

# **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

El champiñón es el hongo comestible más cultivado y antiguo del mundo. Su historia data desde 1650 cuando cultivadores de melón de la región de París, Francia, descubrieron por casualidad esta posibilidad al verlos crecer sobre compost usado, procedente de las camas calientes que contenían estiércol de los cultivos de melones regadas con el agua utilizada para lavar champiñones recolectados (Ardón, 2007).

El *Agaricus bisporus*, también llamado champiñón de París o simplemente champiñón, pertenece al grupo de los basidiomicetos. En general se distinguen dos variedades: Albidus, de color blanco, y avellaneus, crema o pardo más o menos oscuro (López, 1990).

El champiñón como todo hongo carece de clorofila, es un organismo heterótrofo, éstos son todos los seres vivos que no son capaces de sintetizar los hidratos de carbono por lo cual obtiene su alimento absorbiendo compuestos inorgánicos y orgánicos de los sustratos donde se desarrolla (García, 2002).

(García, 2002), afirma que para obtener rendimientos exitosos se necesita controlar el ambiente donde se desarrolla el champiñón. Se debe contar con las instalaciones debidas para proporcionarle al hongo la temperatura, humedad, ventilación y asepsia necesaria para su apto desarrollo. Puede ser cultivado en casi todos los climas si se le dan las condiciones necesarias. Una limitante podría ser el alto costo de la energía en algunos países. El proceso de producción total para la producción de champiñones incluye cuatro etapas: la fermentación libre, la fermentación controlada, la siembra y crecimiento vegetativo y el crecimiento generativo.

Los champiñones pueden cubrir en parte, los requerimientos de proteína en la nutrición humana, ya que el contenido en ellos oscila entre 2.95 y 3.7 por ciento del peso fresco, con valor nutritivo superior al de la mayor parte de hortalizas (Ardón, 2007)

Con el siguiente trabajo de investigación se considera importante realizar la elaboración del micelio de (*Agaricus bisporus*) en la región de Tarija ya que no existe algún productor de semilla de champiñón y se tiene que hacer traer de otros países.

Será de mucha ayuda para aumentar la producción del Champiñón dentro de la región, así mismo haciendo conocer el gran valor nutricional que poseen y su alta palatabilidad que presenta.

## **JUSTIFICACIÓN**

En la ciudad de Tarija actualmente existe una falta de producción de semilla de Champiñón (*Agaricus bisporus*) que es el micelio inoculado en grano.

Con el siguiente trabajo de investigación se pretende resolver la problemática planteada, considerando que el cultivo de champiñón es económica rentable, altamente nutritivo y a la vez variando la alimentación de población, considerándose así un ingreso extra para los productores de la zona alternando su producción de los cultivos tradicionales que manejan, si la semilla se considera de buena calidad, llega a ser escasa por lo cual los productores locales se ven forzados a encarar estrategias para satisfacer la necesidad alimentaria y de ingreso, no llegando a satisfacer la demanda local del mercado por lo cual el principal medio de obtención de las mismas es Buenos Aires – Argentina.

Por lo tanto, se opta producir semilla de champiñón en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, para cubrir la demanda parcialmente de este cultivo, con el fin de ayudar a los productores locales a que obtengan una semilla de calidad con las características que el cultivo lo requiere, asegurando una producción sostenible.

## **PROBLEMA**

El problema de investigación nace a raíz de que en Tarija no existe una producción de semilla de champiñón que es el micelio del (*Agaricus bisporus*) inoculado en granos de cereales, el cual es un medio de expansión del cultivo de champiñón, a nivel regional ningún laboratorio o entidad privada produce este material vegetal, debido a que este cultivo recién está incrementando el interés por los productores locales y nacionales, donde hay carencia de personas que estén capacitadas para el manejo adecuado del

cultivo y del medio de expansión, esto también es a causa que las exigencias adecuadas para producir champiñón son altamente rigurosas de seguir.

Sin embargo, los productores se dan modos de manejar y conseguir semilla de otros lugares, una de los proveedores de los cuales consiguen dicho material de expansión es de Buenos Aires – Argentina, pero sin la certificación que sea un buen producto para ser cultivado viajando más de dos mil kilómetros rompiendo la cadena de frío que requiere para la conservación de la semillas y que llegue en un estado óptimo para ser trasladada al compost para la producción, tomando en cuenta los factores ya mencionados se ve que no es factible la producción de champiñón a nivel regional, teniendo muchas desventajas las cuales se ven reflejadas en el fracaso de la producción, de esa forma causando pérdidas productivas y económicas de gran consideración para el productor.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Multiplicación de micelio *Agaricus. Bisporus* (J.E. Lange) Imbach, en un medio de cultivo, para la obtención de semilla inoculada en diferentes especies de granos, en el laboratorio de Fitopatología y Cultivo In – vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales.

### **Objetivos específicos.**

- Evaluar el crecimiento del micelio en cm, en un periodo de 30 días, en dos especies de granos Sorgo y Trigo, utilizados como medio de expansión del *Agaricus bisporus*.
- Hacer un análisis económico de la producción de semilla inoculada de *Agaricus bisporus*.

## **HIPÓTESIS**

Comparando la altura de crecimiento del micelio en los siete tratamientos planteados los cuales son preparados a base de granos de sorgo y granos de trigo, la que se plantea como la primera variable, se podrá notar que la inoculación o invasión del micelio del *A. bisporus* en los granos se verá una desigualdad, pero no será significativa a lo que dure el proceso de evaluación que es de 30 días.

El análisis económico que también se evaluará en los siete tratamientos, mostrará cuál de todos los tratamientos es económicamente rentable y más viable para producir semilla de champiñón, esto será variable de acuerdo a los materiales que se utilice en la preparación de cada sustrato, la diferencia será mínima, pero produciendo en cantidades altas severa una diferencia significativa.

**CAPÍTULO I**  
**REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## **CAPÍTULO I**

### **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### **1. Origen**

El origen comercial de los hongos de sombrero tiene muchas teorías entre ellas el más generalizado por los estudios del tema, es la que tiene como origen las cercanías de Paris. En Francia, después del largo periodo de continuas guerras que conllevan a una serie de reyes hasta llegar la unificación con Enrique IV (1589-1610), sube al trono francés un Borbón, cuando finaliza esta época de decadencia para Francia, se inicia un tiempo de grandes realizaciones que comienzan con el reinado de Luis XIV y es cuando se estima que nacieron los primeros cultivos comerciales de hongos de sombrero destinados al consumo de la casa reinante. Cuenta la historia que cerca de Paris, algunos hortelanos cultivadores de melones dieron aplicación comercial a los hongos que espontáneamente aparecían en los montones de estiércol acumulados para el abono del suelo. Los cultivadores de los huertos del rey aprovecharon la experiencia para comenzar con la producción regular de hongos para atender las necesidades culinarias de la corte, haciéndolo sobre montones de estiércol pre parado el proceso al aire libre cuando el tiempo lo permita (Crespo, 1994).

#### **a) Importancia**

Se considera a los hongos como alimento de lujo, destacando sus características sensoriales omitiéndose por ejemplo su valor nutritivo que es bastante alto, principalmente en proteínas, vitaminas y aminoácidos. Comparando el valor nutritivo del hongo con los vegetales, se concluye que su tenor de proteína es superior que la mayoría de las frutas y legumbres, el tenor de grasa es bajo siendo este un mercado atractivo debido a su gran rendimiento y reducido tiempo para recoger la cosecha siendo a su vez rentable ya que es un sector poco explotado y en la actualidad recibe una demanda muy alta con quienes están modificando sus hábitos alimenticios (Alave, 2008).

## **b) Producción mundial**

La producción mundial de los hongos cultivados supera los 6.2 millones de toneladas, cuyo valor se aproxima a los 30 billones de dólares. La tasa de incremento de la producción anual es del 11% y esto se debe a la investigación, confirmación y difusión de sus propiedades medicinales y nutritivas. Por esta razón, se observa un alza en la demanda de productos derivados de hongos comestibles. El *Agaricus bisporus* es la especie más representativa de este género *Agaricus*, comúnmente conocido como champiñón o parís blanco y es el más cultivado a nivel mundial. Se estima que en el 2009 se produjeron alrededor de 4 000 000 de toneladas (Cano & Romero, 2016).

### **1.1.- CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS**

#### **a) Verificación de la clasificación taxonómica**

- Reino: Fungi.
- Phylum: Micophytae.
- División: Micophyto (Hongos Verdaderos).
- Clase: Basidiomicetes.
- Orden: Agaricales.
- Familia: Agaricaceae.
- Nombre científico: *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach.
- Nombre común: Champiñón.

Fuente: (Herbario Universitario T.B., 2021)

### **1.2. BIOLOGÍA DEL (*Agaricus bisporus*)**

#### **1.2.1. Definición de los hongos**

Los hongos, en sentido amplio, son eucariotas, normalmente multinucleados, que se reproducen por medio de esporas, sexuales o asexuales, heterótrofos porque carecen de clorofila, incorporan nutrientes del medio externo por absorción, en general son filamentos y multicelulares, poseen paredes celulares engrosadas mediante quitina y células con especializaciones funcional. El cuerpo o soma del hongo está en general,

constituido por conjunto de filamentos microscópicos, que se ramifican en todas direcciones (Alave. 2008).

### **1.2.2. Multiplicación de los hongos**

La reproducción de los hongos se da por medio de esporas de las cuales un solo carpoforo es capaz de producir millones de esporas. Estas esporas se dispersan por medio de corrientes de aire, agua, o trasportadas por animales (Lopez, 1990).

### **1.2.3. . Clasificación de los hongos superiores**

La clasificación primaria de los hongos superiores perteneciente al reino fungí los divide en Ascomycetes y Basidiomycetes. Esta división radica en la forma que tienen a producir esporas unos mediante “ascas” (Ascomycetes) y otros mediante “basidio” (Basidiomycetes) (Alave, 2008).

### **1.2.4. Basidiomicetos**

Los hongos basidiomicetos producen esporas sexuadas, cuatro en general, en los basidios. Estos son órganos en forma de maza que, agrupados, forman el himenio. El himenio tapiza las laminillas del carpoforo, del que existen múltiples formas. El champiñón blanco (*A. bisporus*) es un basidiomicete, aunque tiene la particularidad de producir solamente dos esporas por basidio (Lopez, 1990).

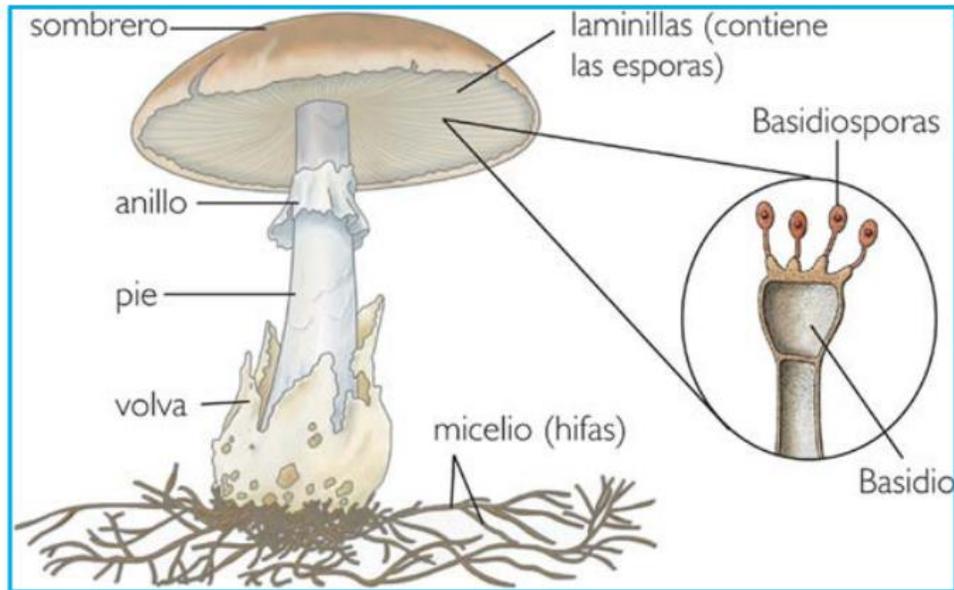
### **1.2.5. Reproducción**

La reproducción del *A. bisporus* es por medio de esporas que se producen por millones en el himenio y se desprende al madurar en un proceso que dura pocos días. El porcentaje de germinación de las esporas es muy bajo debido a su enorme número (Lopez, 1990).

## **1.3. Características del *A. bisporus***

El champiñón se caracteriza por las siguientes partes: Sombrero de 5-6 cm de diámetro, aunque puede llegar a pasar los 10 cm en ejemplares viejos, con fondo blanquecino y presentando fibrillas radiales pardas, pie corto, cilíndrico, blanco-crema, fistuloso, un poco bulboso. Anillo medio-supero, ascendente, no muy amplio, membranoso, fugaz.

Laminas libres, no muy apretadas, que varían desde rosa pálido a pardo-oscuras, con margen pálido (Gea & Tello, 1997).



**Fuente:** Flegg P. (1998), citado por Chávez, (2017).

**Imagen N°1:** Características del champiñón.

### 1.3.1. Macroscópica

La macroscopia del champiñón o del cuerpo fructífero del mismo (capoforo), son las partes que se observan a simple vista, sin la necesidad de utilizar un microscopio de laboratorio, las cuales son las siguientes:

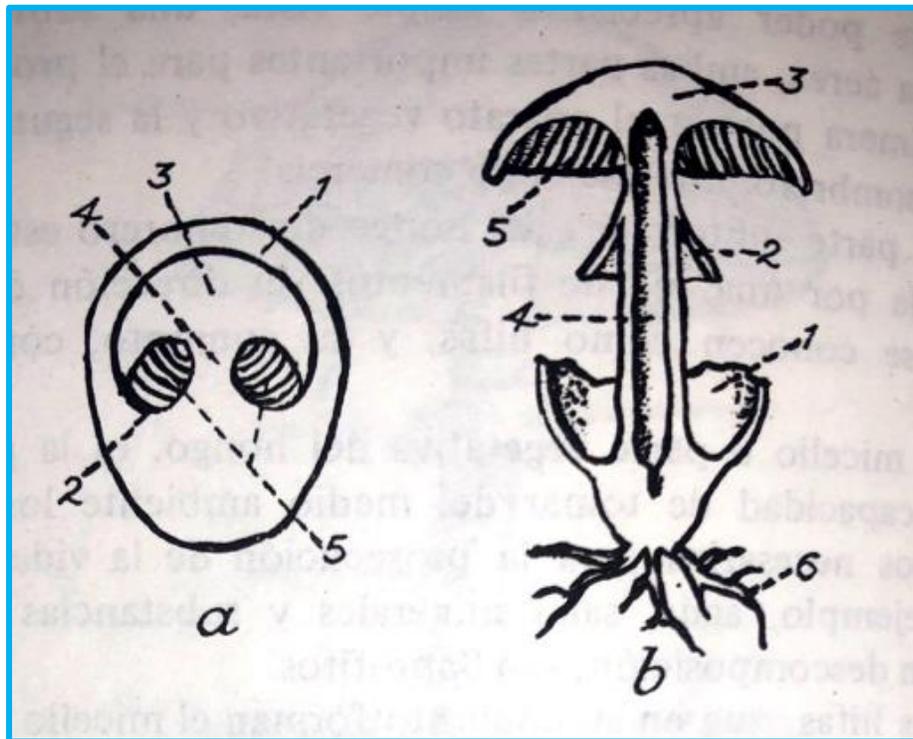
(Calonge, 1990), menciona que el sombrero de 5-12 cm de diámetro, al principio hemisférico, finalmente extendido con frecuentes ondulaciones profundas. Cutícula blanca, formada por fibrillas y escamitas bien diferenciadas, dispuestas radialmente, que llegan hasta el borde dejando un margen sobresaliente. Láminas primeramente blanquecinas, después rosadas y chocolate finalmente, apretadas, libres y con la arista de tono más claro. Esporada marrón chocolate. Pie de cilindro de 4-10 X 2-3 cm, blanco y con superficie fibrosa-escamosa muy suave. El anillo se sitúa en la porción media, es membranoso, sencillas, persistente, blanco por la cara inferior y marrón sucio por encima, debido al depósito de esporas. Carne firme, espesa, de color blanquecino, que

toma un ligero tinte rosado en contacto con el aire, de sabor agradable que recuerda a la nuez y olor inapreciable.

### 1.3.2. Microscopía

La microscopía del champiñón, son las partes que no se pueden observar a simple vista, de esta manera se utiliza el microscopio para observar las mismas, las cuales son las siguiente:

Basidios bispóricos; esporas ovaladas de 6-8 X 4-6  $\mu\text{m}$ , lisas. Cistidios claviformes. Cutícula filamentososa (Calonge, 1990).



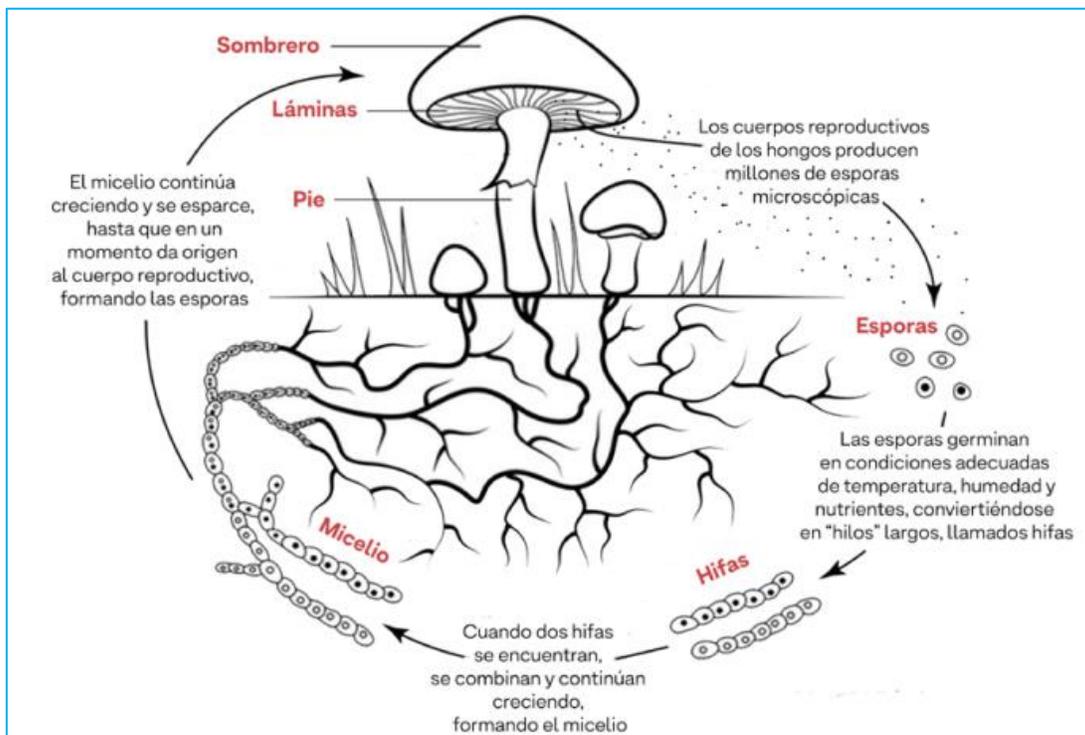
**Fuente:** (Crespo, 1994)

**Imagen N°2:** Desarrollo del champiñón: a) sección longitudinal del aparato fructífero. b) hongos ya desarrolla; 1, volva; 2, anillo; 3, sombrero; 4, pie; 5, laminillas; 6, micelio.

#### 1.4. Ciclo biológico y aspectos genéticos

Los llamados basidiomicetos forman sus esporas en las pequeñas prolongaciones exteriores de unas células llamadas Basidios. En las setas en forma de paraguas ya hemos dicho que el himenio esta debajo del sombrero y desde allí los basidios van dejando caer las esporas según van madurando (himenomicetos) (Garcia, 2001).

El champiñón es un hongo homotálico secundario. Es decir, la mayoría de las esporas tiene dos núcleos haploides (también hay esporas con un solo núcleo), que generalmente son compatibles (con diferente factor sexual). Esto quiere decir que una vez germinan estos tipos de esporas, pueden dar lugar a un micelio diacrítico, capaz de diferenciarse y generar un basidocarpo (Gea & Tello, 1997).



**Fuente:** (Montenegro & Stuardo, 2021)

**Imagen N°3:** Ciclo biológico del champiñón.

## **1.5. Habitación**

Los hongos, como tales organismos vivos que son, no pueden considerarse aislados ni independientes de los constituyentes ecológicos que forman el entorno donde se desarrollan. Y menos aún si tenemos en cuenta que, debido a su carencia de clorofila y pigmentos foto o quimiosintéticos, se ven obligados a buscar los nutrientes orgánicos producidos por otros seres para obtener así la supervivencia. Podemos decir que los hongos se han adaptado a todas las formas posibles de vida, tanto acuáticas como terrestres. Así, los tenemos que viven en aguas dulces y saladas, en tierra, sobre madera, sobre estiércol, sobre residuos quemados, etc. De cualquier manera, los hay que se alimentan de sustancias orgánicas en descomposición (Calonge, 1990).

### **a) Factores ambientales**

El *A. bisporus* o más conocido como champiñón blanco es un hongo de la clasificación saprofita que se alimenta de materia vegetal muerta. En la práctica del cultivo se utilizan compost de estiércol con diversos aditivos, los cuales estos aditivos sirven para aumentar la concentración en ciertos nutrientes o corregir el pH que requiere el champiñón (Lopez, 1990).

### **b) Nutrición**

Debido a su falta de clorofila el champiñón, no puede transformar el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en azúcar, como lo realizan las plantas verdes, y los absorbe del compost. El nitrógeno es otro de los nutrientes más importantes, constituyente de muchas moléculas orgánicas. El champiñón no puede absorber nitratos y las sales amoniacales producen toxicidad en bajas concentraciones (Lopez, 1990).

## **1.6. Valor nutricional**

El champiñón visto desde el punto nutricional, presenta ventajas destacables por sobre otros tipos de alimentos, ya que poseen buena fuente de proteína (20-30% del peso seco); presencia de todos los aminoácidos esenciales; alto contenido de quitina, que actúa como fuente de fibra dietética; alto contenido de vitamina B; bajo contenido de grasa, y es un producto libre de colesterol (Lechner, Rugolo, & Mallerman, 2017).

El valor nutricional del champiñón blanco es una buena fuente de vitaminas, entre las que destacan: la tianina (B<sub>1</sub>), riboflavina (B<sub>2</sub>), niacina, biotina, y ácido pantoténico (incluidos en el grupo vitamínico B), ergosterina (provitamina D<sub>2</sub>), y ácido ascórbico (vitamina C). También es rico en cierto número de minerales, entre los que podemos mencionar: calcio, fosforo, hierro, sodio, potasio y magnesio (Gea & Tello, 1997).

**Cuadro N° 1. Composición nutritiva del *A. bisporus***

(Los datos se expresan en porcentaje de peso seco, excepto para el contenido enagua)

COMPOSICIÓN	CANTIDAD
Humedad inicial (%)	78.3 – 90.5
Proteínas (N x 4.38)	23.9 – 34.8
Grasas	1.7 – 8.0
Carbohidratos totales	51.3 – 62.5
Carbohidratos libres de N	44.0 – 53.5
Fibras	8.0 – 10.4
Cenizas	7.7 -12.0
Valor energético (kcal/100g de materia seca)	328 – 368

**Fuente:** (Crisan & Sands, 1978).

## **1.7. Inicio de la producción de semilla**

Una de las contribuciones más grandes para el desarrollo del cultivo de champiñón fue la preparación de semilla. Costantin y Matruchot dos franceses, fueron los primeros que consiguieron germinar esporas de champiñón cultivado, realizando así un “cultivo puro” de semilla. La consecuencia de cultivos puros supuso una gran mejora, ya que permitía obtener semilla, a partir de tejidos y esporas de champiñón, exenta de patógenos (Gea & Tello, 1997).

La semilla del hongo es llamada así debido a que en el proceso del cultivo de hongo existe una etapa donde este se hace crecer sobre granos de trigo o avena (reproducción asexual), de las cuales el hongo se alimentará quedando estas totalmente recubiertas por micelio, asimilando así la apariencia de una semilla, el cual podemos apreciar que los hongos son distintos a las plantas no producen semillas si no esporas (Montenegro & Stuardo, 2021)

### **a) Producción comercial de semilla**

Sabemos que los hongos no tienen semilla, este es el nombre con el que se conoce, en el argot champiñonero, a los propagulos o inóculos del hongo. Cuando hablamos de semilla, se entiende un material biológico de varias formulaciones, utilizado para sembrar el sustrato destinado a la producción de champiñón. La semilla está constituida por hifas fúngicas crecida sobre varias matrices orgánicas (granos de centeno y mijo), que funcionan a modo de soporte nutritivo, a la vez una difusión fraccionada del hongo en la masa de compost, consiguiendo así un gran número de puntos de siembra (Gea & Tello, 1997).

Si la actividad de los productores de champiñón es prioritariamente con fines comerciales, también tiene que estar técnicamente preparado para multiplicar micelios o al menos conocer en profundidad el trabajo de los laboratorios que producen la simiente o semilla de champiñón (Crespo, 1994)

## **1.8. Obtención de inoculantes**

Los hongos se reproducen por intermedio de esporas (reproducción sexuada) o asexualmente (reproducciones vegetativas), por multiplicación de tejido celular. La producción sexual se inicia cuando germinan las esporas y producen células que se organizan en filamentos llamados hifas (Alave, 2008).

### **1.8.1. Obtención de esporas**

Para la obtención de esporas utilizaremos una navaja desinfectada se separa el sombrero del pie. Primero se coloca en papel aluminio previamente desinfectado donde se dejan un día a esporular. Al día siguiente se retiran los sombreros y se dobla el papel aluminio para protección de las esporas (Avila, 2013).

### **1.8.2. Condiciones de limpieza y esterilización**

La asepsia es una de las partes más importantes debió al alto porcentaje de contaminación que se tiene, todo se realiza en la zona estéril (cama de flujo laminar) y con el ambiente desinfectado (cloro, alcohol y lysol) cerca del mechero y evitando corrientes de aire externo (Avila, 2013).

### **1.8.3. Preparación de una jeringa de esporas**

Abrimos los sellos de esporas y se raspan con una navaja estéril hasta que caigan todas las esporas en unos pocos milímetros de agua previamente esterilizadas (aproximadamente 5 ml) se observa suficiente cantidad de ellas en el agua; posteriormente se abre una jeringa nueva cerca del mechero (una jeringa de alto calibre para que no se tape) y se absorbe el líquido. Con este sembramos simplemente poniéndolo en el medio de cultivo previamente ya preparado en cajas Petri o tubos de ensayo (Avila, 2013).

## **1.9. Producción del inóculo**

### **a) Elaboración de medio de cultivo**

Para el desarrollo del micelio de los hongos en el laboratorio, se emplean medios de cultivo preparados en placas Petri o tubos de ensayo, que le proporcionan al hongo los

nutrientes necesarios para su desarrollo. Los diferentes medios de cultivo generalmente se venden preparados listos para diluirlos en agua destilada, como el caso del agar con papa y dextrosa y el agar con extracto de malta, pero también es posible prepararlos utilizando insumos que se venden en el comercio cotidiano (Montenegro & Stuardo, 2021)

**b) Matriz primaria**

La producción de matriz primaria comienza con la obtención de la cepa, pudiendo emplear básicamente dos métodos a partir de esporas (solamente monospóricos y/o multiesporicoa) o fragmentos de basidiocarpo vía vegetativa (Alave, 2008).

**c) Producción de la matriz secundaria**

La obtención de la matriz secundaria es por la transferencia de pequeños fragmentos de micelio de la matriz primaria a frascos con sustrato previamente preparados, los cuales pueden ser a base de cereales o fibra. Obtenidas las matrices secundarias, estas serán utilizadas como fuente de inóculo para la producción de semilla o “spawn” (Ferreira, 1997).

Para la inoculación utilizaremos el método de tubos de ensayo (25 x 150 mm) en el cual se coloca los granos ya preparados previamente (Rugolo, 2018; Xu et al., 2016).

**d) Sustrato**

El sustrato es denominado al medio de cultivo del cual los hongos, obtienen alimento para la difusión directa a través de paredes hifálica, causando una desintegración de materia orgánica que utilizan como alimento (Sanchez et al, 2001).

**e) Sorgo**

El grano de sorgo tiene una estructura que compone de tres partes: el pericarpio o cobertura del grano, el endosperma o tejido de reserva y el embrión o futura planta. El sorgo está constituido básicamente por proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales y polifenoles, en porcentajes variables según genotipo y ambiente. El contenido de proteína del sorgo está comprendido entre 5 y 19,3 % (Domanski, Giorda, & Feresin, 1997).

**f) Trigo**

El grano de trigo está constituido por el pericarpio, cubierta de la semilla (8% de peso total), la capa de aleurona (7%), el germen (2,5%) y el endosperma (82,5%). El pericarpio es una cubierta protectora que rodea toda la semilla, la capa de aleurona, del espesor de una célula, rodea al grano por completo, el germen o embrión es la planta en estado de latencia y el endosperma es el alimento almacenado usado por el embrión para crecer desde la germinación. La constitución química del grano incluye la presencia de proteínas, lípidos, minerales e hidratos de carbono (Seghezzo & Molfese, 2006).

**g) Matriz terciaria**

El sustrato utilizado para la producción de matriz terciaria es a base de grano de cereales.

Entre los más utilizados están los de trigo y arroz, sin embargo, otros granos también pueden ser utilizados, el sorgo, el centeno, el triticale. La elección de los granos puede ser definida en función del precio y tamaño de los granos, dando preferencia a los granos menores que posibilitan una mejor distribución de puntos de colonización en el sustrato (Teixeira, 2007).

**CAPÍTULO II**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. Localización de la zona de estudio

La localización del laboratorio donde se realizó el trabajo de investigación, es el Laboratorio de Fitopatología y Cultivo In-Vitro de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, ubicado en la zona del Tejar, en la ciudad de Tarija, provincia Cercado en latitud:  $21^{\circ}32'34''$  S. y  $64^{\circ}43'17''$  W.

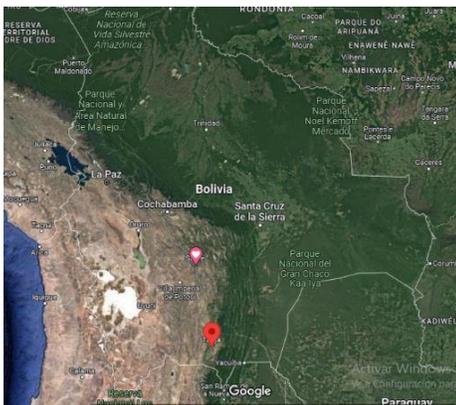


Imagen. - Ubicación en Bolivia

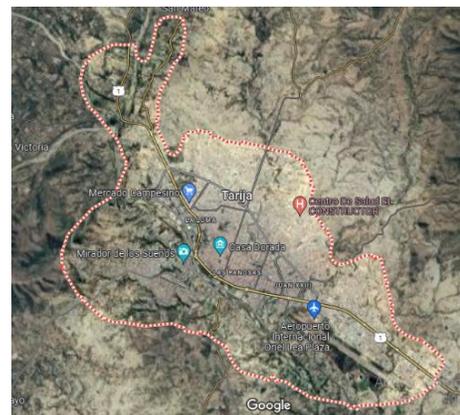


Imagen. - Ciudad de Tarija



Imagen.- U.A.J.M.S



Imagen.- F.C.A. y F. – Lab. de Fitopatología

### **2.1.1. Descripción del área de estudio**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales la cual está ubicada dentro del campus universitario, dentro de dicho laboratorio se cuenta con insumos, materiales y equipos necesarios para realizar dicha investigación.

## **2.2. Material**

### **2.2.1. Material vegetal**

El material vegetal de ensayo será la variedad de Champiñón (*Agaricus bisporus*) "Paris blanco", del micelio se obtiene de la reproducción sexual del hongo (sello de esporas). El material fue recolectado en la zona de Equiz Sud ya que en ese lugar se encuentra un módulo de producción de champiñón.

Micelio = conjunto de hifas que forman el hongo.

Semilla de sorgo (*Sorghum spp.*)

Semilla de trigo (*Triticum sp.*)

### **2.2.2. Ensayo**

La investigación se realizó con dos tipos de granos con diferentes combinaciones de los mismos, que se inoculó con la Cepa de (*Agaricus bisporus*), obtenida del proceso de aislamiento de esporas. La toma de datos se realizó cada 5 días durante 30 días obteniendo 6 lecturas.

Se formularon siete tratamientos en distintas combinaciones de las dos especies de grano las cuales son:

TR 1: Cepa (*A. bisporus*) + 100 % de grano de sorgo.

TR 2: Cepa (*A. bisporus*) + 100 % de grano de trigo.

TR 3: Cepa (*A. bisporus*) + 95 % grano de sorgo y 5 % grano de trigo.

TR 4: Cepa (*A. bisporus*) + 90 % grano de sorgo y 10 % grano de trigo.

TR 5: Cepa (*A. bisporus*) + 80 % grano de sorgo y 20 % grano de trigo.

TR 6: Cepa (*A. bisporus*) + 70 % grano de sorgo y 30 % grano de trigo.

TR 7: Cepa (*A. bisporus*) + 50 % grano de sorgo y 50 % grano de trigo.

Se midió utilizando el método de tubos de ensayo (25 x 150 mm) en el cual se coloca cada uno de los tratamientos (Rugolo, 2018; Xu et al., 2016).

El material fue esterilizado mediante autoclave a 121°C y 1,2 atm durante 1,5 hs. Posteriormente, una vez frío, se inoculó en cámara de flujo laminar con un círculo de 1 cm de diámetro o 4 cm<sup>3</sup> de agar colonizado por el micelio en la base, donde inmediatamente se llenó a tope por el grano de cada tratamiento. Por último, se colocó en estufa a 25°C en oscuridad y se midió cada 5 días su crecimiento hasta la completa colonización del grano (Lechner, B., 2002)

### **2.2.3. Material de escritorio**

- Libreta de campo
- Cámara Fotográfica
- Marcadores
- Etiquetas
- Calculadora

### **2.2.4. Material de laboratorio**

- Bata blanca
- Guantes
- Barbijo
- Cajas Petri de vidrio
- Pipetas
- Piceta con agua
- Espátulas
- Mecheros
- Papel aluminio
- Bisturí
- Frascos con tapa metálica

### **2.2.5. Equipos**

- Cámara de flujo laminar
- Incubadora
- Autoclave
- Balanza
- Microondas
- Microscopio
- Horno de esterilización
- Refrigerador

### **2.2.6. Productos químicos**

- Alcohol
- Agua destilada
- Medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)
- Cal

## **2.3 METODOLOGÍA**

### **2.3.1. Diseño experimental**

El diseño empleado en el presente trabajo de investigación, fue un diseño completamente al azar, con siete tratamientos y cuatro repeticiones, del cual se obtuvo un total de veintiocho unidades experimentales puestas a estudio.

### **2.3.2. Tratamientos en estudio**

**TR 1:** Cepa (*A. bisporus*) + 100 % de grano de sorgo.

**TR 2:** Cepa (*A. bisporus*) + 100 % de grano de trigo.

**TR 3:** Cepa (*A. bisporus*) + 95 % grano de sorgo y 5 % grano de trigo.

**TR 4:** Cepa (*A. bisporus*) + 90 % grano de sorgo y 10 % grano de trigo.

**TR 5:** Cepa (*A. bisporus*) + 80 % grano de sorgo y 20 % grano de trigo.

**TR 6:** Cepa (*A. bisporus*) + 70 % grano de sorgo y 30 % grano de trigo.

**TR 7:** Cepa (*A. bisporus*) + 50 % grano de sorgo y 50 % grano de trigo.

**Cuadro N° 2. Tratamientos en Estudio**

<b>Tratamientos</b>	<b>Códigos</b>	<b>Descripción de los tratamientos</b>
<b>T1</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % sorgo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % sorgo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % sorgo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % sorgo
<b>T2</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % trigo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % trigo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % trigo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 100 % trigo
<b>T3</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 95 % sorgo 5 % trigo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 95 % sorgo 5 % trigo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 95 % sorgo 5 % trigo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 95 % sorgo 5 % trigo
<b>T4</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 90 % sorgo 10 % trigo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 90 % sorgo 10 % trigo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 90 % sorgo 10 % trigo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 90 % sorgo 10 % trigo
<b>T5</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 80 % sorgo 20 % trigo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 80 % sorgo 20 % trigo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 80 % sorgo 20 % trigo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 80 % sorgo 20 % trigo
<b>T6</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 70 % sorgo 30 % trigo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 70 % sorgo 30 % trigo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 70 % sorgo 30 % trigo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 70 % sorgo 30 % trigo
<b>T7</b>	T1 R1	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 50 % sorgo 50 % trigo
	T1 R2	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 50 % sorgo 50 % trigo
	T1 R3	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 50 % sorgo 50 % trigo
	T1 R4	Micelio ( <i>A. bisporus</i> ) x 50 % sorgo 50 % trigo

### 2.3.3. Descripción de los Tratamientos

**Cuadro N° 3. Descripción de los tratamientos.**

Hongo Basidiomicet o	Granos	Tratamientos	Repeticiones	Unidades experimentales
<b>Cepa de micelio</b>	100 % Sorgo	T1	4	28
	100 % Trigo	T2		
	95 % sorgo - 5 % Trigo	T3		
	90 % sorgo-10 % Trigo	T4		
	80 % sorgo - 20 % Trigo	T5		
	70 % sorgo - 30 % Trigo	T6		
	50 % sorgo - 50 % Trigo	T7		

**Fuente:** Elaboración Propia

### 2.3.4 Variables

- La primera variable a evaluar es el tiempo de inoculación o invasión del micelio en el grano para semilla, la medición se realizó de forma lineal en los tubos de ensayos, la evaluación duro treinta días tomando una lectura de datos cada cinco días donde se tuvo seis lecturas en total.
- Determinar la aceptabilidad del micelio, para recomendar el mejor sustrato a fin de producir semilla comercial de champiñón, para determinar la aceptabilidad del micelio en los diferentes sustratos se observó en cuál de todos los tratamientos se presentó mayor crecimiento del micelio en menor tiempo.
- Se realizó un análisis económico para la producción de semilla, se efectuó una tabla de costos donde se tomó en cuenta los costos fijos y los costos variables que se tienen que tomar en cuenta para producir semilla de champiñón.

- También se evaluó el crecimiento del micelio en las cajas petris donde se puso a prueba cajas Petri a temperatura ambiente y otras cajas a una temperatura constante de 25 °C, la medición se realizó cada día durante quince días.

## **2.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **2.4.1. Producción de micelio de *Agaricus bisporus***

En el laboratorio, se puede obtener micelio de setas a través de dos procesos:

- Asexual, es decir, a partir de fragmentos del basidioma.
- El sexual, es decir, a partir de esporas del hongo.

Se utilizó la técnica de aislar el hongo de forma Sexual, que es por medio de la liberación de esporas en la etapa de fructificación del champiñón.

#### **a) Recolección del material vegetal**

La recolección del material vegetal que es el cuerpo fructífero del champiñón también conocido como carpoforo, se lo obtuvo en la comunidad de Erquiz Sud en el departamento de Tarija, ya que en dicho lugar se encuentra un módulo de producción de champiñón, al cual se tuvo acceso para la recolección del champiñón.



**Fotografía N°1:** Champiñón cultivado

**Fuente:** Elaboración Propia.

**b) Condiciones de limpieza y esterilización del área de trabajo**

Todo se realizó en una zona estéril (cámara de flujo laminar) y con ambiente desinfectado (cloro y alcohol) cerca del mechero y evitando la corriente de aire externo.

**c) Obtención de esporas**

Con ayuda de una navaja desinfectada se separa el sombrero del pie. el primero se coloca en papel aluminio donde se dejan un día a esporular, para obtener el sello de esporas. Al día siguiente se retiran los sombreros y se dobla el papel aluminio para protección de las esporas.



**Fotografía N°2:** Sello de esporas.

**Fuente:** Elaboración Propia.

**d) Preparación de una jeringa de esporas**

Se abrió los sellos de esporas y se rasparon con una navaja estéril hasta que caigan todas las esporas en unos pocos milímetros de agua previamente esterilizadas (aproximadamente 5 ml) se observó suficiente cantidad de ellas en el agua; posteriormente se abrió una jeringa nueva cerca del mechero (una jeringa de alto calibre para

que no se tape) y se absorba el líquido. Con este se sembró simplemente poniéndolo en el medio de cultivo.



**Fotografía N°3:** Jeringa de esporas

**Fuente:** Elaboración Propia.

## **2.4.2. Matriz primaria**

### **a) Preparación del medio de cultivo**

El medio más utilizado para el aislamiento del micelio, es el medio PDA (Papa – Dextrosa – Agar), que fue utilizado para muestreo aislamiento. Este medio será preparado en el laboratorio con condiciones estériles.

Para un litro de medio de cultivo (PDA) se necesita 39 gr de medio ya preparado, este se diluye en agua destilada en un recipiente con tapa de rosca para ser esterilizado en la autoclave durante 15 minutos a 121°C. Para evitar contaminantes como levaduras y bacterias utilizamos Cloranfenicol que es un antibiótico que resiste altas temperaturas.



**Fotografía N°6:** Medio de cultivo (PDA) preparado

**Fuente:** Elaboración Propia.

#### **b) Inoculación del medio de cultivo**

Se vertió el medio de cultivo ya esterilizado en cajas Petri de igual manera esterilizadas previamente aproximadamente 20 ml por cada caja, se esperó a que este a temperatura ambiente solidificándose.

Se procedió a inocular el medio con las jeringas de esporas ya preparadas, vertimos 1 ml de solución a cada caja Petri, se selló con papel film para evitar contaminación del exterior.

Se incuban en un lugar oscuro a una temperatura entre 20 y 25°C, hasta que invada completamente el área de la caja Petri.

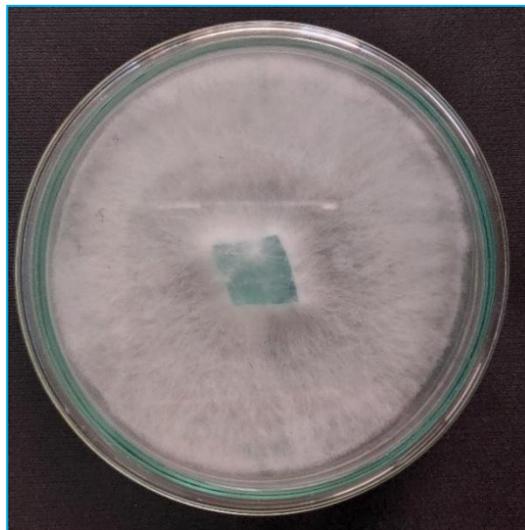


**Fotografía N°4:** Aislamiento de esporas en caja Petri con PDA

**Fuente:** Elaboración Propia.

**c) Réplica de la matriz primaria**

Se obtiene por la transferencia de un pequeño fragmento de micelio de matriz primaria a otra caja Petri con medio de cultivo. De la misma manera se incuba en un lugar oscuro a una temperatura entre 20 y 25°C, hasta que invada completamente el área de la caja Petri.



**Fotografía N°5:** Réplica de la matriz primaria, crecimiento miceliar

**Fuente:** Elaboración Propia.

### **2.4.3. Matriz Secundaria**

#### **a) Preparación de medio de grano**

Se utilizó grano de Sorgo y grano de Trigo. Esta elección de grano va a elección del precio y del tamaño de los granos.

Inicialmente se tiene que realizar una limpieza de los cereales seleccionando el mismo para eliminar impurezas (piedras, otras semillas, paja, arena).

Los granos se pre- hidratan durante 12 horas y se tienen que cocinar en agua durante 8 minutos el grano de trigo y 12 minutos el grano de sorgo a una temperatura de 86 °C, posteriormente se elimina el agua residual de la cocción y se deja enfriar y secar durante 40 a 50 minutos.

Se utilizó cal para regular el pH, ya que lo requerido para el crecimiento del micelio es un pH entre 6,5 a 7. Lo recomendado a utilizar es 20gr x 1 kilogramo de grano que llega a hacer el 2% de peso de grano preparado (Nogueir, Cunha, Teixeira, & Kopytowski, 2008).

#### **b) Esterilización del grano**

Después de la preparación de los granos, estos se colocan en frascos secos (previamente lavados y si es posible, recién esterilizados en la autoclave a 121 °C durante 30 minutos), en cantidades que ocupan cerca de  $\frac{3}{4}$  del volumen de los frascos, se cierran los frascos con las tapas (perforando en el centro y con algodón o, no perforada y con papel filtro). El grano fue esterilizado en la autoclave a 121°C durante 1 hora y media.

Los granos se esterilizaron en frascos de vidrio llenando  $\frac{3}{4}$  del volumen con el grano de cada tratamiento, en la autoclave a 121°C por 1 hora y media, se dejará enfriar en la misma autoclave.

**c) Inoculación del grano**

Para la inoculación del grano se utilizó tubos de ensayos de (25 x 150mm). Los granos se inocularon en la cámara de flujo laminar con un círculo de 1 cm de diámetro o 4 cm<sup>3</sup> de PDA colonizado por el micelio en la base, donde inmediatamente se llenará los tubos con la combinación de granos de cada tratamiento.

**d) Incubación**

Se incubaron en estufa a 25°C en oscuridad y se midió cada 5 días su crecimiento hasta la completa colonización del grano.

Se colocó filtros hechos con algodón y gazas para que no tener problemas con la humedad, y no generar condiciones adecuadas para el crecimiento de otros microorganismos.

**e) Matriz terciaria**

La matriz terciaria se inoculó con granos de la matriz secundaria, frascos de 500 ml con granos previamente esterilizados como indica en la parte de preparación de medio de grano, se inoculó en la cámara de flujo laminar y se los dejó incubando a una temperatura de 21 °C, durante 15 días en oscuridad.

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Evaluación del crecimiento micelial en diferentes especies de grano

El crecimiento micelial se midió de forma vertical sobre los tubos de ensayo de cada tratamiento, en unidades de centímetros. Las mediciones o lecturas se realizaron cada cinco días durante un periodo de evaluación de treinta días obteniendo así un total de seis lecturas. En la cual se realizó una ANOVA con su prueba para cada lectura, para determinar si existe o no una diferencia de crecimiento entre los tratamientos puestos a investigación y a la vez poder determinar que ensayo obtuvo el mayor crecimiento, siendo así el más óptimo para el desarrollo del hongo.

#### 3.2. Evaluación a los 5 días

Desde la inoculación del grano con el micelio, la primera lectura o toma de datos se realizó al quinto día, donde ya se pudo observar el desarrollo del micelio en los diferentes tratamientos.

**Cuadro N° 4. Resultados crecimiento miceliara de los 5 días en cm**

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				$\Sigma$	MEDIAS
	I	II	III	IV		
<b>TRATAMIENTO 1</b>	1,2	1	1,1	1	4,3	<b>1,08</b>
<b>TRATAMIENTO 2</b>	0,3	0	0	0	0,3	<b>0,08</b>
<b>TRATAMIENTO 3</b>	1,5	1,7	1,2	1	5,4	<b>1,35</b>
<b>TRATAMIENTO 4</b>	1,1	1	1	1	4,1	<b>1,03</b>
<b>TRATAMIENTO 5</b>	1,1	1,2	1,4	1	4,7	<b>1,18</b>
<b>TRATAMIENTO 6</b>	0,9	0,9	1	1	3,8	<b>0,95</b>
<b>TRATAMIENTO 7</b>	0,6	0,8	0,8	0,9	3,1	<b>0,78</b>
$\Sigma$	<b>6,7</b>	<b>6,6</b>	<b>6,5</b>	<b>5,9</b>	<b>25,7</b>	

**Fuente:** Elaboración propia.

El siguiente cuadro indica el crecimiento micelial de la primera lectura, el cual sería los primeros cinco días de desarrollo, desde que se inocularon los granos en los tubos de ensayo con micelio. Donde puede observar de cada tratamiento, la medición media

indica que el desarrollo miceliar es ligeramente parejo, el tratamiento con mayor crecimiento de micelio es el Tratamiento N°3 teniendo el valor más elevado que los demás, y el tratamiento con menor desarrollo es el Tratamiento N°2.

### 3.2.1. Análisis de varianza

**Cuadro N° 5. Cuadrado ANOVA**

Fuentes de variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabular	
					5%	1%
<b>Total</b>	27	4,62	----	----	----	----
<b>Tratamientos</b>	6	4,08	0,68	34,0	2,66	4,01
<b>Error</b>	21	0,49	0,02	----	----	----

**Fuente:** Elaboración propia.

Los resultados que indica el cuadro ANOVA de la primera lectura a los 5 días, nos refleja que existe una diferencia estadísticamente significativa donde se obtuvo la “F” calculada de los tratamientos mayor que “F” tabular al 5 % y al 1 %, como consecuencia nos dice que los tratamientos son distintos entre sí.

### 3.2.2. Prueba de medias TUKEY

**Cuadro N° 6. Media de diferencia significativa de crecimiento miceliar**

<b>T = 0,38</b>	<b>1,35</b>	<b>1,18</b>	<b>1,08</b>	<b>1,03</b>	<b>0,95</b>	<b>0,78</b>
<b>0,08</b>	*	*	*	*	*	*
<b>0,78</b>	*	*	NS	NS	NS	
<b>0,95</b>	*	NS	NS	NS		
<b>1,03</b>	NS	NS	NS			
<b>1,08</b>	NS	NS				
<b>1,18</b>	NS					

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.2.3. Diferencia de medias de los tratamientos

**Cuadro N° 7. Diferencia de medias de tratamientos**

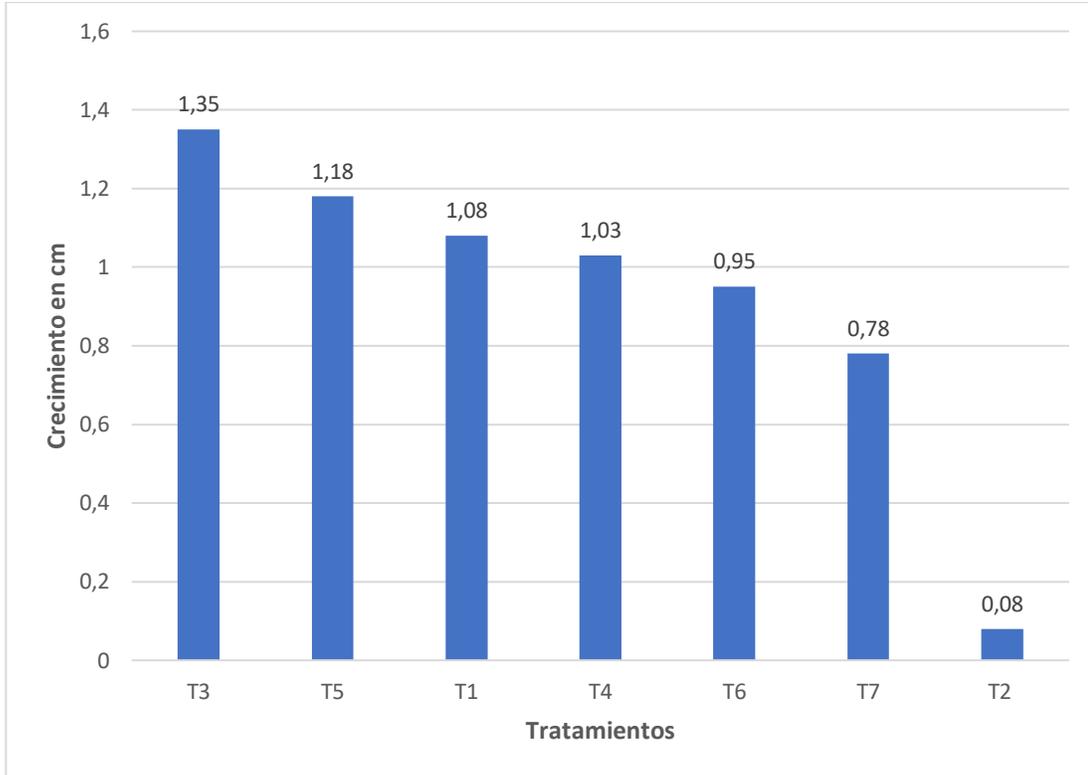
Tratamientos	Medias	Rango
T3	1,35	A
T5	1,18	Ab
T1	1,08	B
T4	1,03	b
T6	0,95	c
T7	0,78	C
T2	0,08	D

**Fuente:** Elaboración propia.

Después de ejecutar la prueba de Tukey se determina al tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), con crecimiento de 1.35 cm, demostrando que tuvo un mayor crecimiento en los 5 primeros días de la evaluación, el tratamiento N° 5(80 % de sorgo – 20 % de trigo) con un crecimiento de 1.18 cm, el cual no difiere con el tratamiento N° 3, pero si difiere con el tratamiento N°6, N° 7 y N° 2, el tratamiento N° 1, N° 4, no refleja una diferencia estadísticamente alta entre sí, al igual que los tratamientos N°6 y N°7, dejando al tratamiento N°2, que es estadísticamente diferente que los demás tratamientos, existe un crecimiento menor en comparación a los tratamientos ya mencionados.

### 3.2.4. Análisis del crecimiento miceliar a los 5 días

Gráfica N° 1. Crecimiento miceliar a los 5 días



**Fuente:** Elaboración propia.

En el gráfico se muestra el crecimiento miceliar de los siete tratamientos, donde se puede observar, que los tratamiento con mayor crecimiento a los 5 días desde la inoculación es, el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo) que presenta 1.35 cm de crecimiento y tratamiento N° 5 (80% de sorgo - 20 % de trigo) con 1.18 cm de crecimiento, en comparación de los demás tratamientos mostrando un desarrollo ligeramente menor, a excepción del tratamiento N° 2 (100% de trigo) que obtuvo el menor crecimiento de todos los ensayos.

### 3.3. Evaluación a los 10 días en cm

En el décimo día se mostró un mayor crecimiento del micelio, en comparación a la primera lectura que se tomó de todos los tratamientos.

**Cuadro N° 8. Crecimiento miceliar a los 10 días.**

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				Σ	MEDIAS
	I	II	III	IV		
TRATAMIENTO 1	2,7	2,2	2,4	2,7	10	2,50
TRATAMIENTO 2	1,1	0	0	0	1,1	0,28
TRATAMIENTO 3	3,3	3,6	2,8	2,7	12,4	3,10
TRATAMIENTO 4	2,6	2,3	2,2	2,3	9,4	2,35
TRATAMIENTO 5	2,2	2,5	2,8	2,2	9,7	2,43
TRATAMIENTO 6	2	2,2	2,3	2	8,5	2,13
TRATAMIENTO 7	1,8	2	1,8	1,9	7,5	1,88
Σ	15,7	14,8	14,3	13,8	58,6	

**Fuente:** Elaboración propia.

Los resultados obtenidos de las medias de crecimiento de micelio de cada tratamiento, que se realizó la toma de datos a los diez días de la inoculación, donde nos indica que el tratamiento con mayor desarrollo miceliar es el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo) y el tratamiento N° 1 (100 % de sorgo), y los demás tratamientos tuvieron un crecimiento menor.

#### 3.3.1. Análisis de varianza

**Cuadro N° 9. Cuadro de ANOVA**

Fuentes de variación	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabular	
					5%	1%
<b>Total</b>	27	20,9				
<b>Tratamientos</b>	6	18,8	3,13	34,78	2,66	4,01
<b>Error</b>	21	1,8	0,09			

**Fuente:** Elaboración propia.

El cuadro ANOVA muestra los resultados de la segunda toma de datos a los 10 días, el cual refleja que existe una diferencia estadísticamente significativa donde se obtuvo la

“F” calculada de los tratamientos mayor que “F” tabular al 5 % y al 1 %, como consecuencia dice que los tratamientos son distintos entre sí.

### 3.3.2. Prueba de medias TUKEY

**Cuadro N° 10. Medias de diferencia significativas de crecimiento miceliar**

<b>T= 0,69</b>	<b>3,1</b>	<b>2,5</b>	<b>2,45</b>	<b>2,35</b>	<b>2,18</b>	<b>1,86</b>
<b>0,28</b>	*	*	*	*	*	*
<b>1,86</b>	*	NS	NS	NS	NS	
<b>2,18</b>	*	NS	NS	NS		
<b>2,35</b>	*	NS	NS			
<b>2,42</b>	NS	NS				
<b>2,5</b>	NS					

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.3.3. Diferencia de medias de los tratamientos

**Cuadro N° 11. Diferencia de medias de tratamientos**

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Rango</b>
<b>T3</b>	3,1	A
<b>T1</b>	2,5	ab
<b>T5</b>	2,42	b
<b>T4</b>	2,35	b
<b>T6</b>	2,18	b
<b>T7</b>	1,86	b
<b>T2</b>	0,28	c

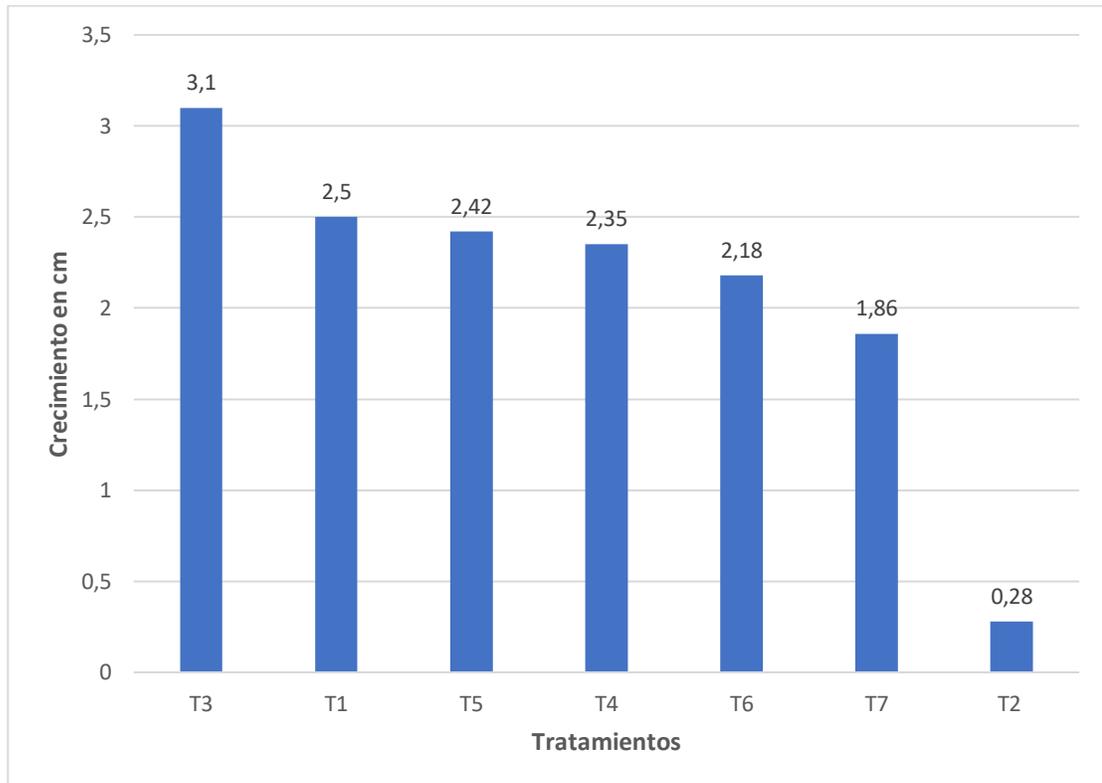
**Fuente:** Elaboración propia.

La prueba de Tukey ejecutada para el crecimiento miceliar a los 10 días de la inoculación, determina que el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), con crecimiento de 5.18 cm , demostrando que tuvo un mayor crecimiento a los 15 días de la evaluación, el tratamiento N°1 (100 % de sorgo) con un crecimiento de 4.13cm, el cual no difiere con el tratamiento N° 3, pero si difiere con el tratamiento N°2, el tratamiento N° 1 no refleja una diferencia estadísticamente alta entre los tratamientos N° 5, N° 4, N°6 y N° 7, dejando al tratamiento N°2, que es estadísticamente diferente

que los demás tratamientos, existe un crecimiento menor en comparación a los tratamientos ya mencionados.

### 3.3.4. Análisis del crecimiento micelar a los 10 días

**Gráfica N° 2. Crecimiento micelar a los 10 días**



**Fuente:** Elaboración propia.

El siguiente gráfico indica el crecimiento del micelio de champiñón a los 10 días, donde se puede observar que el tratamiento con mayor desarrollo de micelio es el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo) se tiene 3.1 cm de crecimiento y una diferencia significativa de los demás tratamientos, en especial con el tratamiento N° 2 (100 % de trigo), siendo el tratamiento con menor crecimiento con 0.28cm.

### 3.4. Evaluación a los 15 días en cm

La evaluación a los quince días se muestra un desarrollo más significativo del micelio de champiñón en los granos.

**Cuadro N° 12. Crecimiento miceliar a los 15 días.**

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				Σ	MEDIAS
	I	II	III	IV		
TRATAMIENTO 1	4,4	3,7	4	4,4	16,5	4,13
TRATAMIENTO 2	2,2	0	0	0	2,2	0,55
TRATAMIENTO 3	5,2	5,9	4,8	4,8	20,7	5,18
TRATAMIENTO 4	4,5	3,8	3,6	3,7	15,6	3,90
TRATAMIENTO 5	3,7	4,1	4,3	3,9	16	4,00
TRATAMIENTO 6	3,5	3,6	3,8	3,7	14,6	3,65
TRATAMIENTO 7	3	3,4	3,1	3,1	12,6	3,15
Σ	26,5	24,5	23,6	23,6	98,2	

**Fuente:** Elaboración propia.

Las medias de crecimiento de los tratamientos a los quince días, nos indica que el tratamiento con mayor crecimiento es el tratamiento N°3 teniendo una diferencia entre los demás tratamientos.

#### 3.4.1. Análisis de varianza

**Cuadro N° 13. Cuadro de ANOVA**

Fuentes de variación	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabular	
					5%	1%
Total	27	55,44				
Tratamientos	6	49,82	8,30	30.74	2,66	4,01
Error	21	5.62	0,27			

**Fuente:** Elaboración propia.

El cuadro ANOVA muestra los resultados de la tercera lectura a los 15 días, el cual expone que existe una diferencia estadísticamente significativa donde se obtuvo la “F” calculada de los tratamientos mayor que “F” tabular al 5 % y al 1 %, como consecuencia dice que los tratamientos son distintos entre sí.

### 3.4.2. Prueba de medias TUKEY

**Cuadro N° 14. Medias de diferencia significativas de crecimiento micelar**

<b>T = 1,13</b>	<b>5,18</b>	<b>4,13</b>	<b>4,00</b>	<b>3,90</b>	<b>3,65</b>	<b>3,15</b>
<b>0,55</b>	*	*	*	*	*	*
<b>3,15</b>	*	NS	NS	NS	NS	
<b>3,65</b>	*	NS	NS	NS		
<b>3,90</b>	*	NS	NS			
<b>4,00</b>	*	NS				
<b>4,13</b>	NS					

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.4.3. Diferencia de medias de los tratamientos

**Cuadro N° 15. Diferencia de medias de tratamientos**

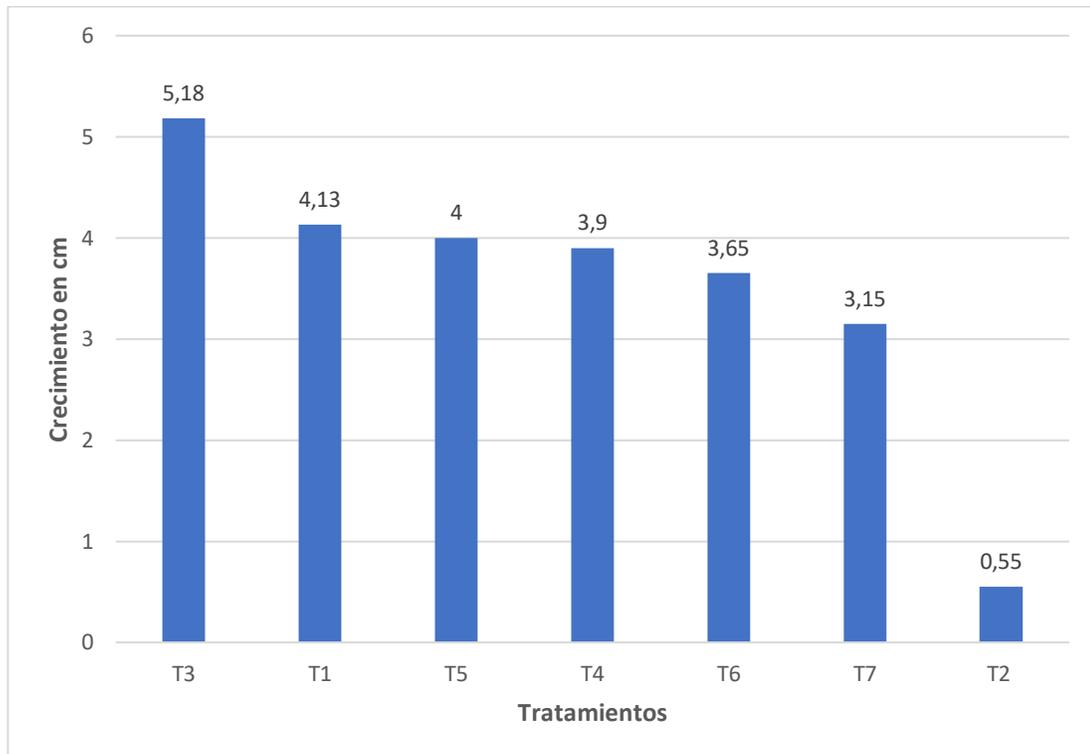
<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Rango</b>
<b>T3</b>	5,18	a
<b>T1</b>	4,13	ab
<b>T5</b>	4	b
<b>T4</b>	3,9	b
<b>T6</b>	3,65	b
<b>T7</b>	3,15	b
<b>T2</b>	0,55	c

**Fuente:** Elaboración propia.

La prueba de Tukey determina que el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), con crecimiento de 5.18 cm, se demuestra que tuvo un mayor crecimiento a los 15 días de la evaluación, el cual no difiere con el tratamiento N° 1, pero si con el tratamiento N°2, el tratamiento N°1 (100 % de sorgo) con un crecimiento de 4.13 no refleja una diferencia estadísticamente alta entre los tratamientos N°3, N° 5, N° 4, N°6 y N° 7, se deja al tratamiento N°2, que es estadísticamente diferente que los demás tratamientos, existe un crecimiento menor en comparación a los tratamientos ya mencionados.

#### 3.4.4. Análisis del crecimiento miceliar a los 15 días

Gráfica N° 3. Crecimiento miceliar a los 15 días



**Fuente:** Elaboración propia.

La gráfica de los datos obtenidos a los 15 días de desarrollo del micelio, en los diferentes tratamientos, refleja que el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo) sigue siendo el tratamiento con mayor crecimiento midiendo 5.18 cm, a comparación de los demás tratamientos, el ensayo N° 1 (100 % de sorgo) es el que más se aproxima midiendo 4.13 cm.

#### 3.5. Evaluación a los 20 días en cm

El crecimiento miceliar a los 20 días, donde se tomó la cuarta lectura de la investigación, se puede observar que se tiene un desarrollo miceliar significativo en los diferentes tratamientos.

**Cuadro N° 16. Crecimiento miceliar a los 20 días.**

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				Σ	MEDIAS
	I	II	III	IV		
TRATAMIENTO 1	6,3	5,3	5,5	6,2	23,3	5,83
TRATAMIENTO 2	3,7	0	0	0	3,7	0,93
TRATAMIENTO 3	7,3	8,4	7	7,2	29,9	7,48
TRATAMIENTO 4	6,5	5,7	5,3	5,4	22,9	5,73
TRATAMIENTO 5	5,3	5,6	5,7	5,5	22,1	5,53
TRATAMIENTO 6	5,3	5,2	5,3	5,4	21,2	5,30
TRATAMIENTO 7	4,2	4,8	4,5	4,5	18	4,50
Σ	38,6	35	33,3	34,2	141,1	

**Fuente:** Elaboración propia.

El cuadro de las medias de crecimiento miceliar de los tratamientos a los veinte días, indica que el tratamiento con mayor crecimiento es el tratamiento N°3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), en comparación a los demás tratamientos.

### 3.5.1. Análisis de varianza

**Cuadro N° 17. Cuadro de ANOVA**

Fuentes de variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabular	
					5%	1%
<b>Total</b>	27	111,05				
<b>Tratamientos</b>	6	98,17	16,36	32,72	2,66	4,01
<b>Error</b>	21	10,56	0,50			

**Fuente:** Elaboración propia.

El cuadro ANOVA muestra los resultados de la tercera lectura a los 20 días, el cual señala que existe una diferencia estadísticamente significativa donde se obtuvo la “F” calculada de los tratamientos mayor que “F” tabular al 5 % y al 1 %, como consecuencia dice que los tratamientos son distintos entre sí.

### 3.5.2. Prueba de medias TUKEY

**Cuadro N° 18. Medias de diferencia significativas de crecimiento micelar**

<b>T = 1,71</b>	<b>7,48</b>	<b>5,83</b>	<b>5,73</b>	<b>5,53</b>	<b>5,3</b>	<b>4,5</b>
<b>0,93</b>	*	*	*	*	*	*
<b>4,5</b>	*	NS	NS	NS	NS	
<b>5,3</b>	*	NS	NS	NS		
<b>5,53</b>	*	NS	NS			
<b>5,73</b>	*	NS				
<b>5,83</b>	NS					

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.5.3. Diferencia de medias de los tratamientos

**Cuadro N° 19. Diferencia de medias de tratamientos**

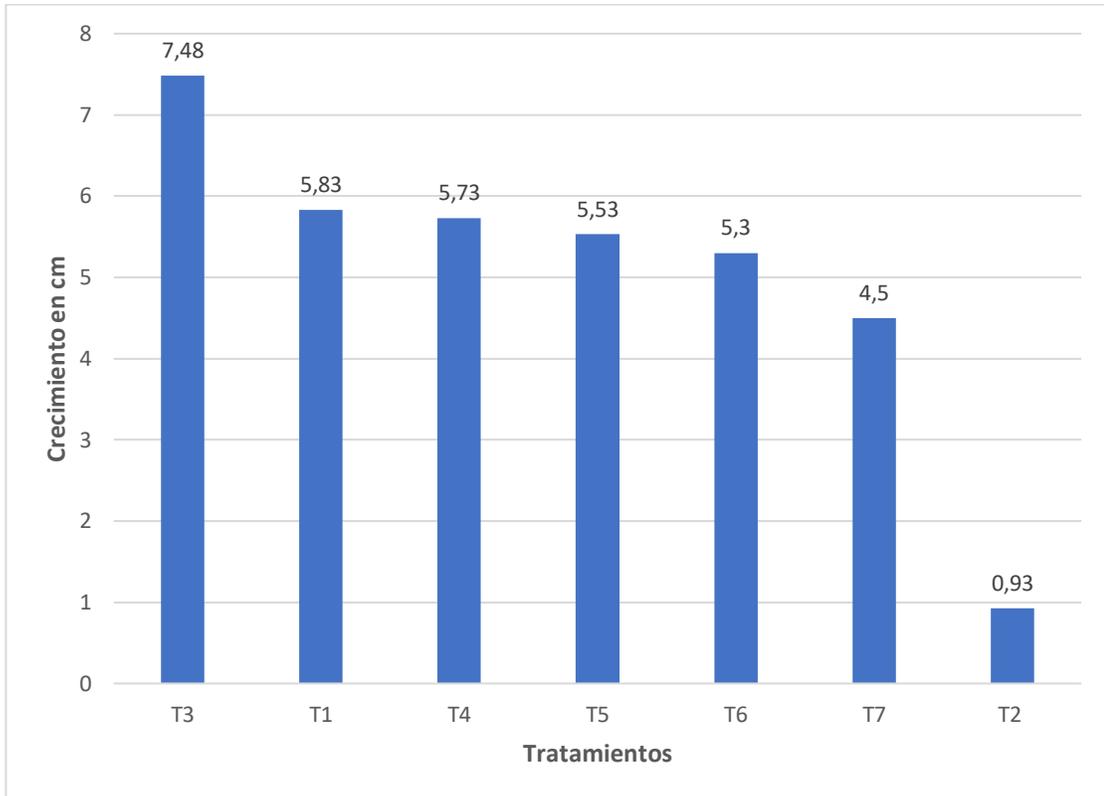
<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Rango</b>
<b>T3</b>	7,48	a
<b>T1</b>	5,83	b
<b>T4</b>	5,73	b
<b>T5</b>	5,53	b
<b>T6</b>	5,3	b
<b>T7</b>	4,5	b
<b>T2</b>	0,93	c

**Fuente:** Elaboración propia.

Después de ejecutar la prueba de Tukey se determina que el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), con un crecimiento de 7.48 cm, presenta diferencias estadísticas con los demás tratamientos a los 20 días de la inoculación, mientras que los tratamientos N°1, N° 4, N° 5, N°6 y N° 7, no presentan una diferencia estadísticamente significativa, a excepción del tratamiento N° 2 (100 % de trigo), con un crecimiento de 0.93 cm, que es estadísticamente diferente que los demás tratamientos, existe un crecimiento menor en comparación a los tratamientos ya mencionados.

### 3.5.4. Análisis del crecimiento miceliar a los 20 días

Gráfica N° 4. Crecimiento miceliar a los 20 días



**Fuente:** Elaboración propia.

En la gráfica demostrativa del crecimiento del micelio a los 20 días, se puede observar que el tratamiento N°3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo) tiene un mayor desarrollo midiendo 7.48 cm, mientras que los tratamientos N°1 y N°4 tienen una diferencia mínima, a comparación de los demás tratamientos, a excepción del tratamiento N°2 (100 % de trigo), que tiene el menor desarrollo miceliar entre todos los tratamientos puestos a investigación.

### 3.6. Evaluación a los 25 días en cm

La evaluación del crecimiento miceliar a los 25 días de la inoculación de los granos, se nota un mayor desarrollo en los tratamientos.

**Cuadro N° 20. Crecimiento miceliar a los 25 días.**

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				Σ	MEDIAS
	I	II	III	IV		
TRATAMIENTO 1	7,5	6,4	7	7,7	28,6	7,15
TRATAMIENTO 2	5,4	0	0	0	5,4	1,35
TRATAMIENTO 3	8,4	8,7	7,9	7,3	32,3	8,08
TRATAMIENTO 4	7,6	6,7	6,5	6,5	27,3	6,83
TRATAMIENTO 5	6,6	7	6,9	6,7	27,2	6,80
TRATAMIENTO 6	6,4	6	6,5	6,5	25,4	6,35
TRATAMIENTO 7	5,6	6,3	6	6,1	24	6,00
Σ	47,5	41,1	40,8	40,8	170,2	

**Fuente:** Elaboración propia.

Se puede observar en el cuadro de medias, que el desarrollo miceliar aumento significativamente en los distintos tratamientos, siendo el tratamiento N° 3 con el mayor desarrollo.

### 3.6.1. Análisis de varianza

**Cuadro N° 21. Cuadro de ANOVA**

Fuentes de variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabular	
					5%	1%
<b>Total</b>	27	139,97				
<b>Tratamientos</b>	6	114,61	19,10	15,78	2,66	4,01
<b>Error</b>	21	25,36	1,21			

**Fuente:** Elaboración propia.

El cuadro ANOVA muestra los resultados de la tercera lectura a los 25 días, el cual indica que existe una diferencia estadísticamente significativa donde se obtuvo la “F” calculada de los tratamientos mayor que “F” tabular al 5 % y al 1 %, como consecuencia nos dice que los tratamientos son distintos entre sí.

### 3.6.2. Prueba de medias TUKEY

**Cuadro N° 22. Medias de diferencia significativas de crecimiento micelar**

<b>T = 2,40</b>	<b>8,08</b>	<b>7,15</b>	<b>6,83</b>	<b>6,80</b>	<b>6,35</b>	<b>6</b>
<b>1,35</b>	*	*	*	*	*	*
<b>6</b>	*	NS	NS	NS	NS	
<b>6,35</b>	NS	NS	NS	NS		
<b>6,80</b>	NS	NS	NS			
<b>6,83</b>	NS	NS				
<b>7,15</b>	NS					

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.6.3. Diferencia de medias de los tratamientos

**Cuadro N° 23. Diferencia de medias de tratamientos**

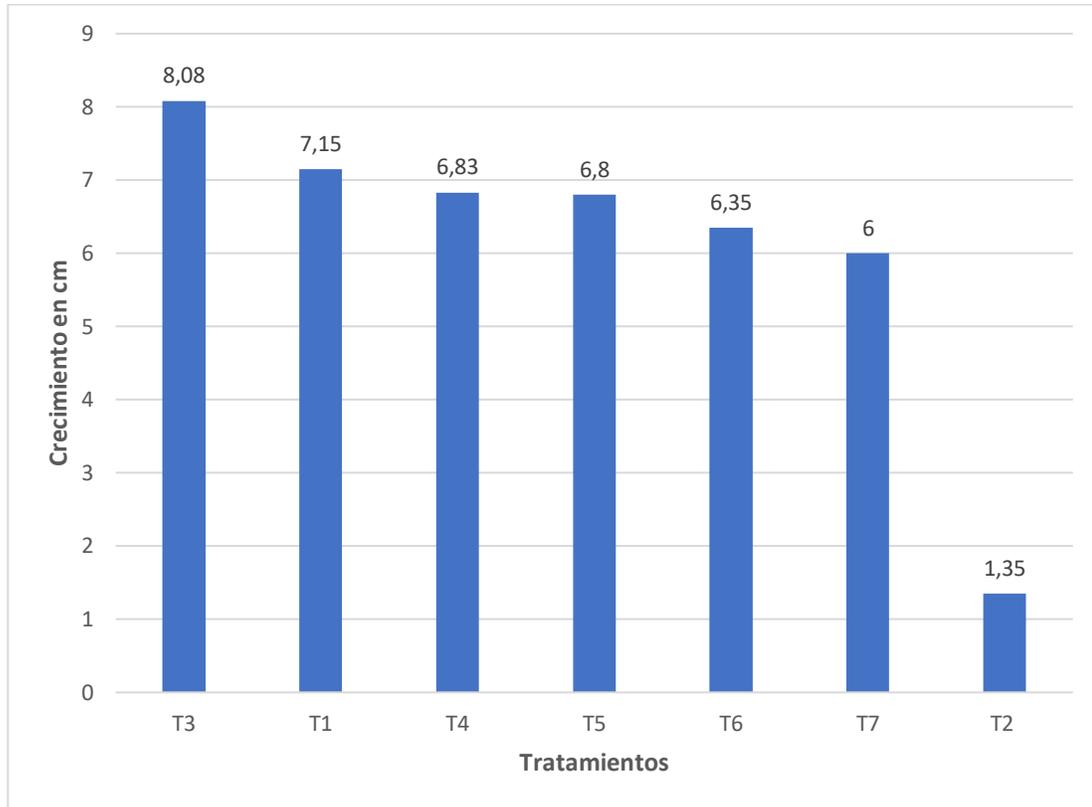
<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Rango</b>
<b>T3</b>	8,08	a
<b>T1</b>	7,15	a
<b>T4</b>	6,83	a
<b>T5</b>	6,8	a
<b>T6</b>	6,35	a
<b>T7</b>	6	a
<b>T2</b>	1,35	b

**Fuente:** Elaboración propia.

Los tratamientos N° 3, N° 1, N° 4, N° 5, N° 6 y N° 7, no reflejan una diferencia estadísticamente alta entre sí, mientras comparando con el tratamiento N° 2 (100 % de trigo), que obtuvo un crecimiento de 1.35 cm, que es estadísticamente diferente que los demás tratamientos, existe un crecimiento menor en comparación a los tratamientos ya mencionados.

### 3.6.4. Análisis del crecimiento miceliar a los 25 días

Gráfica N° 5. Crecimiento miceliar a los 25 días



**Fuente:** Elaboración propia.

La gráfica del crecimiento miceliar a los 25 días desde que se inocularon los tratamientos con micelio, demarca que el tratamiento N° 3 sigue siendo el ensayo con mayor aceptabilidad para el micelio, midiendo en esta etapa 8.08 cm, al igual se puede observar que los demás tratamientos presentan un crecimiento aceptable, con una excepción del tratamiento N°2.

### 3.7. Evaluación a los 30 días en cm

La evaluación del crecimiento del micelio de champiñón a los 30 días, ha sido la última lectura tomada, completando con el periodo de investigación, en el cual se pudo observar un desarrollo significativo, en todos los tratamientos.

**Cuadro N° 24. Crecimiento miceliar a los 30 días.**

TRATAMIENTOS	RÉPLICAS				Σ	MEDIAS
	I	II	III	IV		
TRATAMIENTO 1	8,1	7,9	7,9	8,1	32	8,00
TRATAMIENTO 2	6,9	0	0	0	6,9	1,73
TRATAMIENTO 3	9	8,9	8,3	8	34,2	8,55
TRATAMIENTO 4	8	7,8	7,7	7,5	31	7,75
TRATAMIENTO 5	7,8	8,1	7,7	8	31,6	7,90
TRATAMIENTO 6	7,6	7,5	7,7	7,9	30,7	7,68
TRATAMIENTO 7	7,1	7,4	7,2	7,4	29,1	7,28
Σ	54,5	47,6	46,5	46,9	195,5	

**Fuente:** Elaboración propia.

Las mediciones obtenidas a los 30 días desde que se inocularon los granos con micelio, muestra las medias significativas en las cuales se puede observar que se tuvo un aumento de crecimiento en todos los tratamientos, donde el tratamiento N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), sigue siendo el de mayor crecimiento.

### 3.7.1. Análisis de varianza

**Cuadro N° 25. Cuadro de ANOVA**

Fuentes de variación	gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F tabular	
					5%	1%
<b>Total</b>	27	169,34				
<b>Tratamientos</b>	6	132,52	22,09	12.62	2,66	4,01
<b>Error</b>	21	36.82	1,75			

**Fuente:** Elaboración propia.

El cuadro ANOVA muestra los resultados de la tercera lectura a los 30 días, el cual indica que existe una diferencia estadísticamente significativa donde se obtuvo la “F” calculada de los tratamientos mayor que “F” tabular al 5 % y al 1 %, como consecuencia dice que los tratamientos son distintos entre sí.

### 3.7.2. Prueba de medias TUKEY

**Cuadro N° 26. Medias de diferencia significativas de crecimiento micelar**

<b>T = 2,89</b>	<b>8,55</b>	<b>8</b>	<b>7,90</b>	<b>7,75</b>	<b>7,68</b>	<b>7,28</b>
<b>1,73</b>	*	*	*	*	*	*
<b>7,28</b>	NS	NS	NS	NS	NS	
<b>7,68</b>	NS	NS	NS	NS		
<b>7,75</b>	NS	NS	NS			
<b>7,90</b>	NS	NS				
<b>8</b>	NS					

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.7.3. Diferencia de medias de los tratamientos

**Cuadro N° 27. Diferencia de medias de tratamientos**

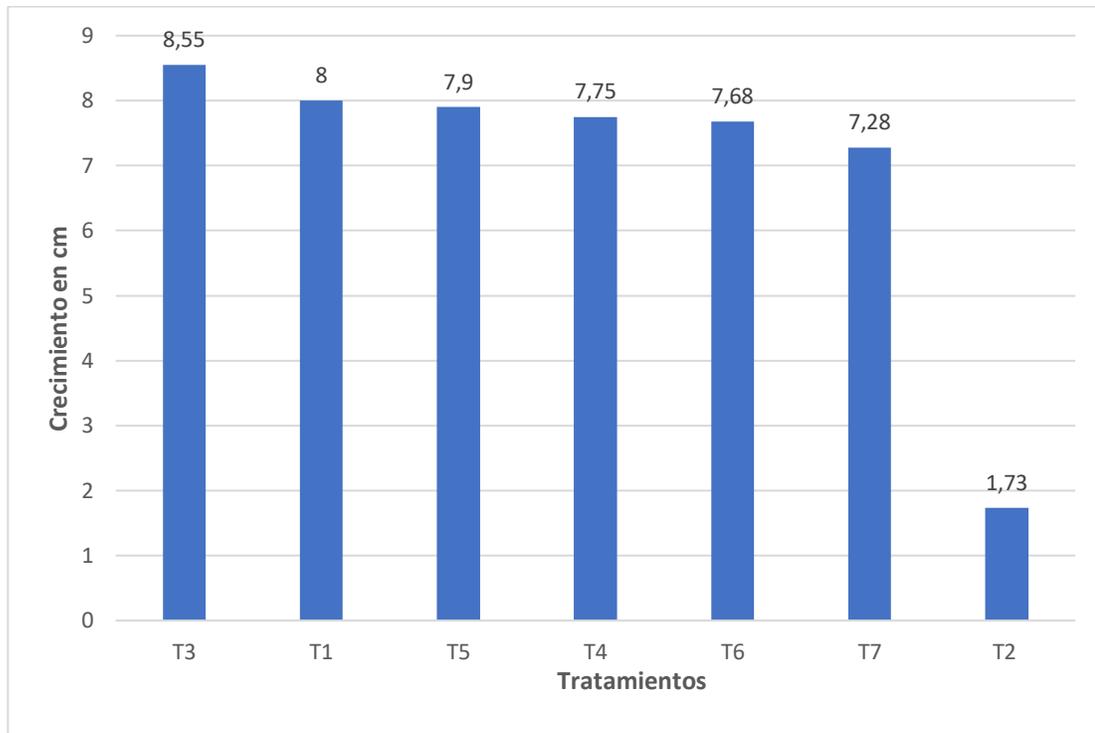
<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Rango</b>
<b>T3</b>	8,55	A
<b>T1</b>	8	A
<b>T5</b>	7,9	A
<b>T4</b>	7,75	A
<b>T6</b>	7,68	A
<b>T7</b>	7,28	A
<b>T2</b>	1,73	B

**Fuente:** Elaboración propia.

La prueba de Tukey determina que los tratamientos N °3, N° 1, N° 4, N°5, N°6 y N°7, no reflejan una diferencia estadísticamente alta entre sí, mientras comparando con el tratamiento N° 2 (100 % de trigo), que obtuvo un crecimiento de 1.35 cm, que es estadísticamente diferente que los demás tratamientos, existe un crecimiento menor en comparación a los tratamientos ya mencionados.

### 3.7.4. Análisis del crecimiento miceliar a los 30 días

Gráfica N° 6. Crecimiento miceliar a los 30 días



**Fuente:** Elaboración propia.

En la gráfica de evaluación de crecimiento del micelio a los 30 días, se puede observar que los tratamientos tuvieron un crecimiento significativo, siendo así el tratamiento con mayor desarrollo miceliar el N° 3 (95 % de sorgo – 5 % de trigo), con una medición de 8.55 cm sobre los granos, donde también destaca al tratamiento N°1 (100 % de sorgo), con una medición de 8 cm y el tratamiento N°5 (80 % de sorgo – 20 % trigo), con una medición de 7.9 cm, teniendo una diferencia mínima entre los mismos, los tratamientos N° 4, N°6 Y N°7, obtuvieron un crecimiento bueno pero no mejor a los ya mencionados, a excepción de tratamiento N° 2 donde obtuvo el menor desarrollo de micelio.

### 3.8. Crecimiento miceliar en medio de cultivo PDA

Se replicaron muestras de micelio de muestra matriz primaria, para evaluar el crecimiento miceliar en cajas Petri con medio de cultivo (PDA), unas sometidas a temperatura ambiente y otras a una temperatura constante de 25 °C, durante un periodo de 15 días en oscuridad, haciendo una lectura cada día teniendo un total de 15 lecturas, los datos están expresados en centímetros.

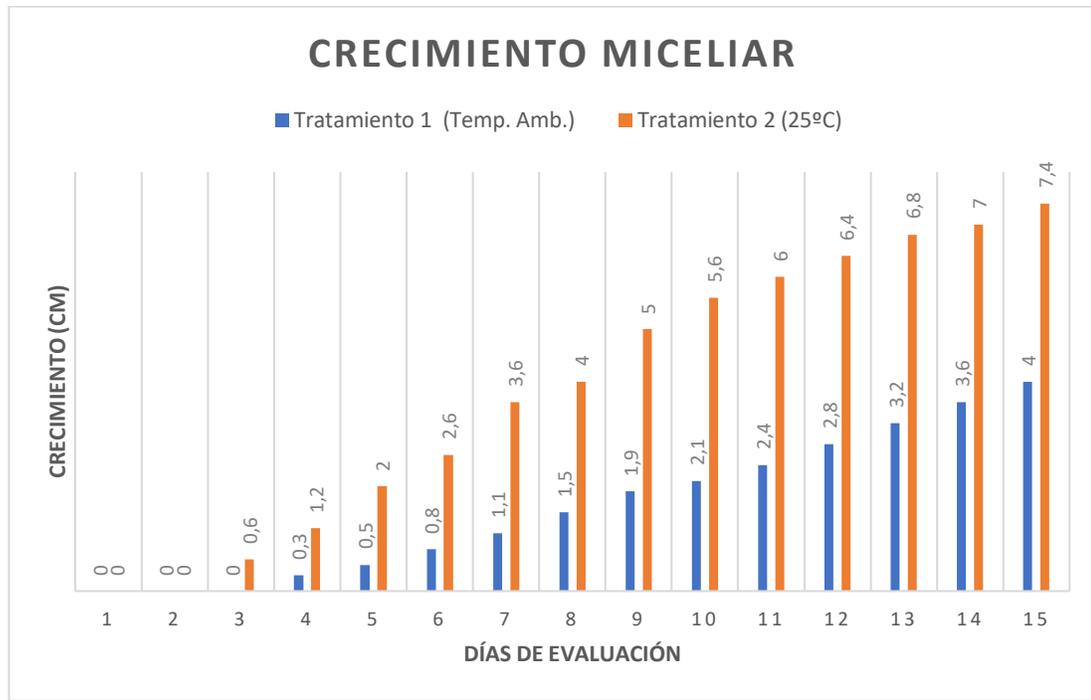
**Cuadro N° 28. Resultados del crecimiento en PDA**

Tto.	Bloques (cm)															Σ	Medias
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
<b>T1</b>	0	0	0	0,3	0,5	0,8	1,1	1,5	1,9	2,1	2,4	2,8	3,2	3,6	4	24	1,61
<b>T2</b>	0	0	0,6	1,2	2	2,6	3,6	4	5	5,6	6	6,4	6,8	7	7,4	58	3,88
<b>Σ</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>11</b>	<b>82</b>	

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.8.1. Análisis del crecimiento miceliar en PDA

Gráfica N° 7. Crecimiento miceliar



**Fuente:** Elaboración propia.

Los resultados obtenidos de la medición del crecimiento de micelio en cajas petris con PDA puestas a distintas temperaturas unas a temperatura ambiente y otras a una temperatura constante de 25 °C, la media de crecimiento del primer tratamiento es 1.6 cm, mientras que el segundo tratamiento es de 3.8 cm, donde se puede observar que el segundo tratamiento tiene mayor crecimiento miceliar que el primer tratamiento, demostrando así que es una ventaja incubar micelio a una temperatura constante de 25 °C, ya que se obtendrá mejores resultados a menor tiempo.

### 3.8.2. Análisis económico

Para dar una buena recomendación no solo se puede basar en los análisis estadísticos que se vio al principio, si no que se tiene que realizar un análisis económico los costos fijos y costos variables que llegar a tener.

Se tomó en cuenta para los costos comunes todos los materiales necesarios para equipar un laboratorio con lo básico para producir semilla inoculada. Se hizo una depreciación a los costos fijos, esta depreciación se sumó a los costos totales. Al año se tomó como producción 150 kg, en el que los costos totales se dividieron para esta producción, donde a mayor producción menores serán los costos de rendimiento.

**Cuadro N° 29. Costos totales de semilla de los diferentes tratamientos**

<b>Tratamientos</b>	<b>Costo total de la semilla kg / bs</b>
<b>Tratamiento 1</b>	72,2
<b>Tratamiento 2</b>	75,8
<b>Tratamiento 3</b>	72,7
<b>Tratamiento 4</b>	72,9
<b>Tratamiento 5</b>	73,2
<b>Tratamiento 6</b>	73,5
<b>Tratamiento 7</b>	74,2

**Fuente:** Elaboración propia.

*(Ver anexo 3-9)*

Considerando la diferencia económica que se tiene entre los diferentes tratamientos, se puede observar que el tratamiento N° 1 (100% grano de sorgo) tiene el menor precio debido a que el grano de sorgo es mucho más económico que el grano de trigo, donde se puede distinguir un alza en el precio del tratamiento N° 2 siendo solamente trigo, y los demás tratamientos (N° 3, N° 4, N° 5, N° 6 y N° 7) tienen una diferencia mínima que va ascendiendo en relación al porcentaje de trigo que contenga.

### 3.9. Discusión

Estudios realizados por (Nava, E. 2002), menciona que el micelio puede crecer en todos los medios utilizados teniendo entre ellos diferencias significativas. Sin embargo, el desarrollo del micelio es óptimo con los granos de sorgo con porcentaje de crecimiento de 21,15 % a los 15 días, mientras que el medio generalmente usado (granos de trigo) presentó un buen crecimiento, en el cual podemos comparar como mi investigación, que a los 15 días de evaluación el tratamiento N° 3 (95 % de granos de sorgo – 5 % de granos de trigo) presentamos un crecimiento de 5.18 cm porcentualmente obtuvo un 47.09 % de crecimiento y el tratamiento N° 1 (100 % de sorgo) con un crecimiento de 4.15 cm porcentualmente obtuvo un 37.7 % de crecimiento

Desde la posición de (Alave, 2008), en el caso de *Agaricus blazei*, el sorgo presentó velocidades de crecimiento de 3.48 mm/día respectivamente, en el cual menciona que a los 15 días cubre una superficie de 5,22 cm, así mismo se puede comparar que el tratamiento N° 1 (100 % de grano de sorgo) del presente ensayo, presenta un crecimiento de 4.15 cm en 15 días desde la inoculación, demostrando valores similares en el mismo tiempo de evaluación, comparando con el tratamiento N° 3 (95 % de granos de sorgo – 5 % de granos de trigo), con una medición de 5.18 cm, que presento el mayor crecimiento, podemos mencionar que la combinación de sorgo con trigo es un medio de inoculación adecuado para la producción de semilla de champiñón.

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4. CONCLUSIONES

Es posible técnicamente la producción de semilla de champiñón en condiciones controladas en el laboratorio de fitopatología, siendo un apoyo muy útil para la investigación en la producción de champiñón.

Los siete tratamientos puestos a prueba en esta investigación donde se evaluó el crecimiento del micelio en las dos especies de grano y combinación de los mismos, se concluyó que el micelio puede crecer en todos los medios utilizados teniendo entre ellos diferencias mínimas. Sin embargo, el crecimiento del micelio o desarrollo del miceliar es más óptimo con el tratamiento N° 3 (95 % grano de sorgo – 5 % grano de trigo) y el tratamiento N° 1 (100 % grano de sorgo) teniendo un crecimiento mayor en menor tiempo que los demás tratamientos, los tratamientos N° 4 (90 % grano de sorgo – 10 % grano de trigo), N° 5 (80 % grano de sorgo – 20 % grano de trigo), N° 6 (70 % grano de sorgo – 30 % grano de trigo) y N° 7 (50 % grano de sorgo – 50 % grano de trigo) presentaron un buen crecimiento pero no mejor que los anteriores ya mencionados, mientras que el medio generalmente más usado (granos de trigo) siendo el tratamiento N° 2 (100 % grano de trigo) presentó un crecimiento significativamente menor a los anteriores tratamientos.

También se evaluó el comportamiento del micelio en cajas petri en un medio de cultivo (PDA), donde se observó que el micelio del champiñón es un órgano muy delicado en sus inicios y de las cuales necesitas condiciones especiales para un desarrollo óptimo, como la temperatura controlada, donde se obtuvo mejores resultados de crecimiento del micelio a una temperatura constante de 25 °C a comparación de las cajas Petri que se dejó desarrollar a temperatura ambiente teniendo un crecimiento significativamente menor.

Según el análisis económico realizado, se comprobó que el mejor tratamiento es el N° 1 (100 % granos de sorgo) que el resto de los tratamientos, posee el costo mucho menor en relación con los otros tratamientos. Los demás tratamientos que poseen un porcentaje de granos de trigo, tienen un alza en sus precios debido a que el grano de trigo es mucho más caro con relación al grano de sorgo, la diferencia de precio

es mínima, el tratamiento N° 2 (100% de trigo) tiene el precio más elevado que los demás, esto también es debido a que la mano de obra aumenta cuando se implementa el grano de trigo.

#### **4.1. RECOMENDACIONES**

Según el análisis estadístico y el análisis económico que se realizó en el presente trabajo de investigación se recomienda usar el grano de sorgo para la producción de semilla de champiñón debido a que fue el que tuvo mejor crecimiento dando a conocer que es un medio adecuado para el desarrollo del micelio, también siendo un grano económicamente barato y que se puede encontrar en el medio local y que no necesita importación.

Analizando varios factores que se debe tomar para la producción de semilla cabe recomendar algunos puntos y equipos que no son indispensables, como la autoclave que se puede remplazar con una olla de presión cumpliendo el mismo trabajo, también el uso de la cámara de flujo laminar la cual se puede sustituir con las buenas prácticas de asepsia de laboratorio y un ambiente desinfectado.