



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO**  
**AGROINDUSTRIAL**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**TESIS DE GRADO**

**TEMA:**

“EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE DOS CEPAS DEL GÉNERO *Pleurotus* spp. CULTIVADAS EN UN MEDIO AGAR CON DIFERENTES SUSTRATOS”

**AUTORA:**

CAROL DANIELA COELLO LOOR

**DIRECTOR:**

ING. JUAN AVELLANEDA C. Ph.D.

**QUEVEDO**

**2012**







**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO AGROINDUSTRIAL**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TEMA:**

“EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE DOS  
CEPAS DEL GÉNERO *Pleurotus* spp. CULTIVADAS EN UN MEDIO AGAR  
CON DIFERENTES SUSTRATOS”

**AUTORA:**

**CAROL DANIELA COELLO LOOR**

**TESIS DE GRADO**

SOMETIDA AL HONORABLE CONSEJO DIRECTIVO COMO REQUISITO  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

---

**ING. JUAN AVELLANEDA C. Ph.D.**  
**DIRECTOR DE TESIS**

---

**ING. SONIA BARZOLA MIRANDA**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**ING. FLOR MARINA FON FAY**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

**LCDO. SEGUNDO CABRERA**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## RESPONSABILIDAD

Los resultados, conclusiones y recomendaciones obtenidas en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad del autor.

---

Egda. Carol Daniela Coello Loor  
**TESISTA**

## DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, Santiago Coello y Monserrate Loor, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su apoyo incondicional perfectamente mantenido a través del tiempo, por sus consejos, por sus ejemplos de perseverancia y constancia que los caracteriza y que me han infundado siempre, pero más que nada por su amor.

A mí querido hijo Mathías, por su ternura, su dulzura y mucho amor, por ser mi sol e irradiar mi vida de luz, de alegría, por convertirse en mi fortaleza, para ser mejor cada día y lograr las metas propuestas.

A mis hermanos: Viviana, Marianela, Karla Emilia y Santiago, por estar conmigo y apoyarme siempre. A mis sobrinos: Helina, Santiago Javier, Everett, Valentina, Karlita Emilia, para que vean en mi un ejemplo a seguir. A mis abuelitas Graciela Díaz y Carlota Hoppe por sus consejos y la formación que han entregado a través de los años. A mis amigos por compartir conmigo en los buenos y malos momentos.

Comparto con ustedes mi alegría y este logro alcanzado.

## AGRADECIMIENTO

A mis queridos padres Santiago y Monserrate, a mi hermana Karla Emilia por su apoyo incondicional durante todo este proceso de investigación.

A las autoridades de esta prestigiosa Universidad, por contribuir con el inicio, ejecución y culminación de la misma.

Al Ing. Juan Avellaneda Cevallos. Ph.D., director de esta tesis por la confianza depositada en mí, por su guía, su solidaridad y su apoyo técnico permanente durante todo el proceso de investigación.

Al Ing. Armando Peláez Acero. Ph.D., Jefe del área académica de la escuela de Veterinaria e investigador de tiempo completo de la Universidad Autónoma de Hidalgo, por su contribución al trabajo de investigación que realicé, durante su visita a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

Mi aprecio al Ing. Washington Mora Silva, Investigador del área de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por compartir sus conocimientos.

De igual manera hago extensivo mis agradecimientos para todos los profesionales que colaboraron con este trabajo:

Ing. Samir Zambrano

Ing. Gustavo Quintana

Ing. Alexandra Barrera

Ing. Pedro Nivelá

Gracias a Dios por haberme permitido realizar este trabajo de tesis.

Que Dios los Bendiga.

## INDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	15
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	17
1.2 OBJETIVOS.....	18
1.2.1 Objetivo General.....	18
1.2.2 Objetivos Específicos .....	18
1.3 HIPÓTESIS .....	19
1.3.1 Hipótesis nula .....	19
1.3.2 Hipótesis alternativa.....	19
II. MARCO TEÓRICO .....	21
2.1 HONGOS.....	21
2.1.1 Clasificación .....	22
2.1.2 Producción de Hongos Comestibles .....	25
2.1.3 Variedades de <i>Pleurotus spp</i> .....	26
2.1.3.1 Morfología y estructura .....	27
2.1.3.2 Ciclo de vida de la seta.....	29
2.1.3.3 Reproducción.....	30
2.1.3.4 Estructura del pleuroma de <i>Pleurotus spp</i> .....	31
2.1.3.5 Orellanas .....	33
2.1.4 Formas de nutrición .....	34
2.1.5 Crecimiento micelial.....	35
2.1.5.1 Velocidad de crecimiento micelial.....	36
2.1.6 Importancia alimenticia y medicinal de las setas.....	37
2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MARACUYÁ.....	40
2.2.1 Composición química .....	41
2.2.2 Subproductos del procesamiento de la parchita .....	42
2.2.3 Condiciones generales y clasificación en la post-cosecha.....	42
2.2.4 La maracuyá en el Ecuador.....	44
2.2.5 Área productiva. ....	45
2.2.6 Industrialización de la maracuyá .....	45
2.2.7 Industrialización de la maracuyá en el Ecuador .....	47

<b>2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA CASCARILLA DE ARROZ .....</b>	<b>48</b>
<b>2.3.1 Características físicas y químicas de la cascarilla de arroz.....</b>	<b>48</b>
<b>2.3.1.1 Peso de una cascarilla de arroz. ....</b>	<b>49</b>
<b>2.3.1.2 Piladoras de arroz por categorías y su procesamiento en QQ/h en la Provincia de Los Ríos .....</b>	<b>53</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>56</b>
<b>3.1 MATERIALES EN GENERAL .....</b>	<b>56</b>
<b>3.2 MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.1 Ubicación.....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.1.1 Ubicación política.....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.1.2 Ubicación geográfica .....</b>	<b>59</b>
<b>3.2.2 Factores de estudio .....</b>	<b>60</b>
<b>3.2.3 Tratamientos.....</b>	<b>60</b>
<b>3.2.4 Diseño experimental.....</b>	<b>61</b>
<b>3.2.4.1 Características del experimento .....</b>	<b>61</b>
<b>3.2.4.2 Análisis estadístico .....</b>	<b>62</b>
<b>3.2.5 Manejo específico del experimento.....</b>	<b>62</b>
<b>3.2.5.1 Preparación de los medios de cultivo .....</b>	<b>62</b>
<b>3.2.5.2 Determinación de curva de crecimiento micelial .....</b>	<b>63</b>
<b>3.2.5.3 Determinación de biomasa .....</b>	<b>63</b>
<b>3.2.5.3.1 Método 1 .....</b>	<b>63</b>
<b>3.2.5.3.2 Método 2.....</b>	<b>64</b>
<b>3.2.5.4 Obtención de semilla de <i>Pleurotus</i> para fermentación en medio sólido ...</b>	<b>64</b>
<b>3.2.5.5 Prueba piloto de fermentación en medio sólido (FMS).....</b>	<b>65</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>68</b>
<b>V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>86</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>91</b>
<b>6.1 LIBROS .....</b>	<b>91</b>
<b>6.2 INTERNET.....</b>	<b>100</b>
<b>VII. ANEXOS .....</b>	<b>104</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Descripción taxonómica y sistemática de la Maracuyá	40
2. Clasificación de los tamaños de la maracuyá de acuerdo con su diámetro	43
3. Producción de maracuyá en el Ecuador	45
4. Empresas procesadoras de Maracuyá en el Ecuador, su localización y los productos que elaboran	47
5. Porcentaje de celulosa, hemicelulosa y lignina de la cascarilla de arroz a nivel mundial	50
6. Composición de la cascarilla de arroz	50
7. Características físicas de la cascarilla de arroz	51
8. Propiedades químicas de la cascarilla de arroz en el Ecuador	51
9. Composición mineral de la ceniza de la cascarilla de arroz	52
10. Análisis de los elementos de la cascarilla de arroz Agrocalidad	52
11. Piladoras de 1era y 2da categoría de arroz en la provincia de Los Ríos	53
12. Detalle de los factores de estudio	60
13. Detalle de los tratamientos	60
14. Análisis de Varianza (ADEVA)	62
15. Efecto de la cepa en la velocidad de crecimiento radial y en la producción de biomasa	68
16. Efecto del medio en la velocidad de crecimiento radial y en la producción de biomasa	69

	<b>Página</b>
<b>17. Respuesta de las variables de crecimiento radial y producción de biomasa de la interacción cepa-medio</b>	<b>72</b>
<b>18. Ecuaciones de crecimiento obtenidas del análisis matemático de regresión lineal de cada tratamiento</b>	<b>77</b>
<b>19. Tasa de crecimiento específico <math>\mu</math> (<math>\text{mm h}^{-1}</math>) para cada uno de los medios de cultivo y los hongos comestibles evaluados</b>	<b>77</b>
<b>20. Evaluación cualitativa del crecimiento micelial en granos de arroz y maíz amarillo</b>	<b>80</b>
<b>21. Porcentaje de contaminación de los frascos estudiados</b>	<b>80</b>
<b>22. Características de los tratamientos durante la fermentación en medio sólido</b>	<b>83</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>1. Ciclo de vida de los Basidiomycetes</b>	<b>30</b>
<b>2. Estructura química de las estatinas derivadas de productos fúngicos.</b>	<b>39</b>
<b>3. Superficie exterior de la cascarilla vista al microscopio (X 500)</b>	<b>48</b>
<b>4. Superficie interior de la cascarilla vista al microscopio (X 500)</b>	<b>49</b>
<b>5. Cascarilla de arroz unida por un extremo</b>	<b>49</b>
<b>6. Distribución de Piladoras por categorías en la Provincia de Los Ríos</b>	<b>54</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	<b>Página</b>
<b>1. Promedio de la Producción de Biomasa Fúngica de los Tratamientos</b>	<b>71</b>
<b>2. Promedio de la velocidad de crecimiento radial PsCAPDA</b>	<b>73</b>
<b>3. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PsCMPDA</b>	<b>73</b>
<b>4. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PsCACMPDA</b>	<b>74</b>
<b>5. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PspDA</b>	<b>74</b>
<b>6. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoCAPDA</b>	<b>75</b>
<b>7. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoCMPDA</b>	<b>75</b>
<b>8. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoCACMPDA</b>	<b>76</b>
<b>9. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoPDA</b>	<b>76</b>

## RESUMEN

La velocidad de crecimiento radial (VCR) y la producción de biomasa son técnicas que nos ayudan a comprender el grado de adaptación y desarrollo de los hongos del género *Pleurotus* spp., a distintos sustratos que podrían emplearse en una fermentación en medio sólido. En el cantón Quevedo tenemos excedente de materiales residuales de la práctica agroindustrial como es el caso de la cáscara de maracuyá y de la cascarilla de arroz, que por su volumen resultó atractivo para realizar esta investigación. El medio de cultivo sintético que se utilizó para realizar estas pruebas fue el papa dextrosa agar (PDA), ya que tiene todos los componentes nutritivos para que los hongos se desarrollen, el extracto de papa proporciona almidón, algo de lignina y otros minerales, la dextrosa (glucosa) es la fuente de carbono principal para los hongos y el agar es adicionado como agente gelificante, su pH (5.6 a 5.9) es ideal para el crecimiento de hongos y la inhibición del desarrollo de bacterias debido a su ligera acidez; diluido en 4 diferentes soluciones preparadas con los materiales residuales, con el propósito de observar el crecimiento radial cada 24 horas y la producción de biomasa fúngica de estos hongos lignocelulósicos durante su periodo de incubación y la adaptación que podrían tener a nivel *in vitro*. Las especies fueron *Pleurotus sapidus* y *Pleurotus ostreatus* IE8. La mejor VCR ( $\text{mm h}^{-1}$ ) la mostró la cepa del *Pleurotus ostreatus* (0.569) y el mejor medio de cultivo para el crecimiento y desarrollo de las cepas fue el CAPDA, mientras que en la producción de biomasa ( $\text{g g}^{-1}$  de sustrato seco) los tratamientos que mostraron mejores resultados de adaptación fue el *Pleurotus sapidus* con el CAPDA (0.1727) y el *Pleurotus ostreatus* con CMPDA (0.1722), CAPDA (0.1706) y PDA (0.1694). El maíz amarillo fue el grano que mostró mejores resultados para la obtención de semilla de las dos cepas y la mezcla de los dos sustratos residuales al 50% en la fermentación en medio sólido, nos proporcionó menores dificultades en el manejo, crecimiento micelial abundante y compactación en las muestras, además de la presencia de primordios en las bolsas incubadas pasados los primeros 25 días en las dos cepas del género *Pleurotus*.

## ABSTRACT

The rate of radial growth and the biomass production are techniques that help us understand the degree of adaptation and development of mushrooms of the *Pleurotus* spp. genus in various substrates which could be applied in a solid medium fermentation. The city of Quevedo has excess residual materials from the agro-industrial practice; such as the rind of passion fruit and rice; which due to their volume made it attractive to conduct this investigation. The medium for the synthetic culture that was utilized for these tests was potato dextrose agar (PDA), since it has all the nutritious components for the mushrooms growth; the potato extract provides starch, some lignin and other minerals, the dextrose (glucose) is the primary source of carbon for the mushrooms, and the agar is the added as a gelling agent, its pH (5.6 – 5.9) is ideal for mushroom growth and the inhibition of bacteria growth due to its slight acidity, diluted in 4 different solutions prepared with the residual materials, with the purpose to observe the radial growth every 24 hours and the fungal biomass production of these lignocellulosic mushrooms during their period of incubation and adaptation which they could have in vitro. The species were *Pleurotus sapidus* and *Pleurotus ostreatus* IE8. The best VCR ( $\text{mm h}^{-1}$ ) was the strain of the *Pleurotus ostreatus* (0.569) and the best culture medium for the growth and development of the strains was the CAPDA; whereas the treatments that showed the best results of adaptation in the biomass production ( $\text{g g}^{-1}$  of dry substrate) were the *Pleurotus sapidus* with the CAPDA (0.1727), el *Pleurotus ostreatus* con CMPDA (0.1722), CAPDA (0.1706) and PDA (0.1694). Yellow corn was the grain that demonstrated best results in obtaining the seed from the two strains and the mixture of the two residual substrates at 50% of the fermentation in solid medium; it provided minor difficulties in handling, abundant mycelial growth and compaction of the samples, furthermore, there was presence of primords in the incubated bags after the first 25 days for both strains of the *Pleurotus* genus.

# CAPÍTULO I

## I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos en América inició en México central en 1933, por medio de una tecnología simple, seguido por Argentina (1941), Colombia (1950), Brasil (1951), Chile (1959), Guatemala (1960), Perú (1967), Venezuela (1968), Costa Rica (1969) y Bolivia (1989) (Chávez, 2008)

Actualmente la producción mundial de hongos comestibles supera los 7 millones de toneladas de hongos frescos cultivados por año, con un valor económico aproximado de 30 billones de dólares. La tasa promedio de incremento anual en la producción de hongos es superior al 11%. También se han descubierto notables propiedades medicinales en estos hongos (anticancerígenos, antibióticos, reducción de niveles de colesterol o hipertensión, antitrombóticos, antidiabéticos, etc.), lo cual brinda un impulso adicional al desarrollo de esta industria (Martínez-Carrera *et al.*, 2006 citado por Aguilar, 2007).

La ingesta de hongos no es una práctica común y extensiva de nuestro país, se da solamente en tipos de población de clase media alta que tienen un poder adquisitivo mayor; además es muy poco el conocimiento que tiene la población en general sobre los beneficios del consumo de hongos.

Es más frecuente el cultivo artificial de los hongos comestibles que se encuentran dentro del grupo de los saprofitos ya que utilizan la biomasa vegetal como fuente de carbono y energía.

*Pleurotus* es el nombre genérico de toda una gama de hongos saprofitos comestibles en los que se ha logrado limitar sus hábitos ecológicos naturales para cultivarlos en sustratos lignocelulósicos diversos, habiendo sido objeto de una preparación simple y rápida. (FAO *et al.*, 2006)

Las especies de *Pleurotus* están consideradas entre las mejores especies degradadoras de materiales lignocelulósicos, reportándose reducciones hasta del 80% de la lignina y la celulosa presentes en los sustratos, posterior a las cosechas (Hatakka *et al.*, 1989). Hecho que mejora ostensiblemente la digestibilidad y valor nutricional del residuo de sustrato para alimentación animal, ya que estos hongos aumentan el valor nutricional de materiales como las pajas, pastos y residuos lignocelulósicos en general, en materiales con un mayor aporte proteico y una marcada disminución en el contenido de lignina, la cual es una sustancia no deseable y que deteriora la calidad de los alimentos para dicha nutrición animal.

Una característica que hace atractivo el conocimiento de las setas, como *Pleurotus* spp., es que estas producen grandes cantidades de proteína de alta calidad sobre sustratos que están compuestos de materiales residuales. Sin embargo, la calidad de la proteína de las setas no es tan alta como la proteína animal, pero sí más eficiente.

Los efectos benéficos de *Pleurotus* spp., se descubrieron independientemente en diferentes continentes. La conciencia de sus propiedades medicinales viene no sólo de Asia sino también de las tradiciones de Europa Central, Sur América y África.

Los hongos del género *Pleurotus* spp., tienen un panorama muy amplio más allá de la producción de setas, debido a que el compost agotado que se obtiene, durante el proceso de fermentación en medio sólido, puede ser usado de diversas maneras, tales como, la obtención de enzimas, de fertilizantes, de abonos orgánicos, de biorremediadores y de alimento para rumiantes.

## 1.1 JUSTIFICACIÓN

La producción de hongos representa una alternativa de bioconversión para el desarrollo de nuevas áreas de producción, con un impacto benéfico en el crecimiento económico debido a que incorpora la reutilización de desechos ricos en lignocelulosa, material que representa cerca del 40% de la biomasa producida por la fotosíntesis y que no puede ser aprovechada en forma directa para la alimentación humana y animal, debido a su baja digestión.

Los hongos comestibles colaboran al enriquecimiento de los substratos vegetales haciendo accesibles los carbohidratos, albuminas, fermentos, vitaminas y elementos minerales, ya que durante el crecimiento y desarrollo, el hongo degrada celulosa, hemicelulosa y lignina. Cabe recalcar que además de obtener hongos comestibles, el sustrato donde se desarrollan puede ser utilizado como abono orgánico, debido a que el micelio es fuente de fitohormonas y otras sustancias biológicamente activas o para alimentación de rumiantes.

Siendo esta zona rica en productos agrícolas, conviene desarrollar un proceso orientado al aprovechamiento integral de recursos provenientes de la producción agroindustrial, además de evitar la contaminación ambiental, por los residuos derivados de estas actividades. Estos residuos son la cáscara de maracuyá y la cascarilla de arroz que, por sus volúmenes, resultaron atractivos para la aplicación de esta biotecnología, por lo que, en el presente trabajo de investigación, se evaluará el crecimiento y producción de biomasa de dos cepas del género *Pleurotus* spp., con el fin de demostrar que el hongo podría adaptarse a las características de los dos sustratos y pensar en una posible fermentación sólida para la producción de hongos comestibles y la utilización del compost agotado para la alimentación de rumiantes o para abono orgánico.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo General

Evaluar el crecimiento y producción de biomasa de dos cepas del género *Pleurotus* spp., cultivados en un medio agar con diferentes sustratos residuales del cantón Quevedo.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Determinar las velocidades de crecimiento micelial de las dos cepas del género *Pleurotus* (*sapidus*, *ostreatus*), cultivados en un medio agar con diferentes sustratos: papa dextrosa agar (PDA) en solución de cascarilla de arroz (CA), PDA en solución de Cáscara de maracuyá (CM), PDA en solución de CA 50% y CM 50%, PDA en agua destilada.

Evaluar la producción de biomasa de las dos cepas del género *Pleurotus* (*sapidus*, *ostreatus*), cultivados en un medio Agar con diferentes sustratos: CAPDA, CMPDA, CACMPDA, PDA.

Realizar una prueba piloto de fermentación en medio sólido (FMS), con las dos cepas del género *Pleurotus* (*sapidus* y *ostreatus*) en cáscara de maracuyá, cascarilla de arroz y la mezcla al 50% de los dos sustratos; identificando el mejor grano para obtener las semillas (arroz o maíz amarillo).

## 1.3 HIPÓTESIS

### 1.3.1 Hipótesis nula

**H<sub>0</sub>**: No hay diferencia significativa en la velocidad de crecimiento del hongo, ni en la producción de biomasa micelial para los medios de cultivo utilizados.

### 1.3.2 Hipótesis alternativa

**H<sub>a</sub>**: El medio de cultivo papa dextrosa agar diluido en solución de cascarilla de arroz al 50% y cáscara de maracuyá al 50% (CACMPDA) incide significativamente en la velocidad de crecimiento del hongo y en la producción de biomasa micelial.

# CAPÍTULO II

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 HONGOS

Los hongos son seres macroscópicos y microscópicos que viven sobre diversos materiales orgánicos a los cuales dispone para así alimentarse. Estos organismos se han adscrito tradicionalmente al Reino Vegetal, a pesar de que no tienen clorofila, tejidos especializados, ni flores. Solo hace unos 30 años se acepta la idea que los hongos son organismos independientes de las plantas y aunque químicamente están relacionados con los animales, forman un grupo aparte llamado el Reino de los Hongos o Reino Fungí. La palabra Fungí significa Florecimiento o excrecencia de la tierra, que quiere decir nacido en la tierra (Crisan y Sands, 1978).

Los hongos son organismos unicelulares, pluricelulares o dimórficos; carecen de clorofila, por lo tanto son heterótrofos, es decir, obtienen sus alimentos por absorción; el componente principal de sus paredes celulares es la quitina. El talo (cuerpo vegetativo) en la mayoría de los hongos es filamentoso, está constituido por filamentos delgados llamados hifas, las que presentan crecimiento apical y en conjunto integran el micelio. En el caso de los hongos macroscópicos, el micelio está representado por la masa de apariencia algodonosa y por lo regular blanquecino que se localiza por debajo del mantillo en los bosques (Ramos, 1999).

Su reproducción puede ser asexual y/o sexual pero, generalmente, hay producción de esporas; son de distribución cosmopolita, se desarrollan en cualquier tipo de clima, siempre que la temperatura no sea menor de cero grados Celsius ( $4-6^{\circ}\text{C}$ ), desde el nivel del mar hasta por encima de los 4,000msnm. Los hongos son un componente vital en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, ya que desempeñan diversas funciones de

tipo ecológico y fisiológico; además, pueden ser mediadores e integradores que contribuyen al desarrollo de las poblaciones vegetales, particularmente al de las especies arbóreas. Entre sus principales funciones destacan las siguientes: intervienen en los ciclos y transferencia de nutrimentos, al participar de manera activa en la regulación de la tasa fotosintética; a través del crecimiento de sus hifas modifican la permeabilidad y estructura del suelo; los hongos representan una fuente de alimento para algunos vertebrados (incluyendo mamíferos) e invertebrados, algas y otros hongos; participan en creación y alteración de nichos, sobre todo para invertebrados; establecen asociaciones mutualistas con plantas, termitas, hormigas y con algunas especies de algas (Ramos, 1999).

Los hongos también tienen usos ornamentales, medicinales, ceremoniales, insecticidas y combustibles. En este sentido se han registrado más de 100 especies de hongos macroscópicos con uso medicinal, entre los géneros enunciados están los siguientes: *Fomitopsis*, *Laetiporus*, *Inonotus*, *Phellinus*, *Calvatia*, *Langermannia*, *Lycoperdon*, *Armillaria*, *Bovista*, *Pycnoporus*, *Calocybe*, *Lentinus*, *Lepista* y *Pleurotus*; que han sido empleados para el tratamiento en alrededor de 100 padecimientos. A especies como *Pleurotus* spp., *Lentinus edodes* y *Ganoderma lucidum* se les atribuyen propiedades anticancerígenas, revitalizantes y útiles para reducir el colesterol en la sangre. (Ramos, 1999).

### 2.1.1 Clasificación

Los hongos son omnipresentes y cosmopolitas, pueden aparecer prácticamente en cualquier sitio, y alimentarse de lo más insospechado. Se conocen más de 200,000 especies diferentes de hongos, aunque probablemente existen muchas más no descritas ni estudiadas. Esto ha obligado a clasificarlos de una forma sencilla y práctica; ésta consiste en dividir

a estos organismos en micromicetos y macromicetos. Otra forma de clasificar el Reino Fungí, es por dos grandes grupos o divisiones; los Myxomycota y los Eumycota. El primero se refiere a ciertos hongos gelatinosos (de ahí su nombre de mysos = gelatina y mycota = hongo) y con propiedades de desplazarse e ingerir alimentos (como los animales) en sus primeras fases y ser muy polvorientos y delicados en sus fases adultas, en las que se reproducen por esporas (Chang, 1997).

Los Eumycota, que son los hongos verdaderos (eu = verdadero), se dividen en cuatro grandes subdivisiones a saber; Phycomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina, o (Ficomícetos, Ascomícetos, basidiomicetos y Deuteromicetos como se los conoce comúnmente) (Crisan y Sands, 1978).

La mayor parte de los hongos son saprófitos (descomponen la materia muerta), y juegan un papel de vital importancia en el mantenimiento de los ecosistemas, reciclando la materia orgánica que luego podrá ser utilizada por los vegetales. También se los puede clasificar en degradadores primarios, secundarios y continuos, dependiendo del estado de degradación de la materia orgánica que utilicen como nutriente. Los degradadores primarios son los responsables de iniciar la descomposición de los residuos vegetales en la naturaleza, muchos de ellos son específicos para materia orgánica intacta. Algunas especies atacan carbohidratos de fácil degradación (hongos de pudrición blanca), otros degradan los polisacáridos celulosa y hemicelulosa (hongos de pudrición oscura) y algunos además degradan la lignina (hongos de pudrición blanca) (Martínez, 1993).

Las esporas que dan nombre al grupo son las basidiosporas, producidas exógenamente en órganos especiales, los basidios. En los Basidiomycetes superiores se producen cuatro basidiosporas típicamente y los basidios se encuentran en laminillas (lamelas) de los basidiocarpos carnosos. Los Basidiomycetes inferiores tienen un ciclo vital más complicado y su lugar en la

clasificación no es muy seguro. Un buen grupo de especies de *Agaricales* (hongos con laminillas) pueden desarrollarse en cultivos artificiales (Stamets, 1993).

Una actividad muy importante de los basidiomicetos es la descomposición de la madera, papel y otros derivados de productos naturales. Estos hongos, por lo tanto son capaces de producir celulasas y enzimas capaces de catabolizar la lignina y utilizarla como fuente de carbono y energía. La descomposición de la lignina en la naturaleza es difícil y es realizada por un reducido grupo de hongos basidiomicetos, que producen la llamada podredumbre de la madera. Existen dos tipos de podredumbre, la marrón, en la que solamente se degrada la celulosa pero no la lignina y la blanca, en la que ambos polímeros son degradados eficientemente (Pedreros, 2007).

Los Basidiomycetes tienen un papel fundamental en el reciclaje del carbono en la biósfera, puesto que muchas especies producen celulasas que degradan la biomasa vegetal a anhídrido carbónico. Estas especies producen enzimas para degradar la lignocelulosa de las paredes celulares de las plantas, esta es la razón por la cual se les conoce como el hongo de la madera. La lignocelulosa es una matriz compleja de fibras celulosa, hemicelulosa, lignina y proteínas. Para su degradación se requiere que los hongos produzcan una variedad de enzimas las cuales tienen actividades diferentes pero complementarias. La primera etapa de colonización de la madera es estimulada por la secreción de ácido oxálico por parte del hongo. El ácido oxálico acidifica las células de la madera y atrapa el calcio adherido a la hemicelulosa en la pared celular. En la preparación para la acción enzimática, la secreción del peróxido de hidrógeno por parte del hongo da lugar a la formación de radicales libres que atacan a la celulosa. Estos mecanismos debilitan la estructura de la madera (Toledo, 2008).

No todos los basidiomicetos pueden mineralizar completamente la madera a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Los hongos de pudrición café, denominados así porque la madera

adopta un color café oscuro a medida que la descomposición avanza, sólo degradan la celulosa y hemicelulosa, mientras dejan la lignina modificada pero no degradada. No se han logrado aislar polifenol oxidasas o ligninasas a partir de los hongos de pudrición café. Los hongos de mayor éxito en la degradación de la madera son Basidiomycetes de pudrición blanca. Estos hongos no solo secretan celulasa y hemicelulasa, sino que también producen enzimas que degradan la lignina. Son estas enzimas las que pueden usarse en el tratamiento de desechos y en muchos procesos de biodegradación. Este género de hongo Basidiomycetes, es capaz de producir enzimas lignocelulolíticas (ligninasas) que degradan la lignina, la utilización de sustratos lignocelulósicos para el cultivo de hongos, es posible realizarlo por el sistema lignolítico de los hongos del tipo *Pleurotus* spp (Chang, 1997).

### 2.1.2 Producción de Hongos Comestibles

El saber tradicional sobre los hongos comestibles también se manifiesta en el gran número de nombres comunes que diversos autores han registrado, el cual supera los 400 y que corresponden a cerca de 200 especies. Cabe señalar que alrededor del 46% de estas especies son micorrizógenas, lo que dificulta su cultivo y la única forma de aprovecharlas es la recolección. El cultivo comercial de las setas inicia su desarrollo en la década de los 70, especialmente, en el ámbito rural dados sus bajos costos de producción y a la utilización de esquilmos agroindustriales como sustratos, cita incrementos del 413% para el periodo 1990 a 1997, con valores de 365t y 1,825t respectivamente. Los hongos comestibles por varios milenios han constituido un plato muy apetecido. Por su bajo contenido de colesterol y calorías, su popularidad ha ido en ascenso. Adquiriendo una mayor conciencia por la necesidad de dieta saludable por una parte y por otra la moda por el consumo de productos “diet” y “light”. A medida que mejora el nivel de vida, va aumentando el consumo de hongos en las más variedades formas y presentaciones. Lo que antes era una

afición de unos pocos, hoy se ha extendido a un gran número de personas y son cada vez más los que aprecian las cualidades de los hongos comestibles. El cultivo de hongos comestibles constituye no solamente el único proceso biotecnológico económicamente viable y rentable para la conversión de residuos lignocelulósicos, sino también el único sistema microbiológico que puede degradar lignina, celulosa y hemicelulosa de estos residuos (Manterola, 1999).

### 2.1.3 Variedades de *Pleurotus* spp

*Pleurotus* es el nombre genérico de toda una gama de hongos saprófitos comestibles en los que se ha logrado limitar sus hábitos ecológicos naturales (troncos de árboles secos, generalmente pobres en nutrientes, ramas muertas, hojarasca, etc.) para cultivarlos en sustratos lignocelulósicos diversos, habiendo sido objeto de una preparación simple y rápida. Los *Pleurotus* spp., constituyen un gran grupo de especies muy diversas, tanto por sus colores (amarillo, blanco, gris pizarra, marrón oscuro e inclusive rosado) como por sus formas, sabor o por sus exigencias técnicas (Mera, 2005).

Las especies *Pleurotus* se pueden definir como el conjunto de hongos que presentan las siguientes características (Mera, 2005):

- a) Poseen sombrilla o varias sombrillas agrupadas en manojos en forma de embudo, generalmente de simetría bilateral pero no axial, que tiene la forma de concha de ostra unida a un tallo excéntrico (de ahí su nombre popular “hongo ostra”)
- b) No posee anillo ni volva.

- c) Sus esporas son blancas y posee laminillas decurrentes (se prolongan en forma de alas sobre el tallo, bajo su punto de unión)
- d) Son lignícolas y parasitan diversas especies de umbelíferas.
- e) Poseen un pie más o menos desarrollado, frecuentemente excéntrico.

En general los *Pleurotus* son cosmopolitas encontrándose presente en todos los continentes, sin embargo desde el punto de vista de exigencias climáticas, se los puede clasificar en (Mera, 2005):

- a) *Pleurotus* de clima templado de época invernal (10 a 20 °C): *P. ostreatus* y *P. colombinus*.
- b) *Pleurotus* de clima templado de época de verano (15 a 25 °C): *P. pulmonarius*, *P. sajor-cafu*, *P. florida*, *P. cornucoplae* y *P. eryngil*.
- c) *Pleurotus* de zonas tropicales, particularmente de Asia: *P. cystidiosus*, *P. abalonus* y *P. salmoneo* (*p. stramineus*)

Tiene una alta capacidad saprofítica y puede lo mismo colonizar sustratos esterilizados, pasteurizados y fermentados, e incluso en ocasiones, sin esterilizar. El *Pleurotus* tiene su origen en especies silvestres y tiene una ecología muy diferente al *Agaricus* (champiñón) (Manterola, 1999).

### 2.1.3.1 Morfología y estructura

Los hongos comestibles pertenecen a los Basidiomycetes, las características morfológicas de este grupo de hongos, incluyen cuerpos fructíferos que contienen esporas sexuales, micelio septado, células dicariotes y conexiones

“clamp” entre las células, los hongos microscópicos no tienen estas fructificaciones las que comúnmente se las llaman “hongos”, por ejemplo, las fructificaciones de las setas o de cualquier hongo que crece en el jardín o en el bosque, sin embargo, estas estructuras mal llamadas hongos, constituyen el fruto del verdadero hongo, el cual vive y se desarrolla en el suelo (o sustrato donde crecen). El verdadero hongo es una masa algodonosa, generalmente blanca, que técnicamente se llama micelio y que generalmente no vemos por estar enterrado en el suelo o sustrato en donde se desarrolla. La unidad microscópica fundamental de un hongo es la hifa, la cual es un filamento tabicado en la mayoría de las veces, es decir un conjunto de células. Es precisamente a partir del micelio por donde se alimenta el hongo, a través de la absorción de las sustancias nutritivas del sustrato. Las esporas pueden ser blancas, blancas con tono lilas, blancas amarillentas, de color rosa, café o negras según la especie del hongo (Crisan y Sands, 1978).

Las partes fundamentales del cuerpo fructífero de un hongo, son el sombrero o píleo, que protege a las láminas o himenio, este último es la parte fértil del hongo y en donde se producen las esporas. El sombrero es sostenido por el pie o estípite, en el que existen a veces plenillo y la volva. El anillo es el resto de un velo que cubría a las láminas en el estado juvenil del hongo y la volva también es el resto de una envoltura que envolvía toda la fructificación cuando inmadura (conocida como fase huevo). El himenio se encuentra por debajo de la fructificación, ocurre con todos los Basidiomycetos, no así en los Ascomycetos en donde el himenio está hacia arriba. Las fructificaciones de los hongos son el resultado de los procesos de la reproducción sexual, dichas fructificaciones constituyen la forma que tiene el hongo para producir esporas y así perpetuar su especie. Estas esporas son de origen sexual. Las esporas sexuales del hongo, basidiosporas en el caso de los hongos comestibles, por tratarse de un Basidiomyceto, al caer sobre un sustrato adecuado, en este caso el suelo, germinan produciendo hifas y éstas el micelio. Las células de estos micelios son unicelulares, es decir tienen un solo núcleo cada una, como también lo son las esporas. Un micelio uninucleado, llamado también micelio

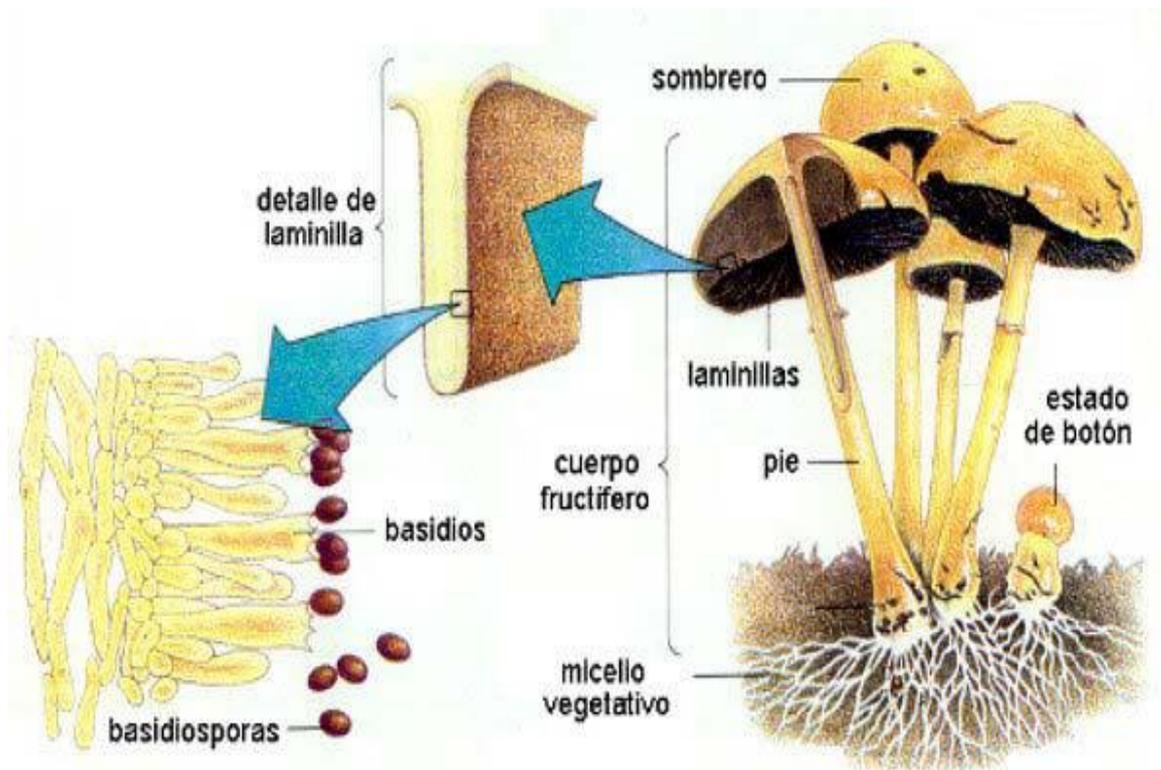
primario, se fusiona con otro de otro individuo, para producir un micelio binucleado o secundario, con dos núcleos cada célula (Crisan y Sands, 1978).

### 2.1.3.2 Ciclo de vida de la seta

La forma de reproducción de los hongos es a través de las esporas, los hongos superiores poseen en el himenio unas células madres que son las encargadas de producir las esporas, en el caso de los Basidiomycetes, estas son llamadas basidios. A las esporas formadas se las llama basidiosporas debido a que se forman en la punta de una porción diferenciada de la hifa que recibe el nombre de basidio (quiere decir base por su forma fusiforme) ocasionalmente se fusionan las hifas, pero la formación completa del cuerpo fructificamente no tiene lugar inmediatamente, deteniéndose el desarrollo con la producción de pequeñas estructuras en forma de botón que son los primordios de la seta (primer grupo identificable de células que va a formar la seta madura). Las esporas son lanzadas por el himenio al exterior, si se depositan en lugares húmedos y de condiciones favorables, darán origen al micelio, éste crecerá bajo tierra o leños dando lugar a una seta con basidios en su himenio y se producirán las esporas para que sean nuevamente liberadas al exterior y se complete el ciclo de reproducción (Bonilla y Gonzáles, 2004).

Estos botones pueden permanecer debajo del suelo por un tiempo considerable hasta que se presenten las condiciones ambientales favorables, luego de intensas lluvias, dichos botones sufren el crecimiento rápido hacia los cuerpos fructíferos maduros. Aunque ya no tiene lugar el crecimiento de las hifas, gran parte de la expansión en este estadio se debe a la incorporación de agua. Esta expansión generalmente es tan rápida que se puede formar un cuerpo fructífero al cabo de unas cuantas horas o días. En la mayoría de los casos, cierto número de cuerpos fructificantes madurará al mismo tiempo en un área determinada del suelo, produciendo lo que se denomina brotes o floración

de cuerpos fructificantes; un día, en lugar determinado, se puede suponer que no hay cuerpos fructificantes, mientras que al día siguiente puede encontrarse cantidad de ellos (Bonilla y Gonzáles, 2004).



**Figura 1. Ciclo de vida de los Basidiomycetes**

Fuente: Suarez, 2010

### 2.1.3.3 Reproducción

Los Basidiomycetes son hongos superiores, la mayoría de los cuales producen cuerpos fructíferos macroscópicos, mediante reproducción sexual. La reproducción sexual se efectúa en cuatro etapas o fases:

- a) Plasmogamia: que se desarrolla en el micelio.

- b) Cariogama: que se desarrolla en el himenio del cuerpo fructífero del hongo.
- c) La meiosis: que constituye el intercambio genético.
- d) División: para producir cuatro núcleos hijos haploides.

Es interesante observar que un hongo del género *Pleurotus* spp., pueda existir en dos formas muy diferentes según su estado sexual, una macroscópica en forma de oreja y con esporas blancas en masa, que es la fase perfecta o sexual y la otra en forma de pedúnculos diminutos con esporas negras, que es la fase imperfecta o asexual (Antromycopsis). La fase sexual en cualquier hongo se la denomina teleomorfo y la sexual anamorfo y las dos juntas en el mismo hongo halomorfo. Los hongos también se pueden reproducir vegetativamente por medio de fragmentos obtenidos del micelio o del cuerpo fructífero. Si tomamos con asepsia una porción del micelio secundario del hongo o una pequeña pieza del cuerpo fructífero y la ponemos bajo humedad, temperatura y nutrientes adecuados, dicho fragmento crecerá y dará más hifas, formando así un nuevo micelio (Arboleda, 1985; Bonilla y Gonzáles, 2004).

#### **2.1.3.4 Estructura del pleuroma de *Pleurotus* spp.**

La mayoría de los hongos cultivados desarrollan estructuras visibles que producen esporas (basidiomas). Estas estructuras son de construcción compleja y poseen un alto grado de diferenciación de tejidos hifales. Esto quiere decir que están formados por hifas provenientes del micelio vegetativo, el cual se transforma en micelio reproductor. Su formación se debe a la agregación y compactación hifal del micelio, además de una alta ramificación hifal, ensanchamientos, engrosamiento de la pared hifal y también gelatinización (crecimiento, ramificación y agregación hifal). El cuerpo fructífero

de *Pleurotus* spp., y de otros Basidiomycetes es una estructura especializada y diferenciada diseñada para la producción y dispersión de gran número de esporas. A diferencia de las células meristemáticas de las plantas, el crecimiento aquí se debe a un control establecido por el crecimiento regulado por los ápices de las hifas y su posterior ramificación de los compartimientos subapicales por debajo de la región apical de la hifa. La diferenciación hifal ocurre aun en el estado de colonización del micelio vegetativo dentro del sustrato (Toledo, 2008).

Las fases por las que atraviesa un basidioma para su formación son: iniciación, diferenciación, expansión y maduración final. La luz en *Pleurotus* es un factor necesario y determinante para que se lleve a cabo la fase de iniciación y la formación de los basidiomas son la humedad y la ventilación. Pleuroma es el nombre que se aplica al basidioma del hongo *Pleurotus*, es un órgano reproductor y productor de estructuras generadoras de esporas, es decir, basidios y basidiosporas, también recibe los nombres de basidioma, basiocarpo, carpóforo, cuerpo fructífero, himenóforo, esporóforo. Es importante decir que el basidio es la estructura en la cual se inicia la cariogamia y la meiosis y en donde las meiosporas (basidiosporas) se desarrollan, al basidio se lo conoce también como meiosporangio. El pleuroma puede ser variable en tamaño, dependiendo de su edad de origen, desde unos cuantos milímetros cuando recién se formó como primordio, hasta unos 20 centímetros o más cuando se lo ha dejado desarrollar demasiado (Toledo, 2008).

El primer estado del desarrollo del pleuroma es el "primordio". A un tamaño de 1-2 mm de altura se pueden reconocer como cuerpos redondos blanquecinos. El cuerpo está separado en dos aparentemente idénticas regiones. Conforme el primordio se alarga las dos zonas se diferencian en tres regiones pileo, láminas y estípite. Es importante notar que cuando joven (unos 8 a 10 cm) el pleuroma es suave y cuando crece más se vuelve correoso y difícil de paladear. El estípite consiste de dos regiones principales el tejido interno y el tejido de la superficie. El arreglo de las hifas varía en las diferentes regiones,

pero ambas están verticalmente orientadas. Las células de la superficie se alargan para formar estructuras semejantes a pelos. Las láminas del himenio están compuestas de tres regiones: la trama, el sub-himenio, el himenio. Las células de la trama son elongadas y corren longitudinalmente todo el centro de la lámina, desde el píleo hasta el borde de la lámina. Las células sub-himenciales son ramificadas y se originan de la trama a intervalos a lo largo de las láminas. La zona himenial está compuesta de basidios apretados junto con otras células llamadas basidiolos y eistidios (pleurocistidios y queilocistidios) en contacto unos con otros, pared con pared. Conforme los basidios maduran y se desarrollan emergen de la superficie de la lámina y se vuelven conspicuos. La capa himenial se origina mediante un complejo de ramificaciones y crecimiento hifal de la capa de abajo llamado sub-himenial (Toledo, 2004).

### 2.1.3.5 Orellanas

Los hongos ostra (como son conocidos en Estados Unidos, Europa y Asia) u orellanas (como son conocidos en Colombia), forman parte del grupo de hongos comestibles más populares, pertenecen al phylum Basidiomycetes, familia pleurotaceae, orden *Agaricales* y al género *Pleurotus*. Al igual que las orellanas, muchos de los *Pleurotus* son descomponedores primarios de árboles de madera dura y se encuentran en todo el mundo. Su carpóforo es redondeado con la superficie lisa, abombada y convexa cuando es joven, aplanándose en su proceso de maduración, sus colores pueden variar desde azul oscuro, hasta crema, blanco, café, gris, amarillo y rosado, sin embargo, el color del carpóforo puede variar de acuerdo a las condiciones ambientales, puede ser oscuro en condiciones frías y claro en condiciones de luz y calor. Su tamaño puede variar de 5 a 30 cm de diámetro. El cuerpo fructífero generalmente es pequeño cuando crece en troncos y es más grande cuando se cultiva en tubulares sintético con otros substratos (Suárez, 2010).

El pie es excéntrico o lateral, sin embargo cuando llega al sombrero, es central (Chang y Miles, 2004). Las esporas son pequeñas, ovoides, casi cilíndricas, que en gran número forman masas de polvo de color blanco con cierta tonalidad violácea (Guarín y Ramírez, 2004).

Para su crecimiento micelial, las mejores fuentes de carbono son el almidón, glucosa, fructosa, maltosa, manosa, sucrosa, pectina y celulosa. Las fuentes de nitrógeno utilizadas por el microorganismo son la peptona, licor de maíz, polvo de torta de soya, polvo de levadura, sulfato de amonio, aspargina, serina, alanina y glicina (Suárez, 2010)

Las temperaturas óptimas de crecimiento del micelio son cercanas a 25 hasta 28°C y el rango de pH es alrededor de 5.5 a 6.5. La tolerancia al CO<sub>2</sub> es baja, concentraciones mayores a 30% hacen que el crecimiento decaiga (Chang y Miles, 2004).

*Pleurotus ostreatus*, es un hongo destructor de la madera, está extendido en las zonas templadas y forma cuerpos fructíferos a temperaturas relativamente frescas comparados con otras especies de *Pleurotus*. Su carpóforo es grisáceo–marrón en estadios jóvenes, obteniendo un color crema–blanco en su maduración. En los basidios, se encuentran cuatro esporas para su reproducción. Esta es la especie más frecuentemente cultivada dentro del género; una de las características de esta especie es que requiere un tratamiento de temperatura llamado “choque frío” para comenzar la formación de primordios (MushWorld, 2004).

#### 2.1.4 Formas de nutrición

El carbono es necesario para los hongos porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las

diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de las células, este elemento es el que se requiere en mayores cantidades, el carbono puede ser utilizado por el hongo a partir de diferentes fuentes de carbono preferidas por las especies de *Pleurotus*, según Raypeck, 1977 (citado por Sánchez, 2010), la glucosa, la manosa y la galactosa son buenos sustratos para este hongo.

### 2.1.5 Crecimiento micelial

El aumento de residuos agroindustriales ha tenido un impacto positivo para el uso de herramientas biotecnológicas que pueden mejorar estos residuos, obtener metabolitos secundarios para su comercialización o la mejora de dichos residuos. En este sentido es fundamental conocer y aplicar técnicas que ayuden a comprender el grado de adaptación y desarrollo de los microorganismos a distintos sustratos comúnmente empleados en el cultivo sólido (CS). Una de las pruebas más utilizadas es el análisis de la velocidad de crecimiento radial (VCR) y la producción de biomasa. La VCR es la capacidad que tiene un microorganismo para colonizar el sustrato (Gutiérrez *et al.*, 1999), este método es comúnmente utilizado para evaluar la capacidad del hongo para adaptarse y poder invadir el sustrato. Mientras que la producción de biomasa está relacionada con el crecimiento de la biomasa fúngica bajo las condiciones ambientales y del medio de cultivo (Marquina, 1991).

Así mismo existen factores de variabilidad entre especies de *Pleurotus* spp., siendo un factor importante el tomar en cuenta las diferentes características como selectividad por el sustrato, temperatura, aporte de nutrientes en el medio, pH, humedad y adaptabilidad. La capacidad de los hongos para adaptar rápidamente su metabolismo a diversas fuentes de carbono y nitrógeno depende de la habilidad del hongo para la formación de micelio y permitir su desarrollo. *Pleurotus* spp., es un hongo capaz de crecer en sustratos

ligninolíticos con bajos niveles de proteína mediante la síntesis de enzimas fibrolíticas (Zadrazil, 1978).

El crecimiento en los hongos se efectúa por elongación y ramificación de las hifas. El crecimiento de un hongo puede iniciarse a partir de una espora o de una fracción viable de la hifa. Dicho crecimiento se da en forma apical porque la elongación de la superficie se presenta en un punto y no en toda la célula. Este sistema hifal es conocido como micelio, cuando el crecimiento de un hongo se da en medio sólido se presenta una fase de crecimiento más o menos lineal (Lilly y Barnett, 1951 citado por Sánchez-Vásquez y Royse, 2001).

#### 2.1.5.1 Velocidad de crecimiento micelial

Se puede representar la velocidad de crecimiento considerando el incremento en el número de células o biomasa ( $dx$ ) en un intervalo corto de tiempo ( $dt$ ). A partir de la ecuación siguiente:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \dots \dots (4)$$

En donde el incremento del número de células ( $dx$ ) por unidad de tiempo ( $dt$ ) es proporcional al número de células presentes en el cultivo ( $x$ ) multiplicando por la velocidad de crecimiento micelial ( $\mu$ ). Si se considera constante la velocidad de crecimiento a lo largo del tiempo e integrando la ecuación 4 con respecto al mismo, se obtiene una función exponencial, representada en la ecuación 5.

$$x = x_0 e^{\mu t} \dots \dots (5)$$

Y obteniendo logaritmos en ambos lados de la misma ecuación 5 se obtiene la transformación de esta ecuación en una recta de la forma siguiente:

$$\ln x = \ln x_0 + \mu t \dots \dots (6)$$

Por lo que el logaritmo del número de células aumenta linealmente con el tiempo, siendo la constante de proporcionalidad ( $\mu$ ). Es importante considerar que si la velocidad de crecimiento varía con respecto al tiempo se deberán obtener los parámetros cinéticos gráficamente o analíticamente (Aguilar, 2007).

### 2.1.6 Importancia alimenticia y medicinal de las setas

Según análisis realizados por especialistas en alimentos, los hongos tienen normalmente de 19–35 % proteína aprovechables real en seco, con una digestibilidad de hasta un 86 %, su contenido vitamínico en investigaciones realizadas nos indican que son (8.6 mg de ácido ascórbico; 0.12 mg de tiamina; 0.52 mg de riboflavina; 5.82 mg de ácido nicotínico; 2.38 mg de ácido pantoténico; 0.018 mg de biotina, todo en 100 g de muestra en fresco), el contenido en carbohidratos de 3–6 %, de grasa de 0.05-0.3 %, y el gran poder de conversión que tiene sobre los desechos lignocelulosicos, comparado a los vegetales (hortalizas y frutas), que solamente tienen un 7.3-12 %, con excepción de la soya que contiene entre el 25 y 90 % de proteína. A nivel de aminoácidos, las sustancias precursoras de las proteínas, tales como la lisina y el triptófano, llegan a nivel de 4.5-9.9 g y 1.1-1.3 g respectivamente, presentes en las orejas blancas de las setas comparado al de los huevos de gallina que tienen 6.4-1.6 g de lisina y triptófano (Kumaran *et al.*, 1977).

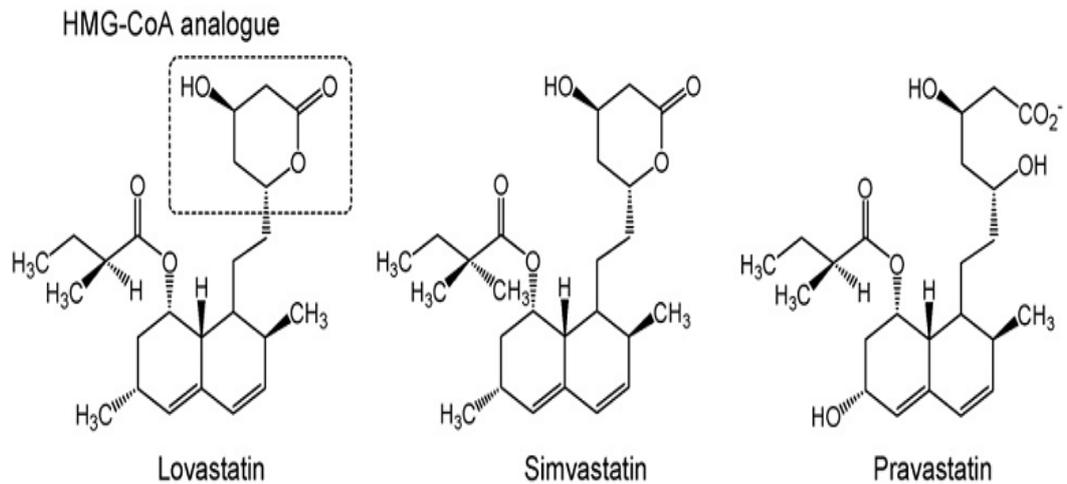
La composición química de los *Pleurotus* es particularmente interesante desde el punto de vista dietética, su valor energético global en dependencia del tipo

de especie oscila entre 150 y 350 Kcal kg<sup>-1</sup> de hongos frescos constituyéndose a la vez en una valiosa fuente de vitaminas y diferentes sales minerales, sus contenido de ácidos nucleicos no supera los límites establecidos por PGA (Protein Advisory Grup) de las Naciones Unidas lo que lo hace tolerable e inocuo, permitiendo incluso su consumo diario (Kumaran *et al.*, 1977).

Los efectos benéficos de *Pleurotus* spp., se descubrieron independientemente en diferentes continentes. La conciencia de sus propiedades medicinales viene no sólo de Asia sino también de las tradiciones de Europa Central, Sur América y África. Existen un número de estudios que sugieren un rol importante de este hongo en la cura de numerosas enfermedades, además actividad anticáncer, efectos inmunomoduladores y anti virales. Sin embargo su principal beneficio se observa en la producción de mevinolina (lovastatina) y sus análogos. Las especies del género son excelentes productoras de lovastatina, al punto que pueden ser consideradas como alimentos funcionales (Kumaran *et al.*, 1977).

**Estatinas:** los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil glutaril conenzima A (HMG-CoA) reductasa, son comúnmente llamados estatinas (Figura 2), son una nueva clase de droga ampliamente usada para el tratamiento de hipercolesterolemia en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida y también en aquellos pacientes con un alto riesgo de desarrollar arterioesclerosis (Nirogi *et al.*, 2007).

La mevinolina (lovastatina) es producida por muchas especies del género. *Pleurotus ostreatus* produce la mayor cantidad de lovastatina en su cuerpo fructífero, especialmente en las lamelas. Se ha sugerido que las setas del género puedan ser recomendadas como disminuidores de colesterol naturales dentro de la dieta humana (Suárez, 2010).



**Figura 2. Estructura química de las estatinas derivadas de productos fúngicos**

Fuente: Nirogi *et al.*, 2007

**$\beta$ -D-Glucanos:** la producción de glucanos en macromicetos es común, son hidratos de carbono por lo general, constituyen la pared del hongo, junto con la quitina y proteínas. Son importantes debido a su potente acción antitumoral, dentro de los cuales varios glucanos lineales ((1,3)- $\beta$ -glucanos) y ramificados son ampliamente conocidos, ya que a nivel genético presentan una poderosa inhibición de mutaciones, lo que permiten su potencial uso en tratamiento contra leucocitopenias (Nieto, 2010). Dentro de éstos se encuentra el Pleuran, que posee una actividad antibacteriana (Karácsonyi y Kuniak, 1994) y es producido por *Pleurotus ostreatus*. Se han reportado otras actividades biológicas de glucanos aislados del género como lo son la antibacteriana y antifúngica (Hearst *et al.*, 2009), inmunoestimulantes (Sun y Liu, 2009), inhiben la rinitis y las molestias nasales (Yatsuzuka *et al.*, 2007) y como prebióticos (Synytsya *et al.*, 2009).

## 2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MARACUYÁ

El maracuyá amarillo, *passiflora edulis*, también llamado fruta de la pasión, es originario del trópico amazónico, especialmente de Brasil, que es el mayor productor mundial. La fruta se caracteriza por su intenso sabor y su alta acidez, razones por las cuales se utiliza como base para preparar bebidas industrializadas (Corporación Colombia Internacional, 2009).

**Cuadro 1. Descripción taxonómica y sistemática de la maracuyá**

Nombre Científico	<i>Passiflora edulis</i>
Nombre Común	Pasionaria, parchita, maracuyá
Reino	Plantae
Orden	Malpighiales
Familia	Passifloraceae
Género	<i>Passiflora</i>
Especie	<i>P.edulis</i>

Fuente: Mueckay, 2009

El maracuyá es fuente de proteínas, minerales, vitaminas, carbohidratos y grasa, se consume como fruta fresca o en jugo. Se utiliza para preparar gaseosas, néctares, mermeladas, helados, pudines, conservas, etc. según el Instituto de Tecnología de Alimentos del Brasil, el aceite que se extrae de sus semillas podría ser utilizado en la fabricación de jabones, tintas y barnices. La composición general de la fruta de maracuyá es la siguiente: cáscara 50–60 %,

jugo 30–40 %, semilla 10–15 %, siendo el jugo el producto de mayor importancia (FAO, 2011).

La fruta es como una baya redonda u ovoide, con un diámetro de 35 a 80 mm y un peso hasta de 30 g. La fruta de la pasión amarilla es más larga que la morada. La delgadez, el grosor de la piel depende de la variedad, ya sea si es morada o amarilla. El endocarpio es blanco; la cavidad contiene numerosas pepitas comestibles con una pulpa dulce de color naranja-amarillo, con un aroma muy característico. Cuando la fruta está madura se cae al piso y empieza a arrugarse. Para exportación como fruta fresca este deberá ser cosechado antes de este estado (Mueckay, 2009).

El maracuyá es una planta trepadora, vigorosa, leñosa, perenne, con ramas hasta de 20 metros de largo, tallos verdes. Las hojas son de color verde lustroso con pecíolos glabros acanalados en la parte superior; posee dos nectarios redondos en la base del folíolo, la lámina foliar es palmeada y generalmente con tres lóbulos. El maracuyá se exporta en estado fresco y procesado, especialmente como néctar, jalea, mermelada, jugo y concentrado. No obstante, la mayor proporción del comercio internacional se realiza con jugo o concentrado en sus formas: concentrado (50 °Brix) y simple (14 °Brix). Cabe resaltar que el jugo de maracuyá es el tercer jugo exótico en importancia, después de los jugos de mango y de piña. Brasil, Ecuador y Colombia son los principales productores mundiales de maracuyá, pero Ecuador es el mayor exportador mundial (Corporación Colombia Internacional, 2009).

### **2.2.1 Composición química**

Estudios realizados sobre la composición química revelan que el contenido total de sólidos es de 19.6%, sólidos solubles 17.4%, carbohidratos 12.4% y ácidos orgánicos 3.4%. Los carbohidratos por lo tanto constituyen el 63.3% de

sólidos totales y el 71.3% de los sólidos solubles aproximadamente, estos carbohidratos son los siguientes: azúcares, almidón, vitaminas, carotenoides, sustancias pécticas, contenido de nitrógeno. En resumen podemos decir, que la fruta del maracuyá es un alimento nutritivo, rico en carbohidratos, carotenos, ácido ascórbico, ácido nicotínico, riboflavina y materias minerales (Mueckay, 2009).

### **2.2.2 Subproductos del procesamiento de la parchita**

La composición de las cáscaras de maracuyá muestran que tiene entre un 17 y un 20% de materia seca, alta en carbohidratos y fibra, baja en materiales solubles y es una buena fuente de proteína, pectina y minerales. Puede ser utilizada en la alimentación del ganado vacuno, también en las dietas de cerdo de engorde y crecimiento. La cáscara fresca o deshidratada también puede ser utilizada como abono. Las semillas constituyen del 7 al 12% del peso del fruto y contiene un 20% de lípidos, y se lo puede utilizar como fuente de grasas comestibles o para uso industrial en la fabricación de barnices y pinturas. De los tallos, hojas y plantas se puede extraer la pasiflorita, que es un producto medicinal utilizado ampliamente en el Brasil por sus cualidades sedantes derivadas de la presencia de alcaloides. Un análisis de la cáscara de maracuyá deshidratada reportó que tiene: el 16.80 % de humedad, el 4.58 % de proteína cruda, el 0.33 % de extracto etéreo, el 6.76 % de cenizas totales, el 25.66 % de fibra cruda y el 45.87 % de extracto libre de nitrógeno (Mueckay, 2009).

### **2.2.3 Condiciones generales y clasificación en la post-cosecha**

- Debe ser de una misma variedad.

- Debe presentarse entero, con la forma y el color típicos de la variedad.
- Debe estar fresco, limpio y sin indicios de humedad exterior, y tener el péndulo cortado de raíz.
- Debe tener el grado de madurez que permita la conservación adecuada del producto en condiciones normales de manipuleo, almacenamiento y transporte.
- Debe encontrarse libre de daños por ataque de insectos, enfermedades, magulladuras, podredumbres y cortaduras.

El Maracuyá se clasifica de acuerdo a su tamaño por el diámetro perpendicular al eje mayor del fruto, de acuerdo a sus grados de calidad, para cada variedad y tamaño se establecen los grados de calidad primera (1ª) y segunda (2ª) de conformidad con las condiciones generales (Cuadro 2) (Gómez *et al.*, 1995).

**Cuadro 2. Clasificación de los tamaños de la maracuyá de acuerdo con su diámetro**

Tamaños	Diámetro (mm)
Grande	Más de 60
Mediano	50 a 59
Pequeño	40 a 49

Fuente: Gómez *et al.*, 1995

## 2.2.4 La maracuyá en el Ecuador

En Ecuador este cultivo se introdujo comercialmente en los años 70 y en los últimos quince años se han instalado varias fábricas de extracción de pulpa de maracuyá, aun por ser un cultivo relativamente fácil, su precio es muy vulnerable y tiene variaciones extremas que eventualmente crean serias dificultades a los productores. Sin embargo Ecuador posee ventajas comparativas para la producción del maracuyá, al ser privilegiado por el clima tropical, que permite que exista una cosecha ininterrumpida durante todo el año, convirtiéndose así en uno de los más grandes productores mundiales de esta fruta, de hecho más del 90% del concentrado de maracuyá (passion fruit) importado por el mundo es ecuatoriano. Adicionalmente, aunque en menor proporción, se exporta la fruta fresca, las semillas e incluso el aroma del maracuyá ecuatoriano para fabricar comida de bebé, cosméticos y balanceado. Nuestra Maracuyá es cada vez más apetecida en el mercado mundial por su exquisito sabor y la adecuada acidez de la fruta (Corporación Colombia Internacional, 2009).

Ecuador se convirtió, desde finales de la década pasada, en el segundo productor mundial, pasando de 4,460 a 25,000 hectáreas cultivadas entre 1994 y el año 2000, lo que implicó un incremento en la producción de maracuyá de 20,000 a 250,000 toneladas en el mismo período. Este crecimiento en la producción se debe también al aprovechamiento de las ventajas climáticas y al aumento en los rendimientos del cultivo. Adicionalmente, Ecuador es un importante productor de jugo concentrado de maracuyá, del que es el principal exportador a nivel mundial. Dentro de los jugos concentrados de frutas que exporta Ecuador, el jugo de maracuyá es el de mayor importancia y participa con el 88% dentro del total. En el Ecuador existen 6 plantas procesadoras de concentrado de maracuyá, las mismas que están dotadas de alta tecnología para cumplir con las exigencias del mercado externo. Su principal ventaja

competitiva radica en ofrecer un producto a precios accesibles y con alto nivel de calidad (Corporación Colombia Internacional, 2009).

### 2.2.5 Área productiva.

Según el Censo Nacional Agropecuario (2002), la provincia donde se concentra el mayor hectareaje y producción de maracuyá es Los Ríos, seguida de Manabí, Guayas y Esmeraldas. Los rendimientos en Los Ríos son de alrededor de 11 toneladas por hectárea ( $t\ ha^{-1}$ ), con una gran diferencia respecto a las demás provincias que oscilan entre 3.76, 3.98 y 6.12 ( $t\ ha^{-1}$ ).

**Cuadro 3. Producción de maracuyá en el Ecuador**

Provincias	Superficie (ha)	Producción (t)	Rendimiento ( $t\ ha^{-1}$ )
Los Ríos	18,605	204,013	11.00
Manabí	4,481	27,407	6.12
Guayas	2,309	9,200	3.98
Esmeraldas	1,514	5,698	3.76

Fuente: III Censo Nacional Agropecuario, 2002

### 2.2.6 Industrialización de la maracuyá

Las proyecciones y posibilidades de aprovechamiento del maracuyá como fruta exótica son enormes, ya sea en forma de jugo o de jugo concentrado. No obstante, también se ha utilizado el jugo de maracuyá en mezcla con otros jugos de frutas (Aguilera y Araneda, 1996). La industrialización del maracuyá se ha orientado, especialmente, hacia la obtención del jugo natural o

concentrado que es muy apetecido por su sabor y aroma característico (Osorio, 1981; Sáenz, 1989).

Vega y Cortés (1993), obtuvieron pectinas con y sin pigmento incorporado con un 6.6 y 4.7 %, respectivamente y aceite de las semillas con un rendimiento de un 22 a 23 %, como una forma de lograr el aprovechamiento integral del maracuyá púrpura. Sáenz y Sepúlveda (1981) caracterizaron el aceite de las semillas de maracuyá amarillo. Asimismo, Padilla (1995), explora las posibilidades de aprovechamiento del colorante natural presente en la cáscara del maracuyá púrpura.

El uso más generalizado del fruto de la pasión es la industrialización para la obtención de su jugo, tanto simple o natural así como el concentrado; pero a la vez este producto y la pulpa de la fruta sirven de base para preparar néctares, mermeladas, refrescos, jarabes, concentrados, sorbetes, helados, yogurts, dulces, cristalizados, vinos, cremas, saborizantes de pasteles, dulces y ensaladas; además es muy usual la mezcla con otros jugos como los de cítricos, piña, guayaba, entre otras frutas para con ello obtener jugos tropicales, aprovechando las características de olor y sabor penetrantes del maracuyá; es frecuente encontrarlo formando parte de jugos de multivitaminas y cocteles exóticos. El consumo como fruta fresca es menos común en el caso del maracuyá amarillo, (*Passiflora edulis*) ya que es más ácido, pero en el caso de la fruta de la pasión morada (*Passiflora edulis* Sims) es mucho más frecuente su consumo en fresco (Corporación Colombia Internacional, 2009).

En el caso de los subproductos como son la cáscara y las semillas; la primera, es usada como alimento para ganado, después de haber sido secada y ensilada, mostrando características de digestibilidad parecida a la de los cítricos, también se utiliza como ingrediente básico para la preparación de abono orgánico; además por tener un alto grado de pectinas es empleada para la fabricación de gelatinas; en el caso de la semillas, éstas contienen 20% de aceite, el cual se compara en sus características al de la semilla de algodón y

siendo útil después de su refinación para fines culinarios, así como para la fabricación de jabones y barnices (Corporación Colombia Internacional, 2009).

### 2.2.7 Industrialización de la maracuyá en el Ecuador

La gran concentración de la producción en la región costera ha propiciado a la vez la concentración regional de la industria, aprovechando las facilidades para el suministro de las materias primas. Las industrias modernas han adoptado un sistema de organización vertical, integrando todas las fases desde la producción hasta la transformación de la fruta. Las industrias proporcionan asistencia técnica y apoyo crediticio temporal a los productores, con el interés de obtener fruta de calidad acorde a las necesidades. Existen en total seis industrias que procesan maracuyá y otras frutas tropicales (Corporación Colombia Internacional, 2009).

**Cuadro 4. Empresas procesadoras de maracuyá en el Ecuador, su localización y los productos que elaboran**

Nombre de la Empresa	Localización	Producto
Tropifrutas	Los Ríos	Jugo concentrado de maracuyá, jugo de piña, mango, tomate y cítricos.
Inborja	El Oro	Jugo simple aséptico de maracuyá, puré de banano
Ecuajugos	Guayas	Jugos de maracuyá, mora, toronja, frutilla, mango, cítricos y otros.
Conservas de Guayas	Guayas	Jugos de maracuyá, naranja y mermeladas.
Industrial Fruta de la Pasión	Guayas	Concentrado de maracuyá
Quicornac	Los Ríos	Jugo concentrado de maracuyá, mermeladas, jugo de frutas de temporada.

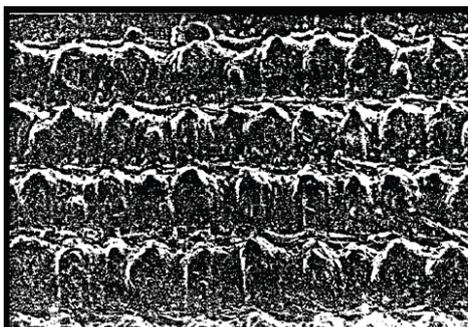
Fuente: Corporación Colombia Internacional, 2009

## 2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA CASCARILLA DE ARROZ

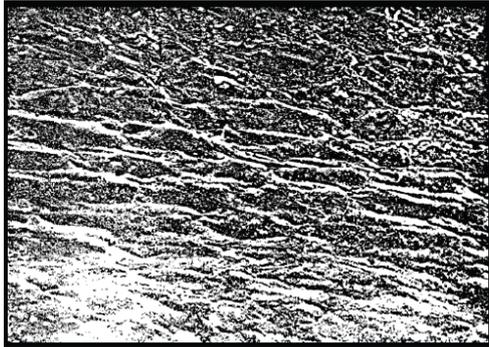
La cascarilla es el elemento que acompaña a dicho grano hasta antes del proceso de secado y descascarillado. Generalmente la cascarilla se transporta al basurero o se quema sin aprovechar la energía generada. La cascarilla de arroz o tamo corresponde al 22% en un proceso de pilado de arroz. La cascarilla tiene un aspecto parecido al de la paja, es muy ligera. El alto contenido de sílice demostrado hace que su uso alimenticio en harinas para animales sea limitado (Valverde, 2006). Uno de los elementos que requieren los hongos del género *Pleurotus* es la celulosa  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , siendo el componente principal de las fibras de este subproducto agrícola (Valverde *et al.*, 2007).

### 2.3.1 Características físicas y químicas de la cascarilla de arroz.

La cascarilla de arroz toma la forma del grano cariósido y su dimensión es diversa por las numerosas variedades que existen, estas fluctúan en longitud de 4-14 mm, en ancho 2-4 mm, y un espesor promedio de 50  $\mu\text{m}$ . A simple vista tiene una apariencia uniforme en la superficie exterior pero al observarse al microscopio se aprecia una superficie rugosa con crestitas a diferencia de la interior que es lisa, como se ve en la figura 3 y 4 esto influye para que el aire quede atrapado en los intersticios exteriores e influya en la humedad de la cáscara (Echeverría y López, 2010).



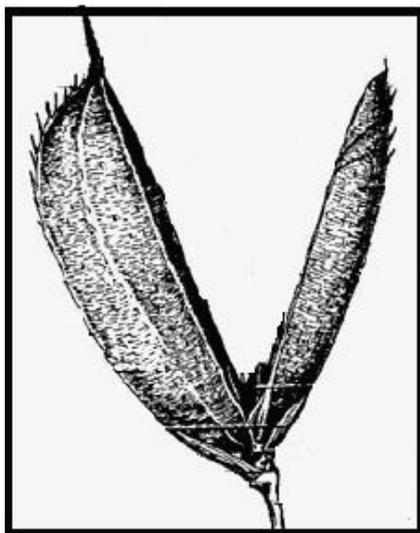
**Figura 3. Superficie exterior de la cascarilla vista al microscopio (X 500)**



**Figura 4. Superficie interior de la cascarilla vista al microscopio (X 500)**

### 2.3.1.1 Peso de una cascarilla de arroz.

Para lograr una completa descripción de la cascarilla de arroz, es necesario determinar su peso. La medición del peso de las muestras se realiza con la cascarilla, unida por su extremo, en una balanza analítica (Figura 5). El rango de peso es de 2.944 - 3.564 mg, en base seca. Una de las dificultades para la medición de su peso es la cantidad de pequeñas porosidades que posee, lo que influye en el contenido de humedad. La medición en una balanza electrónica extractora de humedad es necesaria (Echeverría y López, 2010).



**Figura 5. Cascarilla de arroz unida por un extremo**

**Cuadro 5. Porcentaje de celulosa, hemicelulosa y lignina de la cascarilla de arroz a nivel mundial**

Parámetros	Cascarilla de arroz			
	V1	V2	V3	V4
Celulosa	29.20	33.47	25.89	35.5
Hemicelulosa	20.10	21.03	18.10	21.35
Lignina	20.00	18.8	24.60	18.20

Fuente: Valverde *et al.*, 2007

**Cuadro 6. Composición de la cascarilla de arroz**

Elemento	Porcentaje (%)
Fibra (Celulosa)	39.05
Lignina	22.80
Proteínas	3.56
Extracto no Nitrogenado	6.60
Extracto con éter	0.93

Fuente: Valverde *et al.*, 2007

**Cuadro 7. Características físicas de la cascarilla de arroz**

<b>Propiedades</b>	<b>Detalles</b>
Estado físico	Sólido granulado
Color	Beige
Olor	Olor característico
Longitud, mm	4 – 14
Ancho, mm	2 – 4
Espesor promedio, $\mu\text{m}$	50
Peso específico, mg	2.944 – 3.564
Solubilidad en agua	Insoluble

Fuente: Echeverría y López, 2010

**Cuadro 8. Propiedades químicas de la cascarilla de arroz en el Ecuador**

<b>Características</b>	<b>Detalle</b>
Humedad, %	7.41
Cenizas, %	19.39
Materia volátil, %	57.09
Carbono fijo, %	16.11
pH a 25 °C	7.1
Fibra (Celulosa), %	45.38
Proteínas, %	3.59
Extracto con éter (Grasa), %	0.4
Carbohidratos totales, %	69.23

Fuente: Echeverría y López, 2010

**Cuadro 9. Composición mineral de la ceniza de la cascarilla de arroz**

Composición	Fracción en peso (%)
Sílice (SiO)	90 – 97
Óxido de Calcio (CaO)	0.2 – 1.5
Óxido de Magnesio (MgO)	0.1 – 2.0
Óxido de Potasio (K <sub>2</sub> O)	0.6 – 1.6
Óxido de Sodio (Na <sub>2</sub> O)	Trazas – 1.75
Óxido de Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0.3
Sulfatos (SO <sub>3</sub> )	0.10 – 1.13
Cloro (Cl)	0.15 - 0.40
Óxido de Hierro (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	Trazas – 0.40
Óxido de Manganeso (MnO <sub>2</sub> )	Trazas

Fuente: Echeverría y López, 2010

**Cuadro 10. Análisis de los elementos de la cascarilla de arroz Agrocalidad**

Elementos	Símbolo	Fracción en masa en base seca (%)
Carbono	C	39.6
Oxígeno	O	37.52
Silicio	Si	15.21
Hidrógeno	H	4.94
Potasio	K	0.25
Nitrógeno	N	1.83
Azufre	S	0.40
Fósforo	P	0.05
Calcio	Ca	0.09
Sodio	Na	0.035
Hierro	Fe	0.006
Magnesio	Mg	0.06
Zinc	Zn	0.0059

Fuente: Echeverría y López, 2010

### 2.3.1.2 Piladoras de arroz por categorías y su procesamiento en QQ/h en la Provincia de Los Ríos

Como podemos observar en la provincia de los Ríos tenemos un total de 561 piladoras en sus diferentes cantones con 103 piladoras de primera categoría y 458 piladoras de segunda categoría (Echeverría y López, 2010).

**Cuadro 11. Piladoras de 1era y 2da categoría de arroz en la provincia de Los Ríos**

Provincia Cantón	Piladoras por categorías			Procesamiento qq h <sup>-1</sup>
	1era.	2da.	TOTAL	
<b>Los Ríos</b>	<b>103</b>	<b>458</b>	<b>561</b>	<b>9,860</b>
Buena Fe	5	5	10	186
Baba	3	50	53	670
Babahoyo	32	108	140	2,633
Mocache	2	19	21	366
Montalvo	8	27	35	651
Palenque	1	37	38	474
Puebloviejo	13	19	32	605
Quevedo	11	19	30	903
Urdaneta	12	17	29	551
Ventanas	8	70	78	1,223
Vinces	8	87	95	1,598

Fuente: MAGAP (Ministerio de agricultura, ganadería, acuicultura y pesca), 2002

El Cantón Quevedo cuenta con 11 piladoras de primera categoría y 19 piladoras de segunda categoría con un total de 903 qq h<sup>-1</sup>. Cada quintal español es igual a 100 libras, si la cascarilla representa el 22 %, de residuo del proceso de pilado, tendríamos 198.66 qq h<sup>-1</sup> y un total de 19,866 libras de cascarilla por hora solo en nuestro cantón.



**Figura 6. Distribución de piladoras por categorías en la Provincia de Los Ríos**

Fuente: MAGAP (Ministerio de agricultura, ganadería, acuicultura y pesca), 2002

# CAPÍTULO III

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 MATERIALES EN GENERAL

##### Cepas de hongos comestibles

- *Pleurotus sapidus*
- *Pleurotus ostreatus*

##### Medios de Cultivo

- 156 g PDA
- 150 g cascarilla de arroz
- 150 g cáscara de maracuyá
- Siete litros de agua destilada

##### Equipos

- Potenciómetro
- Estufa memmert
- Cabina de bioseguridad
- Autoclave
- Balanza
- Balanza analítica
- Microondas
- Calentador-agitador
- Desecador
- Baño maría
- Congelador

### **Materiales de vidrio**

- Cuatro vasos de precipitación 500 mL
- 64 Cajas petri
- 32 tubos de ensayo
- Cuatro Erlenmeyer de dos litros
- Varilla de agitación
- Pipeta

### **Materiales otros**

- Asa de inoculación
- Sacabocado de 4 mm
- Vernier Caliper 150 x 0.05/6"
- Mechero
- Alcohol 96°
- Diluyente
- Gasa
- Algodón
- Piola
- Parafilm para 64 cajas petri
- Papel filtro
- Marcador permanente
- Mango de bisturí
- Hojas de bisturí estéril
- Cloro

### **Materiales de la prueba piloto fermentación en medio sólido**

- 60 Frascos de vidrio de boca ancha
- Papel kraft

- Piola
- Papel de aluminio
- Arroz
- Maíz amarillo
- Cáscara de maracuyá
- Cascarilla de arroz
- Cal
- Agua potable
- Termómetro
- Termohigrómetro
- Caja de madera (Incubador)
- Cocina industrial
- Recipiente grande capacidad 100 litros
- Tanque de gas
- Dos Lienzos de 100 cm x 60 cm
- Soga de dos metros
- Bolsas transparentes de 20 cm x 18 cm
- Rollo de alambre envuelto en plástico
- Baja lenguas
- Jeringuilla de 3 mm

### **Materiales personales**

- Mameluco de seguridad
- Guantes
- Cofia
- Mascarilla

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Ubicación

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional “RUMEN” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

#### 3.2.1.1 Ubicación política

<b>Provincia:</b>	Los Ríos
<b>Cantón:</b>	Quevedo
<b>Lugar:</b>	Finca experimental “La María” Km. 7 vía Quevedo - El Empalme

#### 3.2.1.2 Ubicación geográfica

<b>Altitud:</b>	73 msnm
<b>Longitud oeste:</b>	79°29 s
<b>Latitud sur:</b>	01°06 s
<b>Heliofania:</b>	819.7 horas luz <sup>-1</sup> año <sup>-1</sup>
<b>Clima:</b>	Tropical húmedo; zona ecológica; bosque húmedo tropical
<b>Temperatura media:</b>	24.70 °C
<b>Precipitación:</b>	1640.90 cc anual <sup>-1</sup>
<b>Humedad relativa:</b>	84.54%
<b>Topografía:</b>	80% plano; 20% ondulado.

### 3.2.2 Factores de estudio

Los factores de estudio que intervinieron en esta investigación son 2, Factor A (Cepa de *Pleurotus*) y Factor B (Medio cultivo PDA), que se detallan a continuación con sus respectivos niveles.

**Cuadro 12. Detalle de los factores de estudio**

Factores	Símbolo	Niveles
Factor A Cepa de <i>Pleurotus</i>	a <sub>1</sub>	<i>Pleurotus sapidus</i>
	a <sub>2</sub>	<i>Pleurotus ostreatus</i>
Factor B Medio cultivo PDA	b <sub>1</sub>	Solución de cascarilla de arroz
	b <sub>2</sub>	Solución de cáscara de maracuyá
	b <sub>3</sub>	Mezcla b <sub>1</sub> 50%+ b <sub>2</sub> 50%
	b <sub>4</sub>	Agua destilada

### 3.2.3 Tratamientos

**Cuadro 13: Detalle de los tratamientos**

Tratamientos		Detalles
N°	Símbolo	
<b><i>Pleurotus sapidus</i></b>		
T <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	<i>Pleurotus sapidus</i> + solución cascarilla de arroz
T <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	<i>Pleurotus sapidus</i> + solución cáscara de maracuyá
T <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	<i>Pleurotus sapidus</i> + solución mezcla b <sub>1</sub> 50%+ b <sub>2</sub> 50%
T <sub>4</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>4</sub>	<i>Pleurotus sapidus</i> + agua destilada
<b><i>Pleurotus ostreatus</i></b>		
T <sub>5</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	<i>Pleurotus ostreatus</i> + solución cascarilla de arroz
T <sub>6</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	<i>Pleurotus ostreatus</i> + solución cáscara de maracuyá
T <sub>7</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	<i>Pleurotus ostreatus</i> + solución mezcla b <sub>1</sub> 50%+ b <sub>2</sub> 50%
T <sub>8</sub>	a <sub>4</sub> b <sub>4</sub>	<i>Pleurotus ostreatus</i> + agua destilada

### 3.2.4 Diseño experimental

Llevar a cabo un experimento significa analizar hechos observables para posteriormente tomar una decisión que se traduce en aprobar, rechazar o reformular la hipótesis planteada.

Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial A\*B con sus respectivos niveles, las respuestas experimentales pueden explicarse por el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

#### 3.2.4.1 Características del experimento

##### Para velocidad de crecimiento radial VCR:

Número de tratamientos:	8
Número de repeticiones:	8
Unidades experimentales:	64

##### Para prueba de biomasa:

Número de tratamientos:	8
Número de repeticiones:	3
Unidades experimentales:	24

##### Para prueba piloto de fermentación en medio sólido

Número de tratamientos:	6
Número de repeticiones:	3
Unidades experimentales:	18

### 3.2.4.2 Análisis estadístico

**Cuadro 14. Análisis de varianza (ADEVA)**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad		Cuadrados medios	Razón de varianza
Replicaciones	SCR	(r-1)	7	CMR= SCR/(r-1)	
Factor A	SCA	(a-1)	1	CMA= SCA/ (a-1)	CMA/CME
Factor B	SCB	(b-1)	3	CMB= SCB/(b-1)	CMB/CME
Interacción	SC(AB)	(a-1)(b-1)	3	CM(AB)= SC(AB/ (a-1)(b-1)	CM(AB)/CME
Residuo o error	SCE	(ab-1)(r-1)	56	CME= SCD/(ab-1)(r-1)	
Total	SCT	(abr-1)	63		

### 3.2.5 Manejo específico del experimento

#### 3.2.5.1 Preparación de los medios de cultivo

- Se colocó en cada vaso de precipitación 100 g de cascarilla de arroz lavada, 100 g de cáscara de maracuyá picada y lavada, 50 g de cáscara de maracuyá picada y lavada + 50 g de cascarilla de arroz lavada.
- Se colocó un litro de agua destilada para cada muestra.
- Se llevó al fuego y se dejó hervir por 30 minutos. Se tamizó cada preparación.
- Se diluyó 39 g de PDA en cada solución preparada.

- En un litro de agua destilada se disolvió 39 g de PDA para el último medio de cultivo.
- Se calentó las muestras para diluir uniformemente el agar en la preparación hasta que hierva por un minuto.
- Se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Se llevó al baño maría a 50 °C una vez salido de la autoclave.
- En total se obtuvieron cuatro medios de cultivo: CAPDA, CMPDA, CACMPDA, PDA.

### 3.2.5.2 Determinación de curva de crecimiento micelial

Se inoculó un trozo de agar con micelio de 4 mm de diámetro en el centro de una caja petri de 9 cm con 15 mL de medio de cultivo, se incubó a 28 °C y se realizó mediciones diarias del diámetro de crecimiento del micelio con la ayuda de un vernier de las dos cepas del género *Pleurotus* spp., hasta la invasión total de la caja petri.

### 3.2.5.3 Determinación de biomasa

Se colocó 40 papeles filtro en la estufa a 60 °C por 48 horas, se pasaron al desecador por 30 min, se pesó y se rotularon.

#### 3.2.5.3.1 Método 1

Se agregó el contenido de una caja de agar con micelio en un vaso de precipitación con 200 mL de agua destilada, se llevó al microondas hasta que

se disuelva el agar, se pasó por el papel filtro, con la ayuda de una bomba al vacío, esto agilitó el proceso de filtrado. Se lavó con agua destilada caliente, para ayudar a disolver completamente el residuo de agar. Se llevó cada papel a la estufa a 60 °C por 48 horas y posteriormente al desecador por 30 minutos, se tomó los pesos con la ayuda de la balanza analítica.

### 3.2.5.3.2 Método 2

Se hizo la determinación de biomasa del micelio crecido en medio sólido, agregando el contenido de una caja de agar con micelio en un matraz de 250 mL, posteriormente se cubrió el matraz con aluminio, se congeló por 12 horas, transcurrido ese tiempo se agregó 125 mL de agua destilada, se esterilizó en autoclave a 121 °C y 15 libras de presión durante 20 minutos, se filtró en caliente y el papel filtro con la muestra se llevó a la estufa a 60 °C por 48 horas y posteriormente al desecador por 30 minutos, se pesó con la ayuda de la balanza analítica. Se determinó la biomasa por diferencia de peso.

### 3.2.5.4 Obtención de semilla de *Pleurotus* para fermentación en medio sólido

- Se seleccionó maíz amarillo y arroz para realizar la obtención de semillas, para poder identificar el mejor tipo de grano para este proceso debido a que en la zona, existe alta producción de los mismos.
- Se lavó el grano y se llevó a remojo por 24 horas con agua potable, transcurrido este tiempo se lava con abundante agua.
- Se escurrió el grano y se pesaron en los frascos de vidrio de boca ancha 400 g.
- Se tapó con papel kraft, piola y papel de aluminio.

- Se llevó al autoclave para proceder a la esterilización de los mismos a 121°C por 30 min.
- Se enfrió los frascos en la cámara de bioseguridad, previamente desinfectada con suficiente cloro y alcohol a 96°.
- Se cortó con la ayuda de un bisturí trozos de agar con micelio de 3-4 cm por 1 cm.
- Se colocó de 6 a 8 trozos por todo el frasco, tratando de que exista la mayor cobertura posible, colocando la parte del micelio con contacto directo con los granos.
- Se tapó con mucho cuidado y asepsia; se rotuló los frascos con fecha, tipo de hongo, tipo de grano.
- Se llevó a la incubadora por un periodo aproximado de 3 semanas o hasta la invasión total del micelio en el frasco.

### **3.2.5.5 Prueba piloto de fermentación en medio sólido (FMS)**

- Se picó la cáscara de maracuyá en trozos pequeños para que faciliten la invasión del hongo en la FMS.
- Se tomó el peso de los sustratos (5 kg de cada sustrato aproximadamente).
- Se lavó tres veces el sustrato (cáscara de maracuyá, cascarilla de arroz) para eliminar impurezas.
- Se registró el peso de los mismos para control y se los colocó en los lienzos para el tratamiento de calor.
- En el recipiente se colocó unos 60 litros de agua potable aproximadamente con 100 g de cal y se esperó que la temperatura alcance los 90 °C.
- Se llevó los lienzos con el sustrato a la esterilización (90 °C por 90 min).
- La esterilización consistió en la aplicación de un método de calor con la finalidad de eliminar microorganismos existentes en el mismo.

- Transcurrido este tiempo, se escurrió el sustrato y se esperó que se enfríe a unos 25 °C aproximadamente.
- Se pesaron y llenaron las bolsas con 500 g de cada muestra.
- Se inoculó con el 8% del peso húmedo del sustrato, se sellaron y llevadas a la caja de madera (Incubador).
- Se incubaron las muestras por 45 días.
- Se fotografió periódicamente para registro.

# CAPITULO IV

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1.1. Velocidad de crecimiento radial VCR y producción de biomasa de los hongos de género *Pleurotus* en medio PDA con diferentes sustratos

En esta investigación la invasión total del micelio en las cajas petri fue a las 192 horas, en cuanto al efecto de la cepa (Cuadro 15) se observó que a las 48 y 72 horas de incubación existe diferencia ( $p < .0001$ ) siendo la cepa del *Pleurotus sapidus* la mejor con 9.4063 mm y 18.2344 mm, respectivamente, panorama que cambia notablemente a partir desde las 120 hasta las 192 horas, donde se destacó la cepa del *Pleurotus ostreatus* con valores desde 44.031 mm hasta 83.625 mm, siendo la cepa con mayor diámetro de crecimiento. En cuanto a la variable de biomasa fúngica ( $p = 0.0003$ ), la mejor cepa es la del *Pleurotus ostreatus* con una media de 0.165042 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco.

**Cuadro 15. Efecto de la cepa en la velocidad de crecimiento radial y en la producción de biomasa**

Variables	CEPA		ΣΣM	P<
	<i>Pleurotus sapidus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>		
Horas24	1.01563 a	1.00000 a	0.032076	0.7318
Horas48	9.4063 a	7.7969 b	0.121677	<.0001
Horas72	18.2344 a	16.4531 b	0.219069	<.0001
Horas96	28.5156 a	27.7813 a	0.321820	0.1122
Horas120	40.8594 b	44.0313 a	0.454221	<.0001
Horas144	54.3438 b	60.0625 a	0.364482	<.0001
Horas168	65.0156 b	72.3125 a	0.376694	<.0001
Horas192	75.7688 b	83.6250 a	0.371338	<.0001
<b>Biomasa g g<sup>-1</sup> de sustrato seco</b>	0.151317 b	0.165042 a	0.002115	0.0003

Fuente: Coello, 2012

El mejor medio para su crecimiento ( $p < .0001$ ), en todas las horas de incubación (Cuadro 16), que manifestó una rápida adaptación fue el PDA diluido en solución de cascarilla de arroz CAPDA, que mejoró el proceso de crecimiento, que en otras investigaciones reportadas por Suarez (2010), tardan hasta 10 días en invadir por completo la caja petri, utilizando el PDA comercial diluido en agua destilada. En cuanto a la producción de biomasa fúngica el medio de cultivo CAPDA, reportó valores de  $0.171617 \text{ g g}^{-1}$  de sustrato seco ( $p < .0001$ ) siendo el medio con mayor producción de biomasa fúngica.

Una de las razones por las que es posible que se de este comportamiento, es que los componentes de la cascarilla de arroz son aproximadamente del 29 al 35 % de celulosa, del 18 al 22 % de Hemicelulosa y del 18 al 25 % de lignina en su estructura (Valverde *et al.*, 2007), y al ser los *Pleurotus*, hongos conocidos mayormente como lignocelulósicos por la cualidad que tienen de oxidar el polímero de lignina, con la ayuda de enzimas como las lacasas, xilanasas, lignina peroxidasas, manganeso peroxidasas, entre otras, que generan a medida que crecen y se desarrollan sobre los sustratos, desdoblando la celulosa y la hemicelulosa en pequeñas subunidades monómeras (Griffin, 1994).

**Cuadro 16. Efecto del medio en la velocidad de crecimiento radial y en la producción de biomasa**

Variables	Medio de Cultivo				$\Sigma M$	P<
	CAPDA	CMPDA	CACMPDA	PDA		
Horas de Incubación						Medio
<b>Horas24</b>	1.18750 a	0.84375 b	1.00000 b	1.00000 b	0.002057	<.0001
<b>Horas48</b>	9.8125 a	8.7188 b	9.6875 a	6.1875 c	0.029610	<.0001
<b>Horas72</b>	20.9688 a	15.0625 c	19.2188 b	14.1250 c	0.095982	<.0001
<b>Horas96</b>	33.5625 a	25.4063 c	30.2500 b	23.3750 d	0.207135	<.0001
<b>Horas120</b>	50.7500 a	38.5000 c	46.1875 b	34.3438 d	0.412632	<.0001
<b>Horas144</b>	65.6875 a	52.7188 c	63.3125 b	47.0938 d	0.265694	<.0001
<b>Horas168</b>	77.4375 a	64.3750 c	74.9375 b	57.9063 d	0.283796	<.0001
<b>Horas192</b>	87.5313 a	75.7188 c	85.3125 b	70.2250 d	0.275784	<.0001
<b>Biomasa g g<sup>-1</sup> de sustrato seco</b>	0.171617 a	0.163050 a,b	0.146450 c	0.151600 b,c	0.002990	<.0001

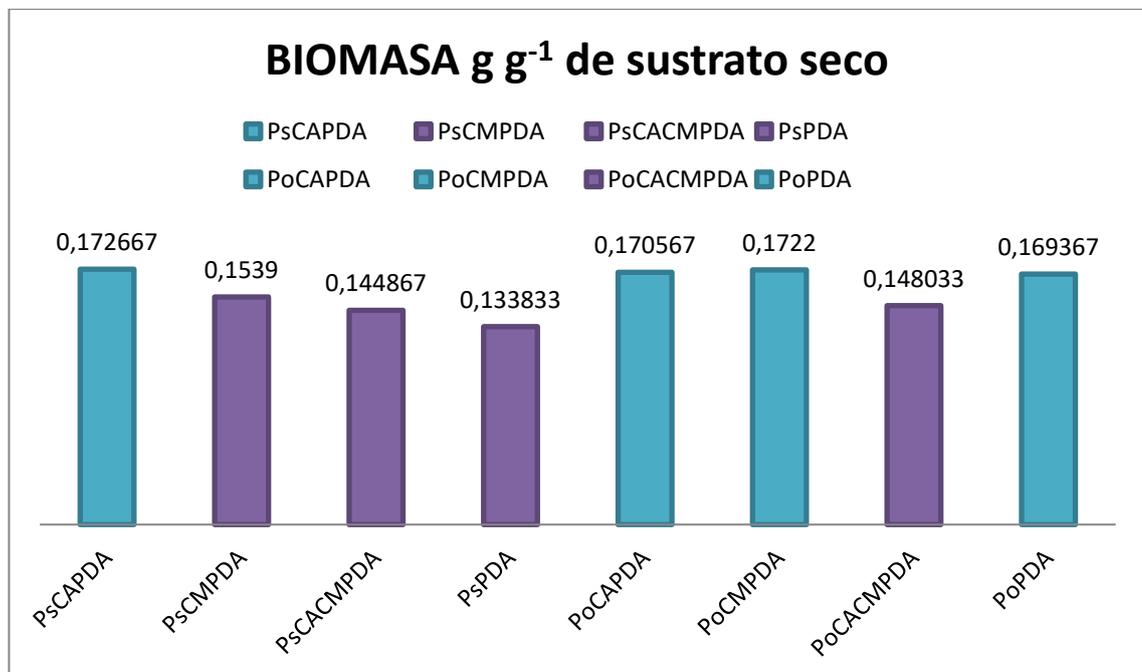
Fuente: Coello, 2012

En el cuadro 17, en cuanto a la interacción de los dos factores, el mejor tratamiento en velocidad de crecimiento radial a las 24 horas es el PsCAPDA con una media de 1.375 mm ( $p < .0001$ ), mientras que a las 48 horas el PsCACMPDA con una media de 10.750 mm, no muestra diferencia significativa con respecto al PsCAPDA con una media de 10.875 mm, pero sí con los demás tratamientos ( $p = 0.0362$ ), siendo estos los dos con mayor crecimiento micelial. A las 72 horas de incubación, el PsCAPDA con una media de 22.187 mm y el PsCACMPDA con 20.687 mm no difieren significativamente el uno del otro al igual que el PsCACMPDA y el PoCAPDA con 19.750 mm, pero el PoCAPDA en relación con el PsCAPDA difiere significativamente ( $p = 0.0128$ ).

Desde las 96 hasta las 144 horas existe diferencia numérica ( $p > 0.05$ ) en los tratamientos, debido a que la diferencia se ve influenciada por el medio de cultivo, y a partir de las 120 horas por el efecto individual de los dos factores cepa y medio ( $p < .0001$ ) (cuadro 15 y 16). A partir de las 168 horas existe una diferencia ( $p = 0.0153$ ), entre los tratamientos, siendo los mejores PoCAPDA con 80.375 mm y el PoCACMPDA con 77.9375 mm. Al término de la medición, los tratamientos con mayor crecimiento radial, lo reportó el *Pleurotus ostreatus* con los medios de cultivo CAPDA y CACMPDA con 90.50 mm y 87.5 mm, respectivamente ( $p < .0001$ ). Cabe recalcar que a pesar de que el *Pleurotus sapidus* inició con mayor crecimiento al cabo de las 96 horas su comportamiento fue diferente, es decir la cepa del *Pleurotus ostreatus* pasó a ser la cepa más veloz en el mismo medio de crecimiento CAPDA bajo las mismas condiciones de incubación, esto es posible por diferentes causas, una de ellas puede ser que el *Pleurotus ostreatus* tardó más tiempo en adaptarse o que el *Pleurotus sapidus* al crecer más rápido agotó las fuentes de carbono y nitrógeno necesarias para su desarrollo, por lo que su crecimiento pasadas las 96 horas fue más lento, basándonos en que la velocidad de crecimiento radial es el método que nos permite evaluar la capacidad de los hongos lignocelulósicos del género *Pleurotus* en adaptar su metabolismo a diversas fuentes de carbono y nitrógenos e invadir el sustrato (Zadrazil, 1978).

En el efecto de la interacción cepa-medio en la producción de biomasa (Cuadro 17 y Gráfico 1) podemos observar que los valores más altos los encontramos en el *Pleurotus sapidus* en medio CAPDA con una media de 0.172667 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco, *Pleurotus ostreatus* en medio CMPDA con una media de 0.1722 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco, *Pleurotus ostreatus* en medio CAPDA con 0.170567 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco y para el *Pleurotus ostreatus* en medio PDA con 0.169367 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco, (p=0.0018). El medio CACMPDA, reportó los valores más bajos para biomasa, tanto para el *Pleurotus sapidus* con una media de 0.1449 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco, así como para el *Pleurotus ostreatus* con una media de 0.1480 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco (Gráfico 9). Peláez (2010) reportó 0.193 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco para *Pleurotus ostreatus*, valor superior al de esta investigación, pero en relación con el *Pleurotus sapidus*, reportó 0.13 g g<sup>-1</sup> de sustrato seco, valor inferior al que se reportó en esta investigación.

**Gráfico 1. Promedio de la producción de biomasa fúngica de los tratamientos**



Fuente: Coello, 2012

**Cuadro 17. Respuesta de las variables de velocidad de crecimiento radial y producción de biomasa de la interacción cepa medio**

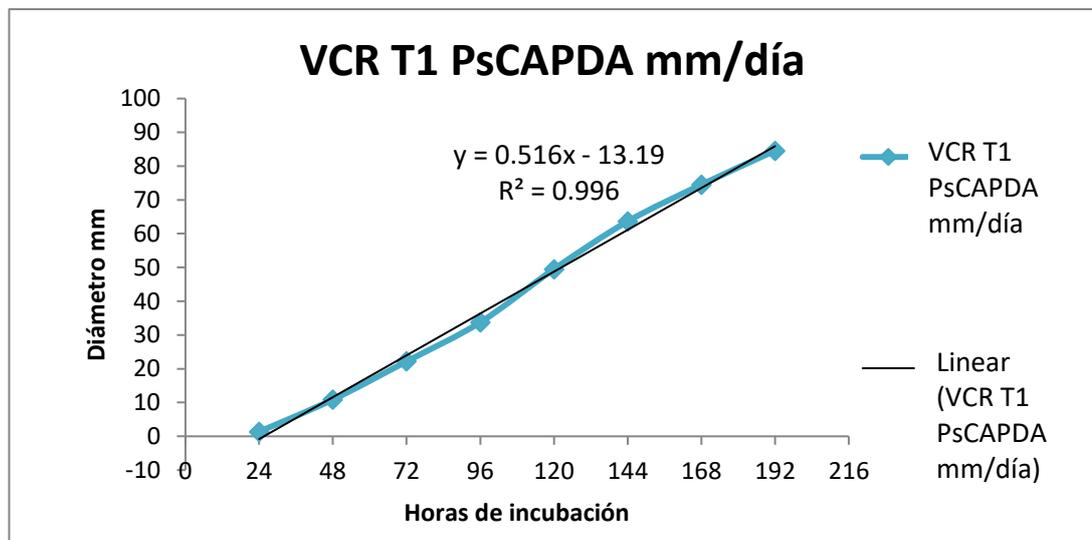
Variables	<i>Pleurotus sapidus (Ps)</i>				<i>Pleurotus ostreatus (Po)</i>				ΣM	P< CEPA*MEDIO
	CAPDA	CMPDA	CACMPDA	PDA	CAPDA	CMPDA	CACMPDA	PDA		
<b>Crecimiento (mm)</b>										
Horas24	1.3750 a	0.6875 c	1.0000 b	1.0000 b	1.0000 b	1.0000 b	1.0000 b	1.0000 b	0.150602	<.0001
Horas48	10.8750 a	9.3125 b	10.7500 a	6.6875 d	8.7500 b,c	8.1250 c	8.6250 b,c	5.6875 d	0.293324	0.0362
Horas72	22.1875 a	15.8750 c,d	20.6875 a,b	14.1875 d	19.7500 b	14.2500 d	17.7500 c	14.0625 d	0.393579	0.0128
Horas96	33.7500 a	26.0625 c	30.5000 b	23.7500 c,d	33.3750 a	24.7500 c,d	30.0000 b	23.0000 d	0.477033	0.8900
Horas120	49.5000 a	37.2500 c	43.8750 b	32.8125 d	52.0000 a	39.7500 c	48.5000 a	35.8750 c,d	0.566729	0.6106
Horas144	63.6250 b,c	49.6875 e	60.7500 c	43.3125 f	67.7500 a	55.7500 d	65.8750 a,b	50.8750 e	0.507669	0.1229
Horas168	74.5000 b	60.8750 d	71.9375 b	52.7500 e	80.3750 a	67.8750 c	77.9375 a	63.0625 d	0.516103	0.0153
Horas192	84.5625 b,c	72.6875 e	83.1250 c	62.7000 f	90.5000 a	78.7500 d	87.5000 a,b	77.7500 d	0.512421	<.0001
<b>Biomasa g/dl de sustrato 6000</b>	0.172667 a	0.153900 a,b	0.144867 b	0.133833 b	0.170567 a	0.172200 a	0.148033 b	0.169367 a	0.0042297	<.0001

Fuente: Coello, 2012

- **CAPDA:** Papa Dextrosa Agar en solución de Cascarilla de arroz
- **CMPDA:** Papa Dextrosa Agar en solución de Cáscara de maracuyá
- **CACMPDA:** Dextrosa Agar en solución de Cascarilla de arroz 50% y cáscara de maracuyá al 50%
- **PDA:** Papa Dextrosa Agar en agua destilada

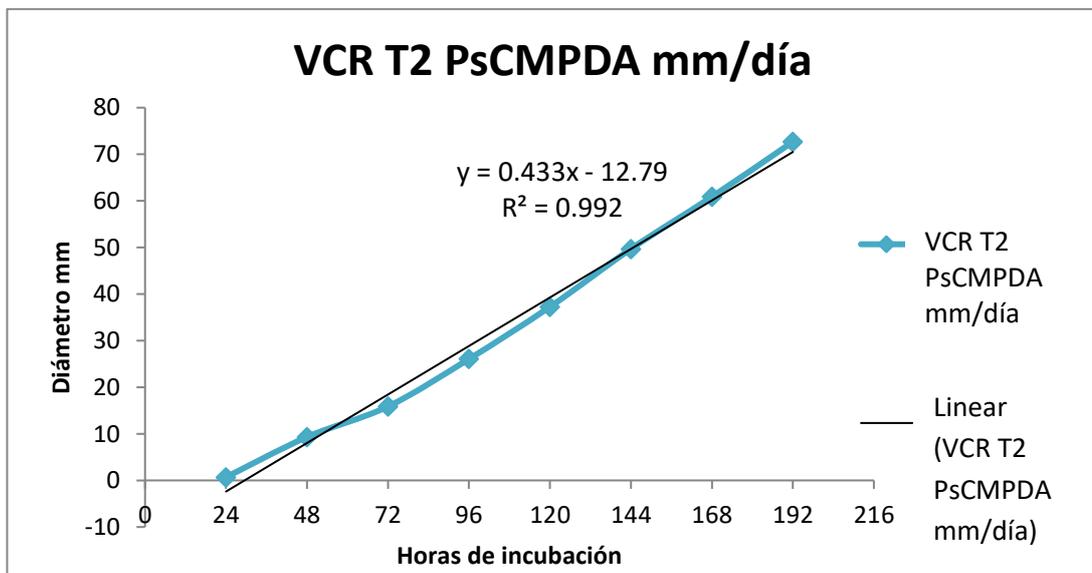
Se procedió a graficar la velocidad de crecimiento radial en mm h<sup>-1</sup> (Gráfico 2 al 9), con las medias obtenidas de cada tratamiento, expuestas en el cuadro 17 con la finalidad de obtener las ecuaciones de regresión lineal, que se encuentran detalladas para cada tratamiento en el cuadro 18.

**Gráfico 2. Promedio de la velocidad de crecimiento radial PsCAPDA**



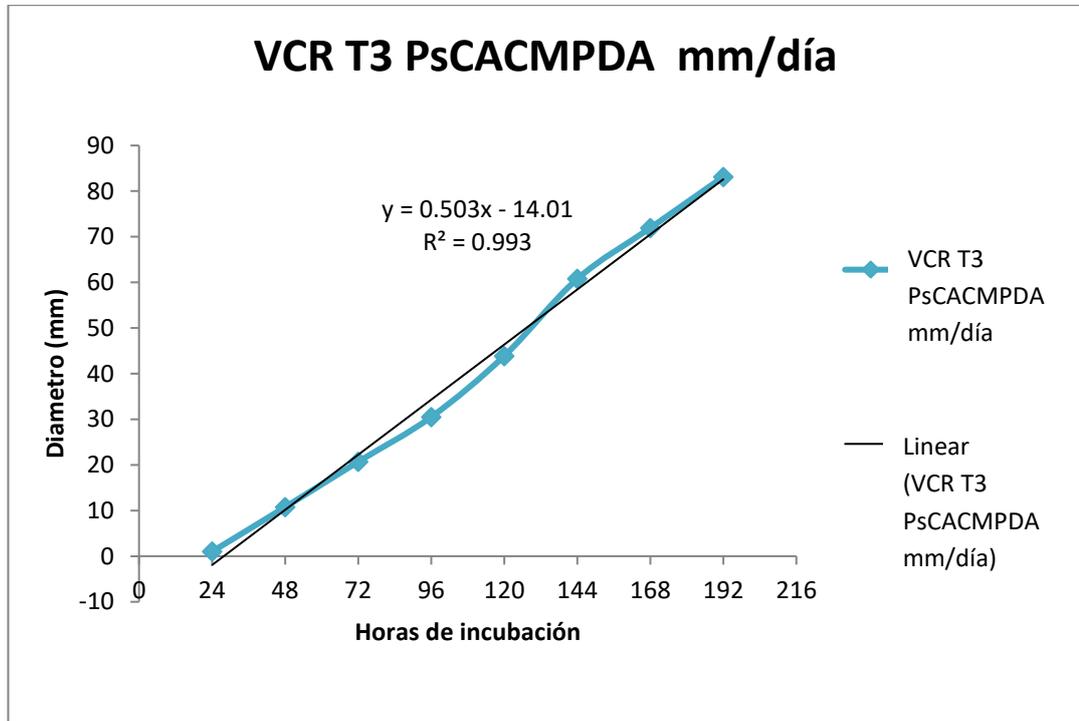
Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 3. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PsCMPDA**



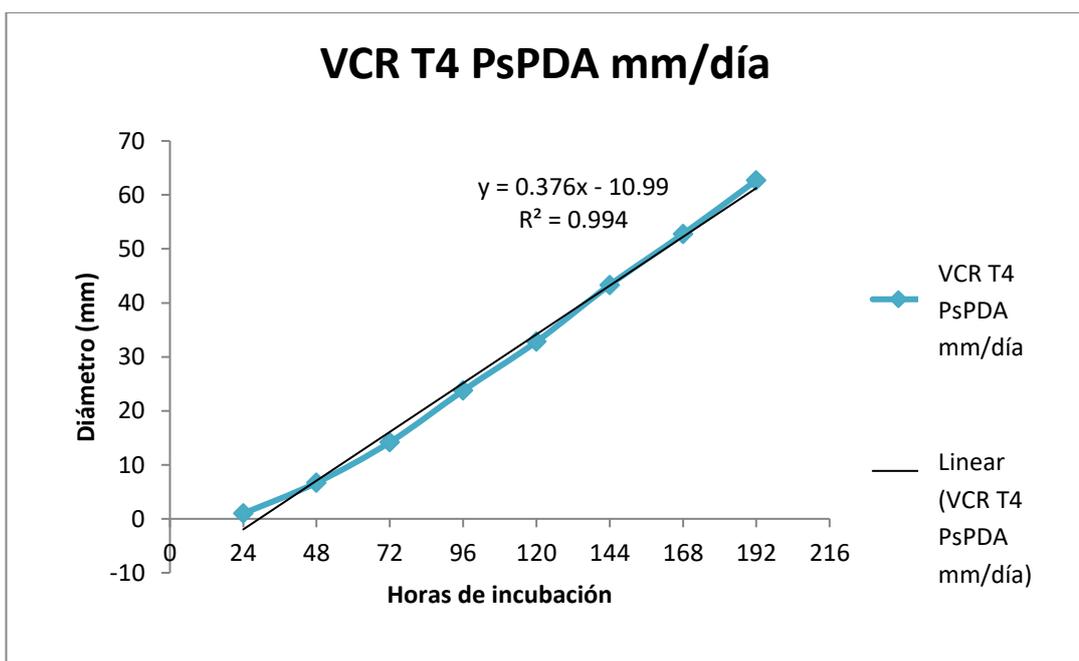
Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 4. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PsCACMPDA**



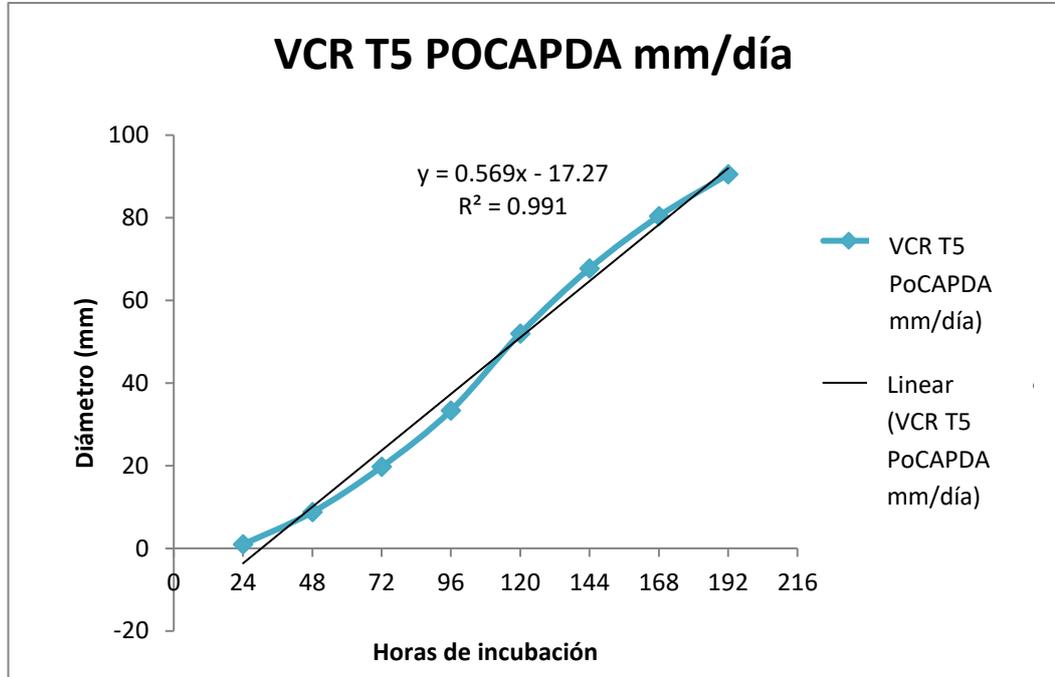
Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 5. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PsPDA**



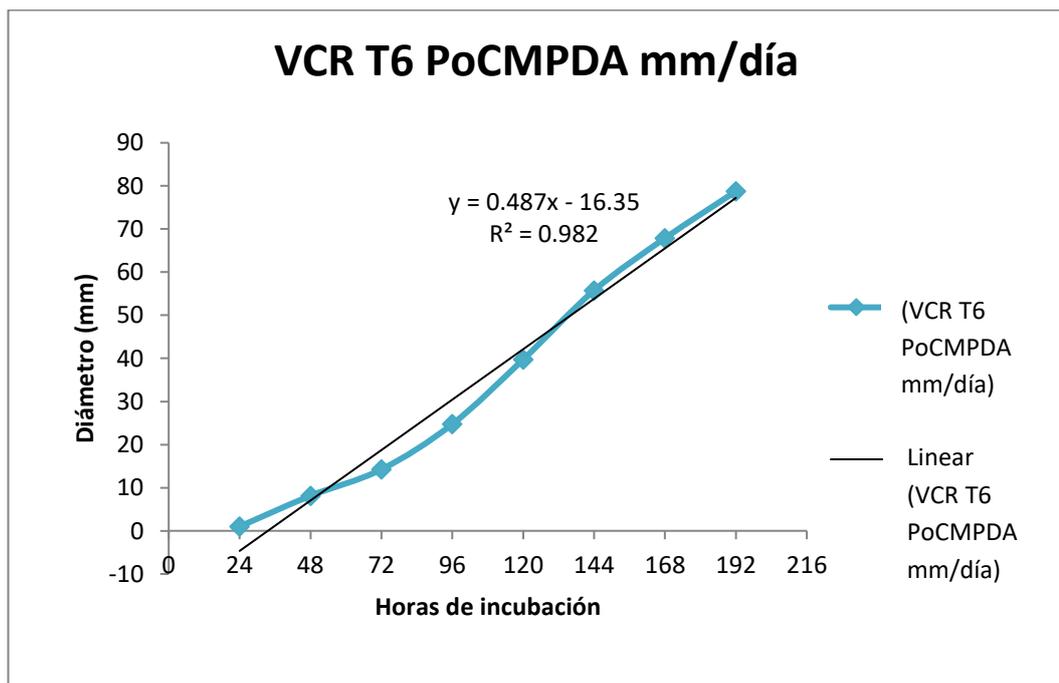
Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 6. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoCAPDA**



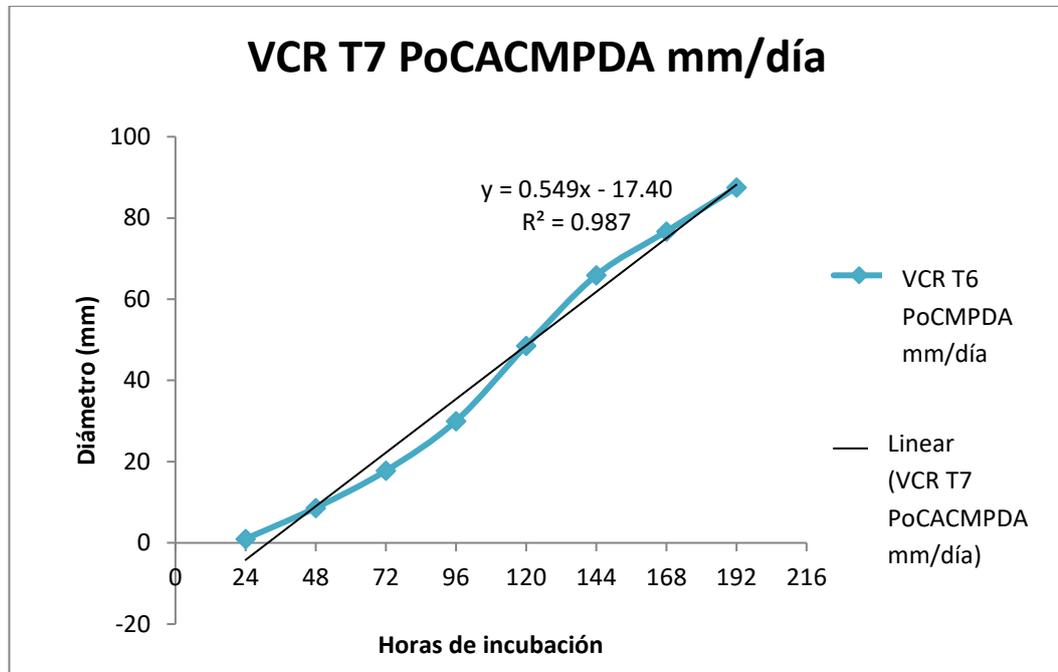
Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 7. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoCMPDA**



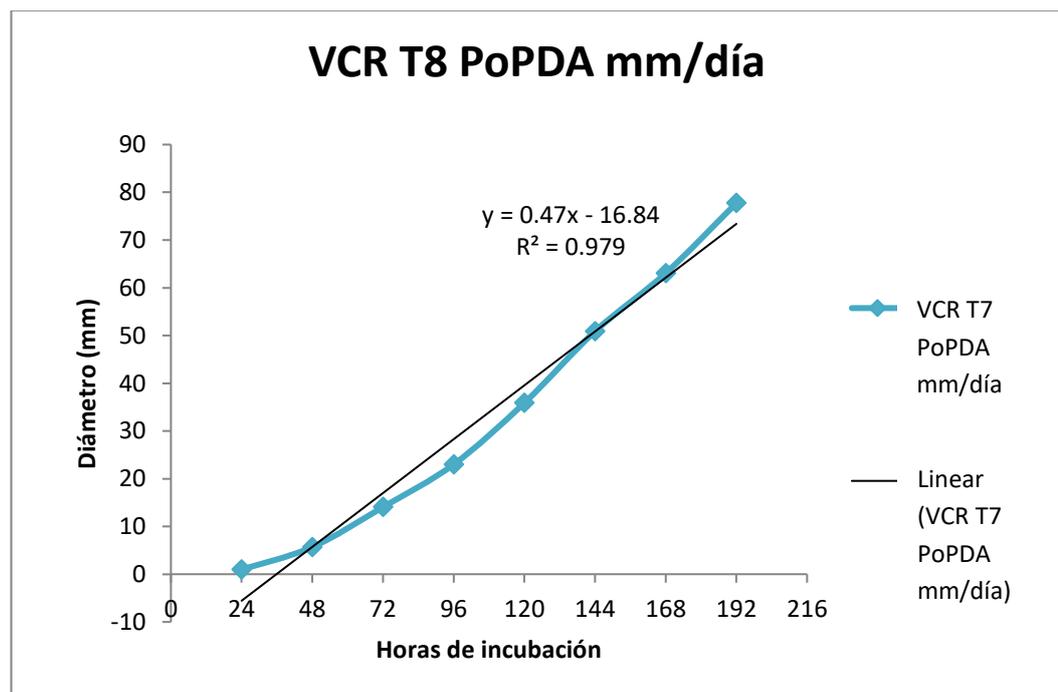
Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 8. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoCACMPDA**



Fuente: Coello, 2012

**Gráfico 9. Promedio de la velocidad de crecimiento radial del PoPDA**



Fuente: Coello, 2012

**Cuadro 18.** Ecuaciones de crecimiento obtenidas del análisis matemático de regresión lineal de cada tratamiento

Medio de cultivo	Hongo <i>Pleurotus</i>			
	<i>Pleurotus sapidus</i>	R <sup>2</sup>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	R <sup>2</sup>
CAPDA	Y=0.516x – 13.19	0.996	Y=0.569x – 17.27	0.991
CMPDA	Y=0.433x – 12.79	0.992	Y=0.487x – 16.35	0.982
CACMPDA	Y=0.503x – 14.01	0.993	Y=0.549x – 17.40	0.987
PDA	Y=0.376x – 10.99	0.994	Y=0.470x – 16.84	0.979

Fuente: Coello, 2012

La tasa de crecimiento específico es el valor que se obtiene de realizar un análisis de regresión lineal de cada tratamiento y nos permite conocer la velocidad de crecimiento radial que tienen los hongos del género *Pleurotus*. En este caso como podemos observar en el cuadro 19, la cepa que reportó mayor velocidad ( $\text{mm h}^{-1}$ ) fue la cepa del *Pleurotus ostreatus* con 0.569 para el medio de cultivo CAPDA y 0.549 para la mezcla CACMPDA, situación que se asemeja con la cepa del *Pleurotus sapidus* teniendo los valores más altos con los mismos medios de cultivo, reportando un valor de 0.516 para CAPDA y 0.503 para CACMPDA.

**Cuadro 19.** Tasa de crecimiento específico  $\mu$  ( $\text{mm h}^{-1}$ ) para cada uno de los medios de cultivo y los hongos comestibles evaluados

Medio de cultivo	Hongo <i>Pleurotus</i>	
	<i>Pleurotus sapidus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>
CAPDA	0.516 *	0.569 *
CMPDA	0.433	0.487
CACMPDA	0.503 *	0.549 *
PDA	0.376	0.470

\* Valores de VCR más altos.

Fuente: Coello, 2012

Peláez (2010), al utilizar extracto bagazo de caña con el *Pleurotus ostreatus* IE8 obtuvo una velocidad de crecimiento radial (VCR) de  $0.647 \text{ mm h}^{-1}$  y una VCR de  $0.573 \text{ mm h}^{-1}$  para *Pleurotus sapidus*. Luna (2006) al utilizar rastrojo de cebada y diferentes fuentes de nitrógeno con el hongo del *Pleurotus ostreatus* obtuvo una VCR de  $0.67 \text{ mm h}^{-1}$ , sin embargo, en este estudio no se empleó ninguna fuente de nitrógeno externa; no obstante, Villegas (2010) utilizó *Pleurotus sapidus* con un medio de cultivo de extracto de paja de sorgo y reportó una VCR de  $0.606 \text{ mm h}^{-1}$ ; así mismo, Santillán reportó una VCR de  $0.6 \text{ mm h}^{-1}$  para *Pleurotus ostreatus* incorporando como fuente de nitrógeno peptona de caseína, velocidades superiores a las que se obtuvieron en este estudio.

Por otro lado, Suárez (2010) reportó un valor de VCR de  $0.648 \text{ mm h}^{-1}$  en *Pleurotus ostreatus* sobre medio comercial papa dextrosa agar (PDA), sin embargo, al analizar este resultado observamos que estos datos fueron medidos cada dos días por lo que la tasa de crecimiento por día sería de  $0.324 \text{ mm h}^{-1}$  aproximadamente, valores inferiores para los reportados en este trabajo.

En cuanto a la hipótesis alternativa establecida: “El medio de cultivo papa dextrosa agar diluido en solución de cascarilla de arroz al 50% y cáscara de maracuyá al 50% (CACMPDA) incide significativamente en la velocidad de crecimiento del hongo y en la producción de biomasa micelial”; se acepta la hipótesis debido a que la velocidad de crecimiento radial, se ve afectada de acuerdo al medio PDA comercial disuelto en la solución propuesta de acuerdo a los datos obtenidos por Suarez (2010), quién evaluó el *Pleurotus ostreatus* en el medio de cultivo PDA; en la producción de biomasa, incide significativamente debido a que al utilizar este medio de cultivo, la producción de biomasa fúngica disminuye reportando los valores más bajos, pero superior en cuanto al *Pleurotus sapidus*, en relación con el reportado con Peláez (2010). La velocidad de crecimiento radial y la producción de biomasa podrían depender de la viabilidad que tengan las cepas para activarse.

## 5.1. Prueba piloto de la fermentación en medio sólido (FMS)

Para entender con mayor claridad el comportamiento de estos hongos, se procedió a realizar una prueba piloto de fermentación en medio sólido sobre los residuos agroindustriales que frecuentemente encontramos en nuestra zona, como es el caso de la cascarilla de arroz por el alto número de piladoras y el de la cáscara de maracuyá por las plantas agroindustriales procesadoras de la parchita como la empresa Tropifrutas. Esta prueba estaba constituida en dos fases experimentales, la primera consistió en seleccionar el mejor grano para la obtención de semilla de los dos géneros de *Pleurotus* y propagarlas de manera *in vitro*, para su posterior utilización y como segunda fase, aplicar las características de biodegradación de subproductos agrícolas, que tienen estos hongos comestibles, en la fermentación sobre medio sólido y poder determinar si los hongos crecen o no en dichos sustratos lignocelulósicos.

### 5.1.1. Identificación del mejor grano para la obtención de semilla

Para realizar esta prueba seleccionamos los dos granos más abundantes en nuestra zona, que son el maíz amarillo y el arroz. El crecimiento fue medido cualitativamente en el tiempo y se observó la distribución, la abundancia del micelio y la predisposición para la contaminación de los granos.

Se evaluó 15 frascos por cada tratamiento, como eran 2 cepas y 2 tipos de granos son un total de 60 unidades experimentales. Como podemos observar en el cuadro 20 el grano que mostró mejor crecimiento y abundancia fue el maíz amarillo, mostrando un alto porcentaje de infección para los dos tipos de cepas, un alto nivel de abundancia o densidad del micelio y una muy baja predisposición para la contaminación, a diferencia del análisis que se realizó para el arroz, donde se identificó que es altamente susceptible a la contaminación sobre todo del hongo *Trichoderma*; un bajo nivel de abundancia y fortalecimiento del micelio y un porcentaje de infección bajo en relación con el

maíz. A continuación se detalla la evaluación cualitativa de los mismos y el porcentaje de contaminación de cada uno.

**Cuadro 20. Evaluación cualitativa del crecimiento micelial en granos de arroz y maíz amarillo**

Cepa del <i>Pleurotus</i>	Granos de cereal					
	Arroz			Maíz amarillo		
	Inv	Abun	Cont	Inv	Abun	Cont
<i>Pleurotus sapidus</i>	++	#	XXX	+++	###	X
<i>Pleurotus ostreatus</i>	++	#	XXX	+++	###	X

**Inv:** Invasión, **Abun:** Abundancia, **Cont:** Contaminación, **++:** Porcentaje de infección medio, crecimiento lento, **+++:** Alto porcentaje de infección, crecimiento alto, **#:** Nivel de Abundancia bajo, **###:** Nivel de Abundancia alto. **X:** Baja predisposición a la contaminación, **XXX:** Alta predisposición a la contaminación  
Fuente: Coello, 2012

Se determinó un porcentaje de contaminación en base a los frascos contaminados, reportando al grano de arroz con mayor porcentaje de contaminación con un 86.67 % con el *Pleurotus ostreatus* y un 80 % con el *Pleurotus sapidus* como se observa en el cuadro 21 de acuerdo al total de frascos incubados.

**Cuadro 22. Porcentaje de contaminación de los frascos estudiados**

Tratamientos	Total frascos	Cont	Cont (%)
<i>Pleurotus sapidus</i> arroz	15	12	80.00
<i>Pleurotus ostreatus</i> arroz	15	13	86.67
<i>Pleurotus sapidus</i> maíz amarillo	15	4	26.67
<i>Pleurotus ostreatus</i> maíz amarillo	15	6	40.00
<b>UNIDADES EXPERIMENTALES</b>	<b>60</b>	<b>35</b>	<b>58.33</b>

**Cont:** Contaminación  
Fuente: Coello, 2012

### 5.1.2. Descripción del proceso de fermentación en medio sólido FMS

Esta etapa tuvo como objetivo describir el comportamiento de estos hongos sobre los sustratos empleados en la fermentación en medio sólido de manera cualitativa y descriptiva. Este proceso de fermentación duró 45 días aproximadamente, donde se observó diferentes características tanto del sustrato, como de los hongos. Se llevó a cabo dentro de un alto nivel de asepsia, puesto que el área en que se realizó este proceso se encontraba debidamente desinfectada con cloro al 80% de concentración y 20% de agua.

Durante el proceso de fermentación en medio sólido a las 60 horas de haber realizado la siembra, se observó que existe crecimiento de las cepas del *Pleurotus* sobre los sustratos y no se visualizó el ataque de otros hongos como el *Trichoderma*. Debido a que existió un excedente de humedad en las bolsas incubadas, se agujeró las bolsas, con la ayuda de una agujeta esterilizada para extraer el líquido y permitir la aireación del hongo. Se extrajo 100 mL aproximadamente de líquido de las bolsas, la cáscara de maracuyá es el sustrato que produjo mayor cantidad de líquido a medida que va sucediendo la fermentación de la cáscara, por lo que hay que llevar un control diario y mantener las bolsas guindadas para que por gravedad el exceso poco a poco vaya disminuyendo.

A los diez días de fermentación en medio sólido se observó crecimiento pero no de manera abundante y nuevamente un exceso de líquido, principalmente en las bolsas que contienen cáscara de maracuyá, se obtuvo otra vez 100 mL aproximadamente y la temperatura dentro de la caja estuvo de 25 a 26 °C. Transcurridos los 20 días de incubación, se observó que el micelio del *Pleurotus sapidus* en la cáscara de maracuyá es más denso, aunque no en todas las bolsas, y las que contienen la cascarilla de arroz el micelio es menos denso y en la mezcla llega a un equilibrio, puesto que no es ni poco ni demasiado.

A los 30 días de incubación no se observó contaminación y el crecimiento del hongo no se ha detenido, no invadió por completo el sustrato en todas las bolsas, pero no hay putrefacción en las muestras, sobre todo en la cáscara de maracuyá, que resultó el sustrato más complicado de manejar, por el líquido excedente que se acumuló en las bolsas, ya que con este exceso de humedad, existiría una fermentación sumergida, donde actuarán otros microorganismos, otras reacciones enzimáticas y no permitirán que los hongos comestibles del género *Pleurotus*, como el *sapidus* y el *ostreatus*, se desarrollen y degraden la lignina, mediante las enzimas lignolíticas, entre otras, que se producen durante su crecimiento en una fermentación en medio sólido.

Por estas razones es fundamental observar el crecimiento de estos hongos durante el proceso de incubación, ya sea de 25, 30, 45, 60 o hasta un máximo de 75 días, pues pasado este periodo el compost agotado, que puede ser utilizado de muchas maneras tales como: alimentación de rumiantes, abono orgánico, fertilizantes o en biorremediación, se vuelve más susceptible al ataque de microorganismos patógenos. En los 45 días de incubación se observó que el hongo cubrió por completo el sustrato con el micelio. A continuación en el cuadro 22, están las características de los tratamientos durante la fermentación en medio sólido.

El comportamiento de los hongos es un tema muy extenso, pero sí se puede tratar de comprender sus reacciones ante diferentes sustratos. En el caso de la cáscara de maracuyá, donde el crecimiento fue denso y abundante con las dos cepas, es posible, debido a que los hongos del género *Pleurotus* spp., pueden crecer con relaciones Carbono/Nitrógeno (C/N) entre 30 y 300 (Bermúdez *et al.*, 2002), es decir; la relación C/N óptima del sustrato, depende de la fase en la que se encuentra el hongo, altas relaciones C/N favorecen el crecimiento micelial y bajas relaciones favorecen el desarrollo de cuerpos fructíferos (Bonilla y Gonzáles, 2004). En este caso, es posible que esta sea una de las causas por las cuales en la cáscara de maracuyá, favoreció el crecimiento

micelial, a diferencia de la cascarilla de arroz, que mostro menor densidad del micelio, pero sí favoreció al desarrollo de cuerpos fructíferos.

Debido a que no se ejecutó un programa estadístico para esta prueba piloto, dentro de mi criterio, basada en la experiencia de haber trabajado con estos hongos y a la literatura que he consultado, ya que se evaluó netamente características cualitativas y no cuantitativas, el sustrato que mejores resultados obtuvo, tanto en crecimiento micelial, como en la fructificación fue la mezcla del 50% de cascarilla de arroz y 50% de cáscara de maracuyá, ya que alcanzó un equilibrio entre los sustratos, los hongos y lo que se esperaba de la fermentación en medio sólido, con menor dificultad durante el proceso de incubación, a diferencia de realizar la fermentación de estos residuos agroindustriales lignocelulósicos de nuestra zona, de manera independiente.

**Cuadro 23. Características de los tratamientos durante la FMS**

<b>Tratamiento</b>	<b>Micelio</b>	<b>Primordios</b>	<b>Fructificación</b>
<i>Pleurotus sapidus</i> + cáscara de maracuyá	Denso, Abundante	No. Una sola masa	No
<i>Pleurotus sapidus</i> + cáscara de maracuyá 50%+cascarilla de arroz 50%	Denso, Abundante	Sí. 8 brotes por bolsa aproximadamente	No culminó el proceso
<i>Pleurotus sapidus</i> + cascarilla de arroz	Poco Denso, Débil	El material se desprende con facilidad	Sí en 1 bolsa
<i>Pleurotus ostreatus</i> + cáscara de maracuyá	Denso, Abundante	No. Una sola masa	No
<i>Pleurotus ostreatus</i> + cáscara de maracuyá 50%+cascarilla de arroz 50%	Denso, Abundante	Sí. 8 brotes por bolsa aproximadamente	Sí en 2 bolsas
<i>Pleurotus ostreatus</i> + cascarilla de arroz	Poco Denso, Débil	Sí. 6 brotes. El material se desprende con facilidad	Sí en 2 bolsas

Fuente: Coello, 2012

La humedad es uno de los factores determinantes en el cultivo de hongos comestibles. Su crecimiento depende de la humedad relativa presente en el medio, cuyos valores están comprendidos entre el 70–85%. La influencia de la temperatura sobre el curso de la fermentación, deriva fundamentalmente de la relación existente entre ésta y el crecimiento. Temperaturas muy elevadas provocan la muerte de los microorganismos, las temperaturas muy bajas inhiben el desarrollo de éstos y, por añadidura, ejercen una acción conservadora sobre los gérmenes. Al determinar la temperatura que debe imperar en la fermentación, hay que tener en cuenta que, con el calor se aceleran las reacciones metabólicas, es decir, los procesos de síntesis, así como también, el desdoblamiento y con él, la creciente inactivación de las enzimas, ya que actúan en sentido opuesto y como resultado, decae la producción de biomasa fúngica a temperaturas superiores a 30 °C (Cardona, 2001). Es por esto que las temperaturas óptimas para el desarrollo de los hongos del género *Pleurotus* en su periodo de incubación deben mantenerse entre 25 hasta un máximo de 30 °C para evitar estos inconvenientes. Durante este proceso, la temperatura de la caja de incubación fue de 27 °C, con una humedad relativa del 77% datos que fueron monitoreados día a día, con la ayuda de un termohigrómetro, instalado dentro de la misma.

# CAPÍTULO V

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

Al finalizar este proceso de investigación, comprender el comportamiento de las cepas del género *Pleurotus* en un medio comercial PDA diluido en diferentes soluciones resulta difícil, dada la individualidad que se manifiesta en cada una de las cepas y en cada una de las variables, sea velocidad de crecimiento radial (VCR) o producción de biomasa fúngica, por las diversas consideraciones que hay que tener en cuenta al momento de entender estos hongos comestibles, entre ellas, la viabilidad de las cepas para activarse al momento de hacer las pruebas correspondientes, la relación C/N de los medios empleados, el pH, la temperatura de incubación, la humedad relativa, etc., pero a su vez, estos datos nos proporcionarán la base, para seleccionar la cepa y sustrato óptimos para una fermentación en medio sólido, de acuerdo a las exigencias de cada cepa y del fin que se le vaya a dar, sea para utilizar el compost agotado para alimentación de rumiantes, fertilizantes, abonos, biorremediadores o como producción de setas comestibles; de aquí la macro importancia que tienen las variables estudiadas en el presente trabajo investigativo.

#### **Velocidad de crecimiento radial (VCR mm h<sup>-1</sup>)**

En la velocidad de crecimiento radial, la mejor cepa en adaptarse fue la cepa del *Pleurotus ostreatus* y el mejor medio empleado en la investigación fue el PDA preparado con solución de cascarilla de arroz (CAPDA). Como interacción de los factores, los mejores tratamientos en adaptarse y tener mayor tasa de crecimiento específico ( $\mu$ ) fueron: el *Pleurotus ostreatus* en CAPDA y CACMPDA; seguido de *Pleurotus sapidus* en CAPDA y CACMPDA.

## **Producción de Biomasa g g<sup>-1</sup> de sustrato seco**

En la producción de biomasa fúngica, la mejor cepa en adaptarse a los medios de cultivo empleados fue la cepa del *Pleurotus ostreatus*; en cuanto al medio empleado el que reportó mayor valor en g g<sup>-1</sup> de sustrato seco, es el PDA diluido en solución de cascarilla de arroz CAPDA. Como tratamientos, los mejores valores de biomasa los presentaron el *Pleurotus sapidus* con el CAPDA, el *Pleurotus ostreatus* con CMPDA, CAPDA y PDA, en este caso, la producción de biomasa se vio afectada con la mezcla de los dos sustratos CACMPDA, reportando los valores en g g<sup>-1</sup> de sustrato seco más bajos en las dos cepas, es decir, tuvieron menos predisposición para adaptarse a este medio.

## **Prueba piloto de fermentación en medio sólido e identificación del mejor grano para la obtención de semilla**

El grano que resulto ser más viable para la obtención de semillas de calidad, con rápida invasión del micelio y menor porcentaje de contaminación fue el maíz amarillo para las dos cepas estudiadas. En cuanto a la prueba piloto de fermentación en medio sólido se destacaron las siguientes características y conclusiones:

**Para la fermentación de la cáscara de maracuyá.-** Efectivamente estas cepas son capaces de crecer en este tipo de residuo, siempre y cuando se realice un adecuado tratamiento térmico de la cáscara, para evitar la contaminación y la adición de cal para disminuir un poco la acidez de la misma, así lograrán desarrollarse e invadir por completo de micelio el sustrato, formando una masa compacta, libre de microorganismos patógenos, y con una adecuada eliminación del agua excedente, que se produce a medida que se fermentan, no se tendrá presencia de putrefacción y la cáscara de maracuyá mantendrá su coloración.

**Para la fermentación de la mezcla 50% cáscara de maracuyá + 50% de cascarilla de arroz.-** Esta mezcla podría ser el equilibrio ideal, si lo que se desea es la producción de setas comestibles y a su vez la utilización del compost agotado a los 75 días de fermentación. Debido que en esta investigación, la cáscara de maracuyá favoreció el crecimiento micelial de las cepas, mientras que la cascarilla de arroz favoreció al desarrollo de cuerpos fructíferos, y no presentó mayor problema en el manejo, debido a que el exceso de líquido que se generó de la cáscara de maracuyá, fue absorbido por la cascarilla de arroz.

**Para la fermentación de la cascarilla de arroz.-** Este sustrato produjo poco desarrollo micelial y no logró una compactación, como en el caso de la cáscara de maracuyá, pero sí favoreció a la formación de cuerpos fructíferos, su manejo fue menos complicado que el de la cáscara de maracuyá, debido que no existió excedente de líquido durante su fermentación, por lo que su disponibilidad a la contaminación es menor.

## 5.2 RECOMENDACIONES

Hacer las pruebas de relación Carbono/ Nitrógeno de los medios de cultivo que se empleen, para conocer más detalladamente el comportamiento de este tipo de hongos, a nivel de sus necesidades químicas y de lo que se desee obtener en una posible fermentación en medio sólido.

Realizar pruebas de VCR y producción de biomasa fúngica a diferentes residuos agroindustriales que se encuentren en la zona, y determinar los más óptimos para la producción de setas o para la utilización del compost agotado, para brindar más alternativas de reutilización de materiales difícilmente degradables.

Llevar a efecto la continuidad de la prueba piloto, realizando pruebas de degradabilidad *in situ* e *in vitro* del compost agotado, la producción de gas, realizar un análisis proximal de las muestras, para ver el efecto de la degradabilidad de la lignina, investigar acerca de la actividad enzimática que se da en este proceso de fermentación sólida, y poder obtener enzimas, llevar las muestras a un nivel de fructificación y conocer el rendimiento de dichos sustratos con la producción de setas comestibles, realizar las pruebas bromatológicas de los hongos obtenidos, y determinar qué sustrato nos brinda mejor calidad nutricional en las setas, entre un sin número de aplicaciones que tienen estos hongos del género *Pleurotus*.

Esta es la pauta para incentivar el estudio de los hongos del género *Pleurotus* que tienen unas cualidades únicas y su aplicación puede ser en diversas áreas como: en la medicina, nutrición humana, nutrición animal, reutilización de residuos, elaboración de abonos, obtención de enzimas, producción de gas, en la industria de fertilizantes, en la agronomía, en la agroindustria, etc. Por lo que se recomienda se amplíe mucho más en este tema del manejo de hongos saprófitos del género *Pleurotus* spp.

# CAPÍTULO VI

## VI. LITERATURA CITADA

### 6.1 LIBROS

Aguilar, L. 2007. Instituto Politécnico Nacional; Maestría en Ciencias de Bioprosos. "Producción de Inoculo Líquido para el cultivo del *Pleurotus* spp.", México.

Aguilera, J. y Araneda, P. 1996. "Estabilidad nutricional y organoléptica en el almacenamiento de mezclas de jugos de frutas subtropicales cultivadas en la IV Región". Tesis, Facultad de Ingeniería, Departamento Ingeniería en Alimentos. Universidad de La Serena, La Serena – Chile.

Arboleda, A. 1985. Cultivo del Hongo *Pleurotus* en Desechos Agrícolas. Tesis Ingeniero en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato; Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos. Ambato. p 62.

Bautista M, M.G. Alanís, E. González, C.L. García. 1998. Composición química de tres cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*). ALAN. 48:359-363.

Bermúdez, R. 1994. Producción de *Pleurotus* spp. florida. Sobre residuales de la industria Cafetalera de Cuba. Micología Neotropical Aplicada. Cuba. 7(3): 47-50.

Bermúdez, R.C. 1994. Aprovechamiento Biotecnológico de Residuos Industriales. Universidad de Cuba. Micología Neotropical Aplicada. Cuba. 7(3): 47-50.

- Bermúdez R, Donoso C, Martínez C, Ramos E, Morris H. 2002. Efecto de la luz en la concentración de micosteroles de *Pleurotus ostreatus* Var. Florida. *Rev Cuba Aliment Nutr.*16:13-18.
- Bonilla CI y González W. 2004. Caracterización y evaluación de los residuos sólidos biodegradables producidos en el campus universitario como sustrato en el proceso de compostaje. Tesis de grado para optar por el título de Ingeniería Agronómica. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia.
- Cardona, L. 2001. Bromatología y el Cultivo del Hongo Comestible *Pleurotus ostreatus*. *Crónica Forestal y del Medio Ambiente*. Colombia. (16): 99-118.
- Chang ST. 1997. World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk). Sing in China. *Inter J Med Mush.* 1:291-300.
- Chang Shu-Ting y Miles Philip G. 2004. *Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. Second Edition.* CRC Press.
- Crisan E y Sands A. 1978. Nutritional Value. In: Chang ST, Hayes WA (Eds.) *The Biology and cultivation of edible mushrooms.* London, Academic Press. p.137-168.
- Deacon, J.W. 1998. *Introducción a la Micología Moderna.* México: Limusa, pp. 350.
- Delfín-Alcalá I y Durán-De-Bazúa C. 2003. Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos por *pleurotus*. *Rev Int Contam Ambient.* 19:37-45.

- Del Toro G, Castelán R, Garín-Aguilar ME, Leal H. 2006. Biological quality of proteins from three strains of *Pleurotus* spp. *Food Chemistry*. 94:494-497.
- Donoso, R. 1999. Influencia de la Luz en la Composición Lipídica y Proteica del *Pleurotus ostreatus* var. Florida. Tesis de Magíster en Biotecnología. Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Escuela de Posgrados y Educación Continua. p 55.
- Echeverría, M; López, O. 2010. Escuela Politécnica Nacional; Facultad de Ingeniería Mecánica; "Caracterización Energética de la Cascarilla de Arroz para su Aplicación en la Generación de Energía Termoeléctrica; Quito.
- Fierro, A. 2005. Evaluación de 5 Sustratos Agrícolas en la Preparación de Inóculos de *Pleurotus ostreatus* var florida para uso Industrial.-Tesis de Dra. en Bioquímica y Farmacia.-Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. p. 11-12.
- Garzón, J y Cuervo, J. 2008. Universidad Nacional de Colombia; Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia; Colombia.
- Griffin, H. D., 1994. *Fungal Physiology*. Wily-Liss. A John Willey and Sons. Inc. Publishing Second Edition. New York. 102-107 pp.
- Guarín J y Ramírez A. 2004. Estudio de la factibilidad técnico – financiera de un cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*. Pontificia Universidad Javeriana.
- Gutiérrez, S. G., Saucedo. C.G., Gaime. P.I., Augur.C. 1999. Comparación de dos métodos para la selección de cepas para su uso en fermentaciones en medio sólido; Crecimiento Radial y longitudinal. *Memorias VIII*

Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Oaxaca. Sociedad Mexicana de Bioingeniería. A.C. p. 104.

Guzmán, H. 1993. Cultivo de Hongos Comestibles. México. Instituto Politécnico Nacional. p.245.

Hearst, R. Nelson, D. Mccollum, G. Millar, B. Maeda, y. Goldsmith, C. Rooney, P. Loughrey, A. Rao, J. Moore, J. 2009. An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. p 15.

Karácsonyi, S. y Kuniak, L. 1994. Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble  $\beta$ -D-glucan. *Carbohydrate Polymers*. p 24.

Karunanandaa K, Varga GA, Akin DE, Rigsby LL, Royse DJ. 1995. Botanical fractions of rice straw colonized by white-rot fungi: changes in chemical composition and structure. *Animal Feed Science and Technology*. 55:179-199.

Kumaran, S., Sastry Y Vikineswary, S. 1977. Laccase, cellulose and xylanase activities during growth of *Pleurotus ostreatus* sajor-caju on sago hampas. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. Rapid Science. United States. (13). pp .43-49.

Lilly, V y Barnett L. 1951. *Physiology of the fungi*. Mc Graw Hill. 24-44

Luna Rodriguez L. 2006. Estudio de la actividad lignocelulosica del hongo *Pleurotus ostreatus* sobre el rastrojo de cebada. Tesis de maestria. Colegio de Postgrados. Montecillo, Texcoco, Estado de Mexico.

- Manterola, H. 1999. Los Residuos Agrícolas y su uso en la Alimentación de Rumiantes. Santiago: Ministerio de Agricultura de Chile. p 222.
- Marquina. D, 2005. Producción de biomasa de hongos celulóticos para la degradación de residuos celulósicos. España. Universidad Comptense de Madrid, pp. 26.
- Martínez, D. 1993. Los Hongos Comestibles en México. Ciencia y Desarrollo. México. p 41-48.
- Masaphy S, Levanon D, Henis Y. 1996. Degradation of atrazine by the lignocellulolytic *Pleurotus pulmonarius* during solid state fermentation. *Bioresource Technology*. 56:207-214.
- Mera, J. 2005. Dosificación de Ergosterol de *Pleurotus ostreatus* Irradiado con Luz Ultravioleta.-Tesis de Dr en Bioquímica y Farmacia.- Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. p 25-28.
- Miles P y Chang S. 1995. Biología de las setas: Fundamentos básicos y acontecimientos actuales, Bogotá. World Scientific. p 206.
- Mushworld. 2004. Mushroom growers handbook 1: oyster mushroom cultivation. MushWorld – Heineart. INC. Corea. Translation: CERZOS (UNS-CONICET). Argentina.
- Nieto, I. 2010. Metabolitos secundarios de macrohongos y sus bioacciones. Química de Hongos Macromicetos. Universidad Nacional De Colombia.

- Nirogi, R. Mudigonda, K. Kandikere, V. 2007. Chromatography-mass spectrometry methods for the quantitation of statins in biological samples. *Journal of Pharmaceutical and biomedical Analysis*. 44.
- Okano K, Fukui S, Kitao R, Usagawa T. 2007. Effects of culture length of *Pleurotus eryngii* grown on sugarcane bagasse on in vitro digestibility and chemical composition. *Anim. Feed Sci Technol*, 136:240-247.
- Osorio, M.E., 1981. Elaboración y características de jugo concentrado de maracuyá (*Pasiflora edulis*, var *flavicarpa* Degener)", Tesis, Facultad de Agronomía, Departamento Agroindustria y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile, Chile.
- Padilla, C. 1995. "Caracterización de los principales pigmentos presentes en la cáscara de fruto de maracuyá púrpura (*Pasiflora edulis*)", Tesis, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Universidad de La Serena, La Serena, Chile.
- Pedreros, J. 2007. Evaluación del crecimiento y producción de *Lentinula edodes* (shiitake), en residuos agroindustriales. Pontificia Universidad Javeriana.
- Peláez, A. 2010. Colegio de Postgraduados; Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas; Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad Ganadera; "Producción de Enzimas Lacasas e Isoformas del Género *Pleurotus* spp sobre Bagazo de Caña de Azúcar por Cultivo sólido"; Montecillo, Texcoco, Edo. De Mexico.
- Rajarathnam S, Bano Z, Patwardhan M. 1986. Nutrition of the mushroom *Pleurotus flabellatus* during its growth on paddy straw substrate. *J-Hortic-Sci*. 61:223-232.

- Ramos, G. 2007. *Pleurotus ostreatus* Cultivado en Residuos de Palma Aceitera Como Importante Fuente de Proteína para la Dieta Humana.- Tesis de Ing en Biotecnología Ambiental. Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. p 63-73.
- Raypeck, V.1977. Chemical composition of hemicelluloses as a factor participating in the substrate specificity of wood destroying fungi. Wood Sci. Technol. 11:59
- Ramos, S. I.1999. Producción de *Pleurotus ostreatus* var, florida sobre Residuales de Cacao. Tesis de Magíster en Biotecnología. Riobamba; Escuela Superior Politécnica Chimborazo: Escuela de Posgrados y Educación Continua. p 95-98.
- Rodriguez N y Jaramillo C. 2005. Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera” CENICAFÉ, Chinchiná, Colombia. Boletín técnico N° 27.
- Sáenz, C., 1989. Jugos Maracuyá”, Alimentos 14(2), 37 – 40.
- Sáenz, C. y Sepúlveda, E. 1981. “Determinación del contenido y característica del aceite de semilla de maracuyá (*Passiflora edulis*, var. *Flavicarpia*) cultivado en Chile”, Investigación Agrícola, 7(3), 71 – 74.
- Sánchez, C. 2010. Universidad Autónoma de Tlaxcala; Laboratory of Biotechnology; Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms; Tlaxcala-México.

- Sánchez J. y Royse D. 2001. Crecimiento y Fructificación. En: La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ed. El colegio de la frontera sur, San Cristóbal de las Casas, Chispas y LIMUSA, México.
- Santillán Sanchez P. 2010. Extractos fibrolíticos fúngicos como modificadores de la fermentación ruminal *in vitro*. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de Mexico.
- Sarangi I, Ghosh D, Bhutia SK, Mallick SK, Maiti TK. 2006. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *Int Immunopharmacol.* 6:1287-1297.
- Serna YB, Hinestroza LI, Ríos A, Escobar R, Hinestroza L, Arango R, Mena VE, Aguilar Y, Bonilla JA. 2005. Producción de limoncillo, *Cymbopogon citratus* en sustratos resultantes de la producción de la seta (*Pleurotus sajou-cajú*) en Quibdó. *Rev Institu Universidad Tecnológica del Choc* 22:63-68.
- Smiderle, F. Olsen, L. Carbonero, E. Baggio, C. Freitas, C. Marcon, R. Santos, A. Gorin, P. Iacomini, M. 2008. A 3-O-methylated mannogalactano from *Pleurotus pulmonarius*: structure and antinociceptive effect. *Phytochemistry.* 69.
- Stamets P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press. Hong Kong.
- Suárez, C. 2010. Universidad Nacional De Colombia; "Obtención *In Vitro* De Micelio De Hongos Comestibles, Shiitake (*Lentinula Edodes*) Y Orellanas (*Pleurotus Ostreatus* Y *Pleurotus Pulmonarius*) A Partir De Aislamientos De Cuerpos Fructíferos, Para La Producción De Semilla"; BOGOTÁ D.C.

- Sun, y. Liu, J. 2009. Purification, structure and immunobiological activity of a wáter-soluble polysaccharide from the fruiting body of *Pleurotus ostreatus*. *Bioresource Techonology*. 100.
- Synytsya, A.Míckova, K. Synytsya, A. Jablonský, I. Spevacek, J. Erban, V. Kováriková, E. Copiková, J. 2009. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*. 76.
- Valencia, S. 2004. Aprovechamiento Biotecnológico del Salvado de Maíz Mediante el Cultivo de Hongos Comestibles *Pleurotus ostreatus* var. *florida*. Tesis de Dra en Bioquímica y Farmacia. Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. p 6-25: 88-93.
- Valverde, A. 2006. Tesis de Maestría en Eficiencia Energética, CEEMA, UCF. “Estudio sobre el uso de la cascarilla de arroz en los molinos del Departamento del Tolima”.
- Valverde, A; Sarria, B; Monteagudo, J. 2007. Universidad Tecnológica de Pereira. *Scientia et Technica* Año XIII, No 37. “Análisis Comparativo de las Características Físicoquímicas de la Cascarilla de Arroz”.
- Vega, F. y Cortés, C. 1993. Caracterización química de las semillas y cáscaras del maracuyá púrpura (*Pasiflora edulis*) cultivado en la IV Región”, Tesis, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Universidad de La Serena, La Serena, Chile.
- Villegas M. 2010. Estudio del cultivo solido de paja de sorgo en la producción de enzimas fibrolíticas y digestibilidad ruminal *in vitro* con fomes

fomentarius EUM1 y *Pleurotus sapidus*. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de Mexico. Pp 98.

Yatsuzuka, R. Nakano, Y. Jiang, S. Ueda, Y. Kishi, Y. Suzuki, Y. Yokota, E. Rahman, A. Ono, R. Kohno, I. Kamei, C. 2007. Effect of usuhiratake (*Pleurotus pulmonarius*) on sneezing and nasal rubbing in Balb/c mice. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. pp 30.

Zadrazil, F. 1974. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *P. florida*, *P. cornucopiae* and *P. eryngii*. *Mush Sc* 9:621-652.

Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. In S. TChang, W. A. Hayes (Eds). *The biology and cultivation of edible Mushrooms*. London; Academic Press. 521-557 p.

## 6.2 INTERNET

Aprovechamiento Biotecnológico de Residuos Agroindustriales. (En línea). Consultado el 02-04-2011. Disponible en:  
<http://www.coacade.uv.mx/institutos/forest/genfor.html>.

Corporación Colombia Internacional. 2009. Perfil del Producto; Inteligencia de Mercados; Maracuyá; Bogotá-Colombia. (En línea). Consultado el 03-05-2011. Disponible en:  
<http://www.cci.org.co/ccixlsim/perfil%20de%20productos/perfil%20producto%2019%20final.pdf>

Cultivo del Hongo Comestible *Pleurotus* sobre residuos Vitivinícolas y su manejo Postcosecha. (En línea). Consultado el 22-10-2011. Disponible en:  
<http://www.ciad.mx/boletin/nov-dic-01/Boletin1.pdf>

Cultivo de setas sobre residuos forestales. (En línea). Consultado el 05-11-2011. Disponible en:  
<http://www.infoagro.com/forestales/setas2.asp>

Estructura del Pleuroma del *Pleurotus*. (En línea). Consultado el 06-04-2011. Disponible en:  
<http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/setas.html>

FAO. (En línea). Consultado el 13-08-2011. Disponible en:  
<http://www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/Agrofor/Pound7.html>

Gómez, M, Schwentesius, R, Gómez, L. 1995. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAAM); La Producción y el Mercado Mundial del Maracuyá; México. (En línea). Consultado el 05-11-2011. Disponible en:  
<http://www.infociserca.gob.mx/proafex/maracuyá.pdf>

III Censo Agropecuario, 2000. MAGAP. En línea. Consultado el 20-02-2011. Disponible en:  
[http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/maracuyá/presentacion\\_maracuy%C3%A1.htm](http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productos%20para%20invertir/frutas/maracuyá/presentacion_maracuy%C3%A1.htm)

Mueckay, M. 2009. Monografías.com. “Obtención de la Pectina a partir de Desechos Industriales de Maracuyá. En línea consultado el 23-05-2011. Disponible en:  
<http://www.monografías.com/trabajos59/obtención-pectina/obtención-pectina.html>

Programa Nacional de promoción de Cultivo de los Hongos Comestibles. (En línea). Consultado el 05-10-2011. Disponible en:  
<http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/setas.html>

Setas Cultivadas. (En línea). Consultado el 01-09-2011. Disponible en:  
<http://setascultivadas.com/boletinarticulossemptiembre.html>.

Técnicas de Cultivo. Hongo, Rendimiento de la Cosecha. (En línea).  
Consultado el 04-05-2011. Disponible en:  
<http://www.metabase.net/docs/fusades/04429.html>

Técnica Simple para el Cultivo del Hongo Comestible *Pleurotus ostreatus*. (En  
línea). Consultado el 22-06-2011. Disponible en:  
<http://ecología.uat.mx/biotam/v9n23/art3.html>

Toledo, M. 2008. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Tesis de  
Grado. Ecuador. (En línea). Consultado el 6-05-2011. Disponible en:  
<http://dspaceepoch.edu.ec/bitstream/123456789/229/1/236T0015.PDF>

Universidad de Antioquía. 2010. Facultad de Química Farmacéutica.  
Producción, transformación y comercialización de pulpas de frutas  
tropicales. Maracuyá. Colombia. (En línea). Consultado el 16-12-2011.  
Disponible en:  
<http://huitoto.udea.edu.co/frutastropicales/maracuyá.html>

# CAPÍTULO VII



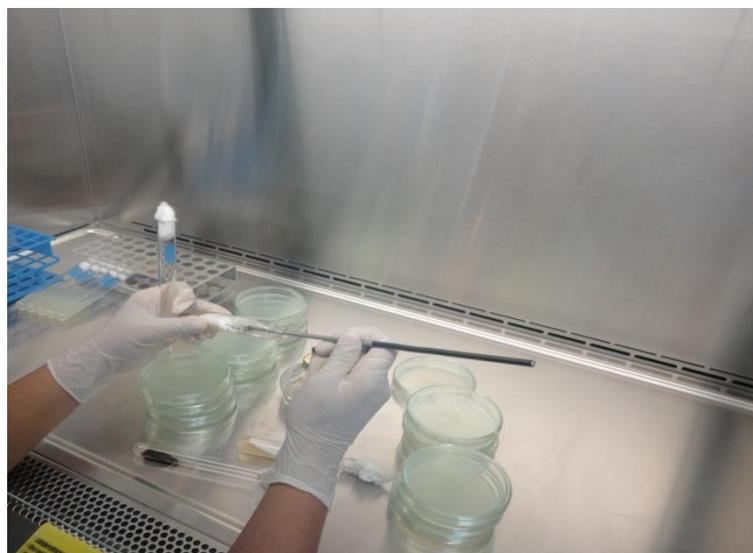
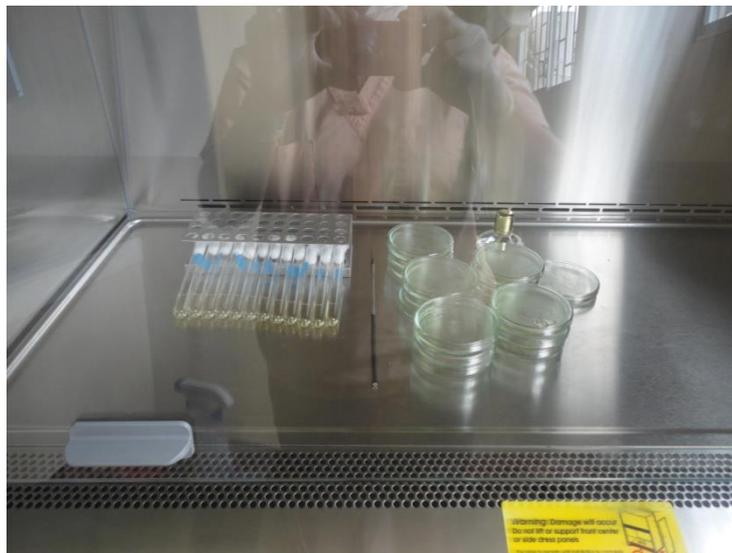
## VII. ANEXOS

### PERIODO DE APRENDIZAJE- PROPAGACIÓN DE LAS CEPAS- LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA





## PROPAGACIÓN DE LAS CEPAS- LABORATORIO DE RUMIOLOGÍA Y METABOLISMO NUTRICIONAL “RUMEN”





## INICIO DE LA FASE EXPERIMENTAL

## PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO



## PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES



Solución de cascarilla de arroz



Solución de cáscara de maracuyá



Solución de mezcla 50% de los sustratos



Soluciones obtenidas de los sustratos



Soluciones con la adición del PDA ya diluido

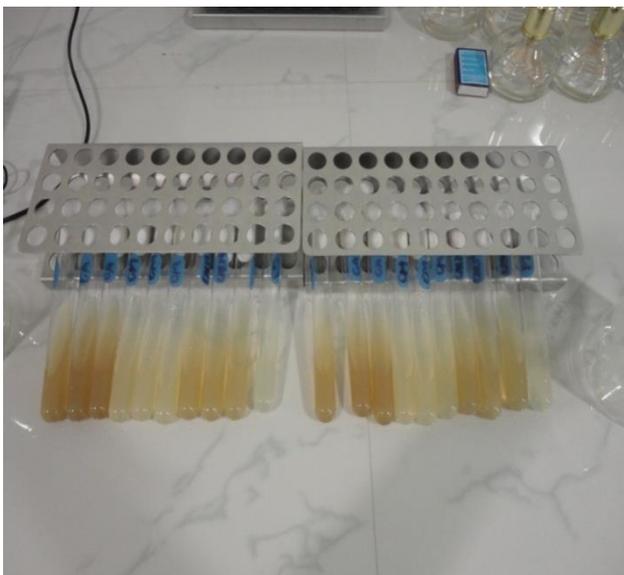
## ESTERILIZACIÓN DE LOS MEDIO DE CULTIVO



Llenado de los tubos de ensayo para su esterilización



Medios de cultivo listos para la esterilización



Tubos de ensayo esterilizados listos para la inoculación



Esterilización con ultra violeta de las cajas petri llenas con el medio de cultivo

## MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO RADIAL DE LAS CEPAS



## MEDICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA



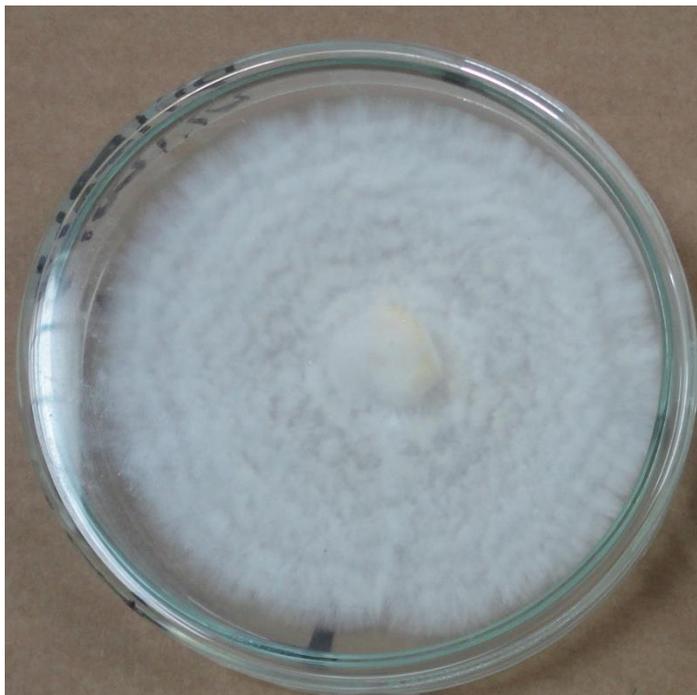
## MEDICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA



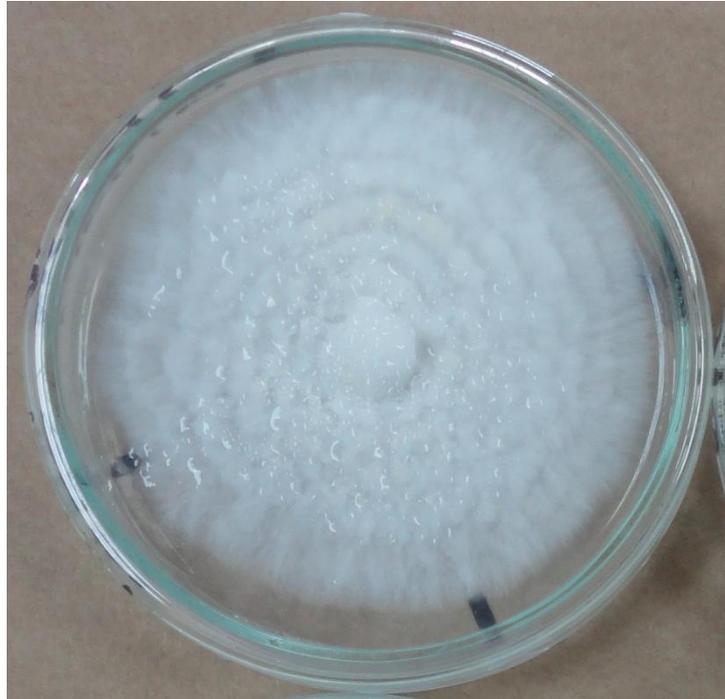
## PLEUROTUS SAPIDUS + CAPDA



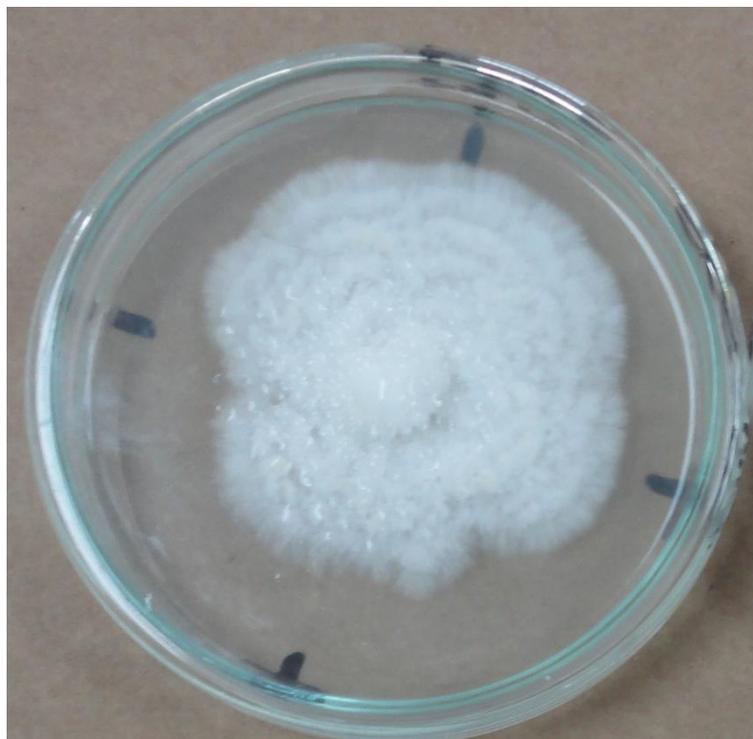
## PLEUROTUS SAPIDUS + CMPDA



### PLEUROTUS SAPIDUS + CACMPDA



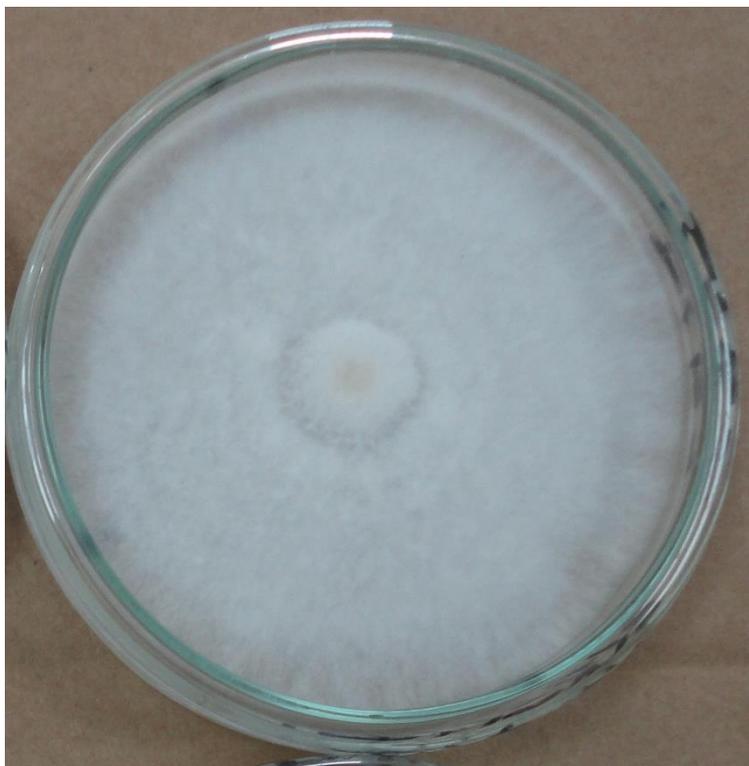
### PLEUROTUS SAPIDUS + PDA



### PLEUROTUS OSTREATUS + CAPDA



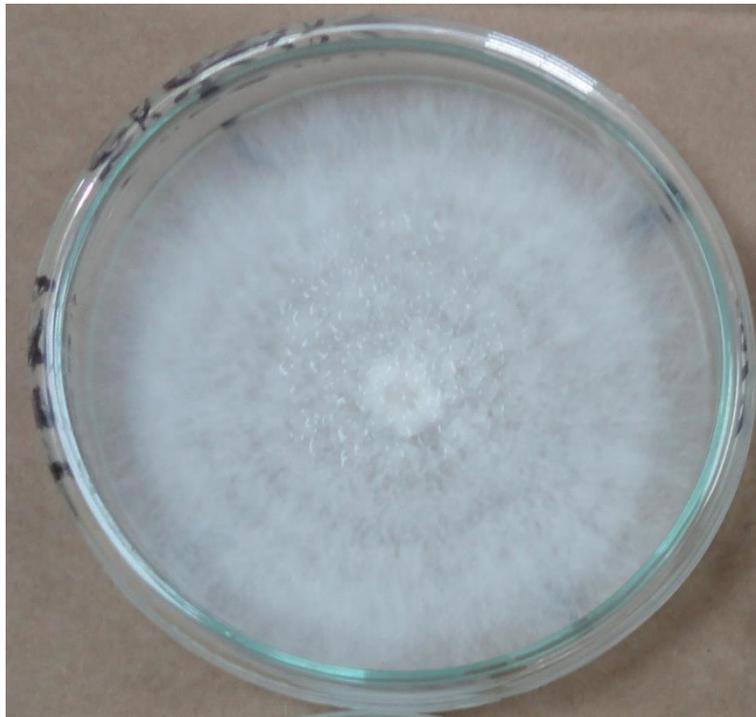
### PLEUROTUS OSTREATUS + CMPDA



### PLEUROTUS OSTREATUS + CACMPDA



### PLEUROTUS OSTREATUS + PDA



## OBTENCIÓN DE SEMILLAS DE *PLEUROTUS* SPP



**ARROZ**



**MAIZ AMARILLO**



**INCUBACIÓN 7 DÍAS**



**INCUBACIÓN 7 DÍAS**



**INCUBACIÓN 14 DÍAS**



**INCUBACIÓN 14 DÍAS**



**CONTAMINACIÓN CON  
*TRICHODERMA***



**APARICIÓN DE PRIMORDIOS  
EN LAS SEMILLAS**

## PRUEBA PILOTO DE LA FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO



**BOLSAS CON CÁSCARA DE MARACUYA A LOS 45 DÍAS DE INCUBACIÓN DE LOS HONGOS DEL GÉNERO *PLEUROTUS*.**



**BOLSAS CON CÁSCARA DE MARACUYA 50% + CASCARILLA DE ARROZ 50% A LOS 45 DÍAS DE INCUBACIÓN DE LOS HONGOS DEL GÉNERO *PLEUROTUS*.**



**BOLSAS CON CASCARILLA DE ARROZ A LOS 45 DÍAS DE INCUBACIÓN DE LOS HONGOS DEL GÉNERO *PLEUROTUS*.**



**SECADO DE LAS MUESTRAS PARA LA UTILIZACIÓN DEL COMPOST AGOTADO**

## CERTIFICACIÓN

La investigación de la egresada Carol Daniela Coello Loor, cumplió con los aspectos normales, técnicos y reglamentarios establecidos, conforme queda documentado.

Por lo tanto apruebo la impresión y presentación de este trabajo para los fines legales pertinentes.

---

Ing. Juan Avellaneda Cevallos Ph. D.

**DIRECTOR DE TESIS**

## CERTIFICACIÓN

La investigación de la egresada Carol Daniela Coello Loor, cumplió con los aspectos normales, técnicos y reglamentarios establecidos, conforme queda documentado.

Por lo tanto apruebo la impresión y presentación de este trabajo para los fines legales pertinentes.

---

Ing. Sonia Barzola Miranda

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS**

## CERTIFICACIÓN

La investigación de la egresada Carol Daniela Coello Loor, cumplió con los aspectos normales, técnicos y reglamentarios establecidos, conforme queda documentado.

Por lo tanto apruebo la impresión y presentación de este trabajo para los fines legales pertinentes.

---

Ing. Flor Marina Fon Fay

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

## CERTIFICACIÓN

La investigación de la egresada Carol Daniela Coello Loor, cumplió con los aspectos normales, técnicos y reglamentarios establecidos, conforme queda documentado.

Por lo tanto apruebo la impresión y presentación de este trabajo para los fines legales pertinentes.

---

Lcdo. Segundo Cabrera

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS**

<b>(DUBLIN CORE) ESQUEMA DE CODIFICACIÓN</b>			
<b>1</b>	<b>Título/ Title</b>	M	EVALUACION DE LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE BIOMASA DE DOS CEPAS DEL GENERO <i>Pleurotus</i> spp., CULTIVADOS EN UN MEDIO AGAR CON DIFERENTES SUSTRATOS.
<b>2</b>	<b>Creador/ Creator</b>	M	Carol Daniela Coello Loor : Universidad Técnica Estatal de Quevedo
<b>3</b>	<b>Materia/ Subject</b>	M	Ciencias de la Ingeniería; Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial; Biotecnología; Velocidad de Crecimiento y Producción de Biomasa.
<b>4</b>	<b>Descripción/ Description</b>	M	La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional "RUMEN" de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
<b>5</b>	<b>Editor/ Publisher</b>	M	FCl; Carrera de Ingeniería Agroindustrial; Carol Daniela Coello Loor
<b>6</b>	<b>Colaborador/ Contributor</b>	O	Ing. Juan Avellaneda Cevallos Ph.D.
<b>7</b>	<b>Fecha/ Date</b>	M	27 de diciembre del 2012
<b>8</b>	<b>Tipo/ Type</b>	M	Tesis de Grado
<b>9</b>	<b>Formato/ Format</b>	R	Microsoft Word Starter 2010 Adobe Acrobat Document (.pdf)