



Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Agronomía

Producción de setas de *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr) Quel.
en paja de trigo y posterior evaluación del sustrato
bioaumentado incorporado a un suelo Hapludand

Tesis presentada como parte
de los requisitos para optar al
grado de Licenciado en
Agronomía.

Mauricio Andrés Moreno Rapimán

Valdivia - Chile

2008

Profesor Patrocinante:

Eduardo Valenzuela F.

Lic. Cs., M. Sc. Dr. Cs.

Profesor Copatrocinante:

Dante Pinochet T.

Ing. Agr., M. Sc., Ph. D.

Profesor Informante:

Roberto MacDonald H.

Ing. Agr., M. Sc.

INSTITUTO DE INGENIERIA AGRARIA Y SUELOS

INDICE DE MATERIAS

Capitulo	Pag.
1 INTRODUCCION	1
2 REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	3
2.1 Hongos Comestibles	3
2.1.1 Producción de Hongos en el mundo	3
2.2 Producción e importancias de <i>Pleurotus eryngii</i>	4
2.2.1 Sustratos usados en la producción de <i>Pleurotus eryngii</i>	4
2.2.2 Tratamientos para reducir o eliminar carga microbiana en sustratos	5
2.2.2.1 Métodos térmicos	5
2.2.2.2 Métodos químicos	5
2.3 Constituyentes y biodegradación de residuos vegetales	6
2.3.1 Constituyentes orgánicos de los residuos vegetales	6
2.3.2 Biodegradación de paja de trigo por <i>Pleurotus eryngii</i>	8
2.4 Producción de setas de <i>Pleurotus eryngii</i> en paja de trigo	9
2.5 Biodegradación de residuos vegetales en los suelos	11
2.5.1 Microorganismos asociados a la descomposición de residuos en los suelos	11
2.5.2 Factores que afectan la biodegradación de los residuos vegetales en los suelos	12
2.5.3 Evaluación de la actividad biológica de suelos adicionados de residuos vegetales	13
2.5.3.1 Respiración del suelo	13
2.5.3.2 Nitrógenos provenientes de la descomposición	14
2.5.3.3 Carbono soluble	14
2.5.3.4 Actividad enzimática deshidrogenada	14

Capitulo		Pag.
3	MATERIAL Y METODO	16
3.1	Material	16
3.1.1	Biológico	16
3.1.2	Reactivos	16
3.1.3	Equipos	16
3.1.4	Otros	17
3.2	Métodos	17
3.2.1	Ubicación de ensayos	17
3.2.2	Producción setas de <i>Pleurotus eryngii</i>	17
3.2.1.1	Masificación de cepa fúngica	17
3.2.1.2	Preparación de paja de trigo	18
	Tratamiento cocido	18
	Tratamiento pasteurizado	18
3.2.1.3	Inoculación y colonización de la paja de trigo	18
3.2.1.4	Producción de setas de <i>Pleurotus eryngii</i>	19
3.2.2	Determinación de la biodegradación post-cosecha de setas de la paja de trigo	19
3.2.2.1	Determinación del contenido de nitrógeno total	19
3.2.2.2	Determinación del contenido de carbono total	19
3.2.3	Incorporación de residuos de paja de trigo en suelos trumaos	20
3.2.4	Determinación de los parámetros químicos del suelo	21
3.2.4.1	Medición de la emisión de CO ₂ del suelo	21
3.2.4.2	Determinación de N mineral (NO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺)	21
3.2.4.3	Determinación de carbono soluble	22
3.2.5	Determinación de parámetro químico orgánico de la paja de trigo en el suelo y suelo	22

Capitulo		Pag.
3.2.5.1	Método modificado de actividad enzimática deshidrogenasa (DHA) sobre residuos y suelos.	22
3.3	Diseño experimental y análisis estadístico	23
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	26
4.1	Determinación de la eficiencia biológica, en la producción de setas de <i>Pleurotus eryngii</i> en paja de trigo cocida y pasteurizada	26
4.2	Constituyentes químicos de paja de trigo antes y después de los tratamiento térmico y posterior a la biodegradación por <i>P. eryngii</i>	28
4.2.1	Componentes inorgánicos	29
4.2.2	Componentes orgánicos	31
4.3	Evaluación de la fertilidad biológica en suelos adicionados de sustratos biodegradado y bioaumentado con <i>P. eryngii</i>	36
4.3.1	Cambios en la emisión de CO ₂ (respiración) desde el suelo adicionados con sustratos bioaumentados	36
4.3.1.1	Respiración del suelo después de la adición de los distintos sustratos a través del tiempo	36
4.3.2	Respiración acumulada del suelo en los tratamientos	39
4.3.3	Nitrógeno mineral (NO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺) como parámetro de actividad biológica	41
4.3.4	Determinación del Carbono soluble como parámetro de actividad biológica	45
4.4	Las enzimas deshidrogenasas como indicador de actividad biológica del suelo después de la adición de residuos	47
5	CONCLUSIONES	51
6	RESUMEN	52
	SUMMARY	54

Capitulo		Pag.
7	BIBLIOGRAFIA	56
	ANEXOS	65

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag.
1	Constituyentes orgánicos de la paja de trigo	7
2	Razón C:N de las fracciones en residuos vegetales	8
3	Eficiencia biológica en diferentes residuos y proyección de residuos generados	10
4	Parámetros usados para determinar la actividad microbiológica	13
5	Categorización general de residuos, basadas en diferentes métodos de calidad de residuos	15
6	Diseño del ensayo de producción de setas de <i>Pleurotus eryngii</i> en paja de trigo	23
7	Diseño de medición de parámetros químicos razón C:N de la paja de trigo	24
8	Diseño de medición de parámetros químicos orgánicos de la paja de trigo	24
9	Diseño del ensayo para la determinación de la respiración del suelo, carbono soluble y nitrógeno mineral en muestras de suelo	24
10	Diseño de medición de enzima deshidrogenasa en residuo-suelo y residuo	25
11	Eficiencia biológica de <i>P. eryngii</i> en paja de trigo cocida y pasteurizada	26
12	Parámetros de la regresión ajustada a los datos de la evolución acumulada de CO ₂ a través del tiempo (ecuación de primer orden)	39
13	Concentración de trifetil formazan tetrazolio en suelo-residuo y residuo, y su relación con respecto al residuo	49

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pag.
1	Variación de la razón C:N paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y post-cosecha de setas	29
2	Compuestos orgánicos de la paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y post-cosecha de setas. Los nueceros muestran la razón C:N	32
3	Respiración de suelo sometido a incorporación de paja de trigo, parcialmente biodegradada y bioaumentada, y suelo sin adición	37
4	Curvas de la evolución de CO ₂ ajustada a una ecuación de primer orden	40
5	Mineralización e inmovilización de N del suelo, incorporado de paja de trigo parcialmente biodegradada y bioaumentada	43
6	Grafico de N mineral y respiración del suelo, y su relación	44
7	Incremento y disminución del C soluble del suelo después de la incorporación de paja de trigo parcialmente biodegradada y bioaumentada	46
8	Cambios en el tiempo de la concentración enzimática deshidrogenasa A) suelo-residuo y B) residuo	48

INDICE DE ANEXOS

Anexo		Pag.
1	Eficiencia biológica detallada en paja de trigo cocida y pasteurizada	66
2	Prueba de t student para la EB en paja de trigo cocida y pasteurizada	67
3	Razón C:N de la paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y biodegradación	67
4	Constituyentes orgánicos de la paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y biodegradación	67
5	Respiración del suelo entre los distintos tratamientos y tiempos expresada en $\text{g CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$	67
6	Análisis de los parámetros de la ecuación de primer orden (emisión de CO_2 acumulada)	68
7	Emisión de CO_2 acumulada en relación a gramos de Carbono ingresado al suelo	68
8	Mineralización e inmovilización de nitrógeno mineral del suelo después de la incorporación de residuos ($\text{mg N kg}^{-1} \text{ ss}$)	69
9	Incremento y disminución de carbono soluble del suelo después de la incorporación de residuos ($\text{mg C soluble kg}^{-1} \text{ ss}$)	69
10	Grafico de C soluble vs respiración del suelo y su correlación	70
11	Cuadro de medición de enzimas deshidrogenasas	70
12	Andeva de la razón C:N para los diferentes tiempos de medición	71
13	Andeva del contenido de celulosa para los diferentes tiempos de medición	71
14	Andeva del contenido de hemicelulosa para los diferentes tiempos de medición	71
15	Andeva del contenido de lignina para los diferentes tiempos de medición	71
16	Andeva del contenido de extraíbles totales para los diferentes tiempos de medición	71

Anexo		Pag.
17	Andeva de la emisión de CO ₂ del suelo con paja de trigo (control) para los diferentes tiempos de medición	71
18	Andeva de la emisión de CO ₂ del suelo con paja de trigo pasteurizada y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición	72
19	Andeva de la emisión de CO ₂ del suelo con paja de trigo cocida y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición	72
20	Andeva de la mineralización e inmovilización de N mineral del suelo con paja de trigo (control) para los diferentes tiempos de medición	72
21	Andeva de la mineralización e inmovilización de N mineral del suelo con paja de trigo pasteurizada y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición	72
22	Andeva de la mineralización e inmovilización de N mineral del suelo con paja de trigo cocida y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición	72
23	Andeva del incremento y disminución del C soluble del suelo con paja de trigo (control) para los diferentes tiempos de medición	73
24	Andeva del incremento y disminución del C soluble del suelo con paja de trigo pasteurizada y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición	73
25	Andeva del incremento y disminución del C soluble del suelo con paja de trigo cocida y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición	73
26	Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas suelo- residuo en el tiempo 16	73
27	Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas suelo- residuo en el tiempo 31	73
28	Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas residuo en el tiempo 16	73

Anexo		Pag.
29	Análisis de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas residuo en el tiempo 31	74
30	Análisis de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas % residuo con respecto al total, tiempo 16	74
31	Análisis de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenadas % residuo con respecto al total, tiempo 31	74
32	Fotos de colonización de la paja de trigo por <i>P. eryngii</i> y sus setas	74

1 INTRODUCCION

En el último tiempo el consumo de hongos comestibles cultivados han aumentado a tasas crecientes en el mundo. Este aumento, se ha dado principalmente en países europeos y asiáticos.

Con los recientes tratados de libre comercio suscritos por Chile con países de la comunidad europea y asiática, se abren interesantes mercados para la venta de hongos comestibles. Dentro de éstos, *Pleurotus eryngii* (Ostra Rey), es uno de los más demandados, por lo que sería importante evaluar las condiciones óptimas para su producción a nivel local.

La producción de setas de este hongo se realiza básicamente en un sustrato de paja de trigo. Este sustrato es parcialmente biodegradado por los hongos en la producción intensiva de las setas y se origina como subproducto una importante cantidad de residuos, consistente en paja parcialmente degradada y sustrato no utilizado. Este residuo requiere de un manejo alternativo para ser reciclado y proceder de acuerdo con los principios de producción limpia y sustentable. Una posibilidad es reciclar este material como fuente de nutrientes y de materia orgánica a los suelos. De esta forma se produce una tecnología que colabora al mantenimiento de la materia orgánica del suelo y la actividad microbial del mismo, la adición de fuentes de nutrientes para las plantas, y se desarrollan tecnologías más amigables con el medio ambiente.

Los objetivos generales del presente estudio serán: evaluar mediante la eficiencia biológica la producción de setas de *P. eryngii* en paja de trigo que se someterá a dos tipos de tratamientos térmicos y, determinar la biodegradación del sustrato (post-cosecha de setas) luego de su incorporación a un suelo trumao y además determinar la actividad biológica del suelo.

La primera etapa de esta investigación es parte del proyecto FONDEF: (DO2I1003) "Tecnologías de producción de hongos comestibles de importancia comercial en el mercado internacional "

La Hipótesis a evaluar:

Una mejor eficiencia biológica se obtiene al cultivar *Pleurotus eryngii* en paja de trigo pasteurizada y la actividad biológica del suelo se incrementa al incorporar el residuo post-cosecha de setas.

Para aceptar o rechazar esta hipótesis se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar mediante la determinación de la eficiencia biológica, la producción de setas de *P. eryngii* en paja de trigo cocida y pasteurizada.
- Determinar la relación C:N y componentes orgánicos de la paja de trigo, al inicio y posterior al tratamiento térmico y a la cosecha de setas.
- Evaluar la actividad biológica del suelo adicionado de residuos bioaumentados con *P. eryngii*, posterior a la cosecha de setas; a través de la emisión de CO₂, la variación del contenido de N (NO₃ + NH₄) y el carbono soluble.
- Estimar la actividad enzimática de suelo adicionado con residuos bioaumentados con *P. eryngii*, cuantificando la actividad enzimática deshidrogenasa en suelo y residuos.

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Hongos comestibles

Los hongos comestibles taxonómicamente pertenecientes al reino Fungí y en su mayoría a la División Basidiomicota, han sido consumidos por el hombre desde hace miles de años, no sólo por sus propiedades nutritivas y sabor, sino también por sus propiedades medicinales (BOA, 2005). Registros arqueológicos revelan especies comestibles asociadas con poblaciones chilenas de hace 13.000 años (ROJAS y NANSUR, 1995), pero es en China donde hay registros históricos de su consumo por primera vez varios siglos A.C. Hongos comestibles silvestres fueron recolectados durante tiempos de la antigua Grecia y de los romanos, siendo más apreciados por personas de alto rango que por la población en general (BOA, 2005).

Observadas las características naturales de crecer saprofitando abundantes fuentes o recursos lignocelulolíticos para el hombre, resultó evidente plantearse la posibilidad de elaborar sustratos artificiales para cultivar hongos y obtener sus cuerpos fructíferos, fuera del entorno natural. Desde entonces nace el cultivo de los hongos comestibles (SANCHEZ y ROYSE, 2001).

2.1.1 Producción de hongos en el mundo. En las últimas dos décadas en el mundo se ha producido un aumento en el consumo de hongos comestibles (RAGUNTHAN *et al.*, 1996; SANCHEZ y ROYSE, 2001; JONG, 2003) tanto para los hongos silvestres como los cultivados. Para los últimos las producciones aumentaron en un 8.5% el 2002 con respecto al año anterior, con una producción de 2.961.493 Mg de hongos cultivados (JONG, 2003), de estos según BOA (2005) destacan *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus spp*, que abarcan el 75% de los hongos cultivados en el mundo.

De los *Pleurotus* spp. el más cultivado es *Pleurotus ostreatus* y la especie que ha destacado, por su aumento en la demanda y precios, es *Pleurotus eryngii*, en comparación con *P. ostreatus* y *P. sajor-caju* (COHEN *et al.*, 2002).

2.2 Producción e importancia de *Pleurotus eryngii*

Las características que han llevado a llamar Ostra Rey (King Oyster) a *P. eryngii* y tener importancia en los mercados asiáticos y europeos, aumentando su producción de 2000 Mg en 1996 a 10070 Mg en 2001, son la mejor calidad organoléptica (sabor y textura), aroma y culinaria de sus setas (MANZI *et al.*, 2004; OHGA y ROYSE 2004), la buena conservación en el tiempo de las setas (COHEN *et al.*, 2002), su importancia científica en la medicina (contrarresta deficiencias renales, inflamación, hipertensión e hiperlipemia), descritos por EGUCHI *et al.* (1999), y su cualidad de degradar residuos lignocelulíticos (DORADO *et al.*, 1999; PHILIPPOUSSIS *et al.*, 2001; WANG y NG, 2006), muy importante en estudios de delignificación biotecnológica de manufacturación de pulpa de papel (CARAMELO *et al.*, 1999).

2.2.1 Sustratos usados en la producción de *Pleurotus eryngii*. Las características de los hongos, de saprofitar abundantes fuentes o recursos lignocelulósicos, hace posible que se puedan cultivar y aprovechar una gran variedad de residuos agroforestales (RAGUNTHAN *et al.*, 1996; FHILIPPOUSSIS *et al.*, 2001; YILDIS *et al.*, 2002). Entre los residuos usados en el cultivo de *P. eryngii* se encuentran desechos de algodón (tallos, hojas) paja de trigo, cáscaras de cacahuete (FHILIPPOUSSIS *et al.*, 2001) viruta de roble, cascarillas de semilla de algodón (ROYSE, 1997), paja de arroz, residuos de papel, hojas de álamo europeo, aserrín y pastos (YILDIS *et al.*, 2002), Piragüitas (*Cyperus alternifolius*) (OHGA y ROYSE, 2004). También se mezclan en diferentes proporciones, distintos residuos para mejorar los sustratos (SANCHEZ y ROYSE, 2001).

Los más usados son los desechos de cereales por ser más abundantes y fáciles de manipular; uno es la paja de trigo (FHILIPPOUSSIS *et al.*, 2001; ROYSE, 2003). Según Food and Agriculture Organization (FAO, 2005), el trigo es el más cultivado en el mundo y por ende genera una gran cantidad de residuos.

2.2.2 Tratamientos para reducir o eliminar carga microbiana en sustratos. Uno de los objetivos de reducir la carga microbiana o eliminarla totalmente del sustrato, es que la colonización del hongo a cultivar no tenga competencia o se vea interferido por otros microorganismos (ROYSE, 1997). Para este propósito se ocupan diferentes métodos o tratamiento, en los cuales se elimina parcialmente o totalmente la competencia de microorganismos, por los constituyentes del sustrato. Entre los tratamientos ocupados en la producción de hongos comestibles están; térmicos, químicos y combinación de ambos (BANERJEE y CHEREMISINOFF, 1985), que se describen a continuación.

2.2.2.1 Métodos térmicos. Estos son los más utilizados en producción de hongos comestibles. Entre los cuales se pueden destacar:

Calor húmedo: se emplea un autoclave, donde se logran temperaturas de ebullición superiores a 100 °C. Al aumentar la presión en una atmósfera el agua hierve a 121 °C. Manteniéndose estas condiciones por 20 minutos se destruye toda forma de vida (RICHARDS, 1968). Otro método que ocupa calor húmedo es la pasteurización, donde se lleva a ebullición el agua. Esta alcanza temperaturas cercanas a 100 °C, la cual se mantiene por dos a tres horas, produciéndose la muerte parcial de microorganismos, ya que al sustrato llega sólo calor latente de ebullición del agua (ZADRAZIL y SCHNEIDERREIT, 1972).

Otro método sencillo descrito por KURTZMAN (1979), es la ebullición directa del sustrato. Este se hace hervir por 30, 45, 60 o más minutos, donde se eliminan parcialmente los microorganismos del sustrato.

2.2.2.2 Métodos químicos. No muy usados comúnmente, por su residualidad en los sustratos, aunque suelen tener resultados tan eficientes como los logrados en el autoclave.

Los productos químicos usados son comúnmente fungicidas tales como; carbendazima (50-75 ppm), formaldehído (500-1000 ppm), oxiclورو de cobre (100 ppm), dejando remojar el sustrato por una noche y drenando después (SANCHEZ y

ROYSE, 2001). Otro químico que se ha comenzado a usar recientemente es peróxido de hidrógeno (H_2O_2), solución al 3%, es barato, no volátil, de baja toxicidad, estable, de fácil disponibilidad, fácil de manejar y biodegradable (MYCOMASTERS, 2006).

La fermentación es otro método alternativo y económico descrito por SHARMA *et al*, (1996), éste se realiza en zonas tropicales, debido a que las temperaturas que se producen en la fermentación oscilan entre los 20 y 30 °C, y es aplicable a la paja de trigo y otros cereales. En donde el contenido de nitrógeno puede estar comprendido entre 0.5 y 1.5% más alto, pasa a putrefacción. El principio bioquímico se basa en materiales que al ser sumergidos en agua sufren una fermentación por acción de las bacterias lácticas, principalmente cocos, presentes de forma natural en el sustrato. Entre 12 y 30 °C, la fermentación comienza espontáneamente, y la acción metabólica de estas bacterias elimina los azúcares, impidiendo que posteriormente pueda tener lugar el desarrollo de los competidores como *Trichoderma* spp y *Penicillium* spp. Esto facilita la acción de las enzimas del hongo a cultivar (celulasas, polifenoloxidasas, peroxidases y otras) sobre el sustrato y ácidos orgánicos formados.

Para estimular y mantener una fermentación vigorosa es necesario añadir sacarosa (aproximadamente el 1% del peso de los materiales). El proceso dura entre 5 a 7 días, en donde el pH desciende paulatinamente, hasta llegar a valores en torno a 4.5, por lo que se hace necesario adicionar $CaCO_3$ antes de inocular el sustrato con la cepa de hongo comestible (SHARMA *et al.*, 1996).

2.3 Constituyentes y biodegradación de residuos vegetales

En la mayoría de los residuos vegetales, la mayor cantidad de carbono se presenta como carbohidratos complejos, tales como polisacáridos estructurales complejos (Wagner y Wolf 1999, citado por CABEZA 2002).

2.3.1 Constituyentes orgánicos de los residuos vegetales. Los constituyentes orgánicos de los vegetales pueden ser agrupados en seis grandes categorías. Celulosa: compuesto orgánico (C, H, O), polisacárido, formado por unidades de glucosas unidas por enlaces β 1-4 en cadenas no ramificadas. Constituyente vegetal más importante, ubicado en la pared celular de la célula vegetal, puede variar de un 15

a un 60% del peso seco. Hemicelulosa: polisacárido, usualmente ramificado, formado por pentosas, hexosas y ácidos urónicos. Ubicado en la pared celular, junto a la celulosa y generalmente, el segundo compuesto orgánico en importancia después de la celulosa. Lignina: polímero de C, H y O, formado por unidades de fenilpropano, con estructura no uniforme y muy ramificada. Corresponde entre un 5 y 30% del peso seco y se encuentra asociado a la celulosa en la pared celular. Además de azúcares simples, aminoácidos y ácidos alifáticos (fracción soluble al agua), grasas, aceites, resinas, pigmentos (fracción soluble en éter y alcohol) y proteínas (BORIE y RUBIO, 1990).

En general, a medida que la planta avanza en su estado fenológico, los contenidos de celulosa y lignina aumentan, disminuyendo las fracciones solubles en agua y las proteínas (STRANSBURGER, 2003)

CUADRO 1. Constituyentes orgánicos de la paja de trigo

Componente	g 100 g ⁻¹ materia seca
Celulosa	36.1 - 50.0
Hemicelulosa	30.0
Lignina	14.1-21.0

FUENTE: Wagner y Wolf (1999) citado por CABEZA (2002), MUSHWORLD (2005).

La paja de trigo consta de tres fracciones principales (Cuadro 1), cada una de ellas con una resistencia a la biodegradación (VERBERNE *et al.*, 1990). Estas fracciones corresponden a:

- Material descomponible (carbohidratos solubles y proteínas)
- Material estructural (celulosa y hemicelulosa)
- Material resistente (lignina).

Cada una de estas fracciones posee una razón C:N relativamente constante (VERBERNE *et al.*, 1990). Las relaciones C:N para estas fracciones se indican en el Cuadro 2:

CUADRO 2. Razón C:N de las fracciones en residuos vegetales

Componente	Razón C:N
Material descomponible (carbohidratos solubles y proteínas)	6
Material estructural (celulosa y hemicelulosa)	150
Material resistente (lignina)	100

FUENTE: Adaptado de VERBERNE *et al.* (1990).

En los procesos térmicos (punto 2.2.2.1), comúnmente usados para reducir o eliminar microorganismos de la paja de trigo, pre-siembra de *P. eryngii*, la paja sufre cambios en sus constituyentes orgánicos estructurales, se reduce significativamente la hemicelulosa, los materiales resistentes no cambian significativamente (MUSHWORLD, 2005), y no existe información sobre material descomponible.

2.3.2 Biodegradación de paja de trigo por *Pleurotus eryngii*. La biodegradación óptima ocurre en condiciones de temperaturas de 20 ± 2 °C y humedad relativa alta (ROYSE, 1997; MUSHWORLD, 2005). El hongo secreta exoenzimas al sustrato, las cuales comienzan a degradar los constituyentes de la paja de trigo (SCHLEGEL, 1997).

En el metabolismo primario de los hongos, los materiales descomponibles y estructurales (celulosa y hemicelulosa) de la paja de trigo, son requeridos como fuentes de carbono esenciales para la acción enzimática de *P. eryngii*. Estos son aportados por carbohidratos y proteínas (PEREZ *et al.*, 2002; STAJIĆ *et al.*, 2005). Estas enzimas actúan en relación carbono nitrógeno de 150, por lo tanto su tasa de descomposición será más lenta (VERBERNE *et al.*, 1990).

En el metabolismo secundario se degrada material resistente (lignina), que es conocida por ser una sustancia recalcitrante y altamente resistente a la descomposición microbial (KUMAR y GOH, 2000, y Blanchette, 1991; citado por CABEZA, 2002) *P. eryngii* se destaca por su selectividad para degradar lignina, transformándola a moléculas de bajo peso molecular (DORADO *et al.*, 1999), y en limitadas condiciones de nitrógeno (STAJIĆ *et al.*, 2005).

Por otra parte STAJIĆ *et al.* (2006), en ensayos de biodegradación *in-vitro* de desechos de uva y pera realizados con *P. eryngii*, determino que las enzimas de la delignificación; laccasa (lac), peroxidasa dependiente Mn (MnP), peroxidasa versátil (VP), son afectadas por altas concentraciones de nitrógeno.

Otro factor que afecta la degradación del sustrato en medios controlados es el pH. *Pleurotus eryngii* tiene una mejor colonización y nutrición en sustratos acondicionados a pH básicos sobre seis (SANCHEZ y ROYSE, 2001).

2.4 Producción de setas de *Pleurotus eryngii* en paja de trigo

Después de biodegradar un tiempo el sustrato, el hongo en su ciclo biológico comienza a producir basidiocarpos (setas), estos están formados por hifas estériles, basidios, basidiolos y los cistidios (SCHLEGEL, 1997). Una de las condiciones importantes en la formación de basidiocarpos son las concentraciones de CO₂ en el ambiente. Sobre 0.15% de CO₂, son determinantes para la formación de setas (SANCHEZ y ROYSE, 2001).

Una de las formas de medir la producción de setas con respecto al sustrato utilizado, es mediante la eficiencia biológica: cociente entre el peso fresco de las setas y el peso seco del sustrato¹. Algunas eficiencias biológicas (EB) de *P. eryngii* son; chip de roble, es de 30.7 a 54.1% EB, en semillas y cáscaras de algodón de 45% EB (ROYSE y SANCHEZ, 2004), en mezcla de 8:1:1 de aserrín, cereales y salvado es de 32.4 a 37.8% EB (MYCELIA, 2004). Otra mezcla con la mayor eficiencia es 4:1 de aserrín de Cedro japonés y salvado de trigo o arroz es de 33.7 a 62.3% EB (WHA, 2002), y otras mezclas no especificadas de mazorca de maíz, paja de arroz y aserrín tienen un 28.5 a 42.8% EB (TAPINGKAE, 2004).

Considerando las eficiencias biológicas mencionadas anteriormente se puede realizar una proyección de residuos o subproducto generado en la producción de setas. Teniendo en cuenta que una empresa rentable origina 400 kg mes (FONDEF:

¹ VALENZUELA, E. (2005). Dr. Sc. Docente e Investigador. Instituto Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

DO211003), se muestra en el Cuadro 3 las cantidades de de residuos que generarían en un año (expresada en materia seca).

CUADRO 3. Eficiencia biológica en diferentes residuos y proyección de residuos generados

Sustrato	EB (%)	Mg MS Residuos bioaumentado año ⁻¹
Chip de Roble (<i>N. sylvatica</i>)	42.4	11.3
Semilla y cáscara de algodón	45.0	10.7
Aserrín, cereal y salvado (8:1:1)	35.1	13.7
Mazorca de maíz, paja de arroz y aserrín	35.6	13.4
Aserrín Cedro japonés y salvado de trigo o arroz (4:1)	48.0	10.0

EB: Eficiencia Biológica, Mg MS: Mega (10⁶) gramo Materia Seca

FUENTE: WHA (2002), ROYSE y SANCHEZ (2004), MYCELIA (2004), TAPINGKAE (2004).

En los últimos años se han incorporados términos nuevos como bioestimulado y bioaumentado no atribuida a ningún autor en específico, sin embargo GARCIA (2006), en su tesis doctoral utiliza bioaumentado refiriéndose a algún producto biodegradado con microorganismos o restos de microorganismos. Término ocupado para definir en este estudio los residuos o subproductos biodegradados y con micelio de *P. eryngii*.

Dada la gran cantidad de residuos generados (Cuadro 3), muchos científicos y productores se preguntaron que hacer con esta gran cantidad de residuos, para ser aprovechados como subproductos y no desecharlos. Una de las alternativas es la alimentación de rumiantes la cual resulta atrayente debido a la disminución de la proporción de los compuestos estructurales resistentes, de esta forma se beneficia la biodegradación e incrementa la digestibilidad ruminal, transformándose en una buena alternativa para la nutrición de rumiantes (KAMRA y ZADRAŽIL 1986; COHEN *et al.*, 2002). Otra posibilidad es usarlos como compost o incorporarlos al suelo. El composteo se realiza a nivel de pequeños y medianos productores (MUSHWORLD, 2005). Empresas norteamericanas dedicadas a la industria de la jardinería (turfgrass y Landscape) fabrican sustratos artificial para el césped, mezclando el sustrato biodegradado con suelo y en unión europea sólo lo incorporan al suelo como buenas practicas agrícolas (CANADIAN MUSHROOM GROWERS, 2000).

2.5 Biodegradación de residuos vegetales en los suelos

Los suelos agrícolas son unos de los mayores depósitos de carbono del planeta y tienen potencial para expandir el secuestro de carbono, contribuyendo así a disminuir la creciente concentración atmosférica de CO₂. Este es uno de los principales objetivos de incorporar residuos vegetales al suelo. Incorporando materia orgánica se tendrá un efecto directo sobre la física, fertilidad y biológica del suelo. En general el contenido de materia orgánica se considera uno de los indicadores primarios de la calidad del suelo (ROBERT, 2002).

Esta biodegradación y estabilización de los residuos en el suelo generalmente es definido como Humus: material orgánico que los microorganismos del suelo han transformado a una forma más estable (BOHN *et al.*, 1993; SAJJAD *et al.*, 2002), y es dependiente del tipo o calidad de residuos. Las razones C:N que tengan el residuo van a estar estrechamente ligada con la rapidez de la actividad enzimática de la biomasa microbial sobre este (SAJJAD *et al.*, 2002).

2.5.1 Microorganismos asociados a la descomposición de residuos en los suelos. Existe una amplia variedad de formas microbiológicas, encontrándose bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoos. Los más abundantes en número de individuos son las bacterias, aunque sobrepasados en biomasa por los hongos; sin la actividad relacionada de los microorganismos (microflora: bacterias, actinomicetes, hongos), (SZEGLI, 1988; JENKINSON, 1992).

Los hongos son considerados el segundo grupo más importantes de microorganismos del suelo. Estimaciones realizadas sobre la biomasa, sugieren que los hongos pueden presentar hasta el 70% de la población microbiana del suelo, pero suele aceptarse como valor normal un 50 % (SZEGLI, 1988; JENKINSON, 1992).

Varios grupos de hongos utilizan la celulosa para satisfacer sus necesidades de carbono y energía (ALEXANDER, 1980), entre otros se distinguen: *Fusarium*, *Polyporus*, *Myrothecium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Trametes*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Chaetonium*, *Trichotecium*, *Coprinus*, *Verticillium*, *Fomes* y *Zygorhynchus*.

Según SZEGLI, (1988) todos los Basidiomycota pueden descomponer hemicelulosa, destacándose como los mejores; *Fomes* y *Polyporus*, y otros hongos como: *Zygorhynchus*, *Cunninghamella*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Humicola* y *Aspergillus*. También un gran número de actiniomicetes.

La lignina es la estructura más resistente a la descomposición por microorganismos. Según Olavarria (2000), citado por LINDH (2004) en lo que se refiere a hongos, los lignocelulóticos y los Basidiomycotas, destacan, y entre éstos los Aphylophorales de los géneros *Trametes*, *Poria*, *Ganoderma* y *Chrysosporium*. Otros Basidiomycota que pueden descomponer primariamente lignina son: *Clavaria*, *Armillaria*, *Fomes*, *Polyporus*, *Pleurotus*, *Polystictus* y *Ustilina* (SZEGLI, 1988).

2.5.2 Factores que afectan la biodegradación de los residuos vegetales en los suelos. La temperatura, humedad y pH son los principales factores que afectan la degradación de los residuos vegetales (ALEXANDER, 1980; SZEGLI, 1988), además de las características químicas del sustrato.

La mayoría de los microorganismos del suelo son mesófilos, con un óptimo de desarrollo entre los 25 – 37 °C, y un mínimo de actividad a los 5°C (Dickinson, 1974 y Alexander, 1999., citado por CABEZA, 2002).

La humedad del suelo juega un rol importante no sólo como un medio donde se desarrollan los procesos de óxido reducción de microorganismos, sino también de transporte y propagación, el cual produciría efectos importantes sobre la descomposición de los residuos (ALEXANDER, 1980; JENKINSON, 1992). Se indican que a capacidad de campo se produciría la mayor actividad biológica en los suelos (KUMAR y GOH, 2000).

SZEGLI (1988), dice que las bacterias son más sensibles al pH, teniendo mejor actividad enzimática en pH de 6.5 a 7.8. Los hongos se manejan en un rango menor al de las bacterias, que va de 4.5 a 6.0, y en otras extremas, a pH inferiores. Siempre hay microzonas en el suelo con diferentes pH donde se pueden desarrollar diferentes microorganismos.

Otra característica a considerar es la textura del suelo; cabe destacar que el tipo y cantidad de arcillas (SIX *et al.*, 2006), es donde se desarrolla la mayor actividad microbiológica, considerándose partículas o coloides de gran actividad superficial química (HUANG *et al.*, 2002).

2.5.3 Evaluación de la actividad biológica de suelos adicionados de residuos vegetales. MANNIPIERI *et al.* (2003) indica algunos parámetros usados habitualmente para determinar la actividad microbiológica en suelos, en este contexto (ver cuadro 4). La forma más práctica y sencilla es midiendo la respiración del suelo, así como también, la liberación de nutrientes provenientes de la mineralización, y las reacciones enzimáticas en el suelo y sobre residuos.

CUADRO 4. Parámetros usados para determinar actividad microbiológica

Respiración	Actividad específicas de enzimas
Mineralización de nitrógeno	Hidrólisis fluorescencia diacetato
Relación de nitrificación	Emisión de calor
Actividad potencial de desnitrificación	Incorporación de tiamidina
Fijación de nitrógeno	Incorporación de leucina
Contenido ATP	Amonificación de argelina
Actividad deshidrogenada	Reducción de sulfoxido dimetil

FUENTE: Alef y Mannipieri, (1995) citado por MANNIPIERI *et al.*, (2003).

2.5.3.1 Respiración del suelo. Los microorganismos heterótrofos del suelo, degradan residuos vegetales y otros residuos orgánicos, para obtener energía, desarrollo y su mantención (ALEXANDER, 1980). Durante la degradación aeróbica de los desechos, los productos finales son: CO₂ y agua. Como consecuencia, la emisión del CO₂ puede ser usada como una medida de la actividad microbial y de las cantidades de sustrato descompuesto, aunque parte de los compuestos también son usados en la síntesis microbial (ALEXANDER, 1980; LEHNINGER, 2001).

Para la liberación de CO₂ del suelo se han indicado dos instancias importantes, por un lado el CO₂ que representa la degradación de la materia orgánica nativa, y en

segundo lugar, la descomposición de sustratos adicionados al suelo (ALEXANDER, 1980).

2.5.3.2 Nitrógenos provenientes de la descomposición. El nitrógeno que se encuentra en solución en el suelo comprende un amplio número de compuestos, en general, se encuentran proteínas, amino ácidos, ácidos nucleicos, amino azúcares, paredes celulares de microorganismos y una gama de N, la cual posee una composición no conocida (ALEXANDER, 1980). La mayoría de las enzimas extracelulares producidas por microorganismos, depolimerizan proteínas, amino polisacáridos (paredes celulares de microorganismos) y ácidos nucleicos, e hidrolizan urea en el proceso llamado globalmente amonificación. Una vez que se ha realizado la amonificación, continua el proceso de nitrificación, en un proceso continuo y paralelo, en donde las bacterias (*Nitrosomonas* y *Nitrobacter*) transforman el NH_3 (NH_4) a NO_2^- NO_3^- respectivamente (ALEXANDER, 1980; JENKINSON, 1992).

La mineralización del N se determina en forma de NH_4^+ y NO_3^- . El aumento o disminución en el tiempo dependen de la actividad microbiana, del consumo de cultivos o plantas, y la lixiviación y amonificación (STEUBIMG *et al.*, 2002).

2.5.3.3 Carbono soluble. Los microorganismos utilizan en su metabolismo compuestos carbonados de la solución del suelo (ALEXANDER, 1980). Estos provienen de; material descomponible de residuos (proteínas y carbohidratos) (VERBERNE *et al.*, 1990), y de la biomasa microbiana muerta. De esta forma el incremento o disminución del carbono soluble desde la matriz del suelo, mostraría la actividad microbiana del suelo (SIX *et al.*, 2006).

2.5.3.4 Actividad enzimática deshidrogenasa. Entre los métodos más adecuados para conocer la dinámica de la materia orgánica, está el medir la actividad enzimática (MANNIPIERI *et al.*, 2003); ya que la estabilización o degradación dependen principalmente de procesos biológicos, en que las enzimas juegan un papel principal (AGUILERA *et al.*, 1988; SAJJAD *et al.*, 2002). Las enzimas deshidrogenasas están presentes en todos los microorganismos, en reacciones de oxidación-reducción; esenciales para muchos procesos fisiológicos, removiendo y trasladando electrones (H^+) desde

sustratos orgánicos o inorgánicos, para obtener la energía desde un donador a un aceptor (co-enzimas NAD o NADP). En el suelo, los protones de los compuestos reducidos son transportados por las deshidrogenasas a través de la cadena transportadora de electrones, siendo el O₂ el aceptor final (LEHNINGER, 2001 y STEUBIMG *et al.*, 2002).

PRAVEEN-KUMAR *et al.* (2003) describen un método para la estimación de la descomposición de residuos del suelo, mediante la actividad enzimática deshidrogenasa relacionándola con otros métodos (Cuadro 5). La metodología modificada de actividad deshidrogenasa (DHA 72), el cual mide la cantidad de deshidrogenasa del residuo y suelo, suponen en sus reacciones la existencia de un aceptor de electrones que en este caso, es una sal incolora de tetrazolio (TTC, cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolio), la cual es reducida y transformada a trifenilformazan (TFF) esta solución es roja la cual es medida en espectrofotómetro (metodología original de Tabatabai (1982) y modificadas por PRAVEEN-KUMAR *et al.* (2003).

Cuadro 5. Categorización general de residuos, basadas en diferentes métodos de calidad de residuos

Categoría	Método	
	Razón C:N	DHA 72 (p Kat)
Altamente descompuesto	< 18	> 25
Muy descompuesto	18 - 27	15 - 25
Medianamente descompuesto	28 - 60	9 - 14
Baja descomposición	> 60	< 9

FUENTE: PRAVEEN-KUMAR *et al.* (2003).

3 MATERIAL Y METODO

3.1 Material

Los materiales utilizados en la realización de este trabajo de investigación se describen a continuación.

3.1.1 Biológico. Se usó la cepa del hongo *Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Qué. var. *eryngii*, semillas de trigo *Triticum aestivum* L. cv. Baron.

3.1.2 Reactivos. Los reactivos utilizados en la fase experimental se presentan a continuación con su abreviación utilizada en el resto del texto: ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.005 N y concentrado 96%, agar extracto de malta (AEM) al 2%, agua destilada, agua oxigenada (H_2O_2), aleación devarda en polvo, benomilo, cloruro de potasio (KCl) 2M, dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 0.0667 M y 1 N, hidroxido de potasio (KOH) 0.5M, indicadores fenoftaleina, ortofenantrolina, naranjo de metilo, óxido de magnesio (MgO), solución indicadora de nitratos (H_3BO_3), sulfato de amonio ferroso $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 0.033M, sulfato de magnesio ($MgSO_4$), sulfato ferroso (Fe_2SO_4) 0,5 N, sulfato de potasio (K_2SO_4), trifenil formazan y 2,3,5-trifeniltetrazolio cloruro(TTC).

3.1.3 Equipos. Agitador magnético Thermolyne nuova stir plate, Autoclave Orsa, balanza de precisión Precisa, balanza Monobloc Mettler/Toledo, cámara de cultivo Kötterman GMBH Type S430, cámara de secado, cámara de flujo laminar Termo Forma Clas IIA/B3, campana extractora Centra MP4, chipiadota Briggs & Stratton 8HP, destilador Kjeldhal LABCONCO rapid still II, digestor Heating Digester DK20 VELP, espectrofotómetro de absorción atómica UV/VIS 916 GBC, estufa de secado de suelo Heraeus Type KTFU, horno mufla LINDBERG/BLUE, horno Pasteur Orthmann, pHmetro Cole Parmer model 05669-20 y refrigerador.

3.2.4 Otros. Aguja de siembra, algodón, balón de gas 45 kg, barreno manual Oakfield Wisconsin, betonera artesanal, bolsa de nylon transparentes (25 x 15; 70 x 50 cm), bolsas de papel (30 x 10 cm), botellas de vidrio 1 L, bureta de 5 y 50 mL, cocinilla industrial a gas, crisoles, cuchara volumétrica, embudos plásticos, envases de plástico 0,5 L, espátulas, frascos plásticos de 50, 100 y 150 mL, gradilla, tubos de ensayo con tapa, guantes, lápiz marcador, maceteros plásticos de 5 L, , termómetro 115°, matraces aforados de 50, 100, 500, 1000 y 2000 mL, matraces Erlenmeyer de 50, 125 y 250 mL, matraces Kjeldhal 250 mL molino, olla de 40 L, paja de trigo (del año), pala, papel filtro VWR Brand, Whatman N°1, pinzas, pipetas de 2, 3, 4, 5, 10 y 20 mL, placas Petri de 90 mm, probeta de 20 y 50 mL, pulverizador 5 L, sacabocado, soportes, suelo Hapludand (trumao), tambor metal 250 L, tamiz 2 y 4 mm, tijeras, tubos de ensayo (1.5 cm) y vasos precipitados de 300, 500, 600 y 1400 mL .

3.2 Métodos

Los métodos utilizados para la producción de setas de *Pleurotus eryngii*, evaluación de la biodegradación de la paja de trigo pos-cosecha de setas, la incorporación de paja de trigo bioaumentada a suelo trumao, y la evaluación de la actividad biológica del suelo, se describen en los puntos siguientes.

3.2.1 Ubicación de ensayos. Producción de setas de *Pleurotus eryngii*, en Planta piloto de Hongos Comestibles, (Proyecto FONDEF DO2I-1003) Fundo Teja Norte; y evaluación de actividad biológica de suelos adicionados de residuos, en invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias Campus Teja. Ambos lugares pertenecientes a la Universidad Austral de Chile.

3.2.2 Producción setas de *Pleurotus eryngii*

3.3.1.1 Masificación de cepa fúngica. La cepa utilizada fue propagada desde una placa Petri. Con ayuda de un sacabocado de 1.5 cm de diámetro, se obtuvieron discos de agar con micelio. Estos, son sembrados (4 discos/botella) en forma equidistante en botellas de vidrio, que contienen trigo previamente esterilizado en autoclave.

Posteriormente una vez sembrado el trigo, las botellas fueron incubadas a 23 ± 2 °C durante 14 días, en una cámara para cultivo.

3.2.1.2 Preparación de la paja de trigo. A continuación se describen las metodologías utilizadas para el acondicionamiento y tratamientos de la paja de trigo.

La paja de trigo fue cortada a una longitud aproximada de 3 a 5 cm. Esto, con el objeto de mejorar la manipulación, y de aumentar la superficie específica de colonización del micelio fúngico. Seguido se humectó la paja de trigo por 12 horas en un tambor metálico de 200 L.

Con el objeto de disminuir la carga microbiana se realizaron los siguientes dos tratamientos:

Tratamiento cocido: en una olla de 20 L se depositó un canastillo que contenía la paja humectada, seguidamente se completó con agua. Luego en una cocinilla industrial se calentó la olla, y con un termómetro se registró el momento que alcanzó los 100 °C aproximadamente, y se mantuvo por una hora. Posteriormente se dejó estilar hasta humedad de retención.

Tratamiento pasteurizado: se depositaron 25 L de agua en un pasteurizador artesanal, al interior de él, un canastillo con paja humectada; tapado el tambor (200 L), y con el termómetro en el extremo superior, se registró el momento que alcanzó los 90 °C. Seguido se pasteurizó la paja por tres horas.

3.2.1.3 Inoculación y colonización de la paja de trigo. Luego de cada tratamiento, se llenaron bolsas de nylon (30 x 70 cm) con paja y trigo colonizado por *P. eryngii* (descrito en punto 3.2.1), en una relación de 100:3. Una vez cerradas las bolsas con cinta adhesiva, se perforaron para drenar el excedente de agua. Posteriormente, identificada y pesada cada bolsa, se incubó en oscuridad a 23 ± 2 °C y 80 % de humedad relativa. Bajo estas condiciones se asegura la colonización del hongo en la paja de trigo.

3.2.1.4 Producción de setas de *Pleurotus eryngii*. Una vez colonizada la paja de las bolsas por el hongo, se realizaron pequeños cortes en cruz a las bolsas, para la salida de las setas. Luego las bolsas se trasladaron e instalaron en sala de producción, con condiciones de temperatura de 20 °C, 80% de humedad relativa y un tiempo de proceso de nueve horas de luz (1000-1.500 lux) diarias. Una vez que alcanzaron el tamaño comercial las setas, se cosecharon y se identificó la bolsa de producción.

La producción de setas, se estimó mediante la eficiencia biológica, que es la relación entre el peso fresco de las setas, y el peso seco del sustrato (paja de trigo).

3.2.2 Determinación de la biodegradación post-cosecha de setas de la paja de trigo. Una vez terminado el período de cosecha de setas de *P. eryngii*, se escogieron tres bolsas al azar de cada tratamiento, con las cuales se obtuvo una muestra compuesta de paja parcialmente biodegradada. Estas muestras fueron secadas a 60 °C por 48 horas, después molidas y tamizadas entre 40-60 mesh. Lo mismo se realizó con muestras de paja de trigo, previo y posterior al tratamiento térmico. A las muestras se les determinó el carbono y nitrógeno total. Se realizaron análisis para los constituyentes orgánicos de celulosa, lignina y solubles totales, en el Laboratorio de pulpa y papel de la Facultad de Ciencias Forestales, de acuerdo a normas Tappi 1988 (servicio).

3.2.2.1 Determinación del contenido nitrógeno total. El contenido de nitrógeno total se obtuvo mediante el método de Kjeldhal (SAAVEDRA, 1975). Para esto se pesó 0.1 g de muestra, a la cual se añadió 5 mL de H₂SO₄, digiriéndose durante 2 horas. Se dejó enfriar y se le agregó 2 mL de H₂O₂, digiriéndose 30 minutos más. Finalmente, una vez fría, se adicionó 1 g de mezcla catalizadora, y por 1 hora se digirió nuevamente. Se dejó enfriar y se destiló en el destilador Kjeldhal. Para la destilación se sumó 15 mL de NaOH al 50% y el destilado se tituló con H₂SO₄ al 0.05 N.

3.2.2.2 Determinación del contenido de carbono total. Se realizó por medio del método de titulación (SAAVEDRA, 1975). Se pesaron 0.0625 g de muestra, a la cual se agregó 10 mL de K₂CrO₇ y 20 mL de H₂SO₄ concentrado. Se dejó enfriar por 30 minutos y se

añadió 200 mL de agua destilada y 5 gotas de indicador. Posteriormente se tituló con FeSO_4 al 0.05 N.

3.2.3 Incorporación de residuos de paja de trigo en suelos trumaos. Terminado el periodo de cosecha de las setas, la paja de trigo biodegradada escogida anteriormente (punto 3.3.2), se procede a incorporarla a suelo trumao, clasificado según TOSSO (1985) como Serie Valdivia; Typic Hapludand. Para ello se extrajo suelo de 0-20 cm de profundidad, del potrero 21, del Fundo Santa Rosa de la Universidad Austral de Chile, y tamizado a 4 mm. Se le determinó la capacidad máxima de retención de humedad (CMRH) o capacidad de campo, mediante la saturación del suelo depositado en un embudo de vidrio, y dejando drenar el agua no retenida por un periodo de 48 horas. Posteriormente se pesó y secó a 105°C , por un periodo similar al anterior. Después se volvió a pesar el suelo nuevamente.

Antes de mezclar el suelo con la paja bioaumentada, se adicionó a los maceteros que contienen el suelo; agua (entre un 60-70% CMRH), para una preincubación de 10 días. La cual eliminó el efecto acelerador de la mineralización, producto de este re-humedecimiento del suelo seco (Tate, 1995), citado por ZAGAL (2003). Los maceteros conteniendo el suelo, son mantenidos por peso entre 60-70% CMRH, desde el inicio hasta el final del ensayo.

Terminado los 10 días de preincubación, se procedió a mezclar en una betonera artesanal de 20 L, 21.2 g de paja de trigo bioaumentada post-cosecha de setas de *P. eryngii*, y paja sin tratar a control, con un volumen de 5 L de suelo trumao preincubado. Las mezclas obtenidas fueron devueltas a los maceteros de 5 L. Estas son mantenidas en invernadero, donde se registraron las temperaturas mínimas y máximas diarias en el transcurso del ensayo.

La incorporación de paja de trigo al suelo, se realizó simulando una incorporación en terreno, manteniendo lógicamente las proporciones de producción, y basándose en el hecho de que una superficie de 1 ha de trigo en la Décima región, produce como promedio 61.3 qqm de grano por hectárea, y por tanto 8465 kg de materia seca en forma de paja (ODEPA, 2005) De esta manera un suelo trumao 1 m^2

con 0.2 m de profundidad y densidad aparente 0.6 g cm^{-3} pesa 120 kg, es capaz de producir 846.5 g de materia seca, entonces cada kg de suelo recibe 7.05 g de materia seca.

3.2.4. Determinación de los parámetros químicos del suelo. Se determinaron los siguientes parámetros químicos inorgánicos del suelo: emisión de CO_2 (respiración), carbono soluble y N mineral del suelo. Se tomaron muestras de suelo, con un barreno manual, de cada tratamiento en los siguientes tiempos: 1-3-6-8-11-16 y 31 días. Se secaron las muestras en la sala de secado del Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos, de la Universidad Austral de Chile, a una temperatura promedio cercana a los $30 \text{ }^\circ\text{C}$. A continuación, se tamizaron las muestras a un diámetro de 2 mm, y fueron almacenadas en bolsas plásticas para su análisis.

3.2.4.1 Medición de la emisión CO_2 del suelo. La determinación de CO_2 , se realizó mediante el método denominado “campanas de respiración” o “trampas álcalis” (STEUBING *et al.*, 2002). El método se basa en la hipótesis de que es posible recoger CO_2 liberado desde una superficie de suelo, con la ayuda de un envase colector invertido, y en una solución KOH 0.5 N; puesto que el CO_2 es soluble en hidróxido de K o Na. Se implementaron frascos de vidrio como envases colectores (50 mm x 80 mm), conteniendo 10 mL de KOH 0.5 N, y se instalaron en cada macetero; se cubrieron con un pote invertido de 1 L de capacidad, para permitir la medición del CO_2 y manteniéndose por 24 h.

Transcurrido el tiempo se hizo una doble titulación con HCl 0.1 N. La primera de neutralización del KHO con indicador de fenoftaleina, y la segunda de liberación de CO_2 con indicador naranja de metilo.

3.2.4.2 Determinación de N disponible ($\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$). Según la metodología Kjeldahl se determinó el nitrógeno mineral disponible ($\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$), mediante destilación (BLACK, 1965). Se pesaron 5 g de suelo en un frasco plástico, se agregaron 50 mL de KCl 2N, se agitó durante 1 hora, y luego fue filtrado. A continuación se extrajeron 10 mL del filtrado y se depositaron en un matraz kjeldahl de 100 mL, se agregaron 200 mg de

MgO y aleación de vanadio, y luego se conectó el matraz en el sistema de destilación. Para recibir el destilado se usó un matraz Erlenmeyer de 50 mL con 5 mL de solución indicadora (Bromocresol más rojo de metilo en ácido bórico y etanol). La destilación debe durar un máximo de 40 minutos. Se tituló con H_2SO_4 0.005 N.

3.2.4.3 Determinación de Carbono soluble. Para la determinación de C soluble se pesaron 10 g de suelo en un frasco plástico, y se agregaron 50 mL K_2SO_4 0.5 M. Se agitó durante 30 minutos, y luego se filtró. Del filtrado se extrajeron 4 mL del filtrado para depositarlos en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. A este se adicionó 1 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,0667 M y 5 mL de H_2SO_4 concentrado. Antes de titular con $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ 0.033M, se agrega a la muestra 0.3 mL de indicador ortofenantrolina. (NELSON y SOMMERS, 1982).

Es necesario que cada vez que se realice el proceso de titulación, se debe hacer un control para corroborar la concentración de la solución, ya que ésta sufre una rápida oxidación (solución de realiza momentos antes de titular).

3.2.5 Determinación del parámetro químico orgánico de la paja de trigo en el suelo y suelo. Para la estimación de la actividad de la enzima deshidrogenasa sobre el residuo y suelo, se extrajo una muestra compuesta de maceteros de cada tratamiento a los días 16 y 31.

3.2.5.1 Método modificado de actividad enzimática deshidrogenasa (DHA 72) sobre residuo. Praveen-Kumar, *et al.* (2003). Los residuos se secaron, molieron y tamizaron a 60 Mesh. 5 g de material se colocaron en un matraz de 250 mL, con 100 mL de agua destilada (1:20). El matraz se cubrió con papel de aluminio y se llevó a una presión de 15 libras y 105 °C, por 2 horas. La muestra se enfrió y filtró a través del papel Whatman N° 1, y el filtrado se recibió en otro matraz de 250 mL. Se pesó 1 g de suelo en un tubo de ensayos, se adicionó 0.2 mL de TTC al 3% y 0.5 mL del extracto de residuo.

El tubo de ensayo se incubó por 72 horas a 37 °C. Después de la incubación se agregaron 10 mL de metanol agitados y fueron puestos al refrigerador por 3 horas.

El trifenil formazan formado desde el 2,3,5 trifenil tetrazolium cloruro (TTC) es determinado por absorción a 485nm. La curva se prepara con trifenil formazan, en caso de blanco 0.5 mL extracto del residuo y 0.5 mL de agua destilada.

3.3 Diseño experimental y análisis estadístico

Consta de dos etapas, la primera de producción de setas de *Pleurotus eryngii* en paja de trigo y biodegradación paja de trigo, y la segunda etapa, de evaluación de actividad biológica en suelos trumaos adicionados de residuos bioaumentados.

Para la primera etapa del experimento de producción de setas en paja cocida y pasteurizada, se realizaron 12 repeticiones para cada tratamiento. Los cuales se dispusieron en un diseño completamente al azar (Cuadro 6). Los resultados de eficiencia biológica, se analizaron mediante una t de student.

CUADRO 6. Diseño del ensayo de producción de setas de *Pleurotus eryngii* en paja de trigo

Tratamientos	Total de muestras
Bolsas de paja cocida + <i>P. eryngii</i>	12
Bolsas de paja pasteurizada + <i>P. eryngii</i>	12

Para evaluar los resultados de la paja de trigo sin tratar, posterior a los tratamientos térmicos y a la biodegradación, se analizaron los parámetros químicos inorgánicos (N y C) por triplicado, y los parámetros químicos orgánicos (celulosa, hemicelulosa, lignina y solubles totales) por duplicado, de cada tratamiento (cuadro 7 y 8). Los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza (Andeva). Las diferencias entre las medias, se evaluaron mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia, usando el programa estadístico; Statgraphics 2.0

CUADRO 7. Diseño de medición de parámetros químicos razón C:N de la paja de trigo

Tratamientos	Tiempos	Muestras C:N
Paja, Bolsas de paja cocida + <i>P. eryngii</i>	Pre.T.T, Post.T.T, Post.C	M. C. 3 x 3 = 9
Paja, Bolsas de paja pasteurizada + <i>P. eryngii</i>	Pre.T.T, Post.T.T, Post.C	M. C. 3 x 3 = 9

M.C.= Muestra compuesta; Pre.T.T= Pre-tratamiento térmico; Post.T.T.= Posterior Tratamiento Térmico; Post.C.= Posterior a cosecha

CUADRO 8. Diseño de medición de parámetros químicos orgánicos de la paja de trigo

Tratamientos	Tiempo	Total de muestras
Bolsas de paja cocida + <i>P. eryngii</i>	Pre.T.T, Post.T.T, Post.C	M. C. x 3 x 2 = 6
Bolsas de paja pasteurizada + <i>P. eryngii</i>	Pre.T.T, Post.T.T, Post.C	M. C. x 3 x 2 = 6

M.C.= Muestra compuesta; Pre.T.T= Pre-tratamiento térmico; Post.T.T.= Posterior Tratamiento Térmico; Post.C.= Posterior a cosecha

En la segunda etapa del experimento, a los tratamientos mencionados se agregó un tercer tratamiento de suelo adicionado de paja sin tratar. Estos tratamientos se dispusieron en un diseño completamente al azar, con la siguiente cantidad de mediciones: 5 repeticiones para N mineral y C soluble, y 21 repeticiones para la emisión de CO₂ del suelo. Cada evaluación se realizó en distintos tiempos como muestra el Cuadro 9.

CUADRO 9. Diseño del ensayo para la determinación de la respiración del suelo, carbono soluble y nitrógeno mineral en muestras de suelo

Control	Tiempo	Total de muestras CO ₂	Total de muestras C y N
Suelo+ paja de trigo	1-3-6-8-11-16-31	7 x 21 = 147	7 x 5 = 35
Tratamientos			
Suelo+ paja cocida bioaumentada	1-3-6-8-11-16-31	7 x 21 = 147	7 x 5 = 35
Suelo+ paja pasteurizada bioaumentada	1-3-6-8-11-16-31	7 x 21 = 147	7 x 5 = 35

Se evaluó los resultados de tiempos en los diferentes tratamientos, realizando un Andeva, y las diferencias entre las medias se evaluaron mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia. Usando el programa estadístico Statgraphics 2.0.

Para ver si existieron diferencias entre los tratamientos, se acumularon las emisiones de CO₂, y las curvas fueron ajustadas a una ecuación exponencial de primer orden. Se realizaron Andevas a las variables de las ecuaciones, mediante el uso del programa GraphPad PRISM 4.0.

La evaluación de la actividad de la enzima deshidrogenada en suelo+residuo y residuo se realizó por triplicado. En los dos tiempos de cada tratamiento, como muestra el Cuadro 10, se analizaron los resultados realizando un Andeva, y las diferencias entre las medias se evaluaron mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia, usando el programa estadístico Statgraphics 2.0.

CUADRO 10. Diseño de medición de enzima deshidrogenasa en residuo-suelo y residuo

Control	Tiempo	Total muestras de suelo y residuo	Total muestras de residuo
Suelo+ paja de trigo	16-31	M.C. x 2 x 3 = 6	M.C. x 2 x 3 = 6
Tratamientos			
Suelo+ paja cocida bioaumentada	16-31	M.C. x 2 x 3 = 6	M.C. x 2 x 3 = 6
Suelo+ paja pasteurizada bioaumentada	16-31	M.C. x 2 x 3 = 6	M.C. x 2 x 3 = 6

M.C.= Muestra compuesta

4. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

4.1 Determinación de la eficiencia biológica, en la producción de setas de *Pleurotus eryngii* en paja de trigo cocida y pasteurizada

La producción de setas se determinó mediante la eficiencia biológica (EB) (relación entre peso fresco de las setas y peso seco del sustrato) en los tratamientos (cocido y pasteurizado). El periodo de inoculación de la paja de trigo con micelio de *P. eryngii* a cosecha de setas duró 60 – 70 días.

El Cuadro 11 muestra la EB con un promedio de 12 repeticiones (bolsas) para cada tratamiento y su respectiva desviación estándar indicando peso fresco de las setas, peso seco del sustrato y la eficiencia biológica en la producción de setas de *P. eryngii*.

CUADRO 11. Eficiencia biológica de *P. eryngii* en paja de trigo cocida y pasteurizada

Tratamiento	Paja de trigo cocida	Paja de trigo pasteurizada
	Promedio ± d.s.	Promedio ± d.s.
Setas frescas (g)	454.8 ± 108.1	723.2 ± 199.2
Sustrato seco (g)	1616.4 ± 33.6	1681.6 ± 66.5
EB (%)	28.0 ± 6.1	42.7 ± 10.2

El test de t de student indicó diferencias significativas (valor de P = 0.0003, Anexo 2) entre los tratamientos en donde la mayor eficiencia biológica, se obtuvo en la paja de trigo pasteurizada, cuyo valor promedio fue 1.5 veces superior a la paja de trigo cocida.

No existen reportes en la literatura consultada sobre cambios en la eficiencia biológica de *P. eryngii* debido al tratamiento de disminución de la carga microbiológica

inicial del sustrato. La mayoría de los reportes se refieren a cambios en la EB debido a diferentes mezclas de paja de trigo con otros sustratos. Las EB reportadas varían entre 28.5% a 62.3%, dependiendo del sustrato utilizado y del método de disminución de la carga biológica utilizado.

La mayoría de los reportes consultados en producciones de *P. eryngii* de laboratorio, muestran EB altas, por sobre el 30%. De esta forma, ROYSE y SANCHEZ (2004) usando semillas y cáscaras de algodón como sustrato reportó EB de 45% y usando como sustrato “chip” de roble EB desde 30.7 a 54.1%. Por su parte, WHA (2002), mostró variaciones de EB desde 33.7 a 62.3% usando como sustrato salvado de trigo o arroz en una proporción del sustrato de 1:4 con aserrín de cedro japonés.

Por su parte, en producciones industriales las EB son usualmente inferiores y más variables (desde 28.5 hasta 42.8%). Así, utilizando mezcla de 8:1:1 entre aserrín, grano de cereales y salvado de cereales las EB variaron desde 32.4 a 37.8% (MYCELIA, 2004) y utilizando mezclas de mazorca de maíz, paja de arroz y aserrín se obtuvieron EB desde 28.5 a 42.8% (TAPINGKAE, 2004).

Los valores de EB obtenidos en este estudio, en general se encuentran entre los valores de la literatura. Sin embargo, este trabajo se realizó por métodos artesanales, lo que lo clasifica entre los reportes de laboratorio y los industriales. Usualmente, en producciones industriales se utiliza esterilizadores industriales o autoclaves de gran tamaño. En este estudio se utilizó un pasteurizador artesanal. Ello puede explicar la mayor EB lograda con este método que las producciones industriales en general. Por su parte, el método de cocción artesanal fue equivalente a las EB inferiores obtenidas por los métodos industriales reportados.

La explicación más probable entre la diferencia determinada por el tratamiento de disminución de la carga biológica inicial a través de los tratamientos térmicos se debería a que en la pasteurización, el sustrato recibe mayor energía calórica del vapor

de agua ² (2.25 kJ g⁻¹ agua) y en estas condiciones en el tambor de pasteurización se alcanzaran temperaturas mayores a los 100 °C. También, dado el diseño hermético del tambor artesanal, se logran un aumento de la presión lo que favorece el aumento de temperatura, siendo entonces más eficiente para eliminar o reducir los competidores directos de *P. eryngii*. De esta forma, al ser recolonizado el sustrato *P. eryngii* logra un mejor crecimiento y desarrollo en el sustrato (ROYSE, 1997). En la Anexo 32, se muestran fotos de la colonización del hongo estudiado en los tratamientos térmicos de la paja de trigo.

A pesar que el estudio de MELLA (2006) ha mostrado que el tratamiento de cocción de paja de 1 hora, es equivalente al tratamiento de pasteurización de 3 horas, en que alcanzan su máximo de disminución respectiva de la carga biológica. Esto es que un aumento en el tiempo de cocción o de pasteurización no aumenta la disminución de la carga biológica con respecto al método térmico, no debe descartarse la diferencia de tiempo cuando se comparan ambos métodos. Es probable que los máximos de disminución de carga biológica sean distintos entre tratamientos. Así, la pasteurización fue de temperaturas superiores a 95 °C, por tres horas y la cocción fue a temperatura de 100 °C por una hora. KAMRA y ZADRAŽIL (1986) han mostrado que utilizando *Pleurotus sajor-caju*, un hongo similar al de este estudio, que la combinación de temperatura y tiempo de pasteurización es determinante en la EB posterior. Así, en su estudio mostró que se obtiene mayores EB a 90 °C y 3 horas, lo que fue similar al utilizado en nuestro trabajo.

4.2 Constituyentes químicos de la paja de trigo antes y después de los tratamientos térmicos y posterior a la degradación por *P. eryngii*

Se evaluaron los cambios químicos inorgánicos y orgánicos en el sustrato paja de trigo producido por los tratamientos térmicos de disminución de carga biológica y por la capacidad biodegradativa de *P. eryngii*.

² Kong Shun Ah-Hen. (2006). Ingeniero en Alimentos, D. Ing. Docente e investigador del Instituto de Ciencias y Tecnologías de los Alimentos. Fac. Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

4.2.1 Componentes inorgánicos. En la Figura 1, se observan las variaciones de las razón entre carbono y nitrógeno total de la paja de trigo, analizadas al inicio, posterior a tratamientos térmicos (cocido y pasteurizado), posterior a la biodegradación y cosecha de setas. Se muestra el promedio de la razón C:N de tres repeticiones con su correspondiente desviación estándar.

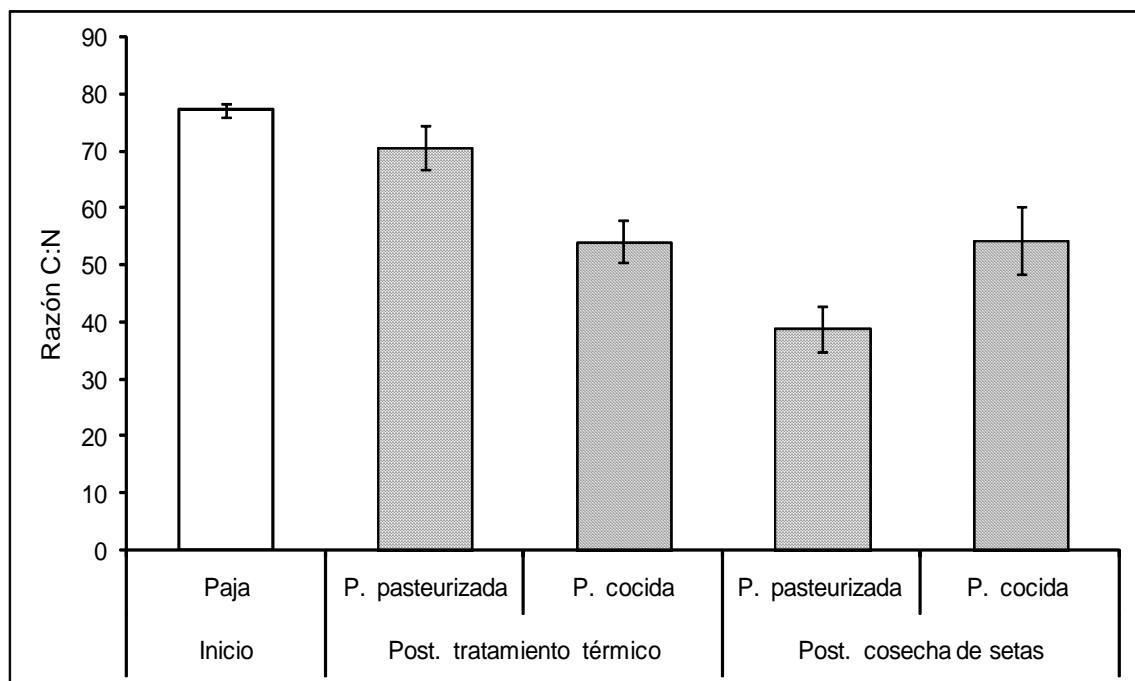


Figura 1. Variación en la razón C:N paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y post-cosecha de setas

El tratamiento térmico disminuyó la razón C:N de la paja inicial para la cocción, pero no para la pasteurización. El promedio de la razón C:N determinada en la paja de trigo al inicio del ensayo fue de 77.1. Este valor concuerda con los determinados por PHILIPPOUSSIS *et al.* (2001) quien mostró un valor promedio de 83.3; VERBERNE *et al.* (1990) cuyos promedios variaron entre 70 - 80 y Smith (1982) citado por LINDH (2004) con un valor de 80.

La disminución significativa de la C:N (Anexo 3) por el tratamiento de la paja de trigo (desde 77.1 a 54.1) se debería a que el proceso de cocción provoca un arrastre de nutrientes hacia el líquido². De esta forma, HOUDEAU *et al.* (1991) explican que cuando un sustrato está sumergido en agua hirviendo se produce una disolución de

nutrientes, por rompimientos de la estructura de las células, liberando los nutrientes hacia la solución. Además, es posible que en muchos casos la desintegración inicial del sustrato produzca una acidificación del medio. Así, se obtiene una hidrólisis ácida del sustrato, lo que favorece la descomposición de compuestos de carbono de cadenas largas y cortas² y liberando carbono como CO₂. Sin embargo, permanece sin explicación porque se aumenta la razón C:N. Estos resultados de alguna forma implican que el C estructural es más afectado que el N estructural, no teniendo una explicación clara para ello.

El tratamiento térmico implica que a temperaturas superiores a 60 °C, comienza la hidrólisis de material metabólico (carbohidratos y proteínas) (BELITZ, 1987), en tanto que sobre de 85 °C la hidrólisis de componentes estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina) (FENGEL 1983; STÖLZER y GRABBE 1991). En ambos tratamientos de este estudio, las temperaturas estuvieron por sobre estos límites térmicos. De esta forma se puede suponer que existió ruptura parcial de los puentes de hidrógeno de los sustratos, dejando estructuras carbonadas de cadena más cortas que las iniciales.

La razón C:N en la paja de trigo pasteurizada fue similar a la obtenida en el sustrato inicial sin tratamientos (77.1 versus 70.7, diferencia no significativa, Anexo 3). Estos resultados implican que el calor latente entregado por el vapor de agua a temperaturas altas, actúa sólo como medio de entrega de energía calórica y no como solvente en que el sustrato se desintegre y solubilice, como ocurriría en el agua hirviendo.

La evaluación del sustrato post cosecha de las setas mostró una disminución de la razón C:N con respecto al valor previo de los tratamientos (Figura 2). La disminución fue diferente dependiendo del tratamiento precultivo de las setas. El sustrato post cosecha de setas, biodegradado por *P. eryngii* (designado como bioaumentado, PTPB), mostró diferencias significativas en la razón C:N (Anexo 3), comparado con su valor C:N antes del cultivo de las setas, disminuyendo desde 70.7 a 38.9. Por su parte, la paja de trigo cocida bioaumentada (PTCB) no presentó diferencias significativas, después de la cosecha de setas con el valor de C:N antes del cultivo. La disminución de la C:N puede ser explicada a través de la habilidad de *P. eryngii*, el cual ha sido

reportado como un eficiente degradador lingnocelulolítico (DORADO *et al.*, 1999; STAJIĆ *et al.*, 2005). De esta forma, reduce la cantidad de C del residuo (por emisión de CO₂), manteniendo la cantidad de N del residuo, lo que da una disminución en la razón C:N. De esta forma, se explicaría un mayor consumo de compuestos de carbono, inicialmente bajo de nitrógeno, estrechando la razón C:N. En el caso de la paja precocida, la baja de la razón C:N previa al tratamiento de cultivo con el hongo, probablemente debida a la ruptura de estructuras carbonadas por la cocción, hace que los compuestos de carbono no sean los específicos que degrada el hongo *P. eryngii*, por lo tanto, presenta una menor EB y mantendría la C:N obtenida en el tratamiento térmico previo.

4.2.2 Componentes orgánicos. La Figura 2, muestra la variación para los constituyentes químicos orgánicos del sustrato, determinado según protocolo Tappi (1988). Se determinaron cuatro componentes principales: los extraíbles totales, la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. Estos compuestos fueron analizados al inicio, posterior a tratamientos térmicos (cocción y pasteurizado) y posterior a la cosecha de las setas. Los valores mostrados son el promedio de dos repeticiones, con su correspondiente desviación estándar.

Los valores iniciales, previo a los tratamientos, mostró que la paja de trigo presentó un valor relativo promedio del contenido de celulosa de 40.6%. Este valor fue coincidente con resultados obtenidos por Butterworth (1985) y Hosney (1986), citados por CABEZA (2002) y los mostrados por SYLVIA *et al.* (1999), quienes indican que la celulosa varía entre un 40-50%, del peso seco de la paja de trigo. La hemicelulosa es el segundo mayor constituyente de la paja de trigo con un promedio de 26.1%, valor que concuerda con los determinados por RAGUNATHA *et al.* (1996) indicando un rango de hemicelulosa de 25 y 40%. La lignina constituyó el 18.5% en la paja de trigo evaluada. Este valor está en los rangos descritos por SZEGI (1988) y por SYLVIA *et al.* (1999), quienes indican un rango para la lignina entre 15 y 30%. Por su parte, los extraíbles totales medidos fueron del 14.9% y son semejantes a los determinados por Saddler (1993) citado por LINDH (2004), quien determinó un valor alrededor del 10%, para extraíbles totales en paja de trigo.

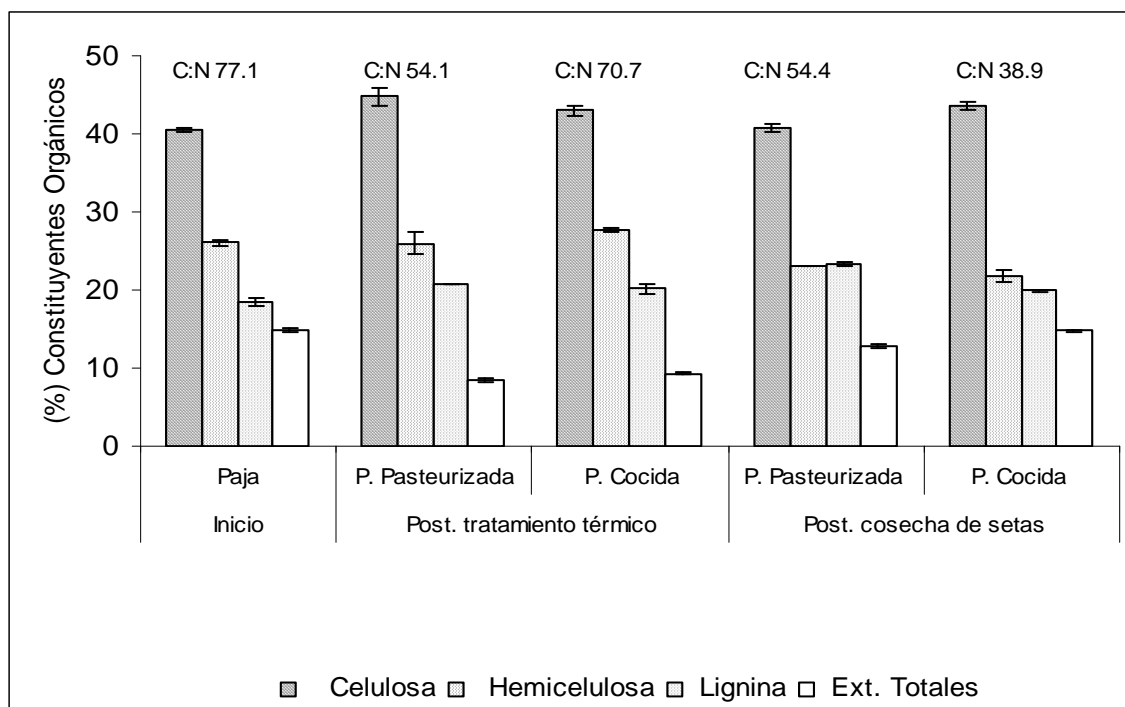


Figura 2. Compuestos orgánicos de paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y post-cosecha de setas. Los números muestran la razón C:N

Después del tratamiento térmico (cocción y pasteurizado) se mantuvo la proporciones relativas de la celulosa (Figura 2), variando entre 43.0 y 44.8%, respectivamente. El alza determinada en la paja de trigo cocida no fue estadísticamente significativa, sin embargo hay un aumento significativo en la paja de trigo pasteurizada (Anexo 4), la hemicelulosa registró un rango de 26.0 y 27.6%, para la pasteurización y cocción. Se observa un leve aumento en la paja de trigo cocida, la cual no es estadísticamente significativa. Sin embargo, MUSHWORLD (2005) ha mostrado que la paja de trigo experimenta disminuciones significativas en sus constituyentes orgánicos estructurales (celulosa y hemicelulosa), después de tratamientos térmicos (Anexo 4). Ello, no permite descartar que el incremento detectado en este estudio, pudiera ser un valor verdadero de aumento y que no resultó estadísticamente significativo, por el bajo número de repeticiones utilizado.

Tampoco se determinaron cambios en el material estructural resistente “lignina” del sustrato, luego de los tratamientos térmicos. Se obtuvo como valor promedio en el

tratamiento cocción un 20.2% y en el tratamiento pasteurizado, 20.8%. Ambos valores no difirieron estadísticamente del valor inicial de la paja de trigo previo a los tratamientos (18.5%). Lo más probable es que esta diferencia no implique un cambio en el contenido real de lignina, ya que MUSHWORLD (2005) ha mostrado que los materiales resistentes, no cambian significativamente con los tratamientos térmicos. El leve aumento relativo de lignina, en ambos tratamientos térmicos podría indicar una reducción en el valor absoluto de celulosa, lo cual se percibiría en un ligero aumento del contenido de lignina (Anexo 4).

Los compuestos orgánicos, medidos en los extraíbles totales (formados por extraíbles en etanol-tolueno, en etanol y en agua caliente), mostraron una disminución significativa tras los tratamientos térmicos (desde 14.9% en la paja previa a los tratamientos a 9.25% en el tratamiento de cocción y 8.4% en el tratamiento pasteurizado). Este descenso detectado, se debería a que según BELITZ y GROSCH, (1987), a altas temperaturas, los compuestos orgánicos medidos en los extraíbles totales se solubilizan rápidamente, pasando a la solución, lo que hace que se pierdan desde el sustrato fácilmente. Las pérdidas de estos componentes serían similares para ambos tratamientos térmicos ya que no se detectaron diferencias significativas entre ellos.

Posterior a la cosecha de setas de *P. eryngii*, se determinaron diferencias significativas, en proporciones relativas de celulosa, hemicelulosa, lignina y solubles totales del sustrato remanente.

En PTCB hay un leve aumento significativo de celulosa desde 40.6 en la paja de trigo original a 43.6%. Este aumento relativo se debe a que *P. eryngii* consumiría compuestos carbonados de fácil biodegradación como la hemicelulosa, la cual disminuye significativamente desde un 26.1 a 21.8%. A su vez, el contenido relativo de lignina no presentó diferencias significativas en sus proporciones relativas, sobre el tratamiento térmico de cocción (20.2% versus 19.9), lo que no significa necesariamente que no haya habido degradación, sino que su valor relativo se mantiene. La biodegradación de los componentes estructurales celulosa, hemicelulosa y lignina se observa en los valores de los extraíbles totales. Este componente incrementó

significativamente en un valor de 5.5% (Anexo 4), mostrando que existe degradación de los componentes estructurales, la cual estaría dominada por la degradación de la hemicelulosa. Estos resultados son similares a los determinados por DORADO *et al.* (1999) quienes mostraron un incremento en los extraíbles totales, atribuyéndolo a la biodegradación de componentes estructurales por microorganismos en la paja de trigo.

En el tratamiento de PTPB, de los constituyentes orgánicos, la celulosa mostró una disminución relativa significativa desde 44.8 (tratamiento de paja pasteurizada, Anexo 4) a 40.9%. Este resultado coincide con lo reportado por KAMRA y ZADRAŽIL (1986) quienes en paja de trigo determinaron disminuciones de celulosa de un 10%, por acción de *P. eryngii*, con respecto a su contenido inicial. En este tratamiento, la hemicelulosa no disminuyó significativamente, sin embargo, lignina incrementó significativamente desde 20.8 a 23.3%. Ello permite suponer que el tratamiento térmico realizado afectó la degradación de los componentes estructurales, facilitando o dificultando el acceso del hongo ya sea a celulosa (en el tratamiento PTPB) o a hemicelulosa (PCTB).

Se esperaba que en el tratamiento térmico más adecuado (pasteurización) para la biodegradación, produjera una disminución significativa de los constituyente estructurales lignocelulolíticos. El análisis de los contenidos relativos sólo muestra los cambios relativos entre los componentes lignocelulolíticos, pero no da una dimensión cuantitativa de su disminución. Otra vía de análisis es determinar los cambios en la razón C:N de la paja de trigo. Un análisis de la razón C:N previa y posterior a la biodegradación realizada por los hongos muestra una disminución desde un valor de 70.7 a 38.9 en el tratamiento PTPB. Para que la razón C:N disminuya debe producirse liberación de C como CO₂ a través de la degradación de los constituyentes mayoritarios del sustrato. Al producirse degradación de los componentes estructurales para la formación de setas, se está utilizando el sustrato en crecimiento microbial y los microorganismos presentan una mayor C:N que los materiales vegetales en general. De esta forma, la EB determinada en los tratamientos implica que existió degradación de los componentes estructurales y un enriquecimiento relativo del N. Estos resultados implican que existió una pérdida del 31.8% del C, el cual fue respirado o pasó a formar parte de las setas.

Autores como KAMRA y ZADRAŽIL (1986), DORADO *et al.* (1999), PHILIPPOUSSIS *et al.* (2001), PEREZ *et al.* (2002), COHEN *et al.* (2002), concuerdan en describir a *P. eryngii* como una cepa de capacidades biodegradativas altas de compuestos lignocelulolíticos y específico de lignina. De esta forma, DORADO *et al.* (1999), registraron en sus ensayos con tiempos similares a los de esta investigación, pérdidas de biomasa en peso seco de un 20% y disminución de lignina de un 8% del peso total en la paja de trigo. Ellos debieron a *P. eryngii* como una cepa altamente selectiva de lignina.

Otro componente a analizar como indicativo de la biodegradación de los constituyentes lignocelulolíticos es el aumento relativo de los extraíbles totales. Su valor se incrementó significativamente desde 8.4 a 12.8% en el tratamiento PTPB, lo que refleja la degradación de las fracciones lignocelulolíticas. Sin embargo, este incremento fue menor que el observado en PCTB que fue de 9.3 a 14.8%. La explicación a esta aparente contradicción se debería a que el tratamiento PTCB produjo una menor EB, lo que implicó un menor enriquecimiento de la razón C:N y la mayor cantidad de extraíbles totales se produciría porque no se está degradando el sustrato en forma eficiente. Estos resultados, son indicativos que el tratamiento PTPB fue mucho más eficiente que el tratamiento PTCB, produciendo una mayor degradación de los componentes lignocelulolíticos y un residuo de mejor razón C:N.

Los objetivos de una agricultura sustentable no sólo se basan en la producción (en este caso de setas) y el uso eficiente de los recursos, sino también en los efectos que pueden causar los residuos producidos en la producción. Por ello, se evaluará la utilización potencial de los residuos producidos como fuente de recuperación de fertilidad biológica de los suelos.

4.3 Evaluación de la fertilidad biológica en suelos adicionados de sustrato biodegradado y bioaumentado con *P. eryngii*

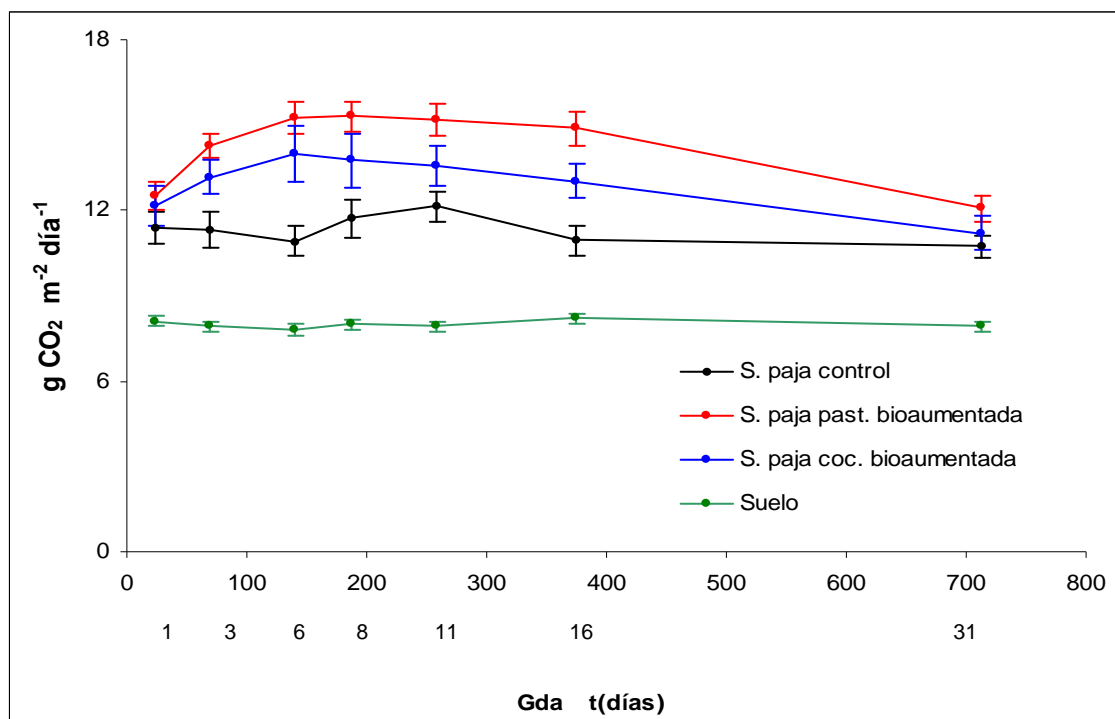
La evaluación de la fertilidad biológica de un suelo se realiza a través de determinar funciones asociadas a la actividad biológica del suelo, como respiración (evolución de CO₂), que muestra indirectamente la degradación de los constituyentes del residuo y aumento de la biomasa microbial, la mineralización de N orgánico, que muestra incrementos en la fertilidad de los suelos, la presencia de C soluble que implica mejoramiento en la condición de C disponible para el crecimiento microbial y cambios en la actividad enzimática general del suelo, que en este estudio se evaluará a través de la actividad de la deshidrogenasa.

4.3.1 Cambios en la emisión de CO₂ (respiración) desde el suelo adicionado con sustratos bioaumentados. Seguido a la adición sustrato parcialmente biodegradado y bioaumentado con *P. eryngii* al suelo, se evaluó la respiración del suelo trumao mediante el método de campanas de respiración o trampas álcalis, para determinar la emisión CO₂ desde el suelo (STEUBING *et al.*, 2002).

En la Figura 3 se muestra la respiración de los suelos expresada en emisión de CO₂, desde suelos adicionados con paja de trigo sin tratar (control) y adicionados con sustrato biodegradado y bioaumentado con *Pleurotus eryngii*, posterior a ambos tratamientos térmicos. Se determinó la evolución de CO₂ a través del tiempo medidos a 1, 3, 6, 8, 11, 16 y 31 días y expresados como sus sumas térmicas (Gda). Cada valor representada un promedio de 21 repeticiones, con su respectiva desviación estándar. También se registro la emisión CO₂ del suelo sin adición de residuos, por triplicado y con su desviación estándar, sólo como referencia gráfica con los tratamientos, sin análisis estadístico ya que se mantiene constante en el tiempo (promedio 7.9 g CO₂ m⁻² día⁻¹).

4.3.1.1 Respiración del suelo después de la adición de los distintos sustratos a través del tiempo. El Anexo 5 detalla el análisis estadístico de las emisiones de CO₂ del suelo testigo y suelos adicionados con residuos bioaumentados a través del tiempo. Se determinaron diferencias significativas a través del tiempo, en la evolución de CO₂ debido a la adición de los distintos sustratos (Figura 3). Las mayores diferencias

significativas las presentan los suelos adicionados con el sustrato paja de trigo pasteurizada bioaumentada (SPTPB), seguida de las diferencias producidas por el sustrato paja de trigo cocida bioaumentada (SPTCB) y posteriormente el sustrato de paja de trigo sin tratamiento aplicado al suelo como control (SPT).



S: Suelo, Gda: Grados días acumulados (°C).

FIGURA 3. Respiración del suelo sometido a incorporación de la paja de trigo, parcialmente biodegradada y bioaumentada, y suelo sin adición

Las emisiones de CO₂ desde el tratamiento control (SPT) varían en un rango promedio de 10.7 a 12.1 g CO₂ m⁻² día⁻¹. Durante el período de evaluación, las emisiones no difirieron estadísticamente hasta el día 6 (147 Gda) y alcanzan un valor máximo el día 11, descendiendo rápidamente el día 16 y manteniéndose relativamente constante hasta fin de la evaluación (día 31). El aumento en respiración en el día 11 fue estadísticamente significativo con respecto a las mediciones iniciales y finales. Este resultado es relativamente similar al determinado por CABEZA *et al.* (2003), quien en su tratamiento control mostró un aumento de la respiración el día 8, para luego descender. En este estudio, sin embargo, el aumento fue en día 11 y no en el 8 como

en estudio de CABEZA *et al.* (2003) y en ambos posteriormente desciende. Este aumento de la respiración posterior a la adición de un nuevo sustrato incorporado al suelo, correspondería a la adaptación de los microorganismos al sustrato aplicado y a la degradación de los componentes más solubles del sustrato (ALEXANDER, 1988) y la diferencia en el día de máxima respiración se puede deber a diferencias de temperatura y humedad entre ambos estudios. En el estudio de CABEZA *et al.* (2003) no existió control de las condiciones de temperatura y humedad, en tanto que en este estudio se ajustó a una temperatura de 23 ± 4 °C y una humedad de 70% de CMRH.

Por su parte, las incorporaciones de sustratos biodegradados y bioaumentados por *P. eryngii* mostraron un aumento de la actividad microbiana desde el inicio de las evaluaciones alcanzando un máximo para luego descender. La evolución de CO₂ hasta el máximo fue de diferente magnitud entre tratamientos. Los valores de respiración mayores se determinaron en el tratamiento SPTPB y variaron desde 12.1 a 15.3 g CO₂ m⁻² día⁻¹, mostrando un aumento significativo sobre el valor inicial desde el día 3 hasta el día 16, para en el día 30 mostrar una respiración similar a la inicial. El otro sustrato adicionado (SPTCB) mostró un comportamiento similar, pero de menor magnitud que SPTPB. Ambos sustratos parten en un valor estadísticamente igual, difirieron significativamente en el valor máximo de respiración que se obtienen en época similar (día 6 a 11) pero decayendo el valor al día 31 SPTCB a un valor inferior estadísticamente que el valor del día inicial (día 1 de incubación).

Estos resultados de emisiones de CO₂ fueron mayores que los obtenidos en otros estudios similares con adiciones de residuos bioaumentados a suelos con cepas nativas aisladas desde suelos trumaos (Typic Hapludand), los cuales mostraron un rango de respiraciones de 4.6 a 8.2 g CO₂ m⁻² día⁻¹ CABEZA *et al.* (2003). Los valores de respiración en este estudio pueden ser considerados altos y son similares a los obtenidos en estudios de campo. Así, el estudio de ERIKSEN y JENSEN (2001) en Hapludult holandeses, muestra que en promedio después de romper una pradera de ballica trébol con distintos sistemas de labranza se obtuvieron valores entre 14.4 a 16.8 g CO₂ m⁻² día⁻¹. Estos resultados ratifican que los valores obtenidos en este estudio son de la magnitud que muestra la degradación de residuos de buena calidad.

4.3.2 Respiración acumulada del suelo en los tratamientos. Las tasas de respiración se acumularon para evaluar la degradación total potencial de los sustratos aplicados, y se acumulo una cuata tasa del suelo sin adición de sustratos para una mejor diferenciación del potencial de biodegradación de cada residuo. Las curvas fueron ajustadas a una ecuación exponencial de primer orden (Figura 4), mostrando un valor máximo de emisión de CO₂ acumulada en el tiempo y la tasa constante de primer orden (**k**), **t** son los días de incubación.

$$C_m = C_o (1 - \exp (-k t))$$

Donde C_m es el Carbono expresado como CO₂ (g m⁻²) mineralizado a los distintos tiempos t de incubación.

CUADRO 12. Parámetros de la regresión ajustada a los datos de la evolución acumulada de CO₂ a través del tiempo (ecuación de primer orden)

Tratamiento	Co (g CO ₂ m ⁻²)	k 1 día ⁻¹	R ²	Sy.x (g CO ₂ m ⁻²)	C:N
S. paja de trigo (control)	83.9	0.0993	0.985	2.79	77.1
S. p. t. past. bioaumentada	106.5	0.0977	0.990	2.96	38.9
S. p. t. coc. bioaumentada	96.5	0.1008	0.988	2.89	54.4
Suelo	58.5	0.0994	0.992	1.34	

Sy.x: error estándar de la ecuación.

El análisis realizado (Anexo 6) a los parámetros de la ecuación (Cuadro 12), mostró la tasa constante de primer orden de los valores acumulados de CO₂ no difirió estadísticamente entre los suelos tratados con incorporación de sustratos, ni con el suelo sin incorporación de sustrato. Este resultado implica que el proceso de mineralización fue similar en todos los tratamientos y probablemente la biomasa microbial envuelta fue similar en todos los tratamientos y obedeció probablemente a la flora nativa que presentó ese suelo.

Por su parte, los valores máximos de CO₂ acumulados (parámetro Co) difirieron estadísticamente entre ellos. El valor mínimo se determinó en el suelo sin adición de material, seguido del suelo con adición de paja de trigo sin bioaumentar y el valor máximo en el suelo con la adición de SPTPB con una situación intermedia para la

adición de SPTCB. Estos resultados implican que si bien el proceso en su dinámica es similar, la cantidad finalmente descompuesta de los residuos aplicados fue dependiente de la calidad del residuo aplicado.

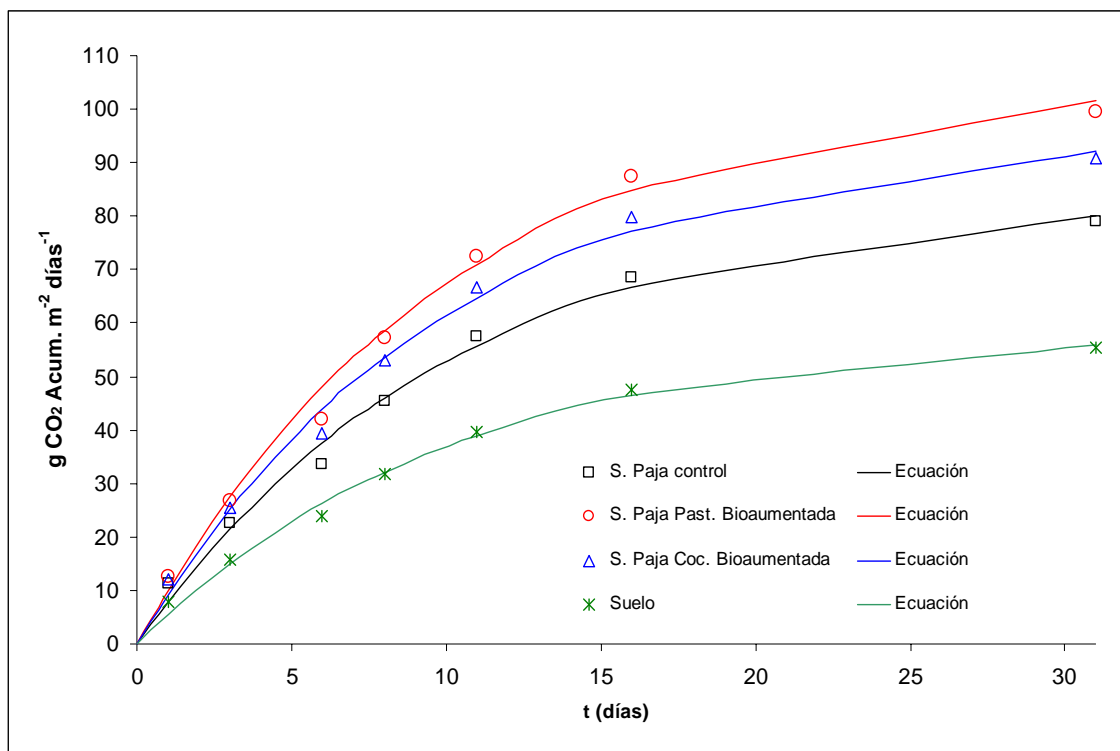


Figura 4. Curvas de la evolución acumulada de CO₂ ajustada a una ecuación de primer orden

Otros estudios realizados en evoluciones de CO₂ acumulado después de la adición de residuos (TRINSOUTROT *et al.*, 2000; THURIES *et al.*, 2001; GARNIER *et al.*, 2003) muestran incrementos en la evolución de CO₂ en los primeros 20 a 30 días desde la adición, la cual posteriormente se estabiliza, lo cual es similar a lo observado en este estudio, sin embargo, no describen una función para determinar la evolución de CO₂. Por su parte, los estudios (MANNIPIERI *et al.*, 2003; NOURBAKHSY y SHEIKH-HOSSEINI, 2006) ajustan la evolución de CO₂ una ecuación de primer orden, lo cual fue similar al ajuste realizado en este estudio. En el estudio de NOURBAKHSY y SHEIKH-HOSSEINI (2006) se señala que la tasa de descomposición del C nativo del suelo en la presencia de material orgánico (efecto “priming”) se puede asumir como

la misma para cualquier material orgánico adicionado y que este supuesto ha sido utilizado anteriormente por otros investigadores (Ajwa y Tabatabai, 1994; Trinsoutrot *et al.*, 2000, citados por NOURBAKHSY y SHEIKH-HOSSEINI, 2006). De esta forma, el supuesto de que los microorganismos del suelo que realizaron la descomposición del material orgánico adicionado son los mismos que los que realizaron la degradación del C nativo (suelo) parece ser ratificada por que el valor de la tasa constante es similar en los cuatro tratamientos utilizados en nuestro estudio.

Los valores de máximos del C potencialmente mineralizable (evaluado como CO₂ acumulado) se relacionaron inversamente a la razón C:N de cada residuo y del suelo control (Cuadro 12). La mayor descomposición relacionada al contenido relativo de N ingresado en cada residuo ha sido correlacionada y determinada anteriormente por otros autores. Así, VERBERNE *et al.* (1990), KUMAR y GOH (2000) y THURIES *et al.* (2001), han mostrado correlación negativa entre la razón C:N con la descomposición total del C ingresado. Lo mismo ha sido mostrado por NOURBAKHSY y SHEIKH-HOSSEINI (2006) utilizando residuos de alfalfa, trigo y maíz con razones C:N que variaron entre 12.7 a 43.4. Los resultados de este estudio extiende estas correlaciones a valores entre 38.9 a 77.1 (Anexo 7) y ratifican lo señalado por diversos autores.

4.3.3 Nitrógeno mineral (NO₃⁻ + NH₄⁺) como parámetro de actividad biológica. Al adicionar residuos al suelo, dependiendo de su relación C:N y su degradación se espera que se produzca mineralización o inmovilización neta. De esta forma, la aparición o desaparición del N mineral (N-NO₃ y N-NH₄) da un índice de que proceso se está produciendo y la necesidad de N adicional para favorecer la tasa de descomposición de los componentes estructurales de los residuos. Así, podemos evaluar la condición de requerimientos de nitrógeno para la actividad microbiana (MANNIPIERI *et al.*, 2003; SIX *et al.*, 2006).

Se muestra en un grafico de barras, el contenido inicial de N ajustado a cero y la mineralización del N con valores positivos, y la inmovilización de N con valores negativos (Figura 5) referidos al contenido de N mineral inicial. Las barras muestran un promedio de cinco repeticiones y su correspondiente desviación estándar.

Se determinaron comportamientos diferentes de acuerdo a los tratamientos realizados. El tratamiento de adición de paja de trigo (control SPT) al suelo y tratamiento de adición al suelo más paja de trigo pasteurizada bioaugmentada (SPTPB), tuvieron comportamientos similares. Ambos produjeron inmovilización neta del N mineral del suelo a través del tiempo, situación que no fue revertida hasta el día 31 de medición. En todos los tiempos de medición la inmovilización producida por el tratamiento; control de paja de trigo sin tratar, produjo una inmovilización no estadísticamente diferente del tratamiento de paja de trigo pasteurizada bioaugmentada (SPTPB). Por su parte, el tratamiento con la paja cocida bioaugmentada (SPTCB), no mostró una inmovilización neta, sino más bien una tendencia a la mineralización neta del N a través de todo el período de medición.

Todos los tratamientos SPT, SPTPB y SPTCB presentaron un aumento en la mineralización neta de N del suelo en el día 3, valores que no son estadísticamente diferentes con el valor inicial medido al tiempo cero. Este efecto inicial en la mineralización no tiene una clara explicación. Especulativamente, se debería a que inicialmente se produciría liberación del N más lábil de los residuos, mientras la biomasa especializada en la degradación de componentes más resistentes de los residuos alcanza un tamaño poblacional adecuado para la degradación de ellos. De esta forma, cuando se ingresan residuos con contenidos más lábiles en los residuos, se ha descrito una mineralización desde el momento inicial, pero que se mantiene en forma continua a través del tiempo (TRINSOUTROT *et al.*, 2000). Estos autores han descrito que al ingresar residuos de parte aérea de alfalfa con relaciones C:N menores a 25, se produce mineralización neta desde el inicio del proceso degradativo. Sin embargo, en este estudio, las relaciones C:N de los residuos analizados (SPT de 77, SPTCB de 54 y SPTPB de 38), sólo lo producirían en una etapa inicial debido a sus contenidos iniciales de C lábil en el residuo presente y que estaría representado por sus contenidos de extraíbles totales (promedio de 14.2). Esta etapa sería producida probablemente por un incremento en la biomasa microbial del suelo no especializada, la cual se vería incrementada por la disponibilidad de carbohidratos de fácil utilización para los microorganismos del suelo.

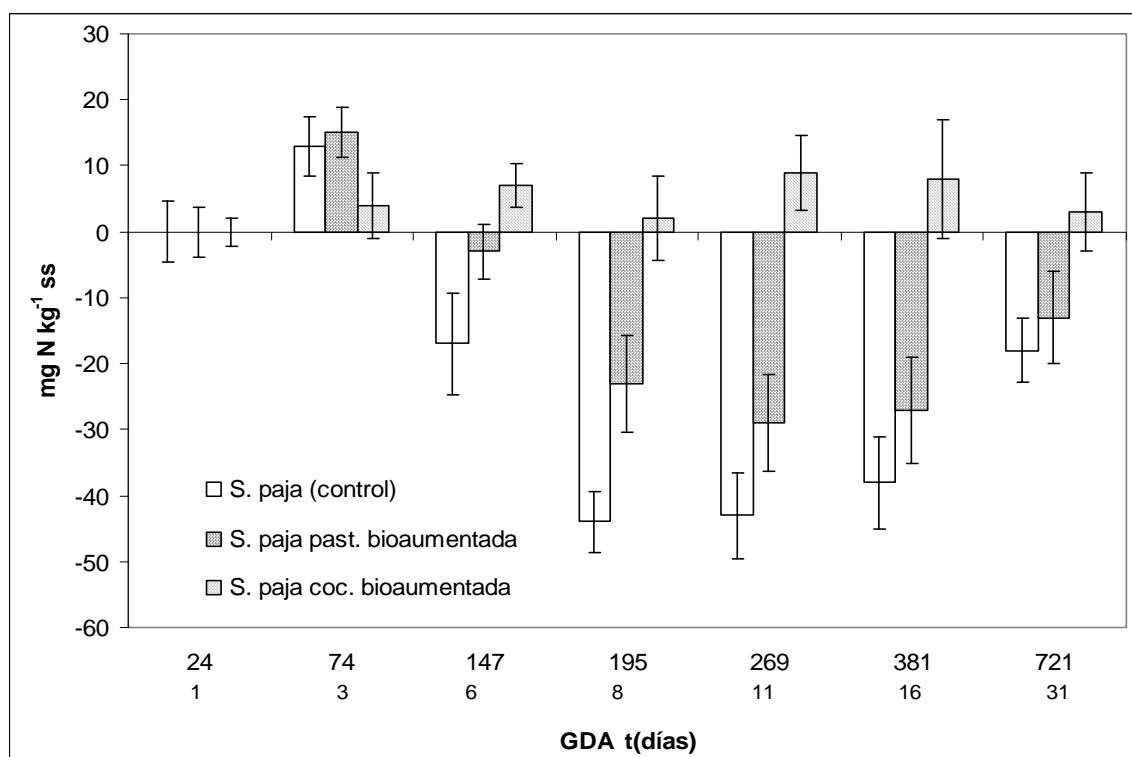


FIGURA 5. Mineralización e inmovilización de N del suelo, incorporado de paja de trigo parcialmente biodegradada y bioaumentada

Para los tratamientos SPT y SPPB, después del período inicial, se produce una reducción del N mineral (inmovilización), estadísticamente similar hasta el día 11 de evaluación. Esto implicó una inmovilización de más del 40% del N existente en el suelo en el tratamiento SPT, y de 30% para SPTPB. Luego ambos tratamientos comienzan una mineralización de N, que hace disminuir la inmovilización máxima, pero sin alcanzar el contenido inicial de N (día uno) al término de los 31 días de estudio. Estos valores de inmovilización de N, son semejantes a los mostrados por GARNIER *et al.* (2003) en un estudio con una adición similar en cantidad de paja de trigo (8000 kg ha⁻¹), incorporada a suelos loess (norte de Francia) Estos mostraron inmovilizaciones que llegan a un máximo de 64% del N del suelo.

Los resultados del tratamiento del suelo adicionado con paja de trigo cocida bioaumentada (SPTCB), mostraron que no hubo diferencia estadística de los valores de N mineral a través del tiempo, con respecto al valor inicial. Ello sugiere que no

existió una mineralización o inmovilización neta. Sin embargo, los valores de emisión de CO_2 mostraron una degradación del residuo. En este caso la relación C:N de 54.4 sugería una potencial inmovilización de N, pero al no producirse implicaría que el N del residuo, aunque escaso, sería muy disponible para compensar las necesidades microbiales de degradación de la paja, a la tasa en que se produjo. Esto implicaría que, la tasa de degradación del residuo (evaluada como respiración, emisión de CO_2) que fue mayor que la de la paja sin tratamiento (SPT) es compensada con la liberación de N desde el propio residuo. De esta forma, no estaría inmovilizando N desde el suelo y aparecería un leve incremento no significativo en el tiempo en el N mineralizado.

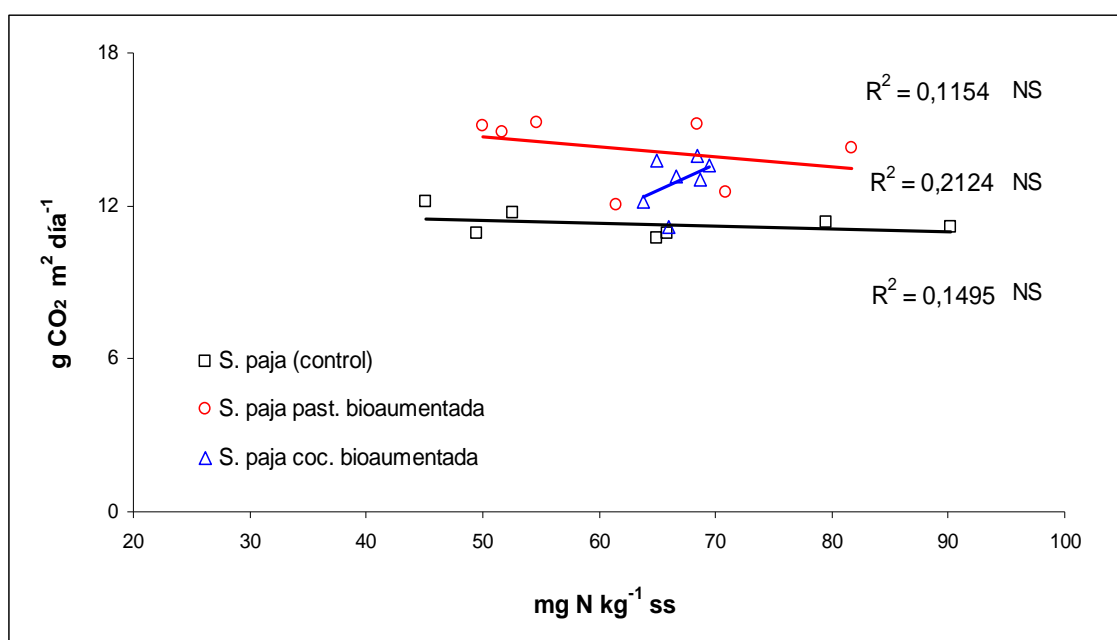


Figura 6. Relación entre el N mineral y la respiración del suelo

La falta de relación entre el CO_2 respirado desde un suelo y la presencia de N mineral en estudios similares a este (TRINSOUTROT *et al.*, 2000; LUXHØI *et al.*, 2006) no es frecuente. Ello se ratificó en este estudio graficando la respiración del suelo en función del N mineral presente (ver Figura 6). Lo que mostró que no existió una correlación significativa para ninguno de los tres tratamientos.

4.3.4 Determinación del Carbono soluble como parámetro de actividad biológica. El aumento de carbono en solución, puede interpretarse como una mayor actividad de la biomasa microbial en el suelo, después de un reequilibrio en el suelo y seguido a la adición de una fuente de C. Esto es, cuando un residuo presenta poco C soluble en sus componentes, la biomasa microbial tiende a consumirlo para mantener su crecimiento, y producir organismos especializados que consuman el C de más difícil degradación. Por otro lado, cuando el residuo presenta un mayor contenido de C de fácil descomposición, se incrementa el C soluble por acción de una mayor actividad microbial, y también el equilibrio con la fase coloidal del suelo. De esta forma, se asume que representa el grado de actividad de la biomasa microbial, mostrando cambios del carbono soluble en la solución en función del suelo ²(SIX *et al.*, 2006).

La Figura 7 muestra la dinámica del carbono soluble a través del tiempo y en los distintos tratamientos. Con ajustes de contenido inicial a cero y mostrando el incremento de C soluble con valores positivos (mayor actividad microbial) y la desaparición del C soluble (uso para respiración o consumo microbial y menor actividad microbial) con valores negativos. Las barras muestran un promedio de cinco repeticiones y su correspondiente desviación estándar.

La Figura 7 muestra que el control (SPT) presentó el menor incremento de C soluble, llegando a disminuir sobre el control claramente hacia el final del período de incubación. Los tratamientos de SPTPB y SPTCB no presentaron disminuciones del C soluble por sobre el contenido de C soluble inicial. En general el tratamiento SPTPB mostró menores incrementos en el nivel de C soluble que el tratamiento SPTCB. Los valores promedios de incrementos de C soluble, llegaron a sus valores más altos (50 a 80 mg C soluble kg⁻¹) en el día 16 y luego descendieron, mostrando que se está degradando compuestos más resistentes desde el residuo. Los tratamientos SPT y SPTPB no mostraron diferencias estadísticas en el tiempo con el nivel inicial (Anexo 10), sin embargo, el tratamiento SPTCB presentó diferencias significativas en el valor inicial de C soluble con respecto al día 6, 8, 11 y 16. Estos resultados son coincidentes

² Pinochet, D. 2006. Ing. Agr. Mg. Sc., Ph. D. Docente e investigador del Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos. Fac. Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

con lo determinado para la mineralización del N. Muestran que se incrementaron los compuestos metabólicos en la solución del suelo, que son los únicos compuestos solubles. De esta forma ratifican que en el tratamiento SPTCB se descompuso componentes del tipo más metabólico, y justifica la mineralización del N del suelo y no su inmovilización como ocurre en los otros tratamientos.

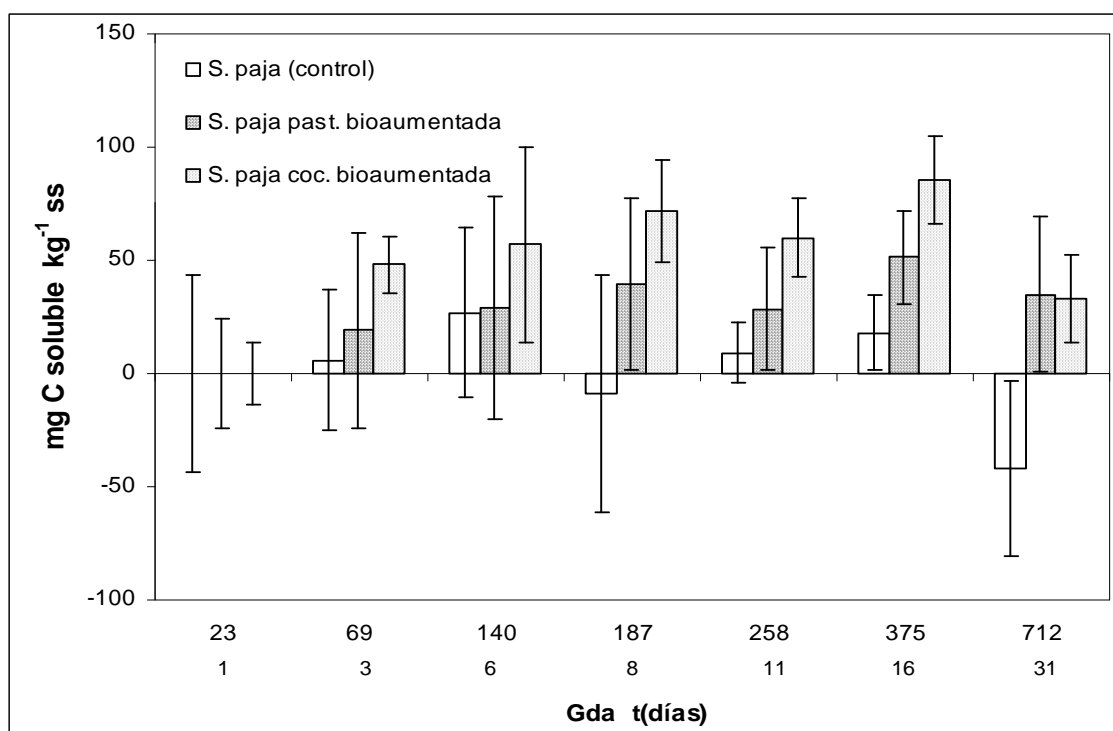


FIGURA 7. Incremento y disminución del C soluble del suelo después de la incorporación de paja de trigo parcialmente biodegradada y bioaumentada

Efectos similares en promedio a los determinados en este estudio han sido reportados por GELSOMINO *et al.* (2006) en adiciones de materia orgánica comercial peletizada (C:N 13), en suelos francos del sur de Italia. En su experimento mostraron apariciones de C soluble a partir del valor inicial hasta el día 8 de incubación, para luego disminuir hacia el día 16, y posteriormente manteniéndose constantes las concentraciones de C soluble en el suelo. Ello implica que inicialmente se degradan

compuestos hábiles, para que luego los más resistentes del residuo mantengan su degradación en función del C soluble en el suelo.

Similarmente a este estudio, GELSOMINO *et al.* (2006) también presentaron grandes desviaciones estándares de las mediciones de C soluble. Ello se debería a la variabilidad de las mediciones del C soluble. HAYNES (2005) atribuye esta variabilidad a la extracción con K_2SO_4 0.5M, a efectos del pH de la sal (1 o 2 unidades más bajas que la extracción en agua), a una potencial floculación del carbono soluble reabsorbiéndose en los coloides del suelo, y a distorsiones por el secado de las muestras de suelo, que producen muerte y lisis de la biomasa microbial, incrementando los resultados del carbono soluble del suelo. A pesar de ello, HAYNES (2005) ha descrito una buena relación entre carbono soluble extraído en agua, y la respiración del suelo. En este estudio nosotros no encontramos una relación significativa entre el carbono soluble extraído con K_2SO_4 0.5M y la respiración del suelo (ver Anexo 10).

4.4 Las enzimas deshidrogenasas como indicador de actividad biológica del suelo después de la adición de residuos

Las enzimas juegan un papel principal en la estabilización o degradación de la materia orgánica del suelo (AGUILERA *et al.*, 1988; SAJJAD *et al.*, 2002). Las enzimas deshidrogenasas son producidas por todos los microorganismos, en reacciones de oxido-reducción. De esta forma han sido utilizadas como variable de medición de la actividad biológica del suelo (MANNIPIERI *et al.*, 2003)

En la Figura 8 se muestra la actividad enzimática en los tratamientos suelo-residuo y en el residuo solo, medidos en dos tiempos (día 16 y 31) y expresados en pKat mol de trifenil formazan tetrazolio (TTF), para cada tratamiento. Las barras muestran un promedio de tres repeticiones con su desviación estándar.

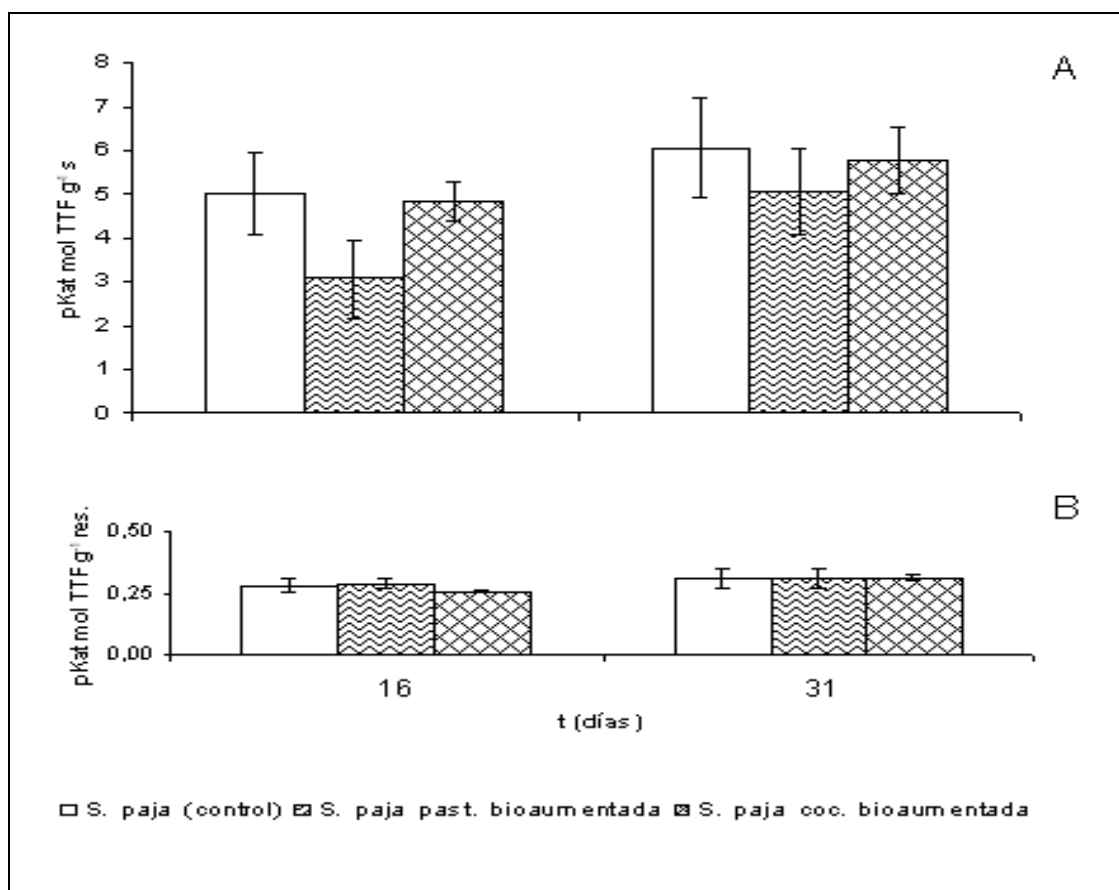


Figura 8. Cambios en el tiempo de la concentración enzimática deshidrogenasas A) suelo-residuo y B) residuo

Los valores obtenidos por los tratamientos suelo-residuo fueron mucho mayores que para el residuo solo y variaron entre 3 a 6 pKat mol TTF para suelo residuo y entre 0.25 a 0.31 pKat mol TTF, para residuo solo. En todos los tratamientos, el leve incremento de los valores de pKat mol TTF en el suelo-residuo y residuo solo desde el día 16 al 31, no fue estadísticamente significativo (Anexo 11). Lo que hace suponer que se mantuvo constante en el tiempo.

PRAVEN-KUMAR *et al.* (2003) señalan que los valores de actividad de deshidrogenasas en el suelo-residuo inferiores a 9 pKat mol TTF suelo-residuo g⁻¹ss, serían indicativos de residuos con relaciones C:N mayores a 60, y valores entre 9 y 14 pKat mol TTF suelo-residuo g⁻¹ ss, indicativos de residuos con relaciones C:N entre 28 y 60 (Cuadro 5). En este estudio (Cuadro 13) se determinó que estas relaciones se

cumplen para la paja de trigo (C:N de 77), sin embargo no fue posible ratificar lo señalado por PRAVEN-KUMAR *et al.* (2003) para la paja de trigo cocida bioaumentada y la paja de trigo pasteurizada bioaumentada (C:N de 54.4 y 38.9, respectivamente), las cuales también mostraron actividades de deshidrogenadas inferiores a 9 pKat mol TTF suelo-residuo g⁻¹ss (5.0 y 5.7, respectivamente; Cuadro 13).

La falta de concordancia entre nuestros resultados y los propuestos por PRAVEN-KUMAR *et al.* (2003) se puede deber a que ellos no trabajaron con residuos bioaumentados y solo con residuos no tratados. De esta forma sólo el residuo no tratado con pretratamiento y crecimiento de hongos posterior, es decir, la paja de trigo (SPT) cumple con lo estipulado por estos autores. Los resultados de que residuos pretratados térmicamente y biodegradados con hongos no cumplen con lo estipulado por PRAVEN-KUMAR *et al.* (2003) requieren de posterior confirmación.

Cuadro 13. Concentración de trifeneil formazan tetrazolio en suelo-residuo y residuo, y relación residuo con respecto al total

Tratamiento	Tiempo	pKat mol TTF g ⁻¹		
		Suelo+Residuo	Residuo	% R/(S+R)
S. paja (control)	16	5.00	0.2795	5.6
S. paja past. Bioaumentada	16	3.06	0.2845	9.3
S. paja coc. Bioaumentada	16	4.85	0.2548	5.3
S. paja (control)	31	6.05	0.3053	5.0
S. paja past. Bioaumentada	31	5.06	0.3127	6.2
S. paja coc. Bioaumentada	31	5.76	0.3140	5.4

Como se observa en la Figura 8 también se muestra la medición de enzimas deshidrogenasas en el residuo solo. Los valores no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Existió una leve alza de la actividad enzimática en el tiempo, pero no fue significativa. Relacionando la actividad enzimática de deshidrogenadas de los residuos incubados en suelo con respecto a la actividad enzimática de los residuos solos se determinó que actividad en los residuos solos comparado con la actividad enzimática en las incubaciones suelo-residuo. Esta fue entre 5 y 9% de los valores determinados para suelo-residuo (Cuadro 13). Este parámetro resultó variable entre los tratamientos. En el día 16 de medición de la

incubación existió diferencia entre los tratamientos (Anexo 11), mostrando que el tratamiento de paja de trigo pasteurizada y bioaumentada (SPTPB) presentó la mayor actividad con respecto al residuo solo. Sin embargo, esta diferencia no se ratificó en el día 31 de medición (Cuadro 13).

Estos resultados podrían indicar que la medición de la actividad enzimática de deshidrogenadas es sensible al momento en que se mida en la incubación, ya que la mayor actividad para SPTPB es concordante con los resultados de una mayor emisión de CO₂ de este tratamiento. Sin embargo, estos resultados preliminares requieren posterior ratificación.

5 CONCLUSIONES

Los tratamientos térmicos realizados a la paja de trigo, condicionan a ésta para que se desarrolle una menor o mayor eficiencia biológica de *Pleurotus eryngii*, donde la mayor eficiencia biológica se logra en la paja de trigo pasteurizada, sustrato en el cual se logra una mayor biodegradación.

Las razones C:N de la paja de trigo biodegradadas y no biodegradadas adicionadas al suelo, condicionan la actividad de la biomasa microbiana (respiración) a través del tiempo y la biodegradación total potencial (respiración acumulada), en una relación inversa a la razón C:N del residuo adicionado. Obteniendo diferentes valores de máximos potenciales de respiración, pero con igual tasa constante de biodegradación.

El suelo adicionado de paja de trigo cocida y bioaumentada, descompuso compuestos orgánicos lábiles, manifestándose en una leve mineralización de nitrógeno e incremento de carbono soluble del suelo. Sucediendo lo contrario para los demás tratamientos, donde se biodegradaron otros compuestos, produciéndose una inmovilización del nitrógeno y una mantención e incremento del carbono soluble del suelo.

La actividad de la biomasa microbiana del suelo, posterior a la adición de residuos, no se reflejó en el aumento de la actividad enzimática. Sin embargo, estos resultados son preliminares y requieren de una posterior ratificación.

6 RESUMEN

El mercado mundial de los hongos comestibles cultivados se ha incrementado, lo cual posibilita a Chile evaluar las condiciones óptimas, amigables y sustentables con el medio ambiente, para la producción de una seta tan rentable como *Pleurotus eryngii* (Ostra Rey). Producción que se evaluó mediante la eficiencia biológica (EB) de setas de *P. eryngii* en paja de trigo sometida a dos tipos de tratamientos térmicos; cocción y pasteurización, donde se determinaron los cambios químicos y la biodegradación del sustrato (post-cosecha de setas). Posteriormente se incorporó a un suelo trumao (Typic Hapludand) y se determinó la actividad biológica del suelo, mediante los siguientes análisis; respiración del suelo, mineralización e inmovilización del nitrógeno, incremento y disminución del carbono soluble del suelo, cambios en la concentración enzimática deshidrogenasa en el suelo y residuos incorporados.

La mayor EB de *P. eryngii* se obtuvo en la paja de trigo pasteurizada (42.8%), versus la sometida a cocción (28%). La biodegradación produjo cambios sustanciales en la razón C:N, obteniendo una mayor biodegradación en la paja de trigo pasteurizada y cocida (C:N 38.9 y 54.4 respectivamente). Estas razones C:N, condicionaron el suelo adicionado de estos residuos a una mayor o menor actividad microbial (respiración), actividad relacionada en un orden inverso a la razón C:N del residuo.

Las mediciones de N mineral y C soluble del suelo, manifestaron comportamientos distintos, posiblemente por la diferente labilidad del C y N del residuo, determinando una mantención y una leve mineralización del N mineral, e incremento del C soluble para el suelo adicionado de paja de trigo cocida y bioaumentada. Los suelos adicionados de paja de trigo sin tratar y paja de trigo pasteurizada y bioaumentada, manifestaron una inmovilización del N mineral y la mantención e incremento del C soluble del suelo.

Por su parte, la actividad enzimática deshidrogenasa se mantuvo constante en el tiempo y no corroboró el aumento en la actividad de la biomasa microbial del suelo. Sin embargo estos valores requieren de una posterior ratificación.

SUMMARY

The world market for cultivated edible mushrooms has increased, which makes it possible for Chile to evaluate the most optimal, friendly and sustainable environmental conditions for the production of such a profitable mushroom as the *Pleurotus eryngii* (Oyster kind). Production was evaluated by means of biological efficiency (BE) of the *P. eryngii* mushroom in wheat straw subjected to two types of thermal treatment; cooking and pasteurization. Chemical changes and biodegradation of the substrate were determined after harvesting the mushrooms. Subsequently, a trumao soil (Typic Hapludand) was incorporated and the biological activity of the soil was determined by means of the following analyses: soil respiration, nitrogen mineralization and immobilization, increase and decrease of soluble carbon in soil, changes of the dehydrogenase enzyme concentration of the soil and incorporated residues.

The highest BE of *P. eryngii* was obtained in pasteurized wheat straw (42.8%), versus the cooked straw (28%). The biodegradation produced substantial changes in the C:N ratio, the biodegradation being major in pasteurized than in cooked wheat straw (C:N 38.9 and 54.4, respectively). The C:N ratios determined a major or minor microbial activity (respiration) of the supplemented soil of these residues, the activity being inversely related to the C:N ratio of the residue.

The measuring of mineral N and soluble C of the soil showed different behaviours, possibly because of the different lability of the C and N of the residue, determining a conservation and a light mineralization of mineral N, and an increase in soluble C of the soil supplemented with cooked and bio-enhanced wheat straw. The soils supplemented with non-treated wheat straw and pasteurized and bio-enhanced wheat straw, displayed an immobilization of the mineral N and a conservation and increase in the soluble C of the soil.

Concerning the dehydrogenase activity, it stayed constant over time and did not confirm the increase in the microbial biomass activity of the soil. Nevertheless, these values require a further confirmation.

7 BIBLIOGRAFIA

- AGUILERA, M., BORIE, G., ROKOV, P. y PEIRANO, P. 1988. Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. VII. Determinación de deshidrogenasa. *Agricultura Técnica (Chile)*. 48(2): 147-151.
- ALEXANDER, M. 1980. *Introducción a la Microbiología de suelo*. AGT. México. 491 p.
- BANERJEE, K y CHEREMISINOFF, P. 1985. *Sterilization Systems*. Technomic Publishing AG. Pennsylvania. USA. 141 p.
- BELITZ, H. y GROSCH, W. 1987. *Food chemistry*. Springer-Verlag. Berlin. 774p
- BLACK, C., CLARK, F., ENSMINGER, L., EVANS, D. y WHITE, J. 1965. *Methods of soil analysis*. Part 2. Chemical and microbiological properties. N° 9 Series Agronomy. American Society of Agronomy. Inc. Madison, Wisconsin. pp: 1191-1206; 1324-1345.
- BOA, E. 2005. *Los hongos silvestres comestibles, Perspectiva global de uso e importancia para la población*. FAO. Roma, Italia. 163 p.
- BOHN, H., McNEAL, B. y O'CONNOR, G. 1993. *Química del suelo*. Noriega, Mexico. D.F. 370 p.
- BORIE, F y RUBIO, R. 1990. Micorrizas vesículo-arbusculares y otros organismos en la disponibilidad del fósforo. p 96–109. *In: 1º Jornadas Binacionales de Cero Labranza*. 1990, Temuco, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Centro regional Carillanca.

- CABEZA, R. 2002. Determinación de la biodegradación de paja de trigo y su posterior incorporación a dos suelos de la Décima Región. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 184 p.
- CABEZA, R., PINOCHET, D. y VALENZUELA, E. 2003. Respiración real de dos suelos adicionados con paja pre-tratada con sepas fúngicas. p 291 – 297. *In: Manejo sustentable de suelos chilenos. Boletín nº 19 Soc. Chilena de la Ciencias del Suelo.*
- CANADIAN MUSHROOM GROWERS. 2000. http://canadianmushroom.com/pdf/Best_Practices_Guides.pdf (16 Mar. 2007).
- CARAMELO, L., MARTINEZ, M y MARTINEZ, A. 1999. A search for ligninolytic peroxidases in the fungus *Pleurotus eryngii* involving a-keto-g-thiomethylbutyric acid and lignin model dimmers. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(3): 916-922.
- COHEN, R., PERSKY, L y HADAR, Y. 2002. Mini-Review. Biotechnological application and potencial of wood-degrading mushrooms of genus *Pleurotus*. *Appl. Microbiol Biotechnol*. 58: 582-594.
- COLLINS, H., ELLIOTT, F., RICKMAN, R., BEZDICEK, D., y PAPENDICK, R. 1990. Decomposition and interaction among wheat residues components. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54: 780 – 785.
- DORADO, J., ALMENDROSA, G., CAMARERO, S., MARTINEZ, VARES, T. y HATAKKAC, A. 1999. Transformation of wheat straw in the course of solid-state fermentation by four ligninolytic basidiomycetes. *Enzyme and Microbial Technology*. 25: 605–612.
- EGUCHI, F., WATANABE, Y., KIKUKAWA, T., YOSHIMOTO, H., ABE, C. y HIGAKI, M. 1999. Pharmacological effects of *Pleurotus eryngii* on the hyperlipemia. *Journal of Traditional Medicines*, 16: 24-31.

- FENGEL, D. y WEGENER, G. 1983. Wood chemistry ultrastructure relations. W de G, Berlin. 613p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. (FAO) 2005. La oferta y la demanda de cereales. http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/008/j6801s/j6801s15.htm(1 May. 2006).
- GARCIA, A. 2006. Estudio de la biodegradación de residuos lignocelulosicos derivados del procesamiento industrial del cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait). Tesis Doc. en Ciencias Agrarias. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 187 p.
- GARNIER, P., NEEL, C., AITA, C., RECOUS, S., LAFOLIE, F. y MARY, B. 2003. Modelling carbon and nitrogen dynamics in a bare soil with and without straw incorporation. *European Journal of Soil Science*. 54: 555 – 568.
- GELSOMINO, A., BADALUCCO, L., LANDI, L. y CACCO, G. 2006. Soil carbon, nitrogen and phosphorus dynamics as affected by solarization alone or combine with organic amendment. *Plant and Soil*. 279:307 – 325.
- GRIFFIN, D. 1981. *Fungal Physiology*. John Wiley & Sons, USA. 383 p.
- HAYNES, R. 2005. Labile matter fraction as central components of quality of agricultural soil: An overview. *Advances in Agronomy*. 85: 221 – 268.
- HOUDEAU, G., J.M. OLIVIER, S. LIBMOND y H. BAWADIKJI. 1991. Improvement of *Pleurotus* cultivation. *Mush. Sci*. 13: 549-554.
- HUANG, P., BOLLAG, J. y SENESI, N. 2002. Interaction between soil particles and microorganisms. Impact on the terrestrial ecosystem. John Wiley & Sons. USA. 582 p.

- JENKINSON, D. 1992. La materia Orgánica y su dinámica. Capítulo 18. En Wild, A. (Ed) Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. 11^{ava} Edición. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. España. Pp 595 – 640.
- JONG, H. 2003. World Mushroom Production 1994-2002. <http://www.mushworld.com/common/print.asp?vid=5523>(15 Abr. 2006).
- KAMRA, D. y ZADRAŽIL, F. 1986. Influence of phase, light and substrate pretreatment on fruit-body formation, lignin degradation and vitro digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus spp.* *Agricultural Wastes*. 18: 1-17.
- KUMAR, K y GOH, M. 2000. Crop residues and management practices: Effects on soil quality, soil nitrogen dynamics, crop yield, and nitrogen recovery. *Advances in Agronomy*. 68: 197-319.
- KURTZMAN, R. 1979. Metabolism and culture of *Pleurotus*, the oyster mushroom. *Taiwan Mushrooms*. 3 (1): 1-13.
- LEHNINGER, A., NELSON, D. y COX, M. 2001. Principios de bioquímica. Omega, Barcelona. 1056 p.
- LINDH, D. 2004. Degradación de paja de trigo adicionada de una fuente de carbono o nitrógeno por tres cepas de hongos. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 151 p.
- LUXHØI, J., BRUUN, S., STENBERG, B., BRELAND, T. y JENSEN, L. 2006. Prediction of gross and net mineralization immobilization turnover from respiration. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 1121 – 1128.
- MANNIPIERI, P., ASCHER, J., CECCERINI, T., LANDI, L., PIETRAMELLARA, G y RENELLA, G. 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*. 54: 655 – 670.

- MANZI, P., MARCONI, S., AGUZZI, A y PIZZOFERRATO, L. 2004. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*. 84: 201-206.
- MELLA, A. 2006. Producción de setas en invernadero del hongo *Pleurotus eryngii* en sustratos agroforestales. Tesis Mg. Cs. Microbiología. Universidad Austral de Chile. 87 p.
- MUSHWORLD. 2005. Mushroom Growers Handbook 1. Oyster Mushroom cultivation. <http://www.mushworld.com/tech/library.pdf> (20 nov. 2005).
- MYCELIA. 2004. *Pleurotus eryngii*. <http://www.mycelia.be/myceryngii.htm> (17 may. 2004).
- MYCOMASTERS. 2006. El Peróxido en el Cultivo de Hongos. <http://www.mycomasters.com/Esp/Ventajas-PFHs.html> (18 Abr. 2006).
- NELSON, D. y SOMMERS, L. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Page, A. Miller, R y Keeney, D. *Methods of soil analysis, Part 2*. American Society of Agronomy. Madison, USA. pp 539 - 579.
- NOURBAKHS, F. y SHEIKH-HOSSEINI, A. 2006. A kinetic approach to evaluate salinity effects on carbon mineralization in a plant residue-amended soil. *J. of Zhejiang Univ Science B*. 7(10): 788 – 793.
- ODEPA. 2006. Oficina de estudio y políticas agrarias. Cultivos anuales, rendimientos temporadas 1989-1990, 1995-2004. qqm ha⁻¹. <http://www.odepa.org.cl> (10 Dic. 2004).
- OHGA, S. y ROYSE, D. 2004. NOTE, Cultivation of *Pleurotus eryngii* on umbela plant (*Cyperus alternifolius*) substrate. *J. Wood Sci*. 50: 466-469.

- PEREZ, J., MUÑOZ-DORADO, J., DE LA RUBIA, T. y MARTINEZ, J. 2002. Review Article. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelulose and lignin: an overview. *Int. Microbiol.* 5: 53-63.
- PHILIPPOUSSIS, A., ZERVAKIS, G y DIAMANTOPOULOU, P. 2001. Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus spp.* *World Journal of Microbiology & Biotechnology.* 17: 191-200.
- PRAVEN-KUMAR. TARAFDAR, J. PANWAR, J. y KATHJU, S. 2003. A rapid method for assessment of plant residue quality. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166: 662 – 666.
- RAGUNATHA, R., GURUSAMY, R., PALANISWAMY, M y SWAMINATHAN, K. 1996. Cultivation of *Pleurotus spp.* on various agro-residues. *Food Chemistry.* 55(2): 139-144.
- RICHARDS, J. 1968. *Introduction to Industrial Sterilization.* Whitefriars Press. Londres, UK. 183 p.
- ROBERT, M. 2002. Captura de carbono en los suelos para un mejor manejo de la tierra. FAO, Roma. 61p.
- ROJAS, C y MANSUR, E. 1995. Ecuador: informaciones generales sobre productos no madereros en Ecuador. En memoria, consulta de experto sobre productos forestales no madereros para América Latina y el Caribe, 208 – 223. Serie Forestal 1. Santiago, AO Oficina Regional para América Latina y el Caribe.
- ROYSE, D. 1997. Specialty mushrooms and their cultivation. *Hort. Rev.* 19: 50-97.
- ROYSE, D. 2003. *Cultivation of oyster mushroom.* College of Agricultural Sciences. The Pennsylvania State University, University Park, USA. 12p.

- ROYSE, D. y SANCHEZ, J. 2004. Effect of brewer's grain and delayed release nutrient supplementation on Yield and size of *Pleurotus eryngii*. http://www.mushworld.com/tech/view.asp?cata_id=1150&vid=6354 (3 Mar. 2006).
- RUIHONG, Z., XIUJIN, L y FRADEL, J. 2002. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology*. 82: 277-284.
- RYAN, M y LAW, B. 2005. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biochemistry*. 73: 3–27
- SAAVEDRA, N. 1975. Manual de análisis de plantas. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. Publicación número 17. pp: 17-36.
- SAJJAD, M., LODHI, A. y AZAM, F. 2002. Changer in enzyme activity during the decomposition of plant residues in soil. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 5(9): 952-955.
- SANCHEZ, J y ROYSE, D. 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Limusa. Mexico. 290 p.
- SCHLEGEL, H. 1997. Microbiología general. Omega. Barcelona. 645 p.
- SHARMA, S., MAHNAZ, F y SING, V. 1996. Biochemical changes during solid substrate fermentation of water hyacinth with *Pleurotus sajor-caju*. *Mushroom Res*. 5: 89-92.
- SIX, J., FREY, S., THIET, R. y BATTEN, K. 2006. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 555-569.

- STAJIĆ, M., DULENTIĆ-LAUŠEVIĆ., N y VUKOJEVIĆ, J. 2005. Ligninolytic enzyme production in *Pleurotus eryngii* depending on the medium composition and cultivation conditions. Matica srpska proceedings for natural sciences. MOVI SAD. 108: 269 – 276.
- STAJIĆ, M., PERSKY, L., FRIESEM, D., HADAR, Y., WASSER, S., NEVO, E.y VUKOJEVIĆ, J. 2006. Effect of different carbon and nitrogen sources on laccase and peroxidases production by selected *Pleurotus* species. Enzyme and microbial technology. 38: 65-73.
- STEUBIMG, L., GODOY, R y ALBERDI, M. 2002. Monografía, Métodos de ecología vegetal. Santiago, Chile. Universitaria S.A. 345 p.
- STRASBURGER. D. 1986. Tratado de botanica. Barcelona. Marin. 7ª ed. 1114p.
- STÖLZER, S. y GRABBE, K. 1991. Mechanisms of substrate selectivity in the cultivation of edible fungi. Mush. Sci. 13: 141-146.
- SYLVIA, D., FUHRMANN, J., HARTEL, P. y ZUBERER, D. 1999. Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall. Uppe Saddle River, New Jersey, USA. 550 p.
- SZEIGI, J. 1988. Cellulose decomposition and soil fertility. Akadémiai Kaidó. Budapest, Hungary. 165 p.
- TAPINGKAE, T. 2004. King oyster growing in Thailand. http://www.mushworld.com:1508/worldboard/view.asp?w_num=maesa123-_2004722057 (21 Feb. 2005).
- THURIES, L., PANSU, M., FELLER, C. HERRMANN, P y REMY J. 2001. Kinetics of added organic matter decomposition in a Mediterranean sandy soil. Biogeochemistry. 33: 997 – 1010

- TOSSO, J. 1985. Suelos Volcánicos de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Ministerio de Agricultura. Santiago. 726 p.
- TRINSOUTROT, I., RECOUS, S., BENTZ, B., LINERES, D., CHENEBY, D y NICOLARDOT, B. 2000. Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. *Soil Sci. Soc. Am J.* 64: 918 – 926.
- URBANO, P. 1989. Tratado de fitotecnia general. Mundi Prensa. Madrid, España. 836 p.
- VERBERNE, E., HASSINK, J. DE WILLIGEN, P., GROOT, J y VAN VEEN, J. 1990. Modeling organic matter dynamics in different soils. *Netherlands Journals of Agricultural Science.* 38: 221-238.
- WANG, H y NG, T. 2006. Purification of laccase from fruiting bodies of mushroom *Pleurotus eryngii*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 69: 521-525.
- WHA, K. 2002. Eryngii mushroom growing in Japan.
http://www.mushworld.com/image_search/library.
- YILDIS., S. YILDIS, Ü., GEZER, E. y TEMIZ, A. 2002. Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochemistry.* 38: 301-306.
- ZADRAZIL, F y SCHNEIDEREIT, M. 1972. Die Grundlagen für die Inkulturnahme einer bisher nicht kultivierten *Pleurotus*-Art. *Der Champignon* 135: 25-32.
- ZAGAL, E., LONGERI, L., VIDAL, I., HOFFMAN, G y GONZALES, R. 2003. Influencia de la adición de nitrógeno y fósforo sobre la descomposición de paja de trigo en un suelo derivado de cenizas volcánicas. *Agricultura Técnica (Chile).* 63: 403-415.

ANEXOS

Anexo 1. EB detallada en paja de trigo cocida y pasteurizada

Producción de setas de <i>Pleurotus eryngii</i>						
Repetición	Paja de trigo Cocida 1 h			Paja de trigo Pasteurizada 3 h		
	Setas frescas (g)	Sustrato seco (g)	(%) EB	Setas frescas (g)	Sustrato seco (g)	(%) EB
I	507.9	1629.0	31.2	532.4	1587.0	33.5
II	472.0	1604.8	29.4	754.5	1636.0	46.1
III	366.7	1597.8	22.9	521.8	1615.0	32.3
IV	430.8	1620.6	26.6	534.3	1607.0	33.2
V	334.5	1596.6	21.0	1132.5	1791.0	63.2
VI	364.6	1596.6	22.8	669.4	1713.6	39.1
VII	735.0	1677.5	43.8	640.1	1727.6	37.3
VIII	436.8	1571.6	27.8	666.5	1703.6	38.9
IX	525.6	1669.1	31.5	1055.1	1749.0	60.3
X	385.8	1596.6	24.2	858.0	1749.6	49.0
XI	395.5	1586.6	24.9	607.0	1625.6	37.3
XII	502.7	1650.7	30.5	706.7	1673.6	42.2
Promedio	454.8	1616.4	28.1	723.2	1681.6	42.8
DS	108.1	33.6	6.1	199.2	66.5	10.2

Anexo 2. Prueba de t student para la EB en paja de trigo cocida y pasteurizada.

Valor de t entre tratamiento	Valor de P entre tratamiento
-4.279	0.000305

Anexo 3. Razón C:N de la paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y biodegradación

Tratamiento	C:N
Paja de trigo	77.1 a
P. pasteurizada	70.7 a
P. cocida	54.1 b
P. pasteurizada bioaumentada	38.9 c
P. cocida bioaumentada	54.4 b

Las diferentes letras entre las columnas indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$)

Anexo 4. Constituyentes orgánicos de la paja de trigo inicial, post-tratamiento térmico y biodegradación

Tratamiento	Celulosas (%)		Hemicelulosa (%)		Lignina (%)		Ext. Totales(%)	
Paja de trigo	40.6	b	26.1	ab	18.5	c	14.9	a
P. pasteurizada	43.0	ab	27.6	a	20.2	b	8.4	c
P. cocida	44.8	a	26.0	ab	20.8	b	9.3	c
P. pasteurizada bioaumentada	43.6	a	21.8	c	19.9	b	12.8	b
P. cocida bioaumentada	40.9	b	23.1	Bc	23.3	a	14.8	a

Las diferentes letras entre las columnas indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$)

ANEXO 5. Respiración del suelo entre los distintos tratamientos y tiempos expresada en $\text{g CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$

Tratamiento	Gda	Tiempo	Promedio	
S + paja trigo (Control)	24	1	11.4	b
	74	3	11.3	bc
	147	6	10.9	cd
	195	8	11.7	ab
	269	11	12.1	a
	381	16	11.0	cd
	721	31	10.7	d
S + p.t past. post-cos. bioaumentada	24	1	12.5	c
	74	3	14.3	b
	147	6	15.2	a
	195	8	15.3	a
	269	11	15.3	a
	381	16	14.9	a
	721	31	12.1	c

(continúa)

(continuación Anexo 5)

	24	1	12.2	c
	74	3	13.2	b
	147	6	14.0	a
S + p.t coc. post-cos. bioaumentada	195	8	13.8	ab
	269	11	13.6	ab
	381	16	13.0	b
	721	31	11.2	d

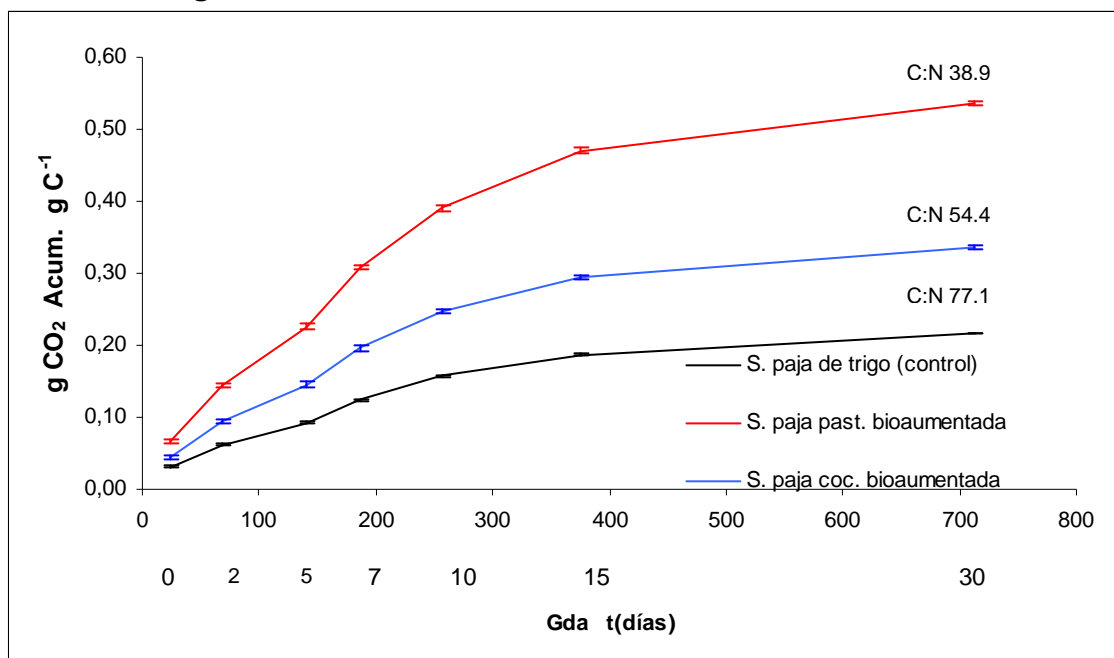
Las diferentes letras entre las columnas indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$)

ANEXO 6. Análisis de los parámetros de la ecuación de primer orden (emisión de CO₂ acumulada)

Tratamientos	P - Valor	
	Co	k
SPT (control) - SPTPB	P < 0.001	P > 0.05
SPT (control) - SPTCB	P < 0.001	P > 0.05
SPT (control) - Suelo	P < 0.001	P > 0.05
SPTPB - SPTCB	P < 0.001	P > 0.05
SPTPB - Suelo	P < 0.001	P > 0.05
SPTCB - Suelo	P < 0.001	P > 0.05

SPT: suelo+ paja de trigo; SPTPB: suelo paja de trigo pasteurizada bioaumentada; SPTCB: suelo paja de trigo cocida bioaumentada; Co: maxima emisión; k: tasa

Anexo 7. Emisión de CO₂ acumulada en relación a gramos de Carbono ingresados al suelo



Anexo 8. Mineralización e inmovilización de nitrógeno mineral del suelo después de la incorporación de residuos (mg N kg⁻¹ ss)

Tratamiento	Gda	Tiempo	Promedio	
S + paja trigo (control)	24	0	0	ab
	74	2	13	a
	147	5	-17	bc
	195	7	-34	cd
	269	10	-43	d
	381	15	-38	d
	721	30	-18	c
S + p.t past. post-cosecha bioaumentada	24	0	0 ^{**}	ab
	74	2	15	a
	147	5	-3	b
	195	7	-23	c
	269	10	-29	c
	381	15	-27	c
	721	30	-13	bc
S + P.t Coc. post-cosecha bioaumentada	24	0	0 ^{***}	a
	74	2	4	a
	147	5	7	a
	195	7	2	a
	269	10	9	a
	381	15	8	a
	721	30	3	a

Las diferentes letras entre las columnas indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$), * 79.5; ** 70.8; *** 63.4

Anexo 9. Incremento y disminución de carbono soluble del suelo después de la incorporación de residuos (mg C soluble kg⁻¹ ss)

Tratamiento	Gda	Tiempo	Promedio	
S + paja (control)	24	1	0	a
	74	3	6	a
	147	6	27	a
	195	8	-9	a
	269	11	9	a
	381	16	18	a
	721	31	-42	a
S + p.t past. post-cos. bioaumentada	24	1	0 ^{**}	a
	74	3	19	a
	147	6	29	a
	195	8	40	a
	269	11	29	a
	381	16	52	a
	721	31	35	a

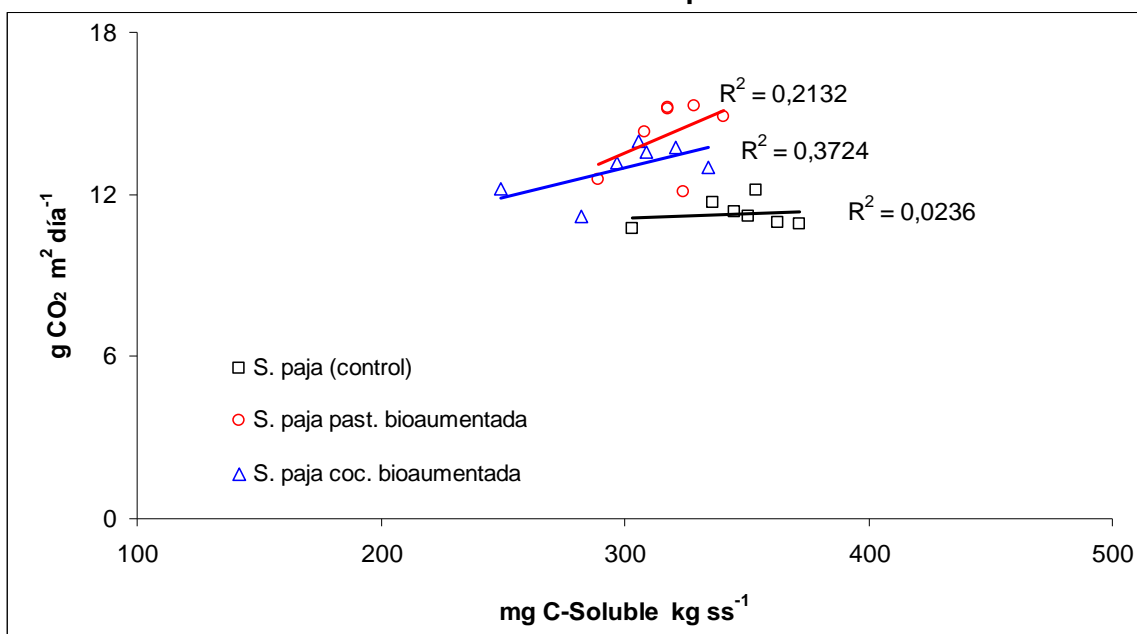
(continúa)

(continuación Anexo 9)

	24	1	0 ^{***}	b
	74	3	48	ab
	147	6	57	a
S + p.t coc. post-cos. bioaumentada	195	8	72	a
	269	11	60	a
	381	16	86	a
	721	31	33	ab

Las diferentes letras entre las columnas indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$), * 345; ** 289; *** 249

Anexo 10. Correlación C soluble del suelo vs respiración del suelo



Anexo 11. Cuadro de medición de enzimas deshidrogenasas

Tratamiento	Tiempo	pKat mol TTF g ⁻¹		
		Suelo+Residuo	Residuo	% R/(S+R)
S. paja (control)	16	5.00 a	0.2795 a	5.6 b
S. paja past. bioaumentada	16	3.06 a	0.2845 a	9.3 a
S. paja coc. bioaumentada	16	4.85 a	0.2548 a	5.3 b
S. paja (control)	31	6.05 a	0.3053 a	5.0 a
S. paja past. bioaumentada	31	5.06 a	0.3127 a	6.2 a
S. paja coc. bioaumentada	31	5.76 a	0.3140 a	5.4 a

Las diferentes letras entre las columnas indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$),

Anexo 12. Andeva de la razón C:N para los diferentes tiempos de medición

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	2145.07	536.26	19.59	0.0001
Dentro Grupo	10	273.7	27.37		
Total	14	2418.78			

Anexo 13. Andeva del contenido de celulosa para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	26.116	6.529	14.290	0.0061
Dentro Grupo	5	2.285	0.407		
Total	9	28.401			

Anexo 14. Andeva del contenido de hemicelulosa para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	45.97	11.4925	14.84	0.0032
Dentro Grupo	5	3.05	0.61		
Total	9	49.02			

Anexo 15. Andeva del contenido de lignina para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	24.146	6.036	50.73	0.0003
Dentro Grupo	5	0.595	0.119		
Total	9	24.741			

Anexo 16. Andeva del contenido de extraíbles totales para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	74.266	18.5665	320.11	0.0000
Dentro Grupo	5	0.290	0.058		
Total	9	74.556			

Anexo 17. Andeva de la emisión de CO₂ del suelo con paja de trigo (control) para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	9.548	2.387	102.57	0.0000
Dentro Grupo	10	0.232	0.023		
Total	14				

Anexo 18. Andeva de la emisión de CO₂ del suelo con paja de trigo pasteurizada y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	9.548	2.387	102.57	0.0000
Dentro Grupo	10	0.232	0.023		
Total	14				

Anexo 19. Andeva de la emisión de CO₂ del suelo con paja de trigo cocida y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	4	9.548	2.387	102.57	0.0000
Dentro Grupo	10	0.232	0.023		
Total	14				

Anexo 20. Andeva de la mineralización e inmovilización de N mineral del suelo con paja de trigo (control) para los diferentes tiempos de medición

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6	8124.09	1354.01	34.86	0.0000
Dentro Grupo	28	1087.44	38.83		
Total	34	9211.53			

Anexo 21. Andeva de la mineralización e inmovilización de N mineral del suelo con paja de trigo pasteurizada y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6	4044.30	674.05	17.77	0.0000
Dentro Grupo	28	1062.13	37.93		
Total	34	5106.43			

Anexo 22. Andeva de la mineralización e inmovilización de N mineral del suelo con paja de trigo cocida y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6	226.46	37.74	2.10	0.085
Dentro Grupo	28	504.35	18.01		
Total	34	730.81			

Anexo 23. Andeva del incremento y disminución del C soluble del suelo con paja de trigo (control) para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6	15017.1	2502.86	1.95	0.1070
Dentro Grupo	28	36000.0	1285.71		
Total	34	51017.1			

Anexo 24. Andeva del incremento y disminución del C soluble del suelo con paja de trigo pasteurizada y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6	7579.29	1263.21	0.96	0.4728
Dentro Grupo	28	37035.0	1322.68		
Total	34	44614.3			

Anexo 25. Andeva del incremento y disminución del C soluble del suelo con paja de trigo cocida y bioaumentada para los diferentes tiempos de medición.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6	23409.6	3901.61	7.23	0.0001
Dentro Grupo	28	15120.0	540.0		
Total	34				

Anexo 26. Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas suelo- residuo en el tiempo 16.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	6.96	2	3.48	5.77	0.058
Dentro Grupo	3.62	6	0.60		
Total	10.59	8			

Anexo 27. Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas suelo- residuo en el tiempo 31.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	1.56	2	0.78	0.81	0.486
Dentro Grupo	5.75	6	0.95		
Total	7.32	8			

Anexo 28. Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas residuo en el tiempo 16.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	0.0015	2	0.0007	2	0.21
Dentro Grupo	0.0022	6	0.0003		
Total	0.0037	8			

Anexo 29. Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas residuo en el tiempo 31.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	0.0001	2	0.00006	0.09	0.91
Dentro Grupo	0.0044	6	0.00074		
Total	0.0045	8			

Anexo 30. Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenasas % residuo con respecto al total, tiempo 16.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	35.17	2	17.58	7.6	0.022
Dentro Grupo	13.77	6	2.28		
Total	48.95	8			

Anexo 31. Andeva de cambios en las concentraciones de enzimas deshidrogenadas % residuo con respecto al total, tiempo 31.

Factor	G. L	S. C	C. M	F-valor	P-valor
Entre Grupo	1.79	2	0.89	1.18	0.369
Dentro Grupo	4.54	6	0.75		
Total	6.33	8			

Anexo 32. Fotos de colonización de la paja de trigo por *P. eryngii* y sus setas.



