



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO

**Evaluación y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre tres diferentes
tratamientos como medios de crecimiento en la Estación Agropecuaria UTPL**

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORA: Ojeda Pauta, Erika Ruby

DIRECTOR: Cruz Sarmiento, Darío Javier, PhD

LOJA - ECUADOR

2019



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2019

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctor.

Darío Javier Cruz Sarmiento.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN.

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: Evaluación y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre tres diferentes tratamientos como medios de crecimiento en la Estación Agropecuaria UTPL, realizado por Erika Ruby Ojeda Pauta, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, noviembre de 2019

f)

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y SESIÓN DE DERECHOS

“Yo Ojeda Pauta Erika Ruby declaro ser autora del presente trabajo de titulación: Evaluación y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre tres diferentes tratamientos como medios de crecimiento en la Estación Agropecuaria UTPL de la Titulación Ingeniería Agropecuaria, siendo Dr. Darío Javier Cruz Sarmiento PhD, director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f.

Autora: Erika Ruby Ojeda Pauta

Cédula 1900753359

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a DIOS a mi padre Sergio Ojeda, hermano Alex, hermanas Danixa, Jhovana y a mis abuelos maternos César y Clara quienes me apoyaron todo el tiempo.

A mi madre Bertha quien desde el cielo supo guiarme.

A Jonathan quien me apoyo y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme depositando su esperanza en mí.

A mis amigos y compañeros de clase Danny, Kevin y Meyvi

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO.

Agradezco a Dios por la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad. Gracias a mi familia: Alex, Clara, César, Danixa, Jhovana, Jonathan y Sergio, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado. Agradezco a mis docentes de la Universidad Técnica Particular de Loja, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial, al doctor Darío Javier Cruz Sarmiento tutor de mi trabajo de fin de titulación quien ha compartido sus conocimientos y guiado con su paciencia, y rectitud como docente, aportando para este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA	I
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	II
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y SESIÓN DE DERECHOS.....	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTO.	V
ÍNDICE DE CONTENIDOS	VI
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I.....	4
MARCO TEÓRICO	4
1.1 Hongos.....	5
1.2 Generalidades ecológicas.....	5
1.3 Generalidades reproductivas.	5
1.4 Sistemática y clasificación actual.....	5
1.4.1 Descripción de etapas del cultivo.	6
1.5 Especies cultivables industrialmente.....	7
1.6 <i>Pleurotus ostreatus</i> y su potencial nutricional.	7
1.7 Objetivos.	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos.....	8
CAPÍTULO II.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
2.1 Área de estudio.	10
Diseño experimental y análisis estadístico.	10
2.2 Procesos de producción.	10
2.2.1 Reactivación de cepas y elaboración de semillero.	10
2.2.2 Siembra e inoculación en los sustratos.	11
2.2.3 Colonización, fructificación y cosecha.....	12
2.3 Técnicas analíticas.....	13
2.3.1 Parámetros de productividad	13
2.4 Degustación.	16
CAPÍTULO III.....	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
3.1. Resultados	19
3.2. Discusión.....	22
CONCLUSIONES.....	24
RECOMENDACIONES.....	25

BIBLIOGRÁFIA.....26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A - D) Replicación de cepas de <i>Pleurotus ostreatus</i> y elaboración de semillero	11
Figura 2:(A – F) Siembra e incubación del inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i> en bolsas plásticas.....	12
Figura 3. (A - G) Crecimiento, fructificación y cosecha de <i>Pleurotus ostreatus</i>	13
Figura 4. (A – F) Flujograma del proceso de determinación de proteína bruta mediante método de KJELDAHL.....	16
Figura 5.Tasa de producción obtenida en los tratamientos analizados.	19
Figura 6. Eficiencia biológica obtenida en los tratamientos analizados	20
Figura 7. Porcentaje de proteína de los tratamientos analizados.	21
Figura 8. Representación del grado de aceptación del producto.....	22

LISTA DE TABLAS

Tabla 2. Tratamientos usados para el cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
Tabla 1. Rango de puntuación asociados al sabor de la crema.	17
Tabla 3. Resultados de diferencias estadísticas.	21

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Base de datos del tratamiento 1 (mezcla de sustratos)	30
Anexo 2. Base de datos para tratamiento 2 (aserrín).	31
Anexo 3. Resultados de distribución de los datos	32
Anexo 4. Resultados de diferencias estadísticas.	32
Anexo 5. Etapas de desarrollo del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> acorde a los días de registro de su observación.....	32
Anexo 6. Tratamiento tres (cascarilla de arroz) contaminado con moho negro.	33
Anexo 7.Cuarto de incubación en la EA – UTPL.....	33
Anexo 8. Incubación de <i>Pleurotos ostreatus</i> en bolsas plasticas.	34
Anexo 9. Daños en el hongo por temperatura y humedad inadecuada.	34
Anexo 10. Fructificación de <i>Pleurotus ostreatus</i>	35

RESUMEN.

Los hongos son consumidores de materia orgánica, muchos de ellos con alto valor nutricional y poco aprovechado. Por ello se busca cultivar *Pleurotus ostreatus* optimizando el uso de residuos agroindustriales: cascarilla de arroz (*Oriza sativa* L.), cascarilla de café (*Coffea arábica* L.) y aserrín (partículas de la madera aserrada), como sustratos en la producción de esta especie. Se determinó; el tiempo de cosecha, la eficiencia biológica (EB), tasa de producción (TP), el porcentaje de proteína y el grado de aceptación del producto. Los resultados indican que el tratamiento 1 (cascarilla de arroz + cascarilla de café + aserrín) tuvo el menor tiempo de cosecha con 42 días, una EB de 15,23% y una TP de 80,20%. Por otra parte, el tratamiento 2 (aserrín) tuvo un 39,47% en el valor de su proteína. También se conoció que el producto tiene aceptación al público según encuestas realizadas. Se obtuvo p-valores de $4,48e^{-08}$ y $4,68e^{-08}$ para EB y TP respectivamente estos valores indican diferencias significativas, en cambio en el porcentaje de proteína el p-valor de 0,3817 muestra que no hay diferencias significativas.

Palabras claves: residuos agroindustriales, eficiencia biológica, tasa de producción, proteína, *Pleurotus ostreatus*.

ABSTRACT.

Fungi are consumers of organic matter, many of them with high nutritional value but poorly used. Therefore, it is sought to cultivate *Pleurotus ostreatus* by optimizing the use of agro-industrial waste: rice husk (*Oriza sativa* L.), coffee husk (*Coffea arabica* L.) and sawdust (particles of sawn wood), as substrates in the production of this species. It was determined; Harvest time, biological efficiency (EB), production rate (TP), protein percentage and degree of product acceptance. The results indicate that treatment 1 (rice husk + coffee husk + sawdust) had the shortest harvest time with 42 days, EB 15,23% and TP with 80,20%. On the other hand, treatment 2 (sawdust) had 39,47% in protein value. It was also known that the product has acceptance to the public according to surveys carried out. P-values of $4.48e^{-08}$ and $4.68e^{-08}$ were obtained for EB and TP respectively, these values indicate significant differences, and while the percentage of protein in p-value of 0,3817 shows that there are no significant differences.

Keywords: agro-industrial waste, biological efficiency, production rate, protein, *Pleurotus ostreatus*.

INTRODUCCIÓN

Los hongos tienen gran importancia dentro de la industria alimenticia, se han involucrado como facilitadores de varios procesos, por ejemplo, las levaduras aplicadas en la fermentación de vinos, fermentación de cervezas, hongos que son utilizados en la cocina como los champiñones (*Agaricus bisporus*, *Tricholoma matsutake*), y otros que pertenecen al orden Agaricales, Boletales y Cantharellales (Pitt y Hocking, 2009).

Pleurotus sp. ha incrementado notablemente su producción mundial en períodos cortos de tiempo, se espera que por sus cualidades nutritivas, organolépticas, nutracéuticas y biotecnológicas, la demanda y la producción mundial, continúe creciendo (Royse y Sánchez, 2017). Es importante compartir la información nutricional de este hongo, pues por su contenido de proteína forma parte de los alimentos proteicos y es una fuente importante de vitaminas, calcio y fósforo (Varnero, Quiroz, y Álvarez, 2010).

Pleurotus ostreatus es un hongo lignícola saprófito, universal, conocido como hongo ostra o seta, forma parte de la clase Basidiomycetes, orden Agaricales y familia Agaricaceae (Donoso y Aguirre, 1980), citado por (Varnero, Quiroz, y Álvarez, 2010). Es un hongo comestible, que se alimenta de residuos lignocelulósicos, especialmente de residuos derivados de la agroindustria (Nieto y Chegwin, 2010). Es por ello que su cultivo ayuda al provecho de los residuos de la agroindustria.

En nuestro país la agricultura forma parte del desarrollo económico, esta genera residuos agrícolas; como la cascarilla de arroz (*Oriza sativa* L.), cascarilla de café (*Coffea arábica* L.) y desperdicios del aserrado de madera, comúnmente conocido como aserrín (Ramón y Ramón, 2012), que generalmente son desperdiciados. Mediante este trabajo se ha determinado conocer el residuo con mayor potencial para el cultivo de este hongo.

Pleurotus ostreatus usa un sistema innovador y eficiente para su cultivo, con un manejo adecuado puede mantener niveles altos en su rendimiento, su tiempo de crecimiento es corto, crece en amplios intervalos de temperaturas y pueden utilizar diferentes residuos agroindustriales como sustrato (Piña, Nieto, y Robles, 2016).

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* tiene tres etapas: elaboración del semillero, preparación de sustratos y el cultivo del hongo. Estas tres etapas se las cumplió dentro de este proyecto. La elaboración del semillero se la realizó en el Laboratorio de Microbiología que se encuentra en el departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Técnica Particular de Loja.

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

1.1 Hongos.

Los hongos son seres eucariontes, contienen una membrana nuclear y otros orgánulos rodeados de membrana, que los caracteriza. Se diferencian de los animales y plantas por su morfología y modo de vida (Wolf, Seibel, Dandekar, y Lynn, 2006). Los hongos no cuentan con procesos fotosintéticos y no fijan carbono por la falta de clorofila, además son heterótrofos y en su gran mayoría aerobios, es decir necesitan oxígeno libre (Papagianni, 2004).

1.2 Generalidades ecológicas.

Los hongos son componentes esenciales de muchos sistemas ecológicos; son, considerados como los principales descomponedores de materia orgánica, contribuyendo así al recambio de nutrientes del ecosistema (Christensen, 1989), contribuyen al almacenamiento de CO₂, mantienen el equilibrio ecológico pues interactúan con otros organismos, pueden realizar su colonización en superficies baldías contribuyendo con compuestos orgánicos que facilitan el crecimiento de otros compuestos (Piepenbring, López, y Cáceres, 2016). Los hongos poseen una distribución universal, con un amplio rango de hábitats, estos incluyen desiertos, sedimentos de fondos marinos, áreas con radiación y salinidad. Esto indica que el rango de temperaturas y humedad para su crecimiento es amplio (Vaupotic, Veranic, Jenoe, y Plemenitas, 2008).

1.3 Generalidades reproductivas.

Los hongos se desarrollan a partir de cualquier fragmento de micelio, por pequeño que este sea, sin embargo, generalmente la reproducción se lleva a cabo por medio de esporas asexuales y la mayoría pueden producir esporas sexuales (García, 2004).

Los hongos se reproducen sobre todo por medio de esporas, las cuales se dispersan en un estado latente, que se interrumpe sólo cuando se hallan condiciones favorables para su germinación. Cuando estas condiciones se dan, la espora germina, surgiendo de ella una primera hifa. Las hifas crecen por alargamiento de las puntas y también por ramificación. La proliferación de hifas resultante de este crecimiento se llama micelio. El micelio crece permitiendo la formación de los cuerpos fructíferos. El micelio puede clasificarse según su función en micelio vegetativo, si se encarga de la nutrición, y en micelio reproductivo, si su función es la de formar órganos de reproducción y multiplicación (Silva, Fritz, Cubillos, y Díaz, 2010).

1.4 Sistemática y clasificación actual

El empleo de uso de datos de secuencia de ADN presume que el ancestro en común de los hongos surgió del agua, a partir de células eucariotas aproximadamente hace 1.000 millones de años, este ancestro probablemente presentaban un flagelo en la parte posterior que desempeñaba la función de ser un propulsor además de la presencia de moléculas de quitina en su estructura (Moore, Robson, y Trinci, 2012).

Los hongos fueron descritos como parte del reino vegetal hasta que Whittaker (1969) desarrollo una nueva clasificación ubicándoles dentro del reino Fungi. Este reino abarca una inmensa biodiversidad con funciones ecológicas que son clave en todos los ecosistemas (Herrera y Ulloa, 2014).

Según Chang y Miles (2004) los hongos se pueden dividir en cuatro categorías:

1. Los que poseen una estructura carnosa y comestible, son catalogados como hongos comestibles, ej: *Pleurotus ostreatus*.
2. Los hongos que poseen alguna propiedad medicinal, ingresan a la categoría de Hongos medicinales, ej: *Ganoderma lucidum*.
3. Los que han sido probados o se sospecha que poseen propiedades tóxicas son llamados Hongos no comestibles, ej: *Amanita muscaria*.
4. Aquellos cuyas propiedades permanecen no definidas caen en la categoría de "Otros Hongos". *Pleurotus ostreatus*.

1.5.1 Descripción de etapas del cultivo.

Para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* existen distintas etapas descritas a continuación:

Aislamiento del micelio.

El micelio se lo debe inocular en un medio de crecimiento estéril y rico en nutrientes, después se lo encuba a 25°C. Para proceder a elaborar el semillero se selecciona un cereal (trigo, cebada, entre otros) se hidrata y se envasa luego se esteriliza durante 15 minutos en autoclave a una temperatura de 121°C y se incuba a 25°C durante 15 a 20 días aproximadamente (Rios, Hoyos, y Mosquera, 2010).

La siembra.

Colonización del sustrato: para esta etapa se debe mantener a una temperatura de entre 25 y 28°C y con una humedad relativa de entre 90 a 95% en la oscuridad durante aproximadamente 20 días (Rios et al., 2010).

Una vez obtenido el sustrato estéril definitivo, se procede a la inoculación esto se lo

puede hacer donde va a ser instalado el cultivo o antes del envasado (aquellos preparados destinados al uso doméstico). A partir de ese momento el micelio debe encontrarse en las condiciones de humedad y temperatura adecuadas para expandirse por todo el sustrato. Se debe esperar a que el crecimiento sea máximo para un cambio de condiciones de temperatura, luz y ventilación para así inducir la fructificación (Murgadas, 2009)

Fructificación y cosecha de setas

Para la fructificación se debe mantener temperaturas entre 15 y 20°C con una humedad relativa de entre 80 a 90%, humedeciendo el piso por micro aspersion o realizando riegos de forma directa en las bolsas simulando riego por micro aspersion en caso de no contar con un sistema de riego instalado, en esta etapa aparecerán primordios que aproximadamente entre 7 a 10 días formaran cuerpos fructíferos listos para la cosecha (Rios et al., 2010)

Aparecerán en diferentes oleadas para las cosechas, esto se debe tomar en cuenta si se quiere obtener una producción más regular (Murgadas, 2009)

1.5 Especies cultivables industrialmente.

El cultivo de diversas especies de hongos del género *Pleurotus*, está adquiriendo gran importancia en Francia, Italia y España. La especie más conocida es *Pleurotus ostreatus*, pero también existen otras especies de *Pleurotus*, de interés comercial como por ejemplo *Pleurotus eryngii* y *Pleurotus comucoploides* (Barbado, 2003).

1.6 *Pleurotus ostreatus* y su potencial nutricional.

Los hongos son alimentos que contienen pocas calorías con alto contenido proteico, en base a su contenido nutricional pueden ser similares a las leguminosas, lo que explica la denominación con la que también se los conoce; “carne de bosque” o “carne vegetal”. La proteína contenida en las setas es digestible hasta un 70 - 80% y posee un elevado valor nutritivo. La tasa proteica varía de acuerdo a la edad y especie del hongo (Steineck, 2007).

Varnero et al. (2010) citan a (Espinoza, 1997), mencionando que la composición química de *P. ostreatus* puede llegar a variar dependiendo de la cepa utilizada; esta variabilidad puede ser causada por diferencias en el contenido de humedad, temperatura y la presencia de nutrientes. Además de su valor nutritivo, *P. ostreatus* posee enzimas especiales que degradan lignina, fenoles y polifenoles hasta en un 60% del contenido

original, siendo así esta especie la más usada en la investigación de residuos aptos para su cultivo.

Pleurotus ostreatus contiene entre 57% y 61% de carbohidratos, 26% de proteína, 11,9% de fibra y 0,9% a 1,8% de grasas con base a su peso seco, también posee vitaminas como la niacina, tiamina (B1), vitamina B12, vitamina C o ácido ascórbico y minerales como potasio, fósforo y calcio (Barros, Cruz, Baptista, Estevinho, y Ferreira, 2008).

1.7 Objetivos.

Objetivo General.

Optimizar el uso de residuos agroindustriales con los que se cuentan dentro de nuestra localidad (cascarilla de café, cascarilla de arroz y aserrín), para su uso como sustratos en la producción de *Pleurotus ostreatus*.

Objetivos Específicos.

Determinar la tasa de producción de *Pleurotus ostreatus* que se obtiene en cada tratamiento.

Evaluar la cantidad de proteína de *Pleurotus ostreatus* obtenido en cada uno de los tratamientos aplicados.

Conocer el grado de aceptación al público para el producto.

CAPÍTULO II
MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio.

El presente proyecto se realizó en la provincia de Loja en la Estación Agropecuaria de la Universidad Técnica Particular de Loja (EA–UTPL), está ubicada en el sector Cajanúma del Cantón Loja a 9km de la ciudad (vía Loja-Malacatos). Cuenta con temperaturas promedio de 7°C, humedad relativa de 90%, altitud de 3270msnm y una precipitación anual de 2188mm (Granda y Torres, 2011).

La fase de laboratorio se la realizó en los Laboratorios de Microbiología que está ubicado en el departamento de Biología y Genética de la Universidad Técnica Particular de Loja.

Diseño experimental y análisis estadístico.

Se plantearon cuatro tratamientos con 30 réplicas para cada uno. Los tratamientos planteados, se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 1. Tratamientos usados para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Tratamientos	Sustratos
T1	cascarilla de café + sustrato de cascarilla de arroz + aserrín
T2	Aserrín
T3	cascarilla de arroz
T4	cascarilla de café

Esta tabla indica los residuos usados para la determinación de tratamientos, las fundas de los tratamientos 2,3 y 4 con un solo sustrato se las lleno de 1lb, para el T1 (tratamiento1), se colocó 1lb de mezcla de los tres sustratos en partes iguales (relación 1:1:1).

Fuente: Autora

Elaboración: Autora.

El análisis estadístico dependerá de la normalidad de los datos que se obtenga a partir de test Shapiro Wilk. Dándose el cumplimiento de supuestos se realizó pruebas no paramétricas en este caso Wilcoxon test.

El análisis estadístico se lo realizo para (T1 y T2), de T3 y T4 no se obtuvo datos para su evaluación una vez aplicado (Shapiro Wilk test), se determinó que los datos (Anexo 3) presentaron una distribución anormal, por lo que se optó por una prueba no paramétrica aplicable a dos tratamientos como Wilcoxon test.

2.2 Procesos de producción.

2.2.1 Reactivación de cepas y elaboración de semillero.

La cepa de *Pleurotus ostreatus* se almacena en el fungario del Herbario de la Universidad Técnica Particular de Loja HUTPL (f). El hongo se reactivó desde micelio a cajas con PDA y fue incubado a 27° C, hasta el crecimiento total sobre el medio sólido.

Una vez colonizada la caja Petri se elaboró el semillero: para esto se usó trigo como inóculo base para la propagación del micelio. Esto se logra remojándolos en abundante agua y quitando las impurezas que quedan en la superficie, el procedimiento se repite las veces que sea necesario hasta que no se observen impurezas. El tiempo de remojo que se aplicó fue de 13 horas obteniendo una humedad de un 80%, después se esterilizó por autoclave a una temperatura de 121°C durante una hora. El enfundado del trigo se lo hace en frío para posterior inoculación del hongo.

El semillero se incuba a 27°C, para esperar el crecimiento micelial (aproximadamente 20 días) y posterior siembra. En la (Figura 1) se explica el proceso de reactivación y replicación de las cepas y la elaboración del semillero en condiciones asépticas.

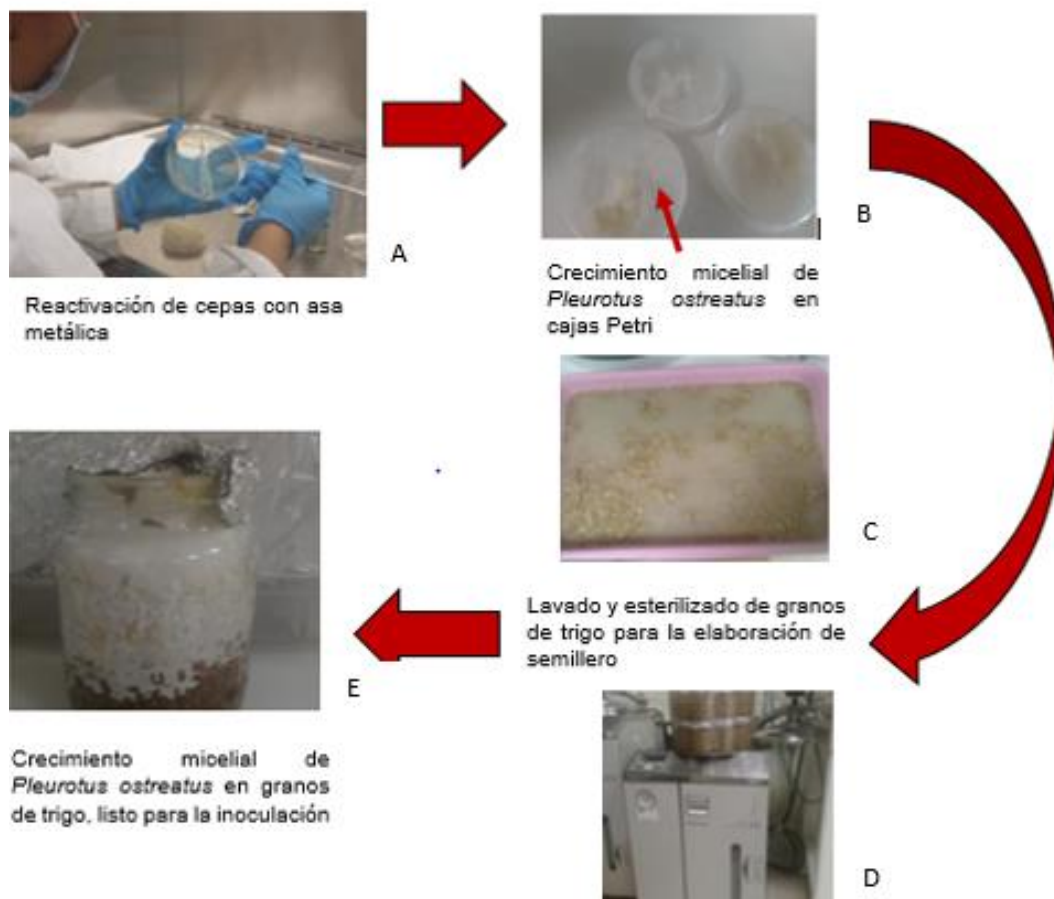


Figura 1. (A - D) Replicación de cepas de *Pleurotus ostreatus* y elaboración de semillero.

Fuente: Autora

Elaboración: Autora.

2.2.2 Siembra e inoculación en los sustratos.

La siembra se la realizó en diferentes sustratos de materia orgánica, esto es cascarilla de café (*Coffea arabica* L.), cascarilla de arroz (*Oryza sativa* L.) y aserrín contenidos en bolsas plásticas, considerados tratamientos y detallados en el diseño experimental.

En la (Figura 2) se hace la descripción gráfica del proceso de esterilización de sustratos, siembra, enfundado e incubación de bolsas con inóculo de *Pleurotus ostreatus*.



Figura 2:(A – F) Siembra e incubación del inóculo de *Pleurotus ostreatus* en bolsas plásticas.

Fuente: Autora.

Elaboración: Autora.

2.2.3 Colonización, fructificación y cosecha.

Las bolsas plásticas inoculadas con *Pleurotus ostreatus* se incubaron a una temperatura de 24° a 27°C en oscuridad, para todos los tratamientos hasta esperar su colonización total y posterior desarrollo de los diferentes periodos (micelio, primordios,

basidiocarpos).

La cosecha se realizó cortando los basidiocarpos maduros (grandes aproximadamente de 5 a 10cm de longitud, carnosos y color blanco a grisáceo en su parte superior). En la (Figura 3) se encuentra detallado de forma gráfica este proceso.

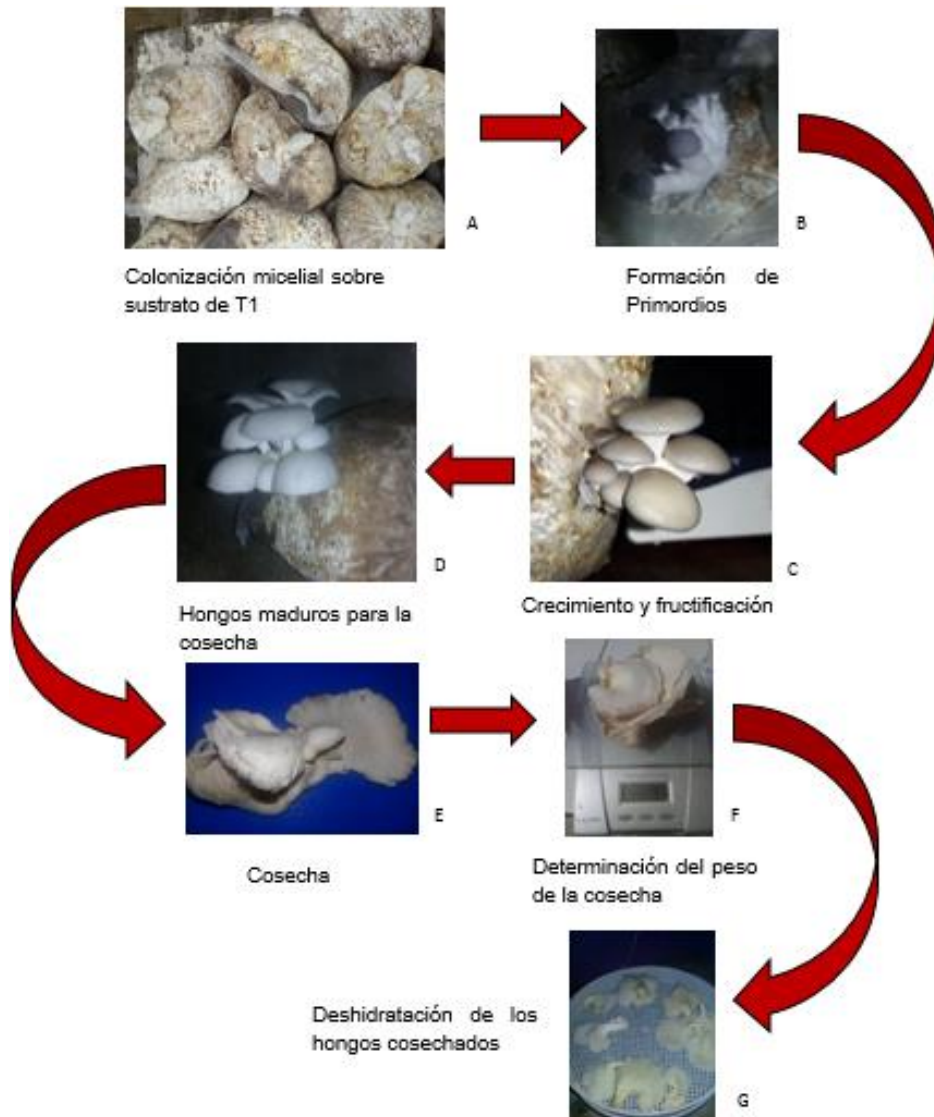


Figura 3. (A - G) Crecimiento, fructificación y cosecha de *Pleurotus ostreatus*.

Fuente: Autora.

Elaboración: Autora.

2.3 Técnicas analíticas

2.3.1 Parámetros de productividad

Para conocer el potencial de producción de las cepas estudiadas se determinó la eficiencia biológica (EB) y la tasa de producción (TP) (Vega y Franco, 2013). Fórmulas detalladas a continuación;

- Eficiencia biológica

$$EB (\%) = \frac{\text{Peso de hongos frescos}}{\text{Peso del sustrato fresco}} * 100$$

- Tasa de producción

$$TP = \frac{\text{Eficiencia biológica}}{\text{Número de días del proceso}}$$

- Análisis de proteína.

El contenido de proteína se determinó por el método de Kjeldahl, el que permite calcular la cantidad de nitrógeno presente en el alimento, este método consiste en la ebullición de la muestra en ácido sulfúrico concentrado para efectuar la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y reducir el nitrógeno orgánico. Este es un método oficial descrito por la normativa: (AOAC, USEPA, ISO) (Becker, 2012), su procedimiento esta descrito a continuación:

Procedimiento Digestión.

Pesar 0,5g de muestra e introducirlo en un balón de Kjeldahl

Añadir 6g de catalizador

Calentar en el digestor, primero a temperatura moderada hasta que la formación de espuma cese y después a modo de mantener una ebullición activa hasta que la solución clarifique. Continuar por 15 – 20 minutos más después alcanzar este punto.

Dejar enfriar y añadir 200ml de agua destilada con agitación constante

El análisis puede suspenderse en este punto en caso de ser necesario, dejando los balones bien tapados.

Destilación

Colocar 40 ml de ácido bórico en Erlenmeyer de 500ml, añadir 2 – 3 gotas de indicador
Sosteniendo el balón Kjeldahl en posición inclinada añadir cuidadosamente 40 ml de NaOH al 45% a modo que resbale por las paredes y se formen 2 capas

Conectar inmediatamente al destilador mezclar con agitación rotatoria

Destilar hasta recoger 150ml de destilado.

Alzar el condensador de manera que la punta de este quede fuera de la solución y apagar el sistema de calentamiento.

Enjuagar la punta del condensador con agua destilada

Titular el destilado con CIH 0,1 N estandarizado

Realizar un ensayo en blanco

Fórmulas para determinar el porcentaje de nitrógeno y proteína

$$\%N = \frac{(V - Vb)1,401 * K}{P}$$

$$\%P = \%N * 6,25$$

Siendo;

P: proteína bruta

N: porcentaje de nitrógeno

V: volumen de titulación de la muestra

Vb: volumen de titulación del blanco

K: constante de normalización de CIH 0,1N

P: peso de muestra en gramos

El valor de K debe ser estandarizado al 0,1N, sin embargo, se debe realizar los cálculos respectivos para poder obtener el valor de la normalidad realidad

El proceso para el análisis de proteína se encuentra descrita gráficamente en la (Figura 4).

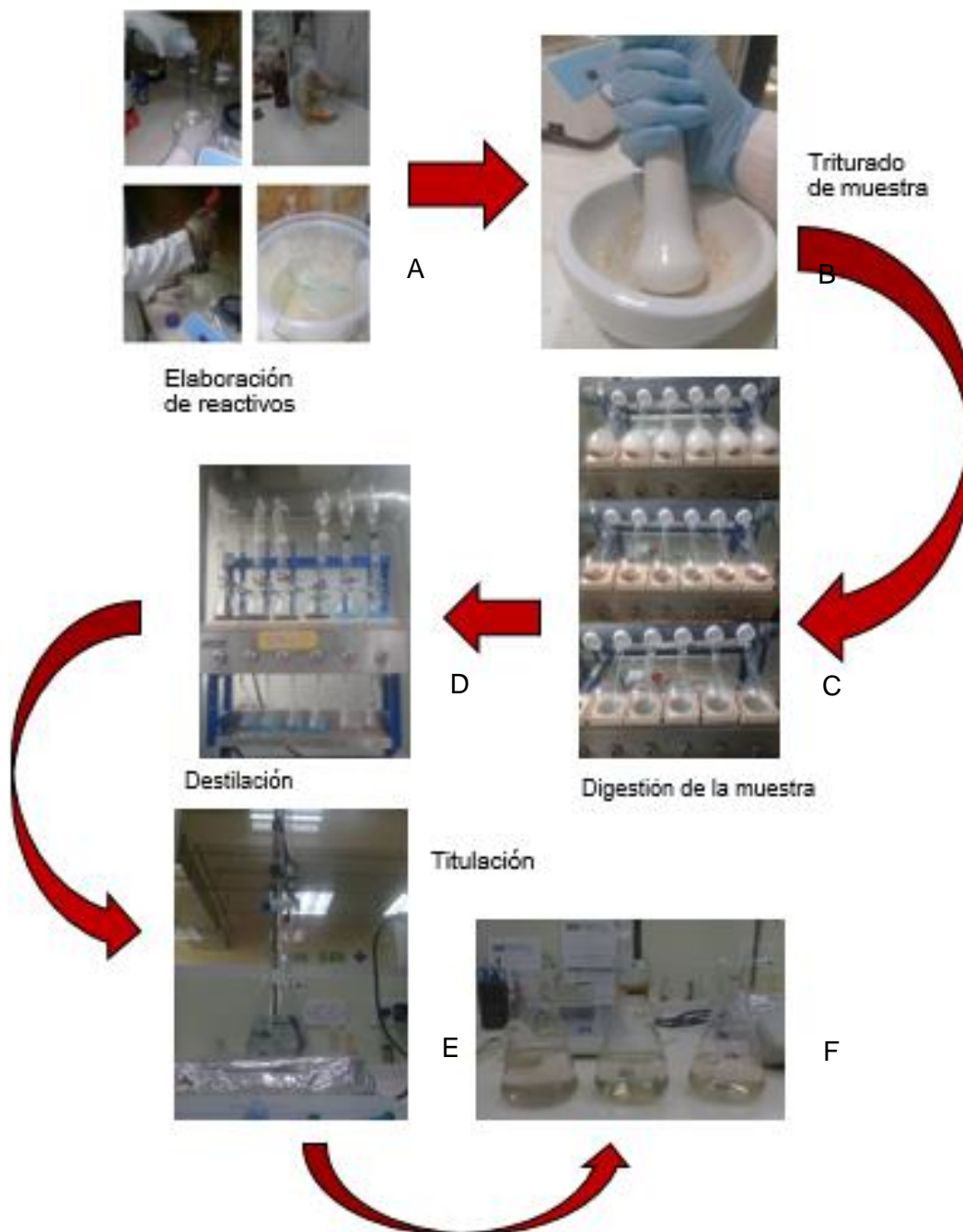


Figura 4. (A – F) Flujograma del proceso de determinación de proteína bruta mediante método de KJELDAHL

Fuente: Autora.

Elaboración: Autora.

2.4. Degustación.

Se elaboró una crema a base de hongo pulverizado más crema de leche relación 1:2 p/v y hervido durante 15min, luego se hizo una prueba de degustación para poder

determinar el grado de aceptación del producto, algunas preguntas en base a la escala de Likert:

- ¿Está de acuerdo con la presentación del hongo a partir de una crema?

Muy de acuerdo

De acuerdo

Ni en acuerdo, ni en desacuerdo.

En desacuerdo.

Muy en desacuerdo

Para la calificación del sabor de la crema se realizó la siguiente tabla:

Tabla 2. Rango de puntuación asociados al sabor de la crema.

Sabor de la crema	Puntuación
Muy bueno	5
Bueno	4
Regular	3
Malo	2
Muy malo	1

Fuente: Autora

Elaboración: Autora.

CAPÍTULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados

Antes de iniciar con la descripción de resultados, cabe indicar que los tratamientos T3 (tratamiento 3) y T4 (tratamiento 4) se perdieron, debido a contaminaciones como la presencia de mohos negros y verdes, además, de plagas como hormigas, por lo cual no pudieron ser evaluados. Por lo que el trabajo se lo realizó solo con los tratamientos T1 (tratamiento 1) y T2 (tratamiento 2)

Parámetros productivos.

Siembra.

En la figura 5, se puede observar la producción obtenida en los tratamientos T1 y T2, se puede apreciar que T1 fue superior a T2, no mostrando diferencias estadísticas significativas entre ellos..

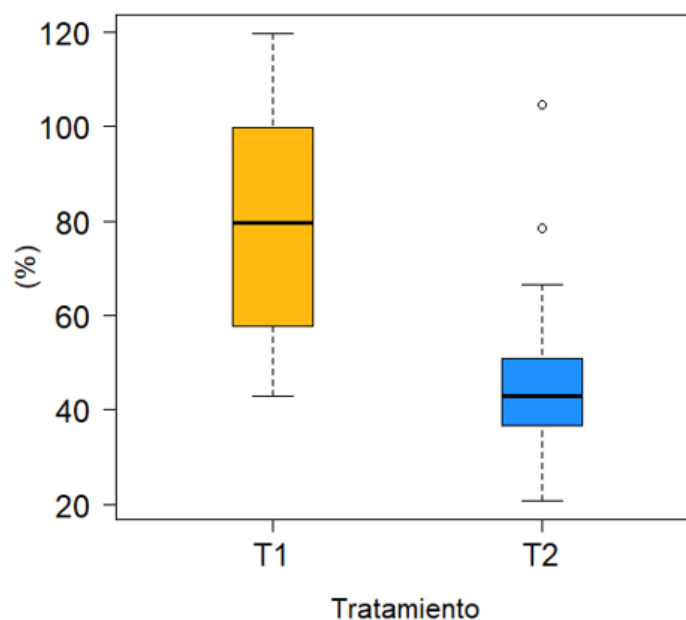


Figura 5. Tasa de producción obtenida en los tratamientos analizados.

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

El T1 con el 80% en su media y una tasa mínima y máxima de producción de 40 % y 120% respectivamente, fue mayor en comparación al T2 con una media del 40% y tasa mínima y máxima de 20 y 65 % respectivamente.

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

En cuanto a la eficiencia biológica (EB) (Figura 6), el tratamiento T1 obtuvo mejores resultados que el T2, mostrando diferencia estadística significativa entre ellos, con una diferencia de 7%. (Tabla 3).

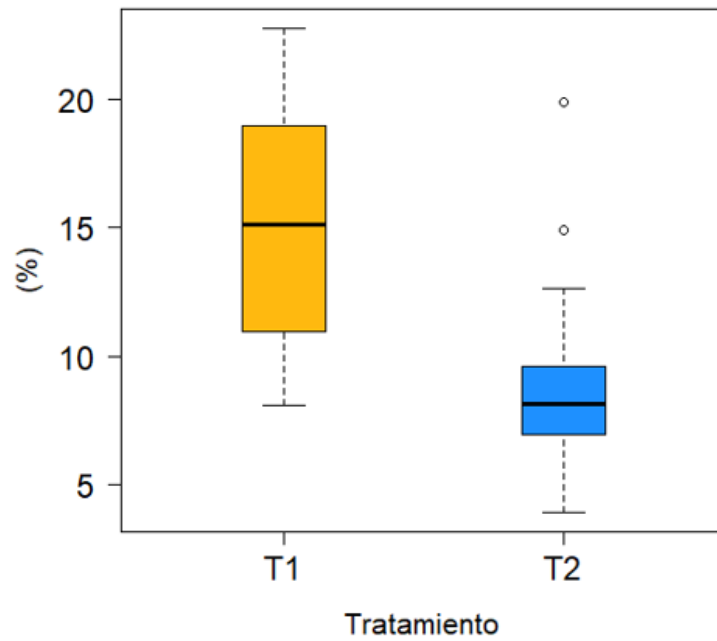


Figura 6. Eficiencia biológica obtenida en los tratamientos analizados

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

El T1 con el 15% en su media es superior al T2 con una media del 8%, con una diferencia significativa de $4,48e^{-08}$ p valor < al 0.05.

Los valores del porcentaje de proteína (Figura 7), muestra que sus medias están entre el 35 y 40%, el T2 posee una leve diferencia mayor en porcentaje de proteína frente al T1, estadísticamente no hay diferencias significativas..

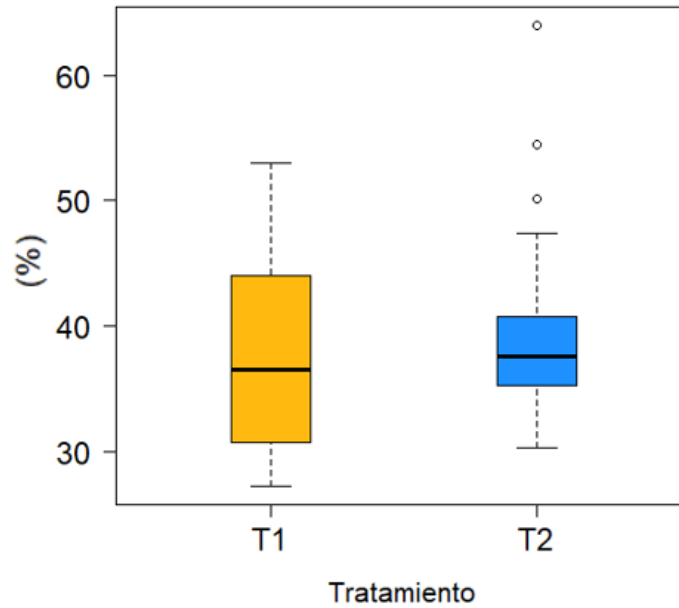


Figura 7. Porcentaje de proteína de los tratamientos analizados.

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

El T2 con el 38% en su media es superior al T1 con una media del 36%, con una diferencia significativa de $4,68e^{-08}$ p valor < al 0.05.

Tabla 3. Resultados de diferencias estadísticas.

WILCOXON TEST		
VARIABLES ANALIZADAS	W	P- VALOR
EB	820,5	<0,0001
TP	820	<0,0001
P	390	0,3817

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Grado de aceptación.

La crema del hongo se muestra altamente aceptada (Figura 8), y el sabor fue considerado muy bueno en la escala de Likert con una puntuación (4 – 5).

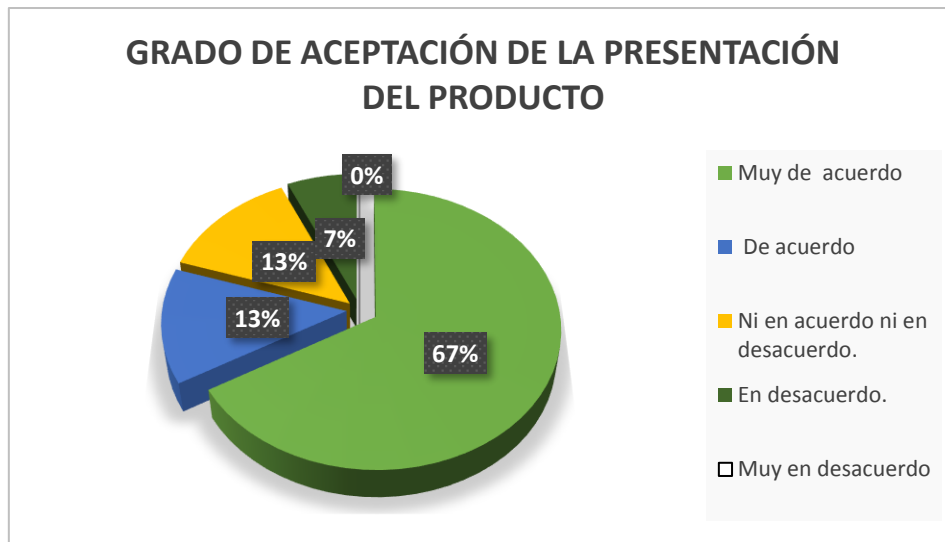


Figura 8. Representación del grado de aceptación del producto.

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

El 67% aceptó el subproducto del hongo manifestando que se encuentran muy de acuerdo con la forma de la presentación del producto, el 7% en desacuerdo y 0% manifestaron estar muy en desacuerdo con la presentación.

3.2. Discusión.

Los días para la fructificación de *Pleurotus ostreatus* fue de 39 días para el T1 y 50 días para el T2, superiores en aproximadamente 10 días a los determinados en otros estudios como los de Rios, Hoyos, y Mosquera (2010), sin embargo la diferencia puede deberse a que en esos trabajos se cultivaron los hongos en rangos de temperaturas distintas al de este trabajo, además de no reportar problemas como contaminación y patógenos en el manejo de los cultivos. Por otro lado Caicedo (2013) reporta periodos de tiempo de fructificación cercanos al de este trabajo. En este sentido los tratamientos 1 y 2 muestran diferencias con al menos 6,6% para EB y un 30% para TP siendo significativas en ambos casos. , pero no hubo diferencias significativas para la proteína obtenida entre T1 y T2 debido a la diferencia de 1.7%.

La eficiencia biológica (EB) es un indicador de aceptabilidad del sustrato para el cultivo del hongo, para que el sustrato sea aceptable para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* tiene que ser mayor a un 100% esto es mencionado por Salmones et al. (1997) citado por (Donado, 2014). Por lo tanto los valores obtenidos en este trabajo nos dan a entender que estos sustratos no son muy adecuados para el cultivo del hongo, en comparación con porcentajes de EB de otros sustratos analizados: (Valencia de Ita, Castañeda, Huerta, y Romero, 2019) reporta que en carrizo se tuvo (123,21%) y en paja de cebada (59,95%), por otro lado (Guzmán, Herrera, Fuentes, y Hernández, 2019) reporta que en restos de cultivo de frejol se tuvo (64%) y tuza u olote de maíz (62%). En cambio para

(Caicedo, 2013) dentro de su trabajo se pudo conocer que el aserrín, kudzu, hojas de plátano y anturio pueden mantener EB de (181% – 257%) y para (Bermúdez, García, y Mourlot, 2007), los sustratos de cascarilla de arroz y pulpa de café la EB puede estar entre 56% - 160%. El p valor de $4,48e^{-08} < a 0,05$ indica que existe diferencias significativas entre el T1 y T2 para este parámetro productivo.

En cambio los valores de tasa de producción (TP), en este trabajo son superiores a los reportados por (Guzmán et al, 2019) y (Valencia de Ita et al, 2019) tomando en cuenta que para el cálculo de la tasa de producción interviene la EB y el tiempo del cultivo (Bermúdez et al., 2007). Determinando que a pesar el uso de los sustratos elegidos para nuestro trabajo tiene un gran potencial para la producción de este cultivo, superando los valores reportados. El p valor de $4,68e^{-08} < a 0,05$, determinan que existe diferencias significativas entre los dos tratamientos analizados.

Los valores obtenidos en este trabajo superan porcentajes de proteína reportados en otras investigaciones. Pero existen reportes de otras especies de *Pleurotus*, que tienen valores cercanos a los de la proteína aquí obtenidos. Para los hongos de la cepa *P. pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN82 analizados por Vega y Franco (2013) se ha encontrado una alta variabilidad en el contenido de proteína (23-43%), siendo estos valores cercanos al rango de porcentajes determinados en este trabajo. Motato, Mejía, y León, (2006) mencionan que *P. djamor* cultivado en hojas de plátano y aserrín de abarco tiene un 38,5% de proteína. En otros sustratos se ha determinado los siguientes porcentajes de proteína; en paja de trigo 25,6%, en eucalipto 25,4%, en paja de eucalipto 24,4% y en álamo 22,9% (Varnero et al., 2010). El p valor obtenido en el análisis sobre los datos de proteína fue $0,3817 > a 0,05$, determinando que la evaluación de los dos tratamientos no tiene diferencias significativas, indicando que no hay influencia sobre el porcentaje de proteína de *Pleurotus ostreatus*, el hongo seguirá manteniendo su porcentaje de proteína a pesar de los sustratos usados para el cultivo del mismo.

CONCLUSIONES.

- El T1 que contiene como sustrato cascarilla de café + cascarilla de arroz + aserrín se muestra como el mejor para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* siendo este el que obtuvo una mayor tasa de producción y eficiencia biológica. en las condiciones del estudio.
- El porcentaje de proteína de *Pleurotus ostreatus* cultivado fue similar en los dos tratamientos con el 37,78 para el T1 y 38,61 para el T2.
- El subproducto como la crema de *Pleurotus ostreatus* tuvo buena aceptación por parte del público según el test realizado.

RECOMENDACIONES.

- Para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* si se usa cascarilla de arroz y café, pero se debe tener mayor control debido a que son susceptibles a contaminaciones y plagas.
- Por la aceptación y cantidad de proteína de los hongos *Pleurotus ostreatus* se podría consumir como suplemento proteico.
- Se puede usar los sustratos de T1 y T2 para un cultivo casero de este hongo debido a su factibilidad de uso en condiciones ambientales fluctuantes.
- El cultivo debe ser implementado en un cuarto climatizado para poder mantener mayor control de temperaturas y humedad, con esto se obtiene mayor rendimiento.

BIBLIOGRAFÍA.

- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., y Ferreira, I. C. F. R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2742–2747. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030>
- Becker, J. (2012). Plasmons as sensors. in association of analytical *communities*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-31241-0>
- Bermúdez, R., García, N., y Murlot, A. (2007). Fermentación sólida para la producción de *Pleurotus* sp. sobre mezclas de pulpa de café y viruta de cedro. *Tecnología Química*, XXVII(2), 55–62.
- Caicedo, P. (2013). Utilización de residuos orgánicos lignocelulósico provenientes de actividades industriales para la producción de hongos comestibles *Pleurotus spp.* en el distrito especial de Buenaventura, *Colombia*. Retrieved from <http://red.uao.edu.co/bitstream/10614/5654/1/TAA02077.pdf>
- Chang, T., y Miles, P. (2004). *Mushrooms*. <https://doi.org/10.1201/9780203492086>
- Christensen, M. (1989). A View of Fungal Ecology. *Mycologia*, 81(1), 1. <https://doi.org/10.2307/3759446>
- Donado, T. (2014). Evaluación de tres sustratos para la producción de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*); *Moyuta, Jutiapa* (Universidad Rafael Landívar). Retrieved from <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2014/06/17/Donado-Tania.pdf>
- García, V. (2004). Introducción a la microbiología (2ª Ed). Retrieved from <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/WEBSTER30521807395.pdf>
- Granda , T y Torres, F (2011). Propuesta para el manejo ambiental para la actividad turística en el sector Cajanúma del parque nacional Podocarpus. Loja, Ecuador. (Universidad Nacional de Loja) Retrieved from <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/5773>
- Guzmán, D., Herrera, J., Fuentes, E., y Hernández, A. (2019). Evaluación del crecimiento y producción del hongo ostra *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones artesanales utilizando restos de cosecha en el municipio de Camotán, Chiquimula, Guatemala. *Tikalía*, XXXVII, No, 23–40.
- Herrera, T., y Ulloa, M. (2014). El reino de los hongos micología básica y aplicada (Fondo cult).

- Moore, D., Robson, G. D., y Trinci, A. P. J. (2012). 21st century guidebook to fungi. *Choice Reviews Online*, 49(07), 49-3854-49-3854. <https://doi.org/10.5860/CHOICE.49-3854>
- Motato, K., Mejía, A., y León, Á. (2006). Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisiaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*. *Vitae*, 13(1), 24–29.
- Murgadas, F. (2009). Las setas a tu alcance (AGUILAR, Ed.).
- Nieto, I. J., y Chegwin, C. (2010). Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(1), 169–179.
- Papagianni, M. (2004). Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnology Advances*, 22(3), 189–259. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.09.005>
- Piepenbring, M., López, F., y Cáceres, O. (2016). La importancia de los hongos | *Ecologistas en Acción*.
- Piña, A. B., Nieto, D. A., y Robles, F. (2016). Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (*Pleurotus* spp.). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32(Residuos sólidos), 141–151. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.05.10>
- Pitt, J. I., y Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage* (Third). <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Ramón, P., y Ramón, D. (2012). Análisis de la capacidad degradativa de residuos lignocelulósicos utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* var. Florida (Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca). Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2811/6/UPS-CT002462.pdf>
- Rios, P., Hoyos, J., y Mosquera, S. (2010). Evaluación de semillas de *Pleurotus ostreatus*. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(2), 87–93.
- Royse, D. J., y Sánchez, J. E. (2017) La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp (pp. 17–25). Retrieved from <https://goo.gl/tcqsQ4>
- Silva, R., Fritz, C., Cubillos, J., y Díaz, M. (2010). Manual para la producción de hongos comestibles (*Shiitake*). 38. Retrieved from

<http://www.volveralatierra.com.ar/fotos/downloads/2011/11/Manual-produccion-hongos-comestibles-shitake.pdf>

- Steineck, H. (2007). Cultivo comercial de champiñón (2a ed; Acribia, Ed.). Zaragoza (ES).
- Valencia de Ita, M. Á., Castañeda, M. D., Huerta, M., y Romero, O. (2019). Carrizo silvestre (*Arundo donax*) como sustrato alternativo en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Scientia Fungorum*, 48, 15–22. <https://doi.org/10.33885/sf.2018.48.1231>
- Varnero, M. T., Quiroz, M. S., y Álvarez, C. H. (2010). Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). *Informacion Tecnologica*, 21(2), 13–20. <https://doi.org/10.16124154i09>
- Vaupotic, T., Veranic, P., Jenoe, P., y Plemenitas, A. (2008). Mitochondrial mediation of environmental osmolytes discrimination during osmoadaptation in the extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii*. *Fungal Genetics and Biology*, 45(6), 994–1007. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2008.01.006>
- Vega, A., y Franco, H. (2013). Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. *Información Tecnológica*, 24(1), 69–78. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000100009>
- Wolf, M., Seibel, P. N., Dandekar, T., y Lynn, D. H. (2006). A Java applet for exploring the new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(5), 315–315. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2006.00123.x>

ANEXOS

Anexo 1. Base de datos del tratamiento 1 (mezcla de sustratos)

TRATAMIENTO 1			
Núm. de funda	EB%	TP%	%P
1	18,71	98,47	32,27
2	11,33	59,63	40,74
3	20,31	106,89	33,05
4	19,64	103,37	29,60
5	10,26	54,00	29,85
6	19,77	104,05	50,08
7	14,8	77,89	38,80
8	10,97	57,74	50,03
9	20,08	105,68	44,07
10	14,88	78,32	38,63
11	10,26	54,00	52,97
12	10,66	56,11	46,53
13	16,8	88,42	29,55
14	10,53	55,42	27,54
15	13,95	73,42	32,20
16	17,98	94,63	28,94
17	13,51	71,11	30,71
18	20,31	106,89	33,36
19	15,82	83,26	43,02
20	16,66	87,68	27,27
21	10,93	57,53	35,66
22	8,13	42,79	29,43
23	15,37	80,89	37,42
24	12,13	63,84	33,77
25	10,44	54,95	46,83
26	18,97	99,84	44,08
27	22,75	119,74	44,02
28	14,8	77,89	43,15
29	16,44	86,53	46,11
30	20	105,26	33,72

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 2. Base de datos para tratamiento 2 (aserrín).

TRATAMIENTO 2			
Núm. de funda	EB (%)	TP%	%P
1	7,42	39,06	35,20
2	4,36	22,92	35,23
3	8,80	46,32	35,09
4	4,49	23,63	31,81
5	6,76	35,56	47,39
6	8,76	46,08	36,23
7	5,51	29,01	37,77
8	4,22	22,22	42,73
9	8,09	42,57	41,34
10	6,98	36,73	40,69
11	9,64	50,76	38,62
12	3,96	20,82	40,77
13	7,51	39,53	37,29
14	9,20	48,42	37,33
15	19,87	104,56	37,87
16	7,24	38,13	36,40
17	4,09	21,52	37,19
18	9,56	50,29	40,01
19	8,40	44,21	30,90
20	8,09	42,57	31,33
21	9,56	50,29	37,26
22	8,22	43,27	36,72
23	10,44	54,97	34,15
24	14,93	78,60	39,82
25	12,67	66,67	45,39
26	7,82	41,17	30,28
27	11,02	58,01	40,78
28	10,13	53,33	54,49
29	11,60	61,05	63,98
30	7,69	40,47	50,14

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 3. Resultados de distribución de los datos

SHAPIRO WILK		
VARIABLES ANALIZADAS	W	P- valor
EB	0,94622	0,01039
TP	0,94627	0,01044
P	0,94992	0,01543

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 4. Resultados de diferencias estadísticas.

WILCOXON TEST		
VARIABLES ANALIZADAS	W	P- valor
EB	820,5	4,48E-08
TP	820	4,68E-08
P	390	0,3817

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 5. Etapas de desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* acorde a los días de registro de su observación.

ETAPAS DEL CULTIVO	T1	T2	T3	T4
Inoculación	1	1	0	0
Colonización micelial completa	30	38	0	0
Primordios	35	45	0	0
Inicio de fructificación	39	50	0	0

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 6. Tratamiento tres (cascarilla de arroz) contaminado con moho negro.



Moho negro

Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 7. Cuarto de incubación en la EA – UTP



Fuente: Autora

Elaboración: Autora

Anexo 8. Incubación de *Pleurotus ostreatus* en bolsas plasticas.



Fuente: Autora
Elaboración: Autora

Anexo 9. Daños en el hongo por temperatura y humedad inadecuada.



Fuente: Autora
Elaboración: Autora

Anexo 10. Fructificación de *Pleurotus ostreatus*.



Fuente: Autora
Elaboración: Autora