el sustrato, invadiéndolo de forma rápida, lo que evita el crecimiento micelial del hongo ostra. Este tipo de contaminaciones se ve favorecido por la alta humedad en el ambiente y en el sustrato, así como por la alta temperatura, la luz directa y el sustrato mal pasteurizado, entre otros.

En cuanto a las plagas insectiles, se pueden encontrar moscas como *Lycoriella* spp. (Sciaridae) y *Mycophila* spp. (Cecidomyiidae), éstas atacan tanto en el cultivo en incubación como en el área de producción, provocando daño en el micelio y en los cuerpos fructíferos del hongo. *Drosophila* spp. (Drosophilidae) es atraída por los olores de la fermentación del sustrato y es un importante agente transmisor de hongos contaminantes (Guzmán *et al.*, 1993; citado por Brenes, 2002). Otros insectos comunes son los coleópteros; entre ellos se encuentra el escarabajo *Mycotretus apicalis* (Erotylidae) muy común en regiones tropicales y subtropicales, que se come los cuerpos fructíferos (Moreira *et al.*, 2010).

Para el control de contaminantes y plagas en el cultivo de hongos, se recomienda mantener medidas de higiene estrictas y poner en práctica métodos preventivos. Por ejemplo, el sustrato se debe pasteurizar a la temperatura adecuada y por el tiempo necesario según las características propias del material; el cuarto de siembra debe estar completamente limpio y desinfectado, al igual que el equipo y la ropa de los cultivadores (Contreras *et al.*, 2005). Para el control de las plagas en primer lugar se debe evitar su ingreso colocando malla fina en las entradas de aire, utilizar trampas o eliminar las muestras con presencia de insectos; si se presenta algún tipo de hongo contaminante, la zona afectada se puede asperjar con solución desinfectante o sacar la bolsa del módulo para evitar la propagación al sustrato sano (Cha, 2004).

Características de *Jatropha curcas*

Descripción

La clasificación taxonómica de esta especie es la siguiente (Zamora, 2000):

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Jatropha*

Especie: *curcas*

Es un árbol pequeño o arbusto, de hasta cinco metros de altura. Tiene hojas simples, alternas, digitadamente lobuladas, de 10 a 25 cm de largo por 9 a 15 cm de ancho, de forma ovada con 3 a 5 lóbulos (Zamora, 2000). La planta es monoica y las inflorescencias contienen flores unisexuales (Heller, 1996), éstas son de color verde o blanco-amarillas, en dicasios, terminales o axilares, de 10 a 25 cm de largo, sobre un pedúnculo de 4 a 10 cm de largo. Los frutos son cápsulas, de 2,5 a 4 cm de largo por 2 cm de ancho, elipsoidales, lisas, cambiando a color amarillo cuando maduran. Al inicio son carnosas, pero dehiscentes cuando se secan (Zamora, 2000).

Esta planta se puede propagar fácilmente por esquejes o semillas, pues crece rápidamente. Para una producción óptima de frutos, se requiere una precipitación entre 900 y 1200 mm al año (Raina y Gaikwad, 1987; Makkar y Becker, 1997; citados por Makkar y Becker, 1999) y en la literatura se informa de que puede alcanzar producciones anuales de 5 toneladas de frutos por hectárea (Heller, 1996).

Importancia

J. curcas, un árbol originario de México y Centroamérica (Heller, 1996); se cultiva en Centro y Sur de América, Sureste de Asia, India y África (Schmook y Serralta-Peraza, 1997; citado por Gübitz *et al.*, 1999). Esta planta también es llamada comúnmente "physic nut" o "purging nut" (Inglés), "purgueira" (Portugués), "yu-lu-tzu" (Chino), piñoncillo (México) y tempate, coquito, capate (Costa Rica) (Heller, 1996).

Es una especie altamente resistente a la sequía, está adaptada a condiciones áridas y semiáridas y se ha señalado su uso para el control de la erosión (Heller, 1996). Su distribución actual muestra que la introducción fue más exitosa en las regiones más secas de los trópicos con una precipitación anual de 300-1000 mm. Esto ocurre principalmente a bajas altitudes (0-500 m) en áreas con una temperatura media anual por encima de 20 °C. Se desarrolla en suelos bien drenados con buena aireación y se adapta a suelos marginales con bajo contenido de nutrientes (Maharshi, 2007), aunque podría verse afectada la producción de frutos.

J. curcas se cultiva principalmente para la producción de semillas, debido a que éstas contienen un alto porcentaje de aceite, señalándose rendimientos de 55-60%, según Makkar y Becker (1999), que puede ser transformado como combustible sin ser refinado (Maharshi, 2007; De Arruda *et al.*, 2004), procedimiento que normalmente se lleva a cabo con otras plantas oleaginosas más usadas para la producción de biodiesel tales como son la colza (*Brassica napus*), la soya (*Glycine max*), el girasol (*Helianthus annuus*) y la palma aceitera (*Elaeis guineensis*) (Calvo, 2006).

Sin embargo, los cultivos mencionados anteriormente requieren de suelos de media a alta fertilidad y lo ideal para la producción de bioenergía es que se limite a los suelos que no se puedan cultivar (suelos secos, pedregosos, poco profundos y/o de baja fertilidad). Según Makkar y Becker (2009) esto se podría lograr con *J. curcas*, especialmente en los países que padecen inseguridad alimentaria.

El biodiesel es una de las alternativas al uso de hidrocarburos derivados del petróleo, tiene propiedades similares al diesel, pero su impacto ambiental es menor, debido a que libera menos cantidades de contaminantes al ambiente que los hidrocarburos fósiles: 41% menos de emisiones de gases de efecto invernadero, así como menores cantidades de óxido de nitrógeno y óxido de azufre, compuestos orgánicos volátiles, entre otros (Hill *et al.*, 2006).

Según Ulloa (2011), actualmente se trabaja en minimizar los requerimientos económicos y maximizar la producción de éste a nivel mundial, para ir sustituyendo el consumo de petróleo que genera problemas ambientales, tales como la liberación de gases de efecto invernadero durante el proceso de combustión, la liberación de partículas contaminantes en el aire que afectan la salud humana y animal, los posibles

derrames en mares y en los suelos que pueden afectar los ecosistemas de la región (Hill *et al.*, 2006).

Según Makkar y Becker (2009), los subproductos como la torta residual y el aceite, a los cuales es necesario la evaluación de los compuestos tóxicos para evitar la posible contaminación en el ambiente o provocar algún daño a la salud animal y humana, podrían utilizarse como fertilizante orgánico, alimento para animales, sustrato para la producción de enzimas industriales mediante procesos de fermentación y plaguicidas, entre otros.

Valor medicinal

Medicinalmente se ha empleado como anodino, antídoto, antiséptico, cataplasma, cicatrizante, depurativo, hemostático, laxante, enjuague bucal, purgativo, rubefaciente, jabón, estíptico, vermífugo, narcótico, tumores, úlceras y dolores dentales. También utilizado para torceduras, espasmos, escabiosis, ciática, reumatismo, salpullidos, neumonía, pleuresía, parálisis, neuralgia, ictericia, comezón, inflamaciones, hernias, gonorrea, fiebre, erisipela, dolores estomacales, alopecia, anasarca, ascitis, carbunco, caries, convulsiones, tos, dermatitis, diarrea, hidropesía, dispepsia, eczemas e indigestiones (Zamora, 2000).

Recientes estudios demostraron que ciertas partes de la planta de *J. curcas* tienen algún grado de propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y anticancerígenas (Oskoueian *et al.*, 2011).

Cuando se consumen las semillas de *J. curcas*, podrían presentarse las siguientes manifestaciones clínicas: vómito y diarrea que se acompañan de dolores abdominales, luego hipotensión arterial, sensación de malestar, debilidad y trastornos respiratorios; en casos graves el paciente puede llegar al colapso, coma y muerte (Martínez, 2002; Makkar *et al.*, 1998a).

La toxicidad de las semillas de *J. curcas* generalmente se atribuye a la presencia de lectina en éstas (Mourgue *et al.*, 1961; Stirpe *et al.*, 1976; citado por Makkar *et al.*, 1998a). Sin embargo, Makkar *et al.* (1998a) y Aregheore *et al.* (1998), obtuvieron valores similares de lectina en las plantas no tóxicas de México y de las tóxicas (Cape

Verde y Nicaragua) que sugieren que la lectina no es el principal agente tóxico de estas semillas. Este tipo de lectina se encuentra en muchas plantas comestibles, incluidos granos de cereales como el trigo y la cebada, hojas de espinacas, espárragos, entre otros (King *et al.*, 2009).

Los componentes antinutricionales que posee esta planta tales como los inhibidores de tripsinas y las lectinas son lábiles al calor. Sin embargo, los tratamientos con calor no tienen ningún efecto sobre los niveles de saponinas, fitatos y ésteres de forbol presentes en *J. curcas* (Aderibigbe *et al.*, 1997).

Según Makkar *et al.* (1998a), la toxicidad de *J. curcas* se debe a la presencia de éster de forbol (forbol-12-miristato 13-acetato) y no a la presencia de lectina. Según estos investigadores los ésteres de forbol están presentes en altas concentraciones en las semillas tóxicas de *J. curcas* de Cape Verde originaria de Nicaragua (2,70 mg/g), mientras que en plantas no tóxicas de México los niveles de estos ésteres son bajos (0,11 mg/g).

Los ésteres de forbol generalmente son inestables bajo condiciones alcalinas; utilizando diferentes niveles de hidróxido de sodio e hipoclorito de sodio, solos o en mezcla, seguido por un tratamiento con calor, se ha logrado disminuir las cantidades de estos ésteres presentes en mayor medida en las semillas de las plantas tóxicas (Makkar y Becker, 1999). La extracción de los ésteres de forbol utilizando metanol se reporta como el mejor método para decrecer el nivel de este éster en el aceite de *J. curcas* (Ahmed y Salimon, 2009).

Como parte de la presente investigación, se llevó a cabo el análisis de las cáscaras de los frutos de *J. curcas*, ya que no se contaba con los análisis previos del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA, por sus siglas en inglés), compuesto responsable de la toxicidad de *J. curcas* (Makkar *et al.*, 1998a).

Insecticida/plaguicida

Los ésteres de forbol, sustancias responsables de la toxicidad de *J. curcas* para animales y humanos, muestran tener propiedades molusquicidas, insecticidas y fungicidas (Nwosu y Okafor, 1995; Liu *et al.*, 1997; Solsoloy y Solsoloy, 1997; citados por Gübitz *et al.*, 1999).

Por ello, las hojas se han utilizado en ocasiones para repeler las casas contra insectos y el extracto de éter ha mostrado actividad antibiótica contra *Styphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Arumugam, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

La inoculación, colonización y producción del hongo ostra (*Pleurotus* spp.) en el sustrato, se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioquímica de los Procesos Orgánicos del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica (UCR), San Pedro de Montes de Oca, San José. Esta tesis fue financiada por CONARE, como parte del proyecto denominado "Biotransformación de residuos agrícolas e industriales para la obtención de nutracéuticos y biofertilizantes", VI 733-A8-523.

Procedencia del material utilizado

El inóculo o "semilla" consistió de un paquete de 300 g con arroz autoclavado y completamente colonizado por el hongo ostra; suministrado por el Laboratorio de Bioquímica de los Procesos Orgánicos del CIA. Se utilizaron tres cepas de hongos comestibles: *P. ostreatus* (Jacquin ex Fries) Kummer con el código CIA 1-20, *P. pulmonarius* (Fries) con el código CIA 1-26 y *Pleurotus* spp., código CIA 1-37; esta última cepa la adquirió recientemente este laboratorio, por lo que se desconocen las características productivas de la cepa 1-37.

En esta investigación se utilizaron las cáscaras provenientes de la mezcla de las plantas de origen tóxico de Colombia, San Vito (proveniente de la India) y Uganda; plantación propiedad de la empresa ASD Costa Rica, en el cantón de Corredores, provincia de Puntarenas. No se empleó ningún material vegetal de *J. curcas* proveniente de México, donde la literatura reporta la ubicación de las plantas no tóxicas.

Preparación e inoculación de los sustratos

Preparación de los sustratos

El sustrato consistió de las cáscaras secas de *J. curcas* (Figura 1.a) de frutos maduros secados al sol y sin semillas (las cuales no fueron usadas en el presente proyecto). Se empleó el zacate Transvala (*Digitaria decumbens* Stent., cv. "Transvala") como

sustrato testigo, ya que sufre menos contaminación y da buenos resultados para la producción del hongo ostra (Cho, 2004; WingChing-Jones y Alvarado, 2009); este sustrato se empleó completamente seco (Figura 1.b).



Figura 1. a. Cáscaras secas de los frutos de *J. curcas*. **b.** Paja seca de *D. decumbens*.

Cada sustrato se colocó en sacos para ser hidratados por inmersión en un estanón de 200 L de capacidad durante 17 horas, que contenía 150 L de agua y 1,5 kg de CaCO_3 (cal). Transcurrido este tiempo, se eliminó el exceso de agua por escurrimiento durante tres horas. Luego se autoclavaron los sacos a 121 °C durante 1 hora a una presión de 1,5 kg/cm^2 ; al concluir este tiempo los sacos se trasladaron al cuarto de inoculación para que se enfriara el sustrato a temperatura ambiente.

Inoculación de los sustratos

Para la inoculación de los sustratos se utilizaron 90 bolsas de polietileno transparentes de 43 cm de ancho x 63 cm de largo. El sustrato se colocó dentro de la bolsa, alternando una capa del mismo con una de inóculo; éste se adicionó con una proporción de 5%, es decir, 50 g de inóculo por cada kilogramo (en peso fresco) de sustrato. Luego, se ejerció presión para sacar el aire restante en las bolsas, se cerraron con un nudo y se hicieron perforaciones de 1-1,2 cm de longitud cada 10 cm, con la ayuda de un bisturí (Figura 2); lo anterior se realizó en condiciones asépticas.



Figura 2. Perforaciones realizadas a la bolsa.

Las bolsas con el sustrato inoculado se trasladaron a los estantes previamente desinfectados del Laboratorio de Bioquímica de los Procesos Orgánicos y se colocaron a 5-8 cm entre ellas, en donde se mantuvieron en oscuridad, a temperatura ambiente (20–27 °C), con una humedad del sustrato entre el 73-85%. La humedad del sustrato se determinó siguiendo el procedimiento descrito por Ahmed *et al.* (2009), que consistió en pesar el sustrato fresco, luego se llevó a la estufa calibrada a 45 °C y se sacó hasta llegar a peso constante; al peso inicial del sustrato se le restó el peso final (seco) y el resultado se dividió entre el peso inicial del sustrato (fresco), el valor se expresó en porcentaje y se reportó como el promedio de tres submuestras.

Cuando las bolsas estuvieron completamente colonizadas (micelio cubriendo el 100% del sustrato) se realizaron perforaciones de un mayor tamaño (5 cm aproximadamente), recibieron la luz artificial (4 horas mínimo a 500 lux) y se asperjó con agua potable para lograr una humedad relativa mayor al 85%. Este cambio en las condiciones ambientales permitió que se iniciara la producción con la aparición de los primordios de fructificación, proceso conocido como inducción (Fernández, 2004).

Caracterización de la cosecha

La cosecha se realizó cuando los cuerpos fructíferos (basidiomas) llegaron a la madurez necesaria, indicada por el borde casi plano del píleo (Figura 3). Se realizaron tres cosechas durante dos meses de producción. Los cuerpos fructíferos se cosecharon a mano de forma grupal (ramo), como se cosecha comercialmente (Figura 3).



Figura 3. Ramo en estado óptimo de cosecha: píleo casi plano.

Los basidiomas se separaron, se contaron por tratamiento: tres cepas (*P. ostreatus*, *P. pulmonarius* y *Pleurotus* spp.) por dos sustratos (cáscaras de *J. curcas* y paja de *D. decumbens*) y por repetición; se midió el diámetro de cada uno con una regla graduada en milímetros (Figura 4). Posteriormente se clasificaron según el criterio de Mata y Guzmán (1993), que consistió en dividir la cosecha en cuatro grupos, G1: diámetros menores de 5 cm, G2: 5 a 9,9 cm, G3: 10 a 14,9 cm y G4: 15 cm o más. Luego, se introdujeron en bolsas de papel rotuladas por tratamiento y se pesaron en una balanza digital con una precisión de $\pm 0,01$ g.



Figura 4. Medición del diámetro del basidioma con una regla graduada en milímetros.

Una vez que la cosecha se pesó (peso fresco), se llevó a la estufa calibrada a 45 °C hasta llegar a peso constante (Upadhyay *et al.*, 2002), se sacaron de la estufa, se colocaron sobre una mesa hasta que alcanzaron la temperatura ambiental y se pesaron (peso seco).

Unidad y diseño experimental

La unidad experimental la constituyó la bolsa de polietileno transparente de 43 cm de ancho x 63 cm de largo con el sustrato inoculado con cada una de las especies: *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*; se distribuyeron en un factorial 2 x 3 con 15 repeticiones.

Variables consideradas para la evaluación del crecimiento de los hongos

1. Días de crecimiento del micelio desde la inoculación hasta la colonización completa del sustrato.
2. Días requeridos desde la inoculación hasta la formación de los primordios de fructificación.
3. Días transcurridos desde la inoculación hasta la producción de cada una de las tres cosechas.

Variables evaluadas para la determinación del rendimiento de los hongos

1. Peso fresco de la cosecha total.
2. Peso seco de la cosecha total.
3. Número de basidiomas de la cosecha total.
4. Diámetro del cuerpo fructífero.
5. Eficiencia biológica: la relación entre el peso fresco de la cosecha total y el peso seco del sustrato expresado en porcentaje (Stamets, 2000).
6. Rendimiento base húmeda: la relación porcentual entre el peso fresco de los basidiomas y el peso fresco del sustrato.
7. Rendimiento base seca: la relación porcentual entre el peso seco de los basidiomas y el peso seco del sustrato.

El peso seco del sustrato se calculó restando la humedad inicial del sustrato (Moncaio *et al.*, 2005).

Composición química de los hongos

Se determinó la composición química (porcentaje de cenizas y proteína) de las tres cepas del hongo ostra producidas a partir de las cáscaras de los frutos de *J. curcas* y de la paja de *D. decumbens*. Los basidiomas se llevaron a la estufa calibrada a 45 °C hasta llegar a peso constante (Upadhyay *et al.*, 2002) y se llevó una muestra por tratamiento al Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos (CITA) de la UCR, para su análisis.

Análisis estadístico de datos

Se realizó un análisis de varianza a cada una de las variables y las medias de los tratamientos se compararon mediante la prueba de diferencia mínima significativa (d.m.s.) de Fisher, con un nivel de significancia de 0,05%, utilizando el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009). Los valores p obtenidos en el análisis de varianza se presentan en los Anexos 1, 2 y 3. Se graficaron las variables que presentaron diferencias mínimas significativas.

Caracterización de los sustratos

Las cáscaras de los frutos de *J. curcas* utilizadas en este trabajo y la paja de *D. decumbens*, antes de inocular y secos (sustratos iniciales), además de los sustratos finales (con micelio del hongo, después de las tres cosechas) se analizaron por su contenido mineral, su composición y toxicidad para conocer el uso como sustrato final.

Contenido mineral

Se realizó un análisis químico para determinar el contenido mineral (N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Cu, Zn, Mn, B) y la relación Carbono/Nitrógeno en el Laboratorio de Suelos y Foliare del CIA. Se analizó una muestra por tratamiento.

Composición de los sustratos

Se determinó en una muestra por tratamiento el contenido de lignina, hemicelulosa, celulosa, ceniza, proteína cruda y digestibilidad *in vitro* de la materia seca. Estos análisis se realizaron en el Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) de la UCR.

Análisis de toxicidad

Debido a que el sustrato de *J. curcas* provenía de la mezcla de plantas conocidas como tóxicas, fue necesario el análisis de toxicidad del mismo y de los basidiomas desarrollados en él.

Se buscó la presencia del éster de forbol-12-miristato 13-acetato (PMA, por sus siglas en inglés) en cinco muestras: en cáscaras de *J. curcas* utilizadas en el proyecto, en los cuerpos fructíferos de las tres cepas de los hongos desarrollados a partir de las cáscaras de *J. curcas* y en las semillas de esta planta, según la metodología de Makkar *et al.* (1998a).

Se empleó el equipo de Cromatografía Líquida de Ultra Presión (UPLC, por sus siglas en inglés), marca Waters, modelo Acquity. La columna que se utilizó fue marca Acquity UPLC BEH C18, tamaño de partícula de 1,7 μm , diámetro de 2,1 mm y de longitud 50 mm. Unido al UPLC se empleó el Espectrómetro de Masas (MS, por sus siglas en inglés), marca Waters, modelo SYNAPT MS 1G (primera generación), ya que su alta sensibilidad permite detectar concentraciones mínimas del PMA. Esto se realizó por el Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA) de la UCR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de los hongos

El periodo de colonización tanto de la paja de *D. decumbens* como de las cáscaras de los frutos de *J. curcas* fue de 15 días, sin importar la cepa de hongo ostra (*Pleurotus* spp.) utilizada (Cuadro1); fue un periodo más corto que el obtenido por Romero *et al.* (2010), quienes reportaron en promedio 18 días. Estas diferencias se atribuyen a la composición química del sustrato y a la actividad enzimática del hongo ostra en él, así como la influencia de la temperatura, humedad en el sustrato y la luz (Rodríguez, 2004).

Oei (2003) recomienda una humedad en el sustrato cercana a los 75%, por lo tanto la diferencia de 8% en el contenido de humedad no repercutió en el número de días transcurridos desde la inoculación hasta la colonización total de los sustratos. En el caso de la humedad inicial de las cáscaras de los frutos de *J. curcas* fue de 81,6% y 73,6% la de *D. decumbens*.

En la formación de los primordios de fructificación se presentaron diferencias en el número de días debido a la interacción sustrato-cepa (Anexo 1, Cuadro 1): se dio primero en *D. decumbens* a los 5 días después de haberse dado la colonización completa con *P. pulmonarius* y a los 7 días con *P. ostreatus*; luego a los 14 días de la colonización, se formaron en *D. decumbens* con *Pleurotus* spp. y en *J. curcas* con *P. ostreatus*, mientras que a los 16 días en *J. curcas* con *P. pulmonarius* y *Pleurotus* spp. Estos periodos de tiempo son menores que los previstos por Fernández (2004) para el cultivo de este hongo. Romero *et al.* (2010) en la evaluación de varios sustratos, obtuvieron valores similares, por ejemplo a los 22 días de incubación se presentaron los primordios de fructificación en los sustratos de hoja de plátano deshidratada, paja de cebada y paja de trigo; para la pajilla de frijol y rastrojo de maíz requirieron más de 28 días de incubación.

Cuadro 1. Periodo de desarrollo de cada fase del cultivo de *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* y *Pleurotus* spp. después de la inoculación de *J. curcas* y *D. decumbens*. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas ($p \leq 0,01\%$) para la interacción sustrato-cepa.

Fases de cultivo	Número de días después de la inoculación (ddi)					
	<i>P. ostreatus</i>		<i>P. pulmonarius</i>		<i>Pleurotus</i> spp.	
	<i>J. curcas</i>	<i>D. decumbens</i>	<i>J. curcas</i>	<i>D. decumbens</i>	<i>J. curcas</i>	<i>D. decumbens</i>
Colonización	14a	15a	15a	15a	15a	15a
Primordios	28c	22b	31d	20a	31d	28c
Primera cosecha	32b	26a	35c	25a	35c	32b
Segunda cosecha	51a	45a	51a	44a	65a	59a
Tercera cosecha	81b	70a	87d	90e	87d	84c

La primera cosecha se llevó a cabo a los cuatro días después de la aparición de los primeros primordios de fructificación de las tres cepas en ambos sustratos. La segunda cosecha no presentó diferencias significativas para la interacción sustrato-cepa, ésta se dio aproximadamente a los 53 días después de la inoculación (ddi) en las tres cepas en ambos sustratos (Cuadro 1).

La tercera cosecha se realizó primero en *P. ostreatus* (70 ddi en *D. decumbens* y 81 ddi en *J. curcas*), seguido por *Pleurotus* spp. en *D. decumbens* (84 ddi), a los 87 ddi en *J. curcas* (*P. pulmonarius* y *Pleurotus* spp.) y la cepa *P. pulmonarius* en *D. decumbens* tardó más en dar la tercera cosecha, con un promedio de 90 ddi. Romero *et al.* (2000) obtuvieron valores similares en su investigación con el sustrato de hoja de plátano, el periodo de producción concluyó a los 72 ddi y del rastrojo de frijol tardó 95 ddi. Esta información es útil para el productor de hongos comestibles, ya que tomando en consideración el periodo de producción podrá realizar la planificación de las siembras y de las cosechas para su comercialización.

Estos resultados implican que *P. ostreatus* se adaptó mejor a las condiciones ambientales. Según Moncaio *et al.* (2005), con condiciones idóneas de temperatura y humedad relativa, la segunda y la tercera cosecha ocurren 15 y 30 días después de la primera cosecha, respectivamente. Por lo tanto, los periodos tan extensos en los que se presentaron la distintas cosechas podría deberse a las condiciones en el módulo de producción utilizado, que no siempre tuvo la temperatura ambiental constante,

incidiendo sobre las cosechas de las cepas, junto a las características propias de cada cepa y su interacción enzimática con los sustratos de *D. decumbens* y *J. curcas* (Delmas, 1989).

Rendimiento de los hongos

Diámetro de los basidiomas

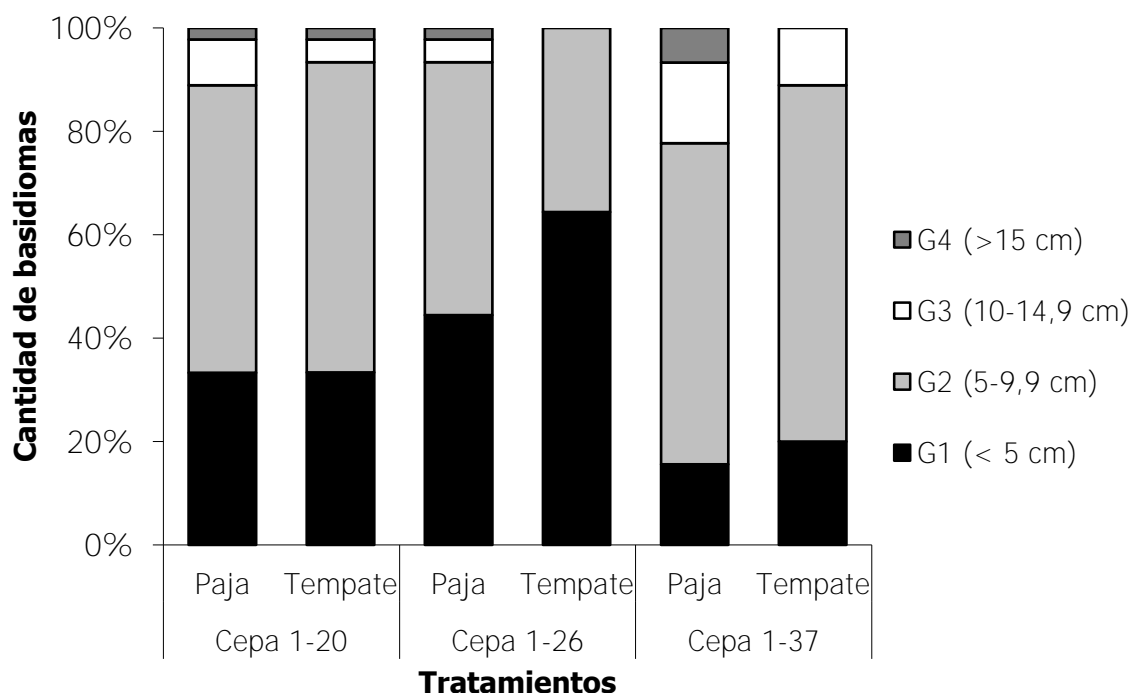


Figura 5. Porcentaje de fructificaciones de las cepas 1-20 (*P. ostreatus*), 1-26 (*P. pulmonarius*) y 1-37 (*Pleurotus* spp.), producidas en tempate (*J. curcas*) y paja (*D. decumbens*), agrupadas por tamaño de basidiomas, expresado como ámbitos de diámetro (G4, G3, G2, G1).

La Figura 5 ilustra que la mayoría de los tratamientos presentaron basidiomas principalmente con el diámetro correspondiente al G2 (5-9,9 cm), seguido de G1 (<5 cm) y G3 (10-14,9 cm), similar a lo obtenido por Rodríguez (2004) y Salmones *et al.* (2012). La cosecha de *P. ostreatus* es la única de las tres cepas que produjo basidiomas de los cuatro grupos en ambos sustratos.

Según Delmas (1989) esto podría indicar que la cepa *P. ostreatus* tiene mejor respuesta a las condiciones de medio ambiente, capacidad enzimática y desarrollo para obtener los nutrimentos de los sustratos de forma más eficiente y por ende, dar basidiomas de todos los diámetros, incluyendo del G4. La cepa *P. pulmonarius* inoculada en *J. curcas*, fue el tratamiento que no produjo basidiomas con diámetros de G3 y G4. La cepa *Pleurotus* spp. produjo basidiomas de un mayor diámetro en ambos sustratos, en *J. curcas* no se dieron basidiomas del G4 (Figura 5). Estos resultados podrían deberse a lo citado por Delmas (1989) como respuesta de las cepas.

Las características de diámetro de los basidiomas de la cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.) en particular, podrían ser de interés para el productor de hongos ostra que requiera menos basidiomas del G1 y más basidiomas del G3 (Anexos 3 y 4).

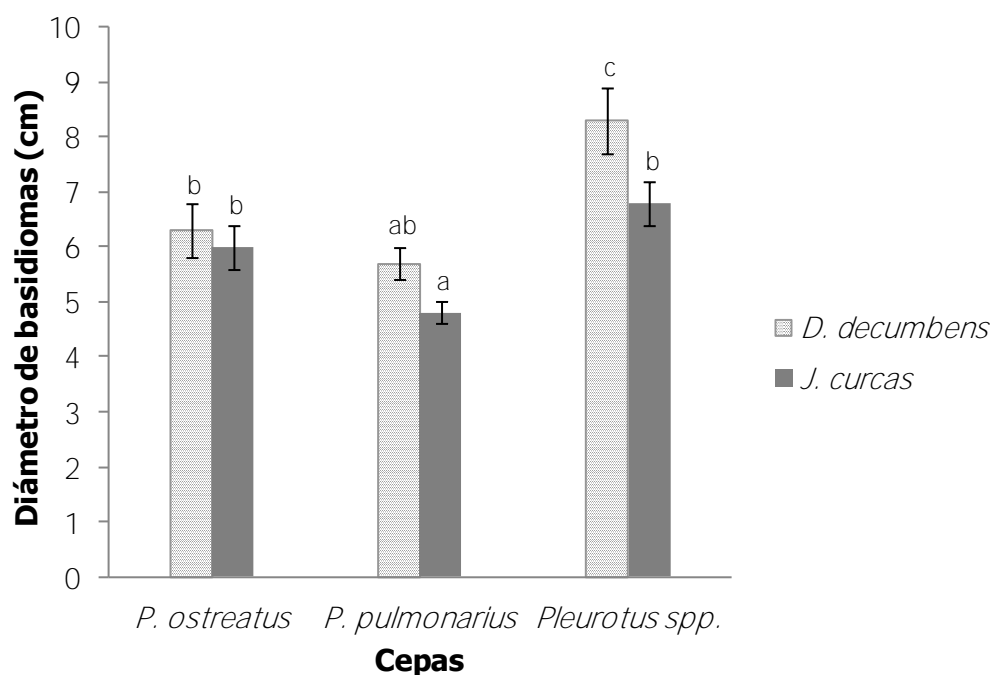


Figura 6. Diámetro promedio de los basidiomas de la cosecha total de las tres cepas de *Pleurotus* spp., en los sustratos de *D. decumbens* y *J. curcas*. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Como se observa en la Figura 6 es la cepa *Pleurotus* spp. la que obtuvo el mayor diámetro de los basidiomas con un promedio de 8,3 cm en *D. decumbens*, como resultado de la interacción con el sustrato, dada posiblemente por las características

químicas de ese sustrato (Cuadro 2). En la Figura 7 se ilustra un mayor diámetro de basidiomas de la cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.), en las mismas condiciones de producción de las otras cepas (1-20 y 1-26).



Figura 7. Fotografías de los basidiomas de cada cepa en ambos sustratos. **a.** Cepa 1-20 (*P. ostreatus*) en *D. decumbens*. **b.** Cepa 1-20 (*P. ostreatus*) en *J. curcas*. **c.** Cepa 1-26 (*P. pulmonarius*) en *D. decumbens*. **d.** Cepa 1-26 (*P. pulmonarius*) en *J. curcas*. **e.** Cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.) en *D. decumbens*. **f.** Cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.) en *J. curcas*.

Número de basidiomas

No se encontró una interacción significativa entre sustrato-cepa, ni entre sustratos, en el promedio de basidiomas colectados en las tres cosechas (Anexo 2), por lo que las cepas se evaluaron por separado. Esto posiblemente se debió a la capacidad enzimática propia de cada cepa.

En la Figura 8 no hay diferencia significativa entre *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* en cuanto al número de basidiomas cosechados (cerca de 50). La cepa *Pleurotus* spp. obtuvo un menor número de basidiomas, aproximadamente 22. La cantidad de basidiomas de las tres cepas del hongo ostra, fue similar a la que obtuvo Romero *et al.* (2010) en su investigación, en el sustrato de paja de trigo logró cosechar aproximadamente 47 cuerpos fructíferos y 23 basidiomas en la pajilla de frijol.

Si se considera el número y el diámetro de los cuerpos fructíferos cosechados en el presente trabajo, se puede concluir que la cepa 1-37 tiende a dar un menor número de hongos, pero de un mayor diámetro, lo que sería de provecho para los productores de hongos comestibles que requieran una cepa de *Pleurotus* spp. que dé basidiomas de mayor diámetro o sea, mayoría de G2 y G3.

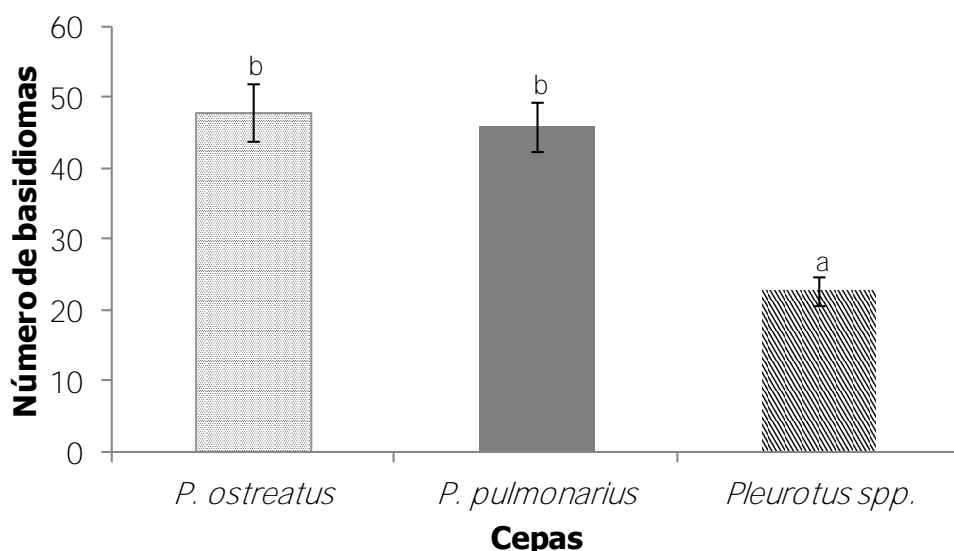


Figura 8. Número de basidiomas de la cosecha total de las tres cepas de *Pleurotus* spp. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Peso fresco de la cosecha total

Respecto al peso fresco de la cosecha total (las tres cosechas), se puede observar en la Figura 9 que *P. ostreatus* obtuvo el mayor peso (360,8 g) y presentó basidiomas de todo diámetro, especialmente de los grupos 1 y 2 (Figura 5), lo que la hace idónea para el productor de hongo ostra que requiera variedad en cuanto al diámetro de los basidiomas y de mayor peso fresco. La cepa *Pleurotus* spp. presentó menor cantidad de basidiomas, pero de un mayor tamaño, lo que se refleja en el peso final de la cosecha con 330,4 g. La cepa *P. pulmonarius* obtuvo la cosecha con el menor peso fresco (303,1 g), además produjo cuerpos fructíferos de menor tamaño en su mayoría.

No se encontró diferencia significativa entre los sustratos (Anexo 2), lo que implica que independientemente de ellos, la productividad de *Pleurotus* spp. medida por esta variable fue igual, debido posiblemente a la capacidad enzimática de cada cepa y su interacción con el ambiente (Delmas, 1989).

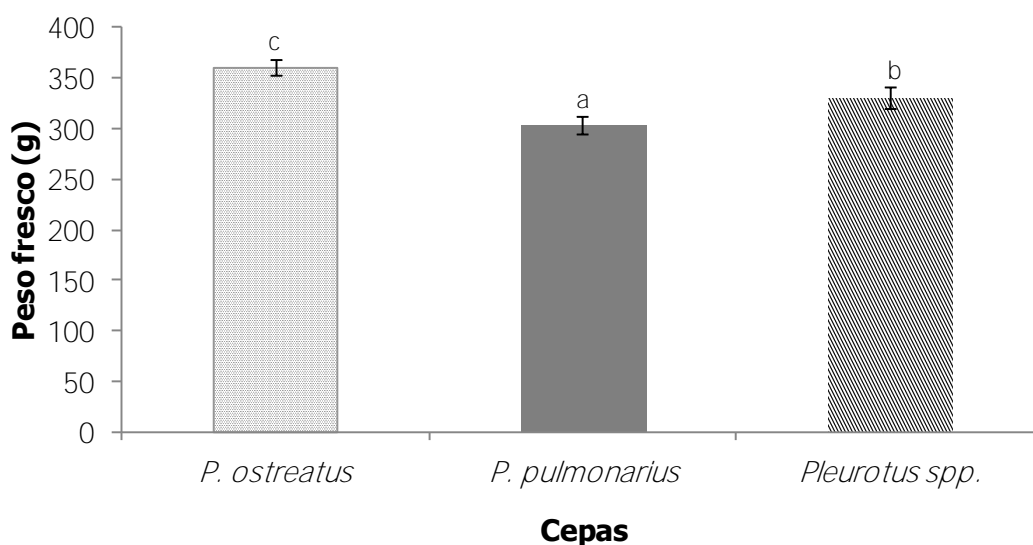


Figura 9. Peso fresco en gramos de la cosecha total de las tres cepas de *Pleurotus* spp. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Peso seco de la cosecha total

En cuanto al peso seco de la cosecha total, no se presentaron diferencias significativas entre las cepas evaluadas. Por el contrario sí hubo diferencias entre los sustratos (Anexo 2), los basidiomas desarrollados en *J. curcas* tuvieron mayor peso seco (33 g) que en *D. decumbens* (29 g) (Figura 10).

Según Ortega *et al.* (2005), los polímeros estructurales de la pared de células vegetales (hemicelulosa, celulosa y lignina), pueden ser degradados en mayor o menor medida por el sistema enzimático que el hongo posee. Con base en los datos del Cuadro 3, el hongo ostra degradó en mayor medida la lignina y celulosa de las cáscaras de *J. curcas* que de *D. decumbens*: 8,94% más de la lignina y 22,7% más de celulosa. Las cáscaras de *J. curcas* presentan 11,94% más de proteína cruda que la *D. decumbens*, lo que pudo beneficiar la formación y peso de los cuerpos fructíferos (Rajarathnam y Bano, 1989; citados por Romero *et al.*, 2010; Quimio *et al.*, 1990). Esto podría ser útil para el productor que comercializa *Pleurotus* spp. seco.

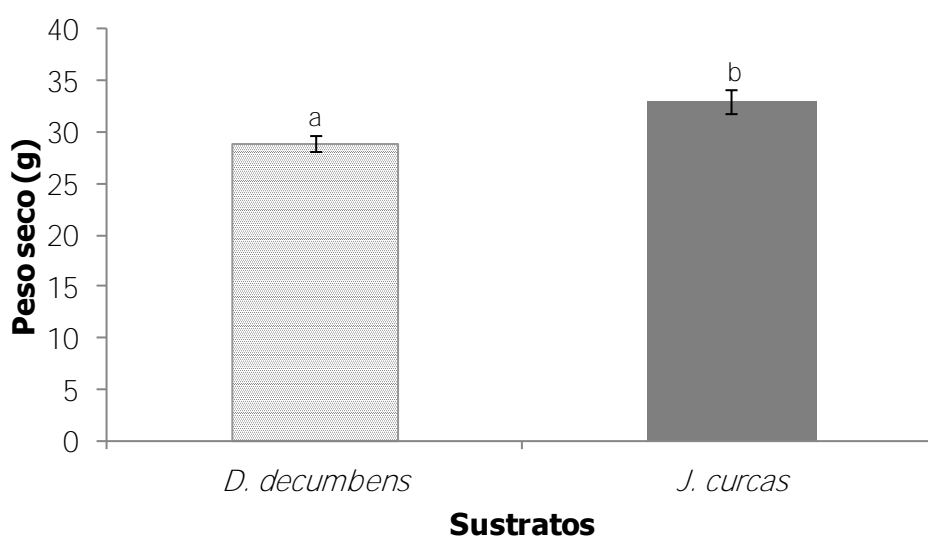


Figura 10. Peso seco en gramos de la cosecha total de hongos producidos en los sustratos de *D. decumbens* y *J. curcas*. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Eficiencia biológica

La eficiencia biológica es la capacidad de los hongos de convertir un sustrato en cuerpos fructíferos, se expresa en porcentaje y puede ser mayor a 100%, esto puede darse cuando el peso fresco de la cosecha total es superior al peso seco del sustrato inicial (Stamets, 2000; Oei, 2003).

Se encontraron diferencias significativas en la eficiencia biológica entre los sustratos y cepas (Anexo 2, Figura 11). Los mayores porcentajes se obtuvieron en *J. curcas*, comparados con los porcentajes del sustrato testigo, en primer lugar con las cepas *P. ostreatus* y *Pleurotus* spp., con 165,4% y 156,8% respectivamente y en segundo lugar la cepa *P. pulmonarius* con 134%. Ello indica que estas cáscaras tienen un enorme potencial para la producción del hongo ostra, ya que están por encima del valor máximo del rango de 75-125%, con el cual un buen cultivador debería trabajar según Stamets (2000).

Resultados con altos porcentajes como los obtenidos en el presente proyecto, fueron citados por Rodríguez (2004) en su evaluación de *P. ostreatus*, con valores de más del 159% de eficiencia biológica con los sustratos paja de arroz y brácteas de piña. Mandeel *et al.* (2005) con esta misma especie utilizando cartón y papel como sustrato, obtuvo eficiencias de 117,5% y 112,4%, respectivamente. En otra investigación utilizando arvenses para el cultivo de este mismo hongo, Das y Mukherjee (2007) obtuvieron eficiencias biológicas de 94,3 y 139% usando como sustrato paja de arroz con *Leonotis* sp. (proporción 1:1).

Con base en los resultados obtenidos de eficiencia biológica, se destaca la superioridad de las cáscaras de los frutos de *J. curcas* utilizadas en este estudio respecto al sustrato testigo, lo que la hace factible para el cultivo de *Pleurotus* spp., sin embargo, siempre existe la necesidad de realizar más estudios respecto a los componentes tóxicos/antinutricionales que puedan tener debido a su crecimiento sobre las cáscaras de *J. curcas*.

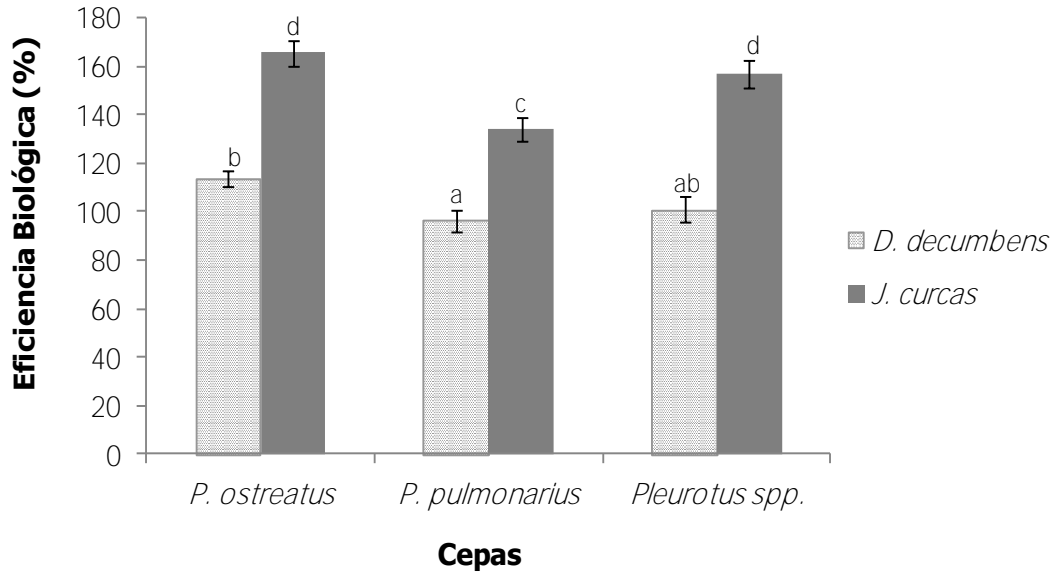


Figura 11. Eficiencia biológica de la cosecha total de las tres cepas de *Pleurotus spp.*, en los sustratos de *D. decumbens* y *J. curcas*. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Rendimiento base húmeda

Se encontró un mayor rendimiento base húmeda en *P. ostreatus* (26,8%), intermedio en la cepa *Pleurotus spp.* (24,6%) y menor en *P. pulmonarius* (22,3%) (Figura 12). No se obtuvieron diferencias significativas ($p \leq 0,05\%$) entre los sustratos (Anexo 2). Datos similares obtuvo Rodríguez (2004), con 23,86% en paja de arroz con *P. ostreatus*.

Los sustratos de este experimento presentan una composición química diferente (Cuadro 2), según Romero *et al.* (2010) estas diferencias hacen que la capacidad productiva de las tres cepas del hongo ostra se reflejen en distintos rendimientos.

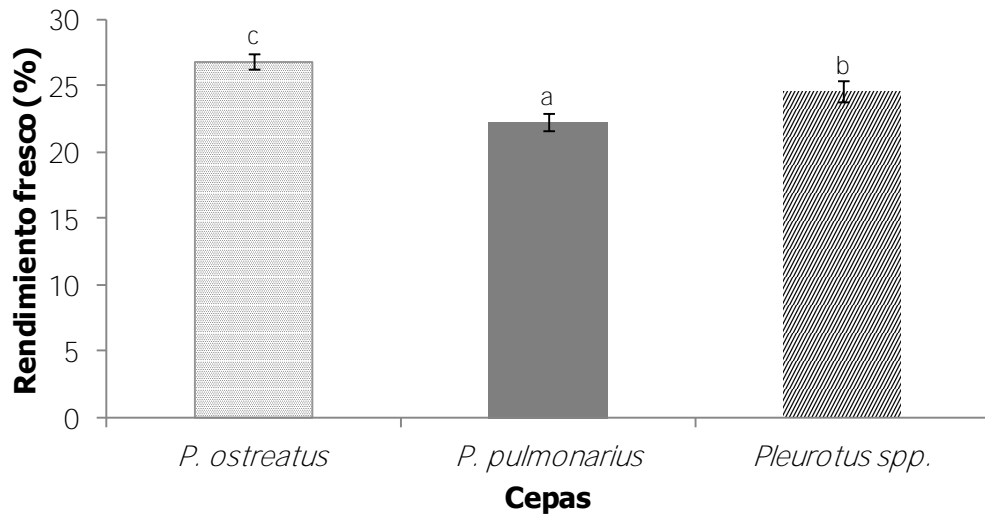


Figura 12. Rendimiento base fresca en porcentaje de la cosecha total de las tres cepas de *Pleurotus* spp. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Rendimiento base seca

En el rendimiento base seca no se encontraron diferencias significativas entre las cepas de *Pleurotus* spp., en cambio sí las hubo entre los sustratos (Anexo 2, Figura 13). El rendimiento fue 5,6% mayor en *J. curcas* que en *D. decumbens*, que obtuvieron 14,8% y 9,2%, respectivamente. Rodríguez (2004) obtuvo un valor similar en paja de arroz con *P. ostreatus* (10,99%). Los distintos rendimientos se pueden dar por las diferencias en el contenido mineral (Cuadro 2) y en la composición de ambos sustratos (Cuadro 3) (Romero *et al.*, 2010).

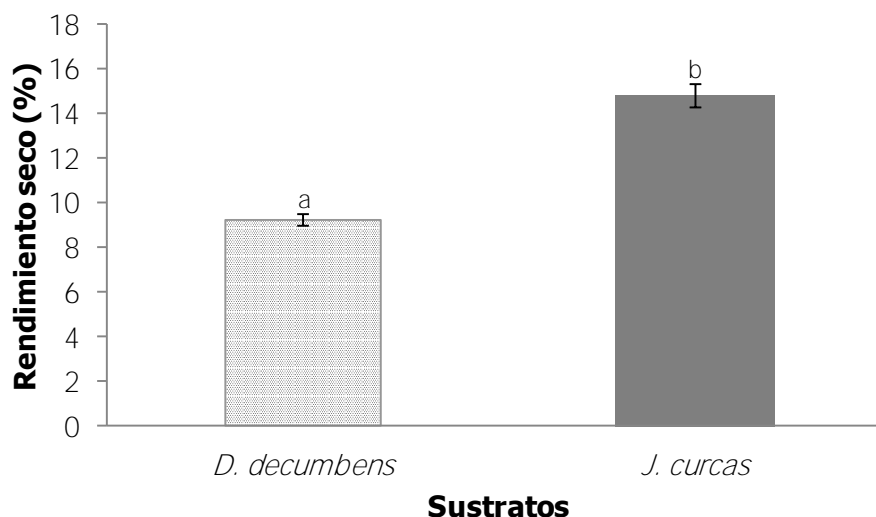


Figura 13. Rendimiento base seca en porcentaje de la cosecha total de hongos desarrollados en los sustratos de *D. decumbens* y *J. curcas*. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,05\%$.

Caracterización del sustrato

Contenido mineral

Cuadro 2. Análisis químico de los sustratos iniciales y de los sustratos finales de las cepas *P. ostreatus* (1-20), *P. pulmonarius* (1-26) y *Pleurotus* spp. (1-37).

Sustrato	Cepa	Porcentaje (%)						mg/kg					Relación	
		N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B	C/N	
<i>J. curcas</i>	Inicial*	Sin	1,17	0,16	0,69	0,44	6,29	0,11	92	11	22	373	70	37:1
	Final**	1-20	1,08	0,04	3,03	0,57	4,29	0,13	228	11	19	432	43	36:1
		1-26	1,20	0,06	5,31	0,66	4,78	0,13	668	11	37	540	28	30:1
		1-37	1,63	0,12	2,58	0,77	5,38	0,16	443	16	31	640	56	24:1
<i>D. decumbens</i>	Inicial*	Sin	0,54	0,11	0,42	0,22	0,62	0,16	159	7	54	289	4	72:1
	Final**	1-20	0,71	0,07	5,13	0,46	0,07	0,16	1413	12	72	1039	7	38:1
		1-26	0,58	0,05	3,33	0,54	0,21	0,15	413	8	69	726	5	52:1
		1-37	0,62	0,07	4,21	0,38	0,32	0,15	1371	13	58	721	8	47:1

Nota= 1 muestra/tratamiento

*= sustrato seco antes de la siembra

**= sustrato después de la cosecha

En general, los porcentajes de fósforo (P) y potasio (K) en los sustratos finales disminuyeron en comparación con los sustratos sin sembrar para las tres cepas. Lo mismo sucedió con los valores de algunos microelementos como zinc (Zn) y boro (B), lo que podría indicar que el hongo mediante sus enzimas logró disponer en menor o mayor facilidad de los nutrimentos aportados por cada sustrato para su crecimiento (Rodríguez, 2004).

Los macroelementos tales como el nitrógeno (N), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) y los microelementos: hierro (Fe), cobre (Cu) y manganeso (Mn), tuvieron una tendencia al incremento en los sustratos finales, en comparación con los sustratos sin sembrar. Según Alvarado (2012. Comunicación personal) esto puede deberse al aporte del micelio, resultado de su interacción con los granos de arroz (donde se reproduce el inóculo o semilla) y al aporte de los elementos en los mismos.

Para obtener resultados más representativos del contenido químico de cada elemento se requiere de un mayor número de análisis de muestras.

Relación Carbono/Nitrógeno

Respecto a la relación C/N, según Cho (2004) el hongo ostra necesita menos nitrógeno y más carbono, por lo tanto puede crecer sobre varios materiales de desecho de la agricultura, con el uso de diferentes tecnologías y por eso, la mayoría de la materia orgánica que contiene celulosa, hemicelulosa o lignina puede ser usada como sustrato para la producción de los hongos.

Lo anterior explica cómo se ve afectada la relación C/N, en la que según Rodríguez (2004) disminuye al producirse los hongos, ya que éstos utilizan los compuestos de carbono y se incrementa el nitrógeno en el residuo, por la presencia de micelio en el sustrato; lo que concuerda con los datos respecto a la relación C/N de todos los sustratos finales, que disminuyeron con relación a los sustratos secos (sin sembrar) y las relaciones C/N de las cáscaras de los frutos de *J. curcas* tanto sin sembrar (seco) como después de la cosecha fueron menores que las presentadas en la paja seca de *D. decumbens* (Cuadro 2).

Composición de los sustratos

Cuadro 3. Análisis de proteína cruda (PC), cenizas (Ce), digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS), lignina (Lig), celulosa (Celu) y hemicelulosa (Hemi), en porcentaje, de los sustratos iniciales y de los sustratos finales de cada una de tres cepas de *Pleurotus* spp.

Sustrato		Cepa	PC (%)	Ce (%)	DIVMS (%)	Lig (%)	Celu (%)	Hemi (%)
<i>J. curcas</i>	Inicial*	Sin	5,10	12,60	57,20	13,40	36,20	12,50
	Final**	1-20	5,80	14,30	78,10	4,90	15,60	9,40
		1-26	4,90	17,40	76,50	4,60	26,00	8,70
		1-37	6,90	17,00	71,20	5,80	30,20	0,10
<i>D. decumbens</i>	Inicial*	Sin	3,42	12,09	46,82	7,98	41,06	17,10
	Final**	1-20	4,00	19,95	52,48	5,75	40,63	3,38
		1-26	3,70	19,00	72,60	1,50	36,80	8,70
		1-37	3,30	21,60	73,20	4,00	32,00	9,80

Nota= 1 muestra/tratamiento

* = sustrato seco antes de la siembra

** = sustrato después de la cosecha

Según el cuadro anterior, en términos generales hay una mejoría en los parámetros de calidad por la acción del crecimiento de los hongos, comparando los sustratos secos (iniciales) y los sustratos finales. Se puede observar un incremento en los aspectos: proteína cruda, cenizas y digestibilidad *in vitro* de la materia seca; y un decrecimiento en las fracciones de la fibra: lignina, celulosa y hemicelulosa.

Ortega *et al.* (2005) explica en su investigación que el incremento en el contenido de cenizas en el sustrato final es el resultado de un intercambio mineral entre el sustrato y los cuerpos fructíferos formados. En el Cuadro 3 se observa que sucede lo mismo, donde se produce un incremento en el contenido de cenizas del 28,84% en el sustrato final de *J. curcas* y un incremento del 66,94% en el sustrato de *D. decumbens*.

El hongo ostra logra la degradación de las fracciones de la fibra mediante la acción de las enzimas peroxidadasas, lacasas y celulasas, que actúan sobre el sustrato (Cohen *et al.*, 2002; citado por Bonilla-Lavado *et al.*, 2006), para así poder obtener el carbono necesario para su crecimiento y formación de biomasa (López-Rodríguez *et al.*, 2008).

Según el Cuadro 3, comparando las fracciones lignina, celulosa y hemicelulosa entre los sustratos iniciales de *J. curcas* y de *D. decumbens*, el contenido de lignina de 13,4% es mayor en el sustrato seco (inicial) de *J. curcas*, mientras que *D. decumbens* presenta mayor contenido de celulosa y hemicelulosa (41,06% y 17,6%, respectivamente). La lignina y la celulosa de *J. curcas* fueron usadas en mayor grado por las tres cepas, los bajos valores de lignina y celulosa del sustrato final de *J. curcas* son similares a los del sustrato final de *D. decumbens*, esto explicaría la alta eficiencia biológica obtenida con las cáscaras de *J. curcas* (Figura 11).

La fibra o pared celular del material vegetal que sirve como sustrato para la producción del hongo ostra, está constituida por diferentes cantidades de celulosa, hemicelulosa, lignina, entre otros (Sánchez y Soto, 1997), las cuales varían en función del sustrato, por lo que las cepas de *Pleurotus* pueden actuar diferente dependiendo de la disponibilidad de las fracciones de la fibra del sustrato original y sobre los cambios dinámicos sobre la digestión que puede ocurrir cuando esas fracciones cambian durante el crecimiento del hongo (Sánchez *et al.*, 2002).

La fibra es indigerible o de lenta digestibilidad para los animales, debido a la presencia de lignina y otros componentes (Sánchez y Soto, 1997), por lo que, *Pleurotus* spp. al crecer bien sobre diferentes tipos de materiales lignocelulósicos, los puede convertir en sustancias digeribles y ricas en proteínas para alimento de animales (Quimio, 1986; citado por Quimio *et al.*, 1990). Por ejemplo, Rodríguez (2004) encontró que después de la producción de *P. ostreatus*, la digestibilidad incrementó en los sustratos finales, 18% en la paja de arroz y 42% en las brácteas de la piña. Un resultado similar fue encontrado por Sánchez *et al.* (2002) la digestibilidad *in vitro* de la materia seca en el sustrato de paja de arroz pasó de 19,7% a 29,8% después de la producción de los hongos ostra. El hongo mejoró la digestibilidad principalmente por incremento en la digestión de la celulosa. Según estos autores, el mejoramiento en la calidad de la paja de arroz dependió de la especie de hongo, fracciones botánicas y la preparación del sustrato antes de la descomposición por el hongo.

En la presente investigación, la digestibilidad inicial de las cáscaras de *J. curcas* fue más alta (57,2%) que la de *D. decumbens* (46,82%), indicando que las cáscaras de *J. curcas* evaluadas presentan buena digestibilidad por sí solas y mejoró debido al crecimiento de los hongos, incrementándose a 75,27% y en *D. decumbens* incrementó

a 66,09%. Ambos valores reflejan la gran capacidad enzimática de las tres cepas del hongo ostra evaluadas. El mayor porcentaje de digestibilidad obtenido en el sustrato final de *J. curcas*, probablemente se debió a la degradación en mayor medida de su contenido de lignina y celulosa.

Lo expuesto anteriormente, indica que las cáscaras de los frutos de *J. curcas* posiblemente serían un buen complemento a la dieta de rumiantes, sin embargo se debe tener presente que se necesitan investigaciones dirigidas a analizar los distintos compuestos tóxicos/antinutricionales en las distintas partes de la planta de *J. curcas*.

Composición química de los hongos

Cuadro 4. Porcentaje de cenizas y proteína (base seca) de una muestra representativa de cada cepa de *Pleurotus* spp. en los sustratos *J. curcas* y *D. decumbens*.

Hongos		Ceniza (%)	Proteína (%)
<i>J. curcas</i>	<i>P. ostreatus</i>	9,38	24,0
	<i>P. pulmonarius</i>	8,11	24,1
	<i>Pleurotus</i> spp.	6,96	21,6
<i>D. decumbens</i>	<i>P. ostreatus</i>	5,22	25,6
	<i>P. pulmonarius</i>	6,54	33,2
	<i>Pleurotus</i> spp.	6,82	33,3

Los valores obtenidos en cuanto a cenizas y proteína del Cuadro 4, se encuentran dentro de los rangos recopilados por Oei (2003) en cuanto a la composición de *Pleurotus* spp., siendo el contenido de proteína de 13-30,4% y de cenizas de 6,1-9,8%.

En general, se puede decir que los porcentajes de ceniza presentes en los hongos desarrollados sobre el sustrato de *J. curcas* tienen una tendencia a ser mayores que los de *D. decumbens*, mientras que los porcentajes de proteína son mayores en los hongos producidos en *D. decumbens* (Cuadro 4). Sin embargo, se requiere de un mayor número de muestras para definir con mayor precisión el efecto de la composición del sustrato sobre los porcentajes de cenizas y proteína.

Análisis de toxicidad

Las muestras de las cáscaras y semillas de *J. curcas*, además de los hongos crecidos en *J. curcas* se analizaron bajo las mismas condiciones en las que se analizó el éster de forbol estándar (PMA) y no se encontraron trazas de éste (Figuras 14 y 15).

En estas figuras las flechas indican la respuesta esperada en caso de detección de PMA, tal y como se observa en la Figura 14.a y en la Figura 15.a. Nótese la ausencia de respuesta en el segmento de 10,11 min en las Figuras 14.b, 14.c y 14.d, que sí se observa en la Figura 14.a. con el PMA estándar y en el segmento de 9,88 min en las Figuras 15.b y 15.c, que sí se observa en la Figura 15.a. con el PMA estándar. Estos resultados concuerdan con los datos reportados para las plantas no tóxicas de *J. curcas* en México (Makkar y Becker, 2009).

Makkar *et al.* (1998b) en una de sus investigaciones buscaron la presencia de los ésteres de forbol (PMA) en siete muestras de semillas de plantas comestibles (no tóxicas) de *J. curcas* de los estados de Veracruz y Quintana Roo en México, donde presentan menores niveles de factores antinutricionales y tóxicos en sus semillas; en cuatro de esas muestras de semillas analizadas no se detectó el PMA, mientras que en las otras tres muestras los niveles del principal agente tóxico (PMA) fueron más bajos que las plantas comestibles provenientes de Veracruz. Según Makkar *et al.* (1997), existen diferencias entre la misma especie cultivada en distintos lugares y con base en los resultados obtenidos, donde no hay presencia de PMA, las condiciones del suelo, climáticas y genéticas (según el país de origen), posiblemente incidieron en que fueran no tóxicas (Martínez-Herrera *et al.*, 2006).

Las plantas no tóxicas de *J. curcas* podrían ser una fuente de proteína para humanos y ganado (Makkar *et al.*, 1998b). Además, el sustrato final de las cáscaras de *J. curcas* después de la producción del hongo ostra, podría servir como complemento en la dieta de animales, especialmente por su alta digestibilidad *in vitro* de la materia seca. Las cáscaras como sustrato para el cultivo de hongos ostra, resultó ser provechoso, ya que presentó altos porcentajes de eficiencia biológica y mayor peso seco de la cosecha total.

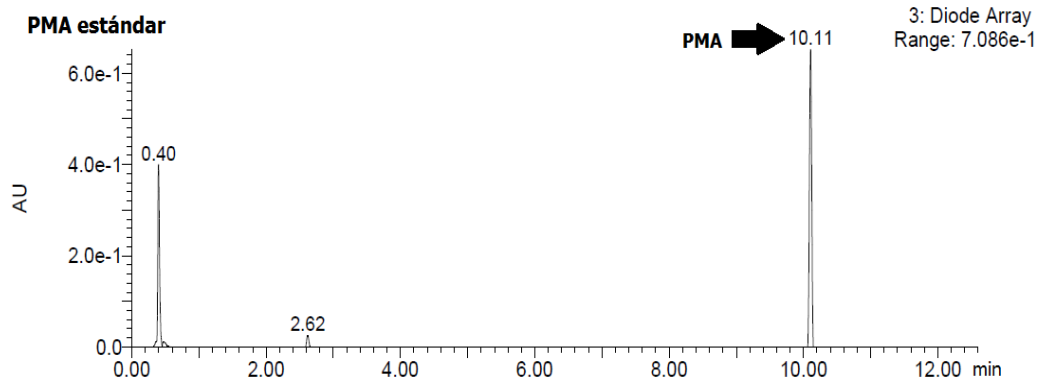
A pesar de todos esos aspectos positivos anteriormente mencionados, aún existe la necesidad de realizar estudios, orientados a analizar las diferencias entre plantas de distinto origen y en detalle de cada parte de la planta.

Los ésteres de forbol juegan un rol importante en la activación de la proteína Kinasa C (PKC), lo que desencadena varias respuestas celulares, como en el desarrollo de tumores. La presencia de ésteres de forbol en algunas plantas de importancia agroeconómica, limitan su uso como alimento animal. Sin embargo, se ha evaluado el uso de tratamientos con calor seguido de una extracción con solventes, los cuales pueden remover los ésteres de forbol, lo que podría resultar en la eliminación de muchos de los antinutrientes y toxinas (Goel *et al.*, 2007), incrementando los posibles usos, tomando en cuenta la viabilidad económica de la aplicación de esos tratamientos.

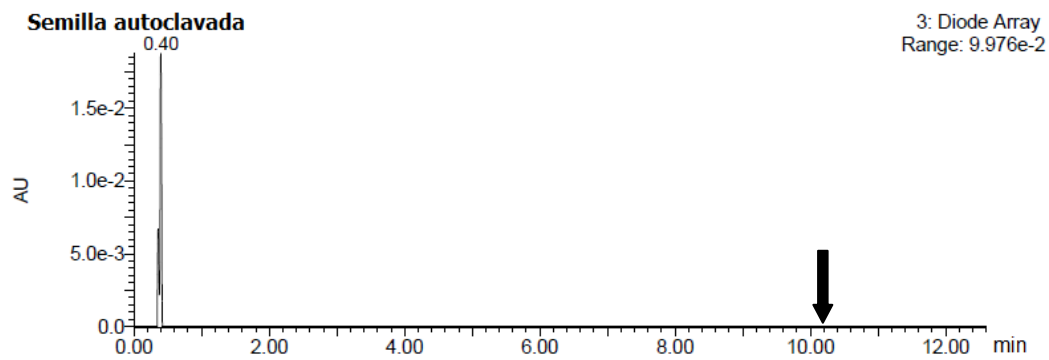
En un estudio de destoxificación, se alimentaron peces con la pasta de la extracción del aceite previamente tratada con calor, presentándose el 100% de mortalidad. Sin embargo, la extracción del aceite con etanol al 92% (o éter etílico) dio como resultado una pasta comestible para los peces (Gross *et al.*, s.f.; citado por DelaVega, 2007).

Es importante aclarar que se requiere de un mayor número de estudios que los realizados en esta investigación para poder determinar si los basidiomas se pueden consumir o no, además de tomar en consideración la viabilidad económica de cualquier método de destoxificación.

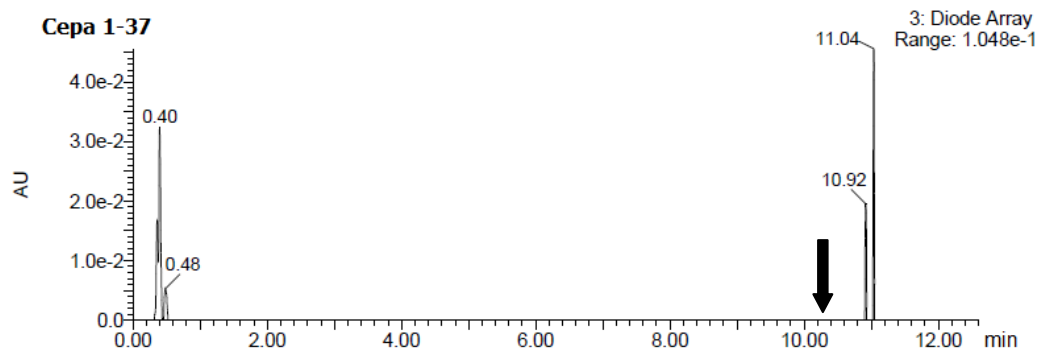
a.



b.



c.



d.

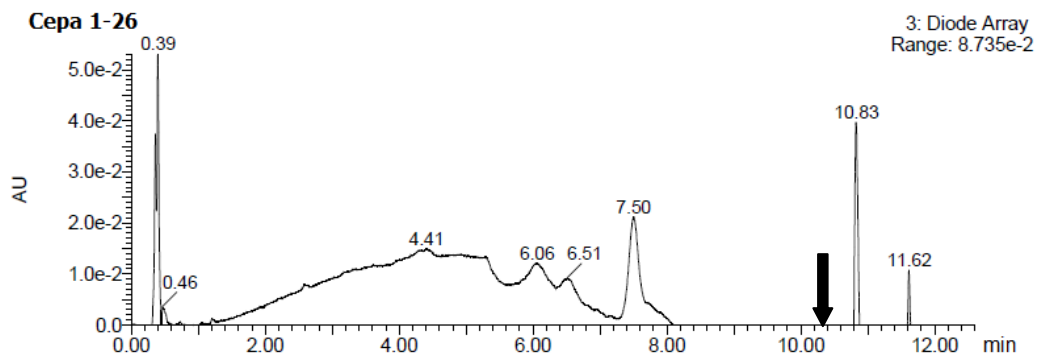
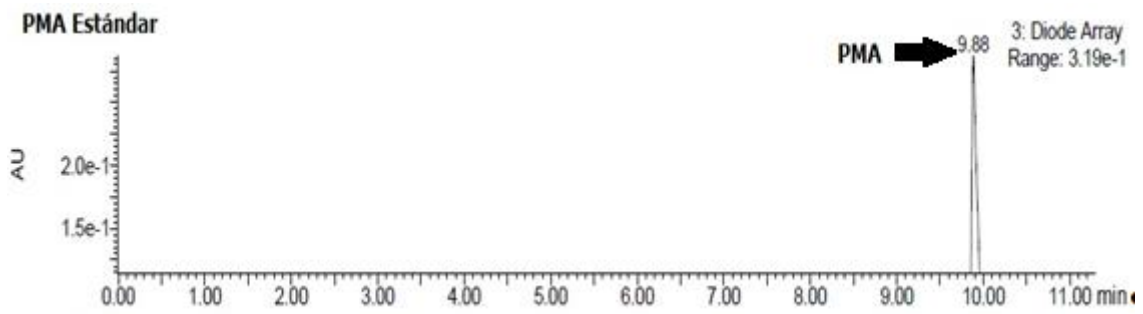
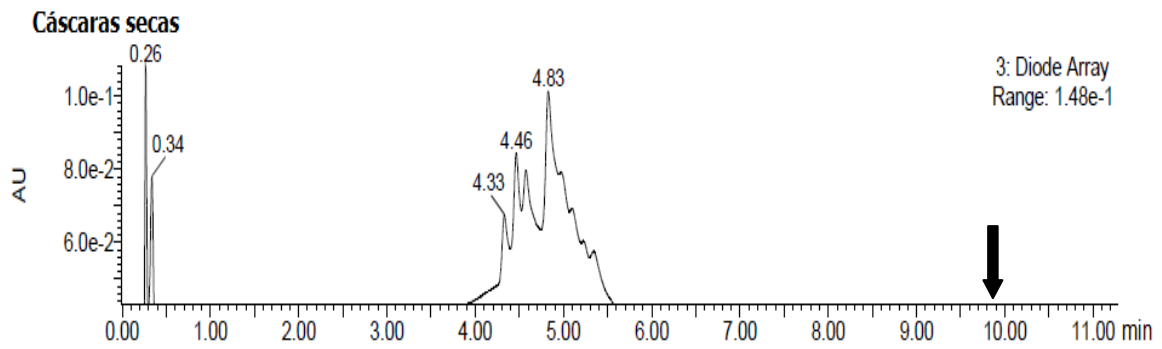


Figura 14. Cromatogramas. **a.** PMA estándar. **b.** Semilla de *J. curcas* autoclavada. **c.** Hongos de la cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.) crecidos en *J. curcas*. **d.** Hongos de la cepa 1-26 (*P. pulmonarius*) crecidos en *J. curcas*.

a.



b.



c.

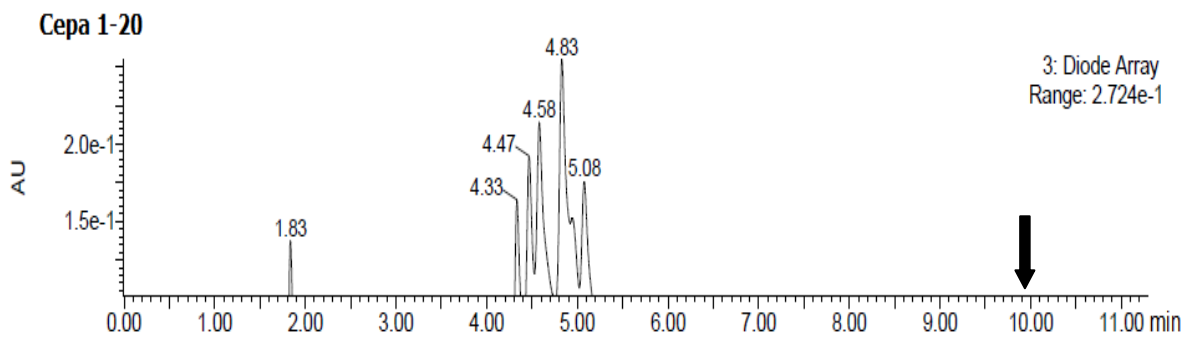


Figura 15. Cromatogramas. **a.** PMA estándar. **b.** Cáscaras secas de *J. curcas*. **c.** Hongos de la cepa 1-20 (*P. ostreatus*) crecidos en *J. curcas*.

CONCLUSIONES

El crecimiento de las cepas *Pleurotus* spp., *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* sobre las cáscaras de *J. curcas* fue similar al presentado en *D. decumbens*, en cuanto al número de días de la fase de incubación y del ciclo total de producción.

El ciclo productivo más corto se presentó con la cepa *P. ostreatus*, 70 días después de la inoculación en *D. decumbens* y 81 días después de la inoculación en *J. curcas*, este dato puede favorecer la producción comercial, ya que se obtendría en menos tiempo la producción necesaria para comercializar.

La caracterización productiva (número y diámetro de basidiomas) de la cepa 1-37 (*Pleurotus* spp.), dio un menor número de basidiomas (22 aproximadamente), pero de un mayor tamaño (diámetro promedio de 8,3 cm), comparado con las cepas *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*.

El sustrato utilizado de cáscaras de *J. curcas* resultó con una alta eficiencia biológica (134-165,4%) para la producción de *Pleurotus* spp.

El porcentaje de digestibilidad *in vitro* de la materia seca de las cáscaras de los frutos de *J. curcas*, tanto sin sembrar (57,2%) como en el sustrato final (75,27%), favorecería su uso como complemento de la dieta en animales.

No se detectó la presencia del PMA (principal compuesto tóxico) en las cáscaras de los frutos de *J. curcas* analizadas en esta investigación, ni en los basidiomas cosechados en este sustrato, lo que indica que el sustrato evaluado podría ser no tóxico.

RECOMENDACIONES

1. A pesar de que el método de detección de la presencia del éster de forbol (PMA) y el equipo utilizado en este trabajo de investigación son indicados para este tipo de análisis, se recomienda investigar con otros métodos como por ejemplo Resonancia Magnética Nuclear, para determinar posibles diferencias en la detección del éster de forbol.
2. Se recomienda evaluar la torta de las semillas de *J. curcas* como sustrato o suplemento para el cultivo de *Pleurotus* spp. y sus posibles usos.
3. Es importante determinar otros componentes antinutricionales que puedan estar presentes en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* spp. desarrollados sobre las cáscaras *J. curcas* de plantas tóxicas y no tóxicas.
4. Realizar proyectos de investigación interdisciplinarios, donde se pueda complementar los conocimientos agronómicos con otros ensayos, como los biológicos en animales de experimentación, para el beneficio del productor de hongos comestibles y del cultivo de *J. curcas*.
5. Al no encontrarse trazas de PMA en las semillas autoclavadas del material vegetal evaluado, es necesario para futuros trabajos de investigación analizar las semillas de plantas tóxicas, sin autoclavar y sin adicionar Carbonato de Calcio (cal), para poder evaluar si este método de pasteurización tiene algún efecto sobre el contenido de los compuestos tóxicos y antinutricionales de *J. curcas*.

LITERATURA CITADA

- ADERIBIGBE, A.O.; JOHNSON, C.O.L.E.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; FOIDL, N. 1997. Chemical composition and effect of heat on organic matter- and nitrogen-degradability and some antinutritional components of *Jatropha* meal. *Animal Feed Science Technology*. 67:223-243.
- AHMED, S.A.; KADAM, J.A.; MANE, V.P.; PATIL, S.S.; BAIG, M.M.V. 2009. Biological efficiency and nutritional contents of *Pleurotus florida* (Mont.) Singer cultivated on different agro-wastes. *Nature and Science*. 7(1):44-48.
- AHMED, W.A.; SALIMON, J. 2009. Phorbol ester as toxic constituents of tropical *Jatropha curcas* seed oil. *European Journal of Scientific Research*. 31(3):429-436.
- AREGHEORE, E.M.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. 1998. Assessment of lectin activity in a toxic and a non-toxic variety of *Jatropha curcas* using latex agglutination and haemagglutination methods and inactivation of lectin by heat treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77:349-352.
- ARUMUGAM, G. 2007. Proyect profile. The State Trading Corporation of India Ltd (STC), Enhanced Biofuels & Technologies (India) Pvt. Limited (EBT). Haiti Innovation: Choice, Partnership, Community. Consultado el 17 de agosto de 2008. Disponible en: <http://www.haitiinnovation.org/en/comment/reply/1386/1503#comment-1503>
- ALVARADO, G. 2012. Comunicación personal. Laboratorio de Bioquímica en Procesos Orgánicos, Centro de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.
- BONILLA-LAVADO, H.A.; VÁSQUEZ-ACOSTA, N.B.; RUBIANO-RODRÍGUEZ, J.A. 2006. Evaluación de residuos orgánicos (coco y aserrín) como sustratos para la producción de *Pleurotus ostreatus* (Jacq; Fr.) en Buenaventura. *Revista Institucional*. Universidad Tecnológica del Chocó D.L.C. N°24: 54-59.

- BREENE, W.M. 1990. Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *Journal of Food Protection* 53(10):883-894.
- BRENES, G. 2002. Producción del hongo comestible *P. ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Quélet. sobre pulpa de café ensilada. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar. Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional. San José, Costa Rica. 77 p.
- CALVO, E. 2006. Biocombustibles de plantas para producción de biodiesel. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 72(1):44-48.
- CARDONA, L.F. 2001. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. *Crónica forestal y del medio ambiente*. No. 16.
- CEPAL. 2007. Perspectivas para el biodiesel en Centroamérica: Costa Rica, El Salvador, Guatemala y Honduras. Consultado el 11 de mayo de 2012. Disponible en: <http://www.eclac.cl/publicaciones/xml/3/29423/L791-2.pdf>
- CHA, J.S. 2004. Pest and disease management. **In** Oyster Mushroom Cultivation. **Mushroom Growers' Handbook 1. MushWorld. Korea. 298 p.**
- CHO, S.B. 2004. What is Mushroom. **In** Oyster Mushroom Cultivation. **Mushroom Growers' Handbook 1. MushWorld. Korea. 298 p.**
- CIFUENTES-JARA, M.; FALLOT, A. 2009. *Jatropha curcas* como biocombustible: estado actual del cultivo en Mesoamérica. *Recursos Naturales y Ambiente*. 56-57:165-169. Consultado el 30 de mayo de 2012. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A4814E/A4814E.PDF>
- CONTRERAS, P.S.; GARCÍA, S.L.; TRIGOS, A.R. 2005. Manual ARPCC para la producción de setas y *shii-take* crudos. Universidad Veracruzana. Xalpa, Vracruz, México. 82 p.
- DAS, N.; MUKHERJEE, M. 2007. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plants. *Bioresource Technology*. 98:2723-2726.

- DE ARRUDA, F.P.; DE MACÊDO, N.E.; PEREIRA, A.; PEREIRA, W.E; SOARES, L. 2004. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. Rev. bras. ol. fibros. Campina Grande, Brasil. 8(1):789-799.
- DELAVEGA, J.A. 2007. *Jatropha curcas* L. Agro-Energía. Consultado el 5 de mayo de 2012. Disponible en: <http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Documento/JatrophaContrataciones/MANUAL-JATROPHA.pdf>
- DELMAS, J. 1989. Les champignons et leur culture. Flammarion, La Mansio Rustique. París, Francia. 970 p.
- DI RIENZO, J.; BALZARINI, M.; GONZÁLEZ, L.; CASANOVES, F.; TABLADO, M. 2009. InfoStat: Software Estadístico.
- FERNÁNDEZ, F. 2004. Guía práctica de producción de setas (*Pleurotus* spp.). Fungitec Asesorías. Guadalajara, Jalisco, México. 54 p. Consultado el 20 de enero de 2012. Disponible en: http://www.grupofungitech.com/El_Cultivo_de_Setas.pdf
- GAITÁN-HERNÁNDEZ, R.; SALMONES, D.; PÉREZ, R.; MATA, G. 2002. Manual práctico para el cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México. 56 p.
- GOEL, G.; MAKKAR, H.P.S.; FRANCIS, G.; BECKER, K. 2007. Phorbol Esters: Structure, Biological Activity, and Toxicity in Animals. International Journal of Toxicology 26:279-288.
- GÜBITZ, G.M.; MITTELBAACH, M.; TRABI, M. 1999. Exploitation of the tropical oil seed plant *J. curcas* L. Bioresource Technology 67:73-82.
- HELLER, J. 1996. Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany / International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 66 p.

- HILL, J.; NELSON, E.; TILMAN, D.; POLASKY, S.; TIFFANY, D. 2006. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. PNAS 103(30):11206-11210.
- INE. 2008. Análisis integrado de las tecnologías, el ciclo de vida y la sustentabilidad de las opciones y escenarios para el aprovechamiento de la bioenergía en México. Instituto Nacional de Ecología (INE). Consultado el 22 de mayo de 2012. Disponible en: http://www.ine.gob.mx/descargas/cclimatico/e2008e_bioenergia.pdf
- KING, A.J.; HE, W.; CUEVAS, J.A.; FREUDENBERGER, M.; RAMIARAMANANA, D.; GRAHAM, I.A. 2009. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. Journal of Experimental Botany. 60(10):2897-2905.
- KONG, W.S. 2004. Descriptions of commercially important *Pleurotus* species. **In** Oyster Mushroom Cultivation. **Mushroom Growers' Handbook 1**. MushWorld. Korea. 298 p.
- LOBO, S. 2009. Las plantas como generadoras de biocombustibles: el caso de *Jatropha curcas* L. Boletín electrónico del Museo Nacional de Costa Rica, 2(9). Consultado el 4 de mayo de 2012. Disponible en: http://www.museocostarica.go.cr/es_cr/en-detalle/los-biocombustibles.html?Itemid=115
- LÓPEZ-RODRÍGUEZ, C.; HERNÁNDEZ-CORREDOR, R.; SUÁREZ-FRANCO, C.; BORRERO, M. 2008. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Universitas Scientiarum 17(2):128-137.
- MACAYA-LIZANO, A.V. 1988. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y especies afines (Fungi: Pleurotaceae) sobre medios naturales semi-estériles. Revista de Biología Tropical. 36(2A):255-260.

- MAGINGO, F.S.; ORIYO, N.M.; KIVAISI, A.K. 2004. Cultivation of *Oudemansiella tanzanica* nom. prov. on agricultural solid wastes in Tanzania. *Mycologia*. 96(2):197-204.
- MAHARSHI, A. 2007. The Plant-Profile. Centre for Jatropha Promotion & Biodiesel. Consultado el 17 de agosto de 2007. Disponible en: www.jatrophaworld.org/9.html
- MAKKAR, H.P.S.; ADERIBIGBE, A.O.; BECKER, K. 1998a. Comparative evaluation of non-toxic varieties of *J. curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. *Food Chemistry* 62(2):207-215.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; SCHMOOK, B. 1998b. Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*. 52:31-36.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. 1999. Plant Toxins and Detoxification Methods to Improve Feed Quality of Tropical Seeds. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 12(3):467-480.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. 2009. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. *European Journal of Lipid Science and Technology* 111:773-787.
- MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; SPORER, F.; WINK, M. 1997. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:3152-3157.
- MANDEEL, Q.A.; AL-LAITH, A.A.; MOHAMED, S.A. 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 21:601-607.
- MARTÍNEZ, N. 2002. CANIA (Centro de Atención Nutricional Infantil Antemano). Boletín de Nutrición Infantil. Año 4. N° 8. Noviembre. Consultado el 25 de agosto de 2008. Disponible en: <http://www.cania.org.ve/PDF/boletin8.pdf>

- MARTÍNEZ-HERRERA, J.; CHEL-GUERRERO, L.; MARTÍNEZ-AYALA, A.L. 2004. The nutritional potential of Mexican piñon (*Jatropha curcas*). Toxic and antinutritional factors. **In** Recent Advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds. EAAP Publication N° 110. Toledo, Spain. 385 p.
- MARTÍNEZ-HERRERA, J.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G.; DÁVILA-ORTÍZ, G.; BECKER, K. 2006. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. Food Chemistry 96:80-89.
- MATA, M.H. 1999. Macrohongos de Costa Rica. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). Heredia, Costa Rica. 265 p.
- MATA, M. 2003. Macrohongos de Costa Rica. Segunda edición. Vol. 1. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). Heredia, Costa Rica. 256 p.
- MATA, G.; GUZMÁN, G. 1993. Cultivation of *Lentinus boryanus* in wood shavings in Mexico. Cryptogamic Botany. 4:47-49.
- MONCAIO, E.; HORII, J.; FILLET, M.H. 2005. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. Scientia Agricola. (Piracicaba, Brazil) 62(2):127-132.
- MOREIRA, G.F.; MOREIRA, C.C.; ANDALÓ, V.; MOINO, A.; CARDOSO-FREIRE, M.M.; SOUZA, E. 2010. Laboratory rearing technique and biology of *Mycotretus apicalis* (Coleoptera: Erotylidae) on dried *Pleurotus sajor-caju* mushrooms. Revista Colombiana de Entomología. 36(2):342-345.
- OEI, P. 2003. Mushroom cultivation: Appropriate technology for mushroom growers. Third edition. Backhuys Publishers, Leiden. The Netherlands. 428 p.
- ORTEGA, G.M.; BUENO, G.; BETANCOURT, D.; ÁLVAREZ, I.; GONZÁLEZ, A.L. 2005. Biotransformación de residuos lignocelulósicos con hongos *Pleurotus*. Revista CENIC Ciencias Biológicas. Vol. 36. Consultado el 15 de abril de 2012. Disponible en: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/files/CB-2005-4-CB-084.pdf>

- OSKOUÉIAN, E.; ABDULLAH, N.; ZUHAINIS, W.; RAHMAN, A.; AHMAD, S.; BIN, W.; AZLINA, N.; HENDRA, R.; WAN, Y. 2011. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(1):49-57.
- QUIMIO, T.H. 2004. Why grow mushrooms. **In** Oyster Mushroom Cultivation. **Mushroom Growers' Handbook 1. MushWorld. Korea. 298 p.**
- QUIMIO, T.H.; CHANG, S.T.; ROYSE, D.J. 1990. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. FAO. Roma, Italia. 155 p.
- QUINTERO, J.C. 2011. Revisión: Degradación de plaguicidas mediante los hongos de la pudrición blanca de la madera. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín.* 64(1): 5867-5882. Consultado el 19 de mayo de 2012. Disponible en: <http://www.agro.unalmed.edu.co/publicaciones/revista/docs/12.RevisionDegradaciondeplaguicidasmediantehongos.pdf>
- RODRÍGUEZ, R. 2004. Evaluación de la utilización de subproductos agrícolas como sustrato para la producción de setas comestibles (*P. ostreatus*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 92 p.
- ROMERO, O.; HUERTA, M.; DAMIÁN, M.A.; MACÍAS, A.; TAPIA, A.M.; PARRAGUIRRE, J.F.C.; JUÁREZ, J. 2010. Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de plátano (*Musa paradisiaca* L., cv. Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. *Agronomía Costarricense* 34(1):53-63.
- SALMONES, D.; GAITÁN-HERNÁNDEZ, R.; PÉREZ, GUZMÁN, G. 2012. Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Revista Iberoamerica de Micología.* 14:173-176.
- SÁNCHEZ, J.M.; SOTO, H. 1997. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos II. Componentes de la pared celular. Serie Técnica. *Nutrición Animal Tropical.* 4(1):3-22

- SÁNCHEZ, A.; YSUNZA, F.; BELTRÁN-GARCÍA, M.J.; ESQUEDA, M. 2002. Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50:2537-2542.
- SENA. 2012. Mercado. Hongos comestibles y medicinales. Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). Colombia. Consultado el 22 de mayo de 2012. Disponible en: <http://hongossenacaldas.blogspot.com/p/mercado.html>
- SILVEIRA, V.D. 1995. *Micología*. 5. ed. Âmbito Cultural Edições Ltda. Rio de Janeiro, Brasil. 336 p.
- STAMETS, P. 1993. *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Ten Speed Press. Olympia, WA. 554 p.
- STAMETS, P. 2000. *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Third edition. Ten Speed Press. Berkeley, California, EE.UU. 574 p.
- TORAL, O.C.; IGLESIAS, J.M.; MONTES DE OCA, S.; SOTOLONGO, J.A.; GARCÍA, S.; TORSTI, M. 2008. *Jatropha curcas* L., una especie arbórea con potencial energético en Cuba. *Pastos y Forrajes* 31(3):191-207.
- ULLOA, S. 2011. Evaluación del rendimiento de la producción de biodiesel a partir del aceite de la semilla de *Jatropha curcas* L. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 131 p.
- UREÑA, A. 2012. Comunicación personal. Proyecto Biocombustibles, Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.
- UPADHYAY, R.C.; VERMA, R.N.; SINGH, S.K.; YADAV, M.C. 2002. Effect of Organic Nitrogen Supplementation in *Pleurotus* species. **In** Sánchez *et al.* (eds). 2002. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. UAEM.

VEGA, O. 2012. Comunicados Prensa 2010: Promueven innovación en cultivo de *Jatropha* para impulsar producción de biocombustible. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Consultado el 30 de mayo de 2012. Disponible en: <http://www.iica.int/Esp/prensa/Lists/Comunicados%20Prensa%202009/DispForm.aspx?ID=592>

WINGCHING-JONES, R.; ALVARADO, G. 2009. Valor nutricional del heno de transvala inoculado con el hongo *Pleurotus ostreatus* sp. *Agronomía Costarricense* 33(1):147-153.

ZAMORA, N. 2000. Especies de Costa Rica: *J. curcas* L. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio). Consultado el 17 de agosto de 2008. Disponible en: <http://darnis.inbio.ac.cr/ubis/FMPro?-DB=UBIPUB.fp3&-lay=WebAll&error=norec.html&-Format=detail.html&-Op=eq&id=1441&-Find>

ANEXOS

Anexo 1. Resultado del Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para el periodo de desarrollo de cada fase del cultivo del hongo ostra.

F.V.	gl	Colonización del sustrato		Formación de primordios		Primera cosecha		Segunda cosecha		Tercera cosecha	
		CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p
Modelo	5	2,5	0,3451	322	<0,0001	284,5	<0,0001	994,5	<0,0001	764,5	<0,0001
Sustrato	1	2,5	0,2884	1000	<0,0001	902,5	<0,0001	902,5	<0,0001	302,5	<0,0001
Cepa	2	2,5	0,3243	182,5	<0,0001	167,5	<0,0001	2032,5	<0,0001	1390	<0,0001
Sustrato*Cepa	2	2,5	0,3243	122,5	<0,0001	92,5	<0,0001	2,5	0,6083	370	<0,0001
Error	84	2,19		2,07		3,9		5		5,5	
Total	89										

Anexo 2. Resultado del Análisis de la Varianza (SC Tipo I).

F.V.	gl	Peso Fresco Cosecha		Peso Seco Cosecha		Eficiencia Biológica		Rendimiento Base Fresca		Rendimiento Base Seca		Número de Basidiomas		Diámetro de Basidiomas	
		CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p
Modelo	5	11933,5	0,0	155,1	0,0	12667,35	<0,0001	70,04	0,0005	155,50	<0,0001	2802	<0,0001	21,45	<0,0001
Sustrato	1	4680,0	0,2	380,3	0,0	53017,82	<0,0001	9,34	0,4187	705,04	<0,0001	1095,51	0,0611	18,32	0,0113
Cepa	2	24993,7	0,0	91,0	0,1	4481,06	<0,0001	156,91	0,0001	18,90	0,0735	5886,4	<0,0001	41,40	<0,0001
Sust*Cepa	2	2500,1	0,4	106,5	0,1	678,41	0,1667	13,51	0,389	17,32	0,0910	570,84	0,1592	3,07	0,3297
Error	84	2624,3		42,1		370,70		14,15		7,02		303,92		2,73	
Total	89														

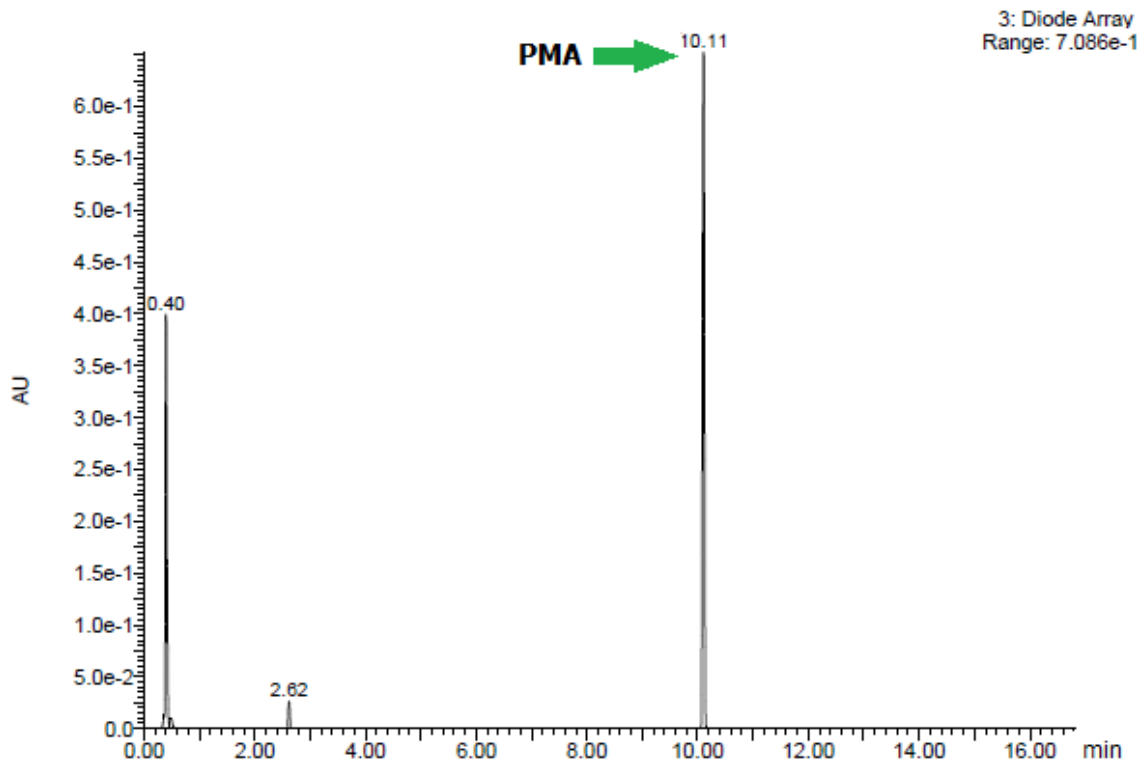
Anexo 3. Resultado del Análisis de la Varianza (SC Tipo III) del diámetro de los basidiomas, agrupados por tamaño.

F.V.	gl	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
		CM	Valor p	CM	Valor p	CM	Valor p
Modelo	5	1098,52	0,0001	136,77	0,24	851,5	<0,0001
Sustrato	1	292,97	0,1994	1,31	0,9087	15,02	0,7089
Cepa	2	2284,79	<0,0001	236,07	0,0986	2049,54	<0,0001
Sustrato*Cepa	2	315,01	0,1718	105,2	0,3505	71,71	0,5144
Error	84	175,12		99,09		107,02	
Total	89						

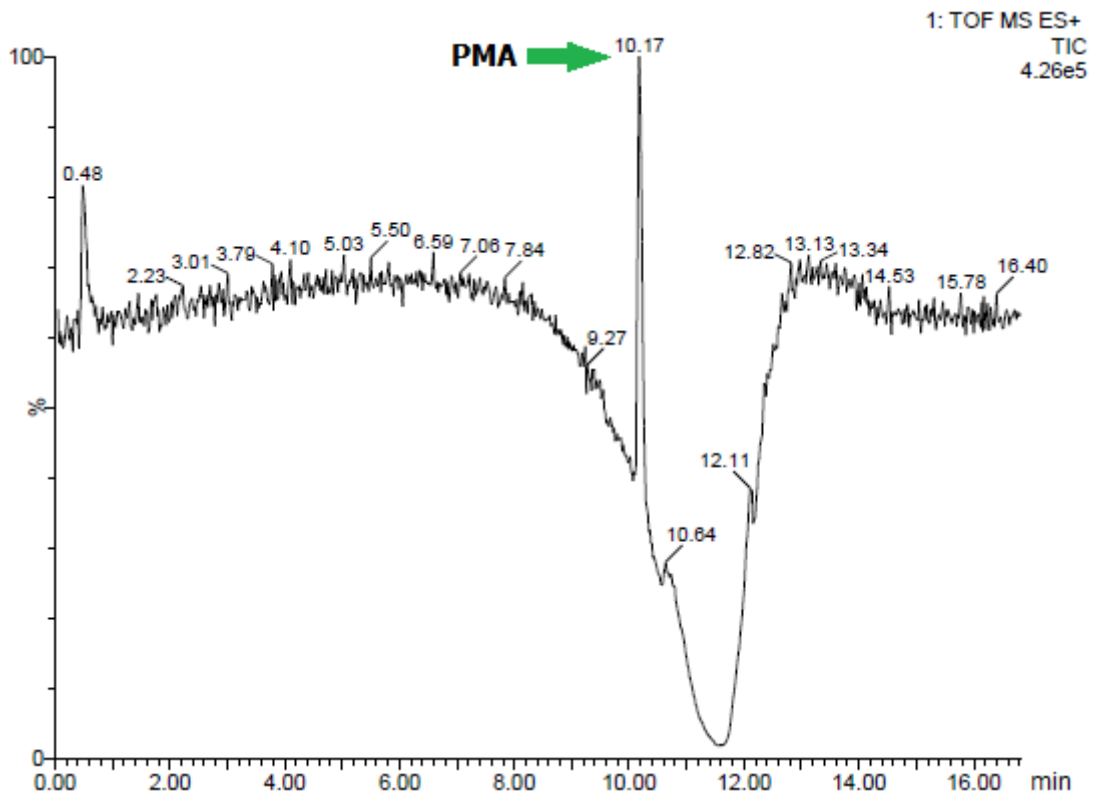
Anexo 4. Porcentaje de fructificaciones de cada cepa de hongo ostra obtenido de cada grupo de diámetro de basidioma. Los promedios seguidos por letras distintas indican diferencias mínimas significativas, $p \leq 0,01\%$ para el factor cepa.

Cepa	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
<i>P. ostreatus</i>	43,16b	42,13a	8,05a
<i>P. pulmonarius</i>	49,03b	40,09a	3,54a
<i>Pleurotus spp.</i>	31,86a	45,64a	19,57b

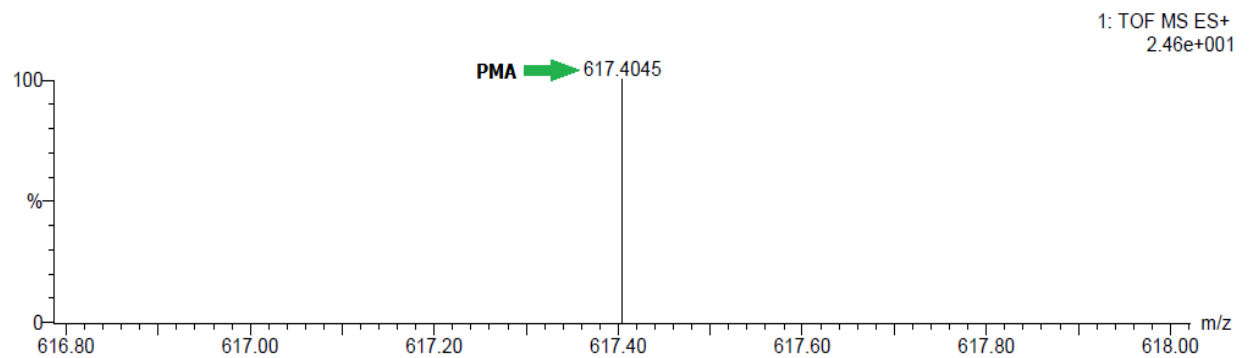
Anexo 5. Cromatograma del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA) estándar.



Anexo 6. Cromatografía Total de Iones (TIC) del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA) estándar.



Anexo 7. Reporte de la masa exacta del forbol-12-miristato 13-acetato (PMA) estándar, con una desviación de 1,3 ppm.



Minimum:				-1.5			
Maximum:	5.0	3.0		50.0			
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	i-FIT (Norm)	Formula
617.4045	617.4053	-0.8	-1.3	8.5	17.2	0.0	C36 H57 O8