



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA DE MICROORGANISMO
“SIXTO DAVID ROJO”**

**Influencia del tamaño del reactor en el crecimiento y
producción del hongo champiñón ostra (*Pleurotus ostreatus*)
cepa BIOMI 104 sobre tusa de maíz**

**TRABAJO PRESENTADO ANTE LA ILUSTRE UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
POR EL**

BR. JOSÉ DE JESÚS TORRES RIVAS

TUTOR. MSC. BALMORE GUERRERO CARDENAS

**COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA**

Mérida, 2022

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al MSc. Balmore Guerrero asesor de mi trabajo especial de grado. Así como a los profesores Zarack Chacón y Alexis Zambrano, por formar parte del comité de este trabajo, por sus valiosas sugerencias de interés en la revisión del presente trabajo.

A la Universidad de los Andes, Mérida Venezuela; específicamente a todo el personal del Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos “SIXTO DAVID ROJO”, a los profesores, Zarack Chacón y Balmore Guerrero por su amistad y apoyo durante la realización de esta investigación.

Al Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas “ICAE”, por permitirme desarrollarme como persona, estudiante y como investigador, especialmente a los profesores, Anairamiz Aranguren, Daniel Llambi, Lirey Ramirez, y no sin olvidar al resto de profesores y personal, que de una u otra manera contribuyeron a mi formación.

A S.C. Línea los Andes por permitirme desarrollar mis habilidades laborales y de atención al público en el transcurso de mi carrera universitaria.

A todos y cada uno de mis compañeros en la Facultad de Ciencias, con especial cariño, respeto, agradecimiento y admiración para Camilo Araujo, Edwin Parada, Román González, José Manuel Hoyos y José Vicente González.

A todos los miembros de mi familia, tanto los Torres como los Rivas quienes; de diferentes maneras, apoyaron, ayudaron, alentaron y sobre todo motivaron a seguir mis sueños y a luchar por ellos.

Por último, pero no menos importante, agradezco a TISA, porque, aunque las dificultades no han faltado, siempre ha estado para ambos y me ha dado fuerza al desfallecer, apoyando cada decisión y sobre todo luchando porque cumpla mis sueños.

www.bdigital.ula.ve

DEDICATORIA

A mis padres:

Yadira Rivas Chacón y José Torres Quintero

Quien siempre me ha apoyado y ha sido un ejemplo de rectitud, constancia, respeto para mi superación personal.

A mis hermanos:

Juan Carlos, Jessica, Josianny y Gabriela

Con quien he compartido gran parte de mi vida, a quien agradezco su gran paciencia, cariño y ejemplo de constancia, y por estar presente en los momentos más difíciles.

A mi abuela

*Carmen Quintero de Torres.
A quien agradezco su gran paciencia y siempre creer en mí.*

A mis Tíos

*Carlos Rivas, Jackeline Candelas y Mary Janet Torres
A quien agradezco sus múltiples ayudas, fortaleza, apoyo y ejemplo.*

A la Lic. Elisa Beatriz Villamizar Soto

A quien agradezco su gran paciencia, fuerza, apoyo y sobre todo amor para siempre creer en mí.

INDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	III
DEDICATORIA.....	V
INDICE.....	VI
INDICE DE TABLAS.....	XIII
INDICE DE FIGURAS.....	XIII
INDICE DE ANEXOS.....	XIV
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XV
RESUMEN.....	
1	
ABSTRACT.....	2
CAPITULO I: Introducción.....	3
1.1 Los hongos.....	4
1.2 Ciclo de vida de los hongos del filum Basidiomycota	5
1.3 Género Pleurotus.....	7
1.4 Importancia del género Pleurotus.....	11
1.4.1 Pleurotus ostreatus.....	14

1.5 Factores que afectan el crecimiento y fructificación de especies del género Pleurotus.....	15
1.6 Cultivos de hongos comestibles.....	18
1.7 Producción de hongos comestibles mediante Fermentación en Estado Sólido (FES).....	18
1.8 Biorreactores para Fermentación de Estado Sólido.....	20
1.8.1 Cultivo de hongos comestibles mediante FES.....	27
1.9 Evaluación de la producción de hongos comestibles.....	32

CAPITULO II: Antecedentes33

CAPITULO III.....36

3.1 Justificación.....36

3.2 Hipótesis.....37

3.3 Objetivos.....37

CAPITULO IV: Materiales y Métodos.....38

4.1 Materiales

4.1.1 Microorganismo.....38

4.1.2 Medios de cultivo.....38

4.2 Métodos.....	38
4.2.1 Preparación de los medios de cultivo.....	38
4.2.2 Preparación de inóculos.....	39
4.2.3 Preparación del sustrato e inoculación de los biorreactores.....	39
4.2.4 Proceso de Incubación y Fructificación.....	40
4.2.5 Determinación de las características morfo-anatómicas de <i>P. ostreatus</i> cepa BIOMI104 en tusa de maíz.	41
4.2.6 Determinación del efecto del tamaño del biorreactor en el tamaño y calidad de la producción de <i>P. ostreatus</i>	41
4.2.7 Determinar el efecto del tamaño del biorreactor en la eficiencia biológica y tasa de producción de la producción de champiñón ostra (<i>P. ostreatus</i>) en tusa de maíz.....	41
4.2.8 Determinación de la Relación área-volumen de los biorreactores para la producción de <i>P. ostreatus</i> en tusa de maíz.	42

CAPITULO V: Resultados y Discusión.....43

5.1 Características morfo-anatómicas de la cepas BIOMI104.	43
5.2 Crecimiento del micelio de <i>P. ostreatus</i> en los reactores.....	44
5.3 Efecto del tamaño del biorreactor sobre la calidad de los carpóforos de <i>P. ostreatus</i>	46

5.4 Efecto del tamaño del biorreactor en la eficiencia biológica y tasa de producción de <i>P. ostreatus</i> en tusa de maíz.....	48
5.5 Determinación de la relación área/volumen.....	51

CAPITULO VI

6.1 Conclusiones.....	54
6.2 Recomendaciones.....	55

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS.....	56
ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.1 HISTORIA Y DESARROLLO DE LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO. TOMADO DE RODRÍGUEZ-COUTO Y SANROMÁN, (2005).	20
TABLA 1.2 APLICACIONES ECONÓMICAS DE LAS FERMENTACIONES EN ESTADO SÓLIDO (FES). TOMADO DE PÉREZ- GUERRA <i>ET AL.</i> , 2003.....	21
TABLA 1.3 CLASIFICACIÓN Y DIFERENCIAS EN BIORREACTORES A NIVEL LABORATORIO, PILOTO E INDUSTRIAL. TOMADO DE RUÍZ-LEZA <i>ET AL.</i> , 2007....	2222
TABLA 2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA CEPA BIOMI-104 DE <i>P. OSTREATUS</i>	43
TABLA 2.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS ETAPAS DE CRECIMIENTO DE LA CEPA BIOMI-104 <i>P. OSTREATUS</i>	45
TABLA 2.3 CARACTERÍSTICAS DE LA PRODUCCIÓN DE <i>P. OSTREATUS</i> CEPA BIOMI 104 BAJO TUSA DE MAÍZ EN DIFERENTES TAMAÑOS DE BIORREACTOR. P, BIORREACTOR PEQUEÑO; M, BIORREACTOR MEDIO; Y G BIORREACTOR GRANDE.	47
TABLA 2.4. ÁREAS Y RELACIONES ÁREA/VOLUMEN PARA CADA TIPO DE BIORREACTORES PARA EL CULTIVO DE <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> CEPA BIOMI104.BIO	51

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1 FILOGENIA Y CLASIFICACIÓN DEL REINO FUNGÍ. SUB REINO DIKARYA Y HONGOS BASALES. TOMADO DE HIBBETT ET AL. (2007).....	5
FIGURA 1.2 CICLO DE VIDA DE LOS BASIDIOMYCOTA. TOMADO Y MODIFICADO DE JACKSON (2010).	6
FIGURA 1.3 CHAMPIÑÓN OSTRAL, NOMBRE CIENTÍFICO <i>P. OSTREATUS</i> (JACQUIN: FRIES). TOMADO DE KUMMER (1871).....	7
FIGURA 1.4. VARIEDAD DE ESPECIES DEL GENERO <i>PLEUROTUS</i> SP... <i>PLEUROTUS CITRINOPILIATUS</i> (A), <i>P. DJAMOUR</i> (B), <i>P. OSTREATUS</i> (C) Y LOS TRES MÁS LLAMATIVOS JUNTOS (D).	8
FIGURA 1.5 CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DEL GÉNERO <i>PLEUROTUS</i> . TOMADO DE LÓPEZ Y GARCÍA (2004....)	9

FIGURA 1.6 CICLO DE VIDA DEL GÉNERO *PLEUROTUS* TOMADO DE: VALENCIA-DEL TORO, (2002).10

FIGURA 1.7 TOCONES DE ACADIA BLANCA CON PUDRICIONES ASOCIADAS EN EL CENTRO DEL TRONCO. A) PUDRICIÓN BLANCA. TOMADO DE URCELAY ET AL. (2012).....14

FIGURA 1.8 PROCESOS A MICRO ESCALA DE QUE OCURREN EN LA FERMENTACIÓN SÓLIDA (FES) EN EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS*. TOMADO DE HÖLKER Y LENZ (2005).....27

FIGURA 1.9 ETAPAS DE LA PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES. TOMADO DE ARDÓN (2007).31

FIGURA 2.1 COMPARACIÓN ENTRE LAS EFICIENCIAS BIOLÓGICAS (EB) PARA LOS DIFERENTES TAMAÑOS DE BIORREACTOR; BIORREACTOR PARA 2,8 KG (P); 5,7 KG (M); Y 11,5 KG (G), PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTREATUS* CEPA BIOMI 104.....50

FIGURA 2.2 COMPARACIÓN ENTRE LAS TASAS DE PRODUCCIÓN PARA LOS DIFERENTES TAMAÑOS DE BIOREACTORES PARA EL CULTIVO DE *PLEUROTUS OSTERATUS* CEPA BIOMI 104. EN TUSA DE MAÍZ. BIORREACTORES PARA 2,8 KG (P); 5,7 KG (M); Y 11,5 KG (G)..... 51

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 KEY TO IDENTIFY MUSHROOMS TO GENUS USING ONLY MACROSCOPIC FEATURES (LARGENT, 1986).....67

ANEXO 2 KEYS OF GÉNERO *PLEUROTUS* (PETERSEN ET AL., 2012).69

ANEXO 3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA EFICIENCIA BIOLÓGICA DE LA CEPA *P. OSTREATUS* BIOMI 104 BAJO DIFERENTES TAMAÑOS DE BIORREACTORES EN TUSA DE MAÍZ.....73

ANEXO 4 VALORES DE EFICIENCIA BIOLÓGICA Y TASA DE PRODUCCIÓN, PARA CADA BIORREACTOR..... 70

LISTA DE ABREVIATURAS

cm: centímetros

cm³: centímetros cúbicos

g: gramos

g/L: gramos por litro

Kg: kilogramo

L: litro

mg: miligramo

mL: mililitro

mm: milímetro

Pág.: página

PDA: papa-dextrosa-agar

P. ostreatus: *Pleurotus ostreatus*

T: temperatura

°C: grados centígrados

TP: Tasa de producción

%EB: porcentaje de eficiencia biológica

°: grados sexagesimales

FES: Fermentación en Estado Sólido

RESUMEN

En la presente investigación, se estudió la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del *P. ostreatus* cepa BIOMI-104 sobre tus de maíz. Para esto, se utilizaron cuatro tamaños de biorreactores de polietileno transparente con cargas de 2,8 Kg (pequeño), 5,7 Kg (mediano), y 11,5 Kg (grande), encontrándose que los hongos crecen a mayor velocidad en los reactores pequeños y medianos. No obstante, los carpóforos producidos en los de tamaño pequeño fueron los más pequeños con una media de tamaño de $4,2 \pm 0,2$ cm diámetro, a diferencia de los otros reactores con tamaños promedio de $7,1,2 \pm 0,5$ cm (mediano) y $8,4 \pm 0,1$ cm (grande). Finalmente, se encontró que el reactor de 5,7 Kg fue el que presenta el mejor tamaño como reactor para la producción de carpóforos con la mayor eficiencia biológica ($61,76 \pm 0,07$ %) respecto a los demás, rendimiento y tasa de producción ($2,17 \pm 0,04$ %).

Palabras clave: “Champión ostra”, *Pleurotus ostreatus*, crecimiento micelial, fermentación de estado sólido, tamaño del reactor.

ABSTRACT

In the present study, we evaluated the influence of the reactor size on the growth of *P. ostreatus* strain BIOMI-104 on gopher maize. Four sizes of transparent polyethylene jacket reactor were used with loads of 2.8 Kg (small), 7.5 Kg (medium) and 11.5 Kg (large), finding that fungi grow faster in small and medium reactors. However, the fruiting bodies produced in the small ones were the smallest with an average size of 4.2 ± 0.2 cm in diameter, unlike the other reactors with average sizes of $7.1, 2 \pm 0.5$ cm (medium) and 8.4 ± 0.1 cm (large). Finally, it was found that the 9.5 Kg reactor was the one with the best size as a reactor for the production of carpophores with the highest biological efficiency (61.76 ± 0.07 %) compared to the others, yield and rate of production (2.17 ± 0.04 %).

Keywords: "Oyster mushroom", *Pleurotus ostreatus*, mycelial growth, solid state fermentation, reactor size.

CAPITULO I

Introducción

El cultivo de hongos comestibles basado en la fermentación de estado sólido (FES) para el aprovechamiento de los desechos agroindustriales y conversión en alimentos de un alto valor nutricional con potencial medicinal, representa una alternativa económica, alimentaria y agroecológica sostenible, entre estos organismos resalta el hongo *Pleurotus ostreatus* por su gran actividad al degradar la lignina y bajo impacto ambiental.

El hongo *P. ostreatus* se encuentra distribuido en todo el mundo (Kong, 2005), su producción se debe a que es un rubro con alto valor nutricional (altos contenidos de proteína cruda y bajos niveles de carbohidratos), tiene presencia de sustancias biológicas activas con propiedades medicinales, características organolépticas, facilidades de cultivo, capacidad de degradar una gran diversidad de sustratos lignocelulósicos en un amplio rango de temperaturas (Ardon, 2007), y su resistencia contra plagas (Rajaratnam *et al.*, 1987). En la actualidad, se le considera como el modelo de aprendizaje del cultivo de hongos comestibles y actividad de emprendimiento.

A pesar de que la tecnología de cultivo del género *Pleurotus spp.* Resulta sencilla, es necesario realizar investigaciones concernientes a la definición de las condiciones del proceso, tamaño del inóculo, tipo de sustrato, tiempos del proceso, entre otros; para adaptar la tecnología a los diferentes tipos de sustrato y condiciones climáticas de Venezuela y optimizar su producción. Aunque no existen muchos antecedentes al respecto, uno de los factores más importantes que influye en el proceso de producción de *P. ostreatus* es tipo, tamaño y geometría del biorreactor utilizado

En el presente trabajo se estudió la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento y producción del hongo ostra (*P. ostreatus*) cepa BIOMI104, utilizando tusa de maíz, esto como iniciativa a la implementación de metodologías fáciles de desarrollar y

reproducibles por productores venezolanos que se inician en el cultivo de hongos comestibles. Llevando a un gran impulso en la producción de estos microorganismos, lo que permitiría generar conocimiento necesario para fomentar el cultivo de estos hongos en el país.

1.1 Los Hongos

La denominación Hongo, proviene del latín 'fungus': seta; griego: 'sphongos': esponja; en el sentido botánico denominados en primera instancia como cualquier vegetal heterótrofo que carecen de flagelos y clorofila, que viven o parasitan en la materia orgánica en descomposición y producen esporas (Alexopoulos *et al.*, 1996).

En la naturaleza los hongos están presentes como descomponedores saprófitos, parásitos obligados o facultativos, y en asociaciones simbióticas como en los líquenes (asociación algas o cianobacterias con hongos) o micorrizas (hongos con la raíz de plantas superiores) (Guzmán, 1998); caracterizados principalmente por la producción de esporas; crecen formando filamentos septados ramificados denominados hifas, que se aglomeran con un crecimiento apical en redes filamentosas de masas algodonosas y radiales, formando el micelio, estructura que les permite mejor aprovechamiento de nutrimentos del medio ambiente (Kato y Ferreira, 2003).

Los hongos se diferencian por sus morfologías en macromicetes (*Subreino Dikarya*) y micromicetes (hongos microscópicos), Tradicionalmente, la taxonomía del reino se ha basado en estudios morfológicos de los rasgos macroscópicos, características ecológicas, organolépticas (olor, sabor, consistencia y aspecto) (Murakami y Takemaru, 1990) y rasgos microscópicos como las características de las esporas, cistidios, la trama o conformación del pseudot Tejido por las hifas en el carpóforo y de la estructura de la hifa; y en las propiedades bioquímicas y estructurales para así lograr la identificación de las especies del *reino Fungi* (Buchanan, 2003), en la actualidad las inconsistencias taxonómicas son resueltas mediante el análisis molecular.

El *Sub-reino Dikarya* que contempla a los antes llamados macromicetes, que comprendía las clases *Basidiomycetes* y *Ascomycetes*, son hoy conocidos como los *filo*

Basidiomycota y *Ascomycota* y se incluyen en el subreino *Dikarya* que junto a los 9 filo restantes completan el *Reino Fungí*, clasificación que se resume en la Figura 1.1 (Hibbett *et al.*, 2007).

La característica fundamental de los hongos del subreino *Dikarya* es que en su fase de reproducción sexual se produce la organización del micelio, forman un carpóforo visible aéreo o subterráneo, comúnmente identificado por las personas en general como “Hongo”.

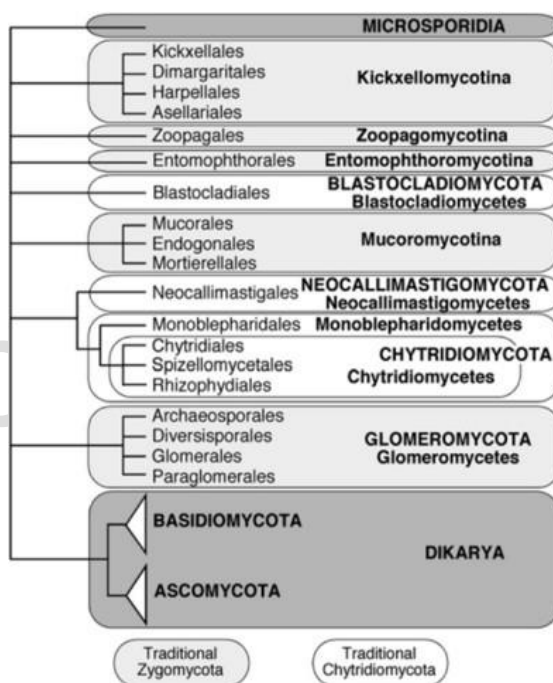


Figura 1.1 Filogenia y clasificación del Reino Fungí. Sub Reino *Dikarya* y Hongos basales. Tomado de Hibbett *et al.* (2007)

1.2 Ciclo de vida de los hongos del *filum Basidiomycota*

Los hongos del *filum Basidiomycota*, se reproducen de forma sexual y asexual como se muestra en la figura 1.2, el ciclo de vida inicia con la germinación de dos esporas conformando las líneas de hifas monocarióticas (n) o micelio primario, seguido por encuentro de estas dos líneas celulares, que dan origen a la plasmogamia, paso en que

con una vida corta, que deben encontrar una hifa compatible

Cuando están maduras las

Reproducción

Laminillas alineadas

Basidiocarpio (n+n)



con una vida corta, que deben encontrar una hifa compatible

Cuando están maduras las

Reproducción

Laminillas alineadas

Basidiocarpio (n+n)

con una vida corta, que deben encontrar una hifa compatible

Cuando están maduras las

Reproducción

Laminillas alineadas

Basidiocarpio (n+n)

despolimerización y mineralización aerobia de la lignina, como hongos ligninolíticos; permitiendo el aprovechamiento de los desechos agrícolas ricos en lignina y celulosa.

1.3 Género *Pleurotus*

El género *Pleurotus* fue descrito por Kummer (1871), incluido en la familia *Pleurotaceae* del orden *Agaricales*, definiéndolo como hongos con un carpóforo de estípote excéntrico, lateral o ausente; sin tejidos gelatinosos, lamelas decurrentes y conjuntas, que presentan esporas no amiloides de color blanco o lila pálido, con una forma elíptico-cilíndrica, de un tamaño de 4µm de longitud o más; son hongos sésiles saprofitos de madera (figura 1.3).



Figura 1.3 Champiñón ostra, nombre científico *P. ostreatus* (Jacquin: Fries). Tomado de Kummer (1871).

Las especies del género *Pleurotus* se caracterizan por presentar carpóforos blandos con un olor y sabor característico. Su tamaño y características organolepticas depende del medio donde crecen, siendo más pequeño en madera, que en substratos de desecho agroindustrial como de algodón, maní y paja. El color varía de una especie a otra, incluyendo el azul, blanco, crema café, amarillo, rosa, negro violáceo, pardo, gris, como muestra la figura 1.4. La intensidad del color se puede variar dependiendo de cambios en los factores ambientales, como son la luz y la temperatura.



Figura 1.4 Variedad de especies del género *Pleurotus* spp...*Pleurotus citrinopileatus* (a), *P. djamour* (b), *P. ostreatus* (c) y los tres más llamativos juntos (d)

En general, la coloración de cada especie de *Pleurotus* spp. Será más oscura en condiciones de luz intensa y clima frío, o más claro en luz débil y clima caliente.

El estípite en este género se dispone de forma excéntrica, lateral o se encuentra ausente, inclusive algunas veces estos son centrales, engrosados gradualmente hacia el lado del píleo, generalmente miden 2 cm de largo, 1 - 2 cm de grosor, y de coloración blanquecina y contraste blanco, no presentan velo ni anillo, excepto en algunas especies (Phillips, 1991).

Como se observa en la figura 1.5 el género *Pleurotus* presenta píleo liso y convexo, raramente redondo, con forma de ostra o concha, excepto en la especie *P. eryngii*, y en las etapas maduras llegan a ser tipo embudo, pueden presentar escamas hacia el centro o en la base y de un tamaño de 5 - 30 cm de diámetro. El himenóforo presenta laminillas con disposición decurrente, anastomosadas en la base, anchas, blancas, blanquecinas y a veces amarillas o grises, con un trama himenóforal completamente irregular, conformada por hifas de pared delgada o gruesa, sus esporas de color lila o crema en masa, en forma elipsoides de un tamaño promedio de 9,5 x 3,5 μm ; los basidios

normales tetrapolares y cistidios como los queilocistidios usualmente presentes, un subhimenio bien desarrollado y bien diferenciado y una trama del píleo inamiloide, con numerosas fibulas (Largent y Stuntz, 1977; Largent *et al.*, 1977; Singer, 1986).

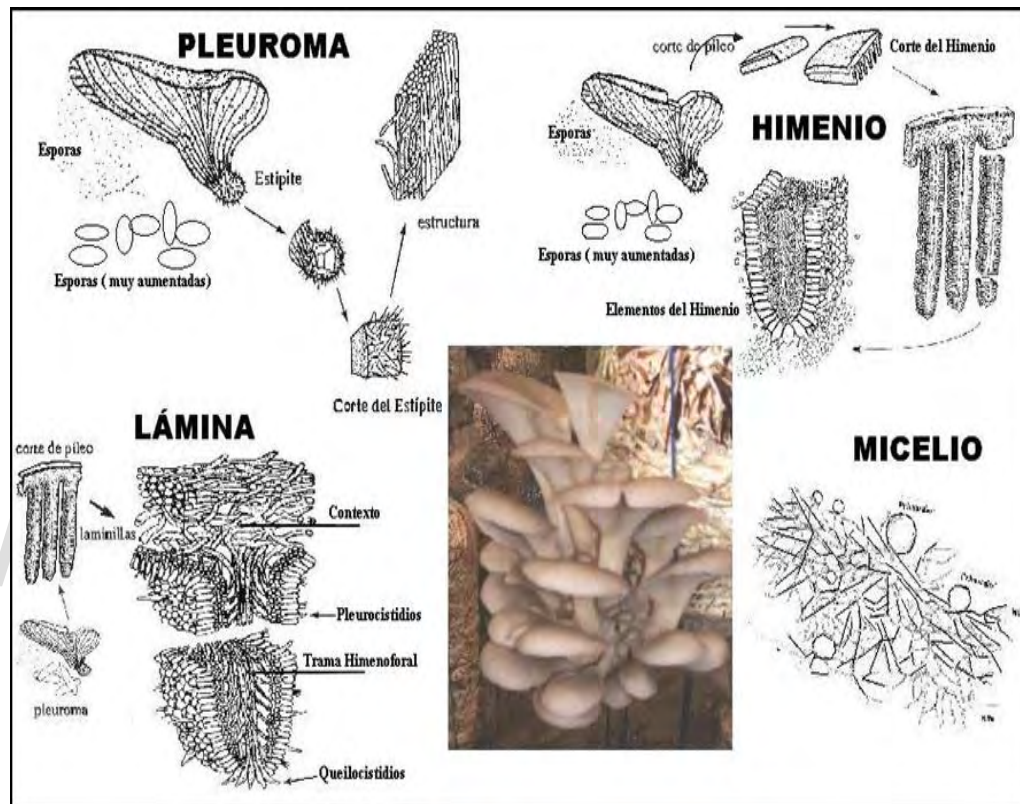


Figura 1.5 Características anatómicas del género *Pleurotus*. Tomado de López y García (2004)

Como se muestra en la figura 1.6, el ciclo de vida del género *Pleurotus* en el caso de la reproducción sexual refleja como en muchos otros géneros en el filo *Basidiomycota* un sistema de incompatibilidad, y para este clado en particular es heterotálico bifactorial (Valencia del Toro, 2002), es decir, la formación de los carpóforos no se da si en la plasmogamia las hifas monocarióticas no portan los alelos compatibles a los genes A y B de intercompatibilidad en cuyo caso el micelio monocarióticas sigue solo un crecimiento vegetativo (Herrera *et al.*, 1998).

Dentro del género *Pleurotus* se incluyen hongos con una gran diversidad de especies distribuidas por todo el mundo; entre ellas: *P. pulmonarius* y *P. cystidiosus* localizadas en regiones tropicales y subtropicales, *P. eryngii* en Europa, África y parte de Asia, *P. djamor*, *P. smithi*, *P. levis*, *P. sajor-cajou*, *P. citrinopileatus* y *P. ostreatus* en Latinoamérica (Kong, 2005).



Figura 1.6 Ciclo de vida del género *Pleurotus* Tomado de: Valencia-del Toro (2002).

1.4 Importancia del género *Pleurotus*

El género *Pleurotus* resulta de suma importancia por sus aplicaciones en múltiples áreas:

- En la agricultura por su capacidad de degradar una gran diversidad de sustratos en un amplio rango de temperaturas (Ardon, 2007) permitiendo aprovechar diversos desechos agroindustriales (Morillo *et al.*, 2012; Sánchez y Montoya 2020), como un depósito de nutrientes vitales (vitaminas y minerales) para potenciar las cosechas agrícolas, estos nutrientes quedan como subproducto en lo que se conoce como compost agotado para ser utilizado como fertilizantes (Chang *et al.*, 1981; Fasidi *et al.*, 2008).
- En la biorremediación, por la habilidad de acumular metales pesados, degradación de petróleo debido a su alta actividad enzimática y variedad de catalasas (Pernía *et al.*, 2012; Almeida *et al.*, 2015)).
- En la medicina, la especie *P. ostreatus* contienen en sus carpóforos sustancias antitumorales (Ajith y Janardhanan, 2007) y alto contenido de sustancias biológicamente activas, destacando antioxidantes (ácido ascórbico, compuestos de á-tocoferol, â-caroteno y fenoles) que actúan de forma similar a la vitamina E sustancias como la lovastatina con efecto de disminuir los niveles de colesterol en sangre y la presión arterial (Murcia *et al.*, 2002).
- En la alimentación; como alimento humano debido a su bajo contenido de grasa y sodio, alto contenido de potasio y de proteína; los hacen un alimento que controla padecimientos cardiovasculares y estados de hipertensión y combate la obesidad (Kumar y Achal, 2008). Así como alimento para animales en época de apareamiento como estimulante sexual y para prevenir enfermedades que se presentan en esta etapa de reproducción (Potter y Hotchkiss, 1995).

1.4.1 *Pleurotus ostreatus*

P. ostreatus es un hongo lignícola saprófito, conocido con el nombre común de hongo ostra, pertenece a la clase *Basidiomycetes*, orden *Agaricales*, familia *Agaricácea* (Donoso y Aguirre, 1980; Furci, 2007). En condiciones silvestres crece en tocones y ramas de planifolios muertos o debilitados, en bosques de ribera, parques y jardines (Alpuche y Paredes, 1996). El *Pleurotus ostreatus* crece en forma escalonada, en racimos, su píleo tiene forma de ostra, su color varía de marrón claro a marrón oscuro y mide entre 6 y 20 cm. Las láminas son de color crema apretadas y recurrentes lisas, el pie es muy pequeño o está ausente y se inserta en el borde del píleo. Su carne es blanca con sabor agradable y su textura es firme. En general, los hongos cultivados en tronco de álamo son más grandes, más oscuras y parecieran tener un cuerpo más firme; a diferencia de las cultivadas en paja de trigo que son más claras, pequeñas y parecen más frágiles (Ciappini *et al.*, 2004)

En estado natural su desarrollo ocurre durante la estación otoñal e inicio de primavera, aunque en sitios húmedos también es posible encontrarlo en otras estaciones del año. Esta especie presenta gran versatilidad y adaptabilidad, ya que tolera un rango amplio de temperaturas, además, presenta resistencia a plagas y enfermedades, y se puede cultivar prácticamente sobre cualquier sustrato lignocelulósicos como troncos, corteza o aserrín (García, 1987; Levin, 1996; Adamović *et al.*, 1998; Yildiz *et al.*, 2002., Sánchez y Montoya 2020). Normalmente, el cultivo de *Pleurotus* se realiza sobre sustratos preparados con paja de cereales, como trigo, centeno o cebada, cortados en trozos de 2 a 4 cm de longitud. A modo de ejemplo, se ha observado una producción de 100 a 200 Kg por tonelada de paja de trigo (García, 1987). Yildiz *et al.*, (2002) y Salmones *et al.* (2005), también observaron una elevada producción de *P. ostreatus* en residuos derivados de actividades agroindustriales, como pulpa de café, hojas usadas en la extracción de aceites esenciales y bagazo de caña de azúcar.

Sin embargo, la composición química de *P. ostreatus* es muy variable y depende del estado de desarrollo y la cepa utilizada; la variabilidad es ocasionada por diferencias en el contenido de humedad, temperatura y la presencia de nutrientes. Esta especie

constituye un alimento altamente proteico, posee un elevado contenido de vitaminas (Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6) y Cobalamina (B12)); y actúa como una fuente importante de calcio y fósforo (Breene, 1990; Beltrán *et al.*, 2021)

P. ostreatus posee enzimas específicas capaces de degradar lignina, fenoles y polifenoles hasta un 60 % del contenido original es por ello que se le incluye en los hongos de pudrición blanca los cuales tienen la capacidad de degradar todos los polisacáridos básicos de la madera como son celulosa, hemicelulosa y preferiblemente lignina esto debido a su capacidad de sintetizar enzimas extracelulares hidrolíticas y oxidativas (celulasas, hemicelulosas y ligninolíticas), responsables de degradar estos polisacáridos a compuestos de bajo peso molecular para ser asimilados y parte de la nutrición fúngica (Kachlishvili *et al.*, 2005).

Dentro de las enzimas extracelulares oxidativas esenciales en la mineralización de lignina, los hongos de pudrición blanca secretan varios tipos de enzimas específicas según el género y especie que se busque aprovechar para este proceso (Kerem y Hadar, 1998). *P.ostreatus* junto a *Lentinusedodes*, pertenecen al grupo productor de hongos que secretan lacasa-manganeso peroxidasa y aril-alcohol oxidasa. En consecuencia, los materiales lignocelulósicos son los sustratos indicados para el desarrollo de estos hongos. Estos materiales lignocelulósicos constituyen uno de los componentes principales de los vegetales y sus residuos, así como de residuos agroindustriales, forestales y residuos sólidos urbanos, entre otros (Sánchez y Cardona. 2007; Sánchez y Montoya. 2020)

La presencia de las enzimas lignocelulolíticas convierte a *P. ostreatus* en uno de los hongos de pudrición blanca más utilizadas en la degradación de residuos agroindustriales (Espinoza, 1997; García, 2008; Sánchez y Montoya. 2020). Según Urcelay *et al.*, (2012), la degradación de la lignina por este hongo, incluye una serie de cambios oxidativos que conducen a la progresiva despolimerización y liberación de compuestos de bajo peso molecular, que son metabolizados en algunos casos hasta producir CO₂ y H₂O. Estos hongos atacan generalmente las maderas duras (Fig. 1.7).



Figura 1.7. Tocones de *Acadia blanca* con pudriciones asociadas en el centro del tronco. A) Pudrición blanca.
Tomado de Urcelay *et al.*(2012).

Además de sus capacidades enzimáticas *P. ostreatus* tiene la característica de crecer sobre una amplia variedad de sustratos agroindustriales sin pretratamientos previos del sustrato, por lo tanto se puede lograr aprovechar la maquinaria metabólica en una biotransformación eficiente de los componentes indeseables de desechos agroindustrial (Kamitsuji *et al.*, 2005). La producción y actividad de las enzimas lignocelulolíticas son afectadas por muchos factores durante el crecimiento del hongo, como son: la composición del medio, el pH, la temperatura, la tasa de aireación, etc. (Cogorni *et al.*, 2014; Velioglu y Urek, 2015). Chávez (2017), reportó que las diferentes características (temperatura, pH) del cultivo en tusa de maíz para *P. ostreatus*, influyen en su actividad enzimática, a mayor pH de extracción las características de las enzimas obtenidas fueron superiores, así como la actividad enzimática, no obstante la temperatura de extracción no ejerció efecto alguno.

Por lo tanto, la utilización de desechos agroindustriales (ejemplo, el rastrojo de maíz) como sustrato sólido para el crecimiento de *P. ostreatus* requiere de un estudio detallado de las condiciones de cultivo, esto permitiría no solamente obtener un alimento como en el hongo comestible sino también extractos enzimáticos celulolíticos y ligninolíticos del material fermentado residual, lo que daría un gran valor agregado a los desechos agroindustriales (Félix *et al.*, 2014).

1.5 Factores que afectan el crecimiento y fructificación de especies del género *Pleurotus*

La capacidad productiva de una cepa de *Pleurotus* depende en primera instancia de sus potencialidades genéticas las cuales pueden ser manipuladas para aumentar su productividad (Salmones *et al.*, 2021). Sin embargo, las características genéticas pueden ser afectadas por factores abióticos y bióticos, cada uno de estos factores, en un rango delimitado por un punto mínimo y un punto máximo, bajo y sobre los cuales no ocurrirá crecimiento (Cogorni *et al.*, 2014; Velioglu y Urek, 2015; Chávez 2017; Sánchez *et al.*, 2020). Sánchez y Royse (2001) propone que los factores más importantes a tener en cuenta son:

- **Temperatura:** La variación de la temperatura, afecta el metabolismo de las células, incluyendo la actividad enzimática, y la fluidez de los lípidos de la membrana celular; variando entre especies y además en las diferentes etapas de su ciclo de vida. Teniendo una temperatura óptima de germinación de las esporas distinta a la temperatura óptima de crecimiento micelial o de la de fructificación. Algunas especies de este género pueden crecer en el rango de temperaturas desde los 7 °C a 35 °C, con temperaturas óptimas de 30°C para la germinación, 28 °C para el crecimiento micelial y 25°C para la fructificación.
- **pH:** En el género *Pleurotus* el rango de pH para el crecimiento micelial oscila entre 4 y 7 con un óptimo entre 5,5 y 6.
- **Sustrato:** Estos hongos son saprófitos descomponedores de sustratos ricos en lignocelulosa, reportándose su desarrollo sobre desechos agroindustriales, obteniendo un óptimo crecimiento y fructificación en bagazo de trigo, cebada, centeno, avena, maíz, y arroz; tusa de maíz, tallo de sorgo; y sustratos con alto contenido de polímeros, azúcares y lípidos.

- **Carbono:** Las fuentes de carbono de estos microorganismos por lo general son polímeros de naturaleza lignocelulósica (la lignina, la celulosa y la hemicelulosa); además azúcares (la glucosa, la manosa, la galactosa y la fructosa); y lípidos que se han reportado que la adición de aceites vegetales con un aumento del crecimiento micelial, los productos de la hidrólisis de estos (glicerol, ácidos grasos y saponinas) deprimen el crecimiento, pero la adición de triglicéridos y metil ésteres de ácidos grasos generalmente promueven su crecimiento.
- **Nitrógeno:** Aunque a los hongos del género *Pleurotus* son capaces de degradar sustratos con un bajo contenido de nitrógeno, son capaces de emplear fuentes de nitrógeno inorgánico como Nitrato de potasio o la urea; como también fuentes orgánicas.
- **Relación C/N:** En general estos hongos crecen en relaciones de C/N del 0,4 a 1,5; que en relaciones de Carbono y Nitrógeno de 1-1,3 se da el crecimiento micelial óptimo, mientras que una relación C/N menos 0,6 se favorece la fructificación de los carpóforos.
- **Minerales y Vitaminas:** No son capaces de crecer en ausencia de calcio, fósforo, potasio y magnesio; y presentan una auxotrófia de tiamina, en una concentración óptima de 100 mg/l.
- **La humedad en el sustrato:** La humedad en el sustrato afecta directamente sobre el desarrollo de los carpóforos de *P. ostreatus*, debido a que la disponibilidad de nutrientes dependerá la cantidad agua en el sistema; por lo tanto, este hongo a contenidos de humedad inferiores al 50% y mayores al 80% tendrá un efecto negativo en el crecimiento y desarrollo. El contenido óptimo de humedad depende no solo de la especie o variedad de hongo que se cultiva, sino también del tipo de sustrato empleado.

- **La humedad del aire:** Factor fundamental para una óptima fructificación, dado que el micelio secundario está formado por un alto contenido de agua y su estructura no les permite retener la humedad en condiciones adversas, un balance adecuado entre la humedad ambiental y el contenido de humedad del hongo es necesario, por lo que para un correcto desarrollo la humedad debe estar entre 85-90 %.
- **Tamaño del sustrato:** El tamaño del sustrato afecta el crecimiento y la fructificación, porque se relaciona con la accesibilidad a los nutrientes, al agua y al aire por parte del micelio del hongo; en relación a esto el tamaño del sustrato para un óptimo de desarrollo es de 2-3 cm.
- **La aireación:** El oxígeno es un elemento de gran importancia para el crecimiento de los basidiomicetos porque son organismos aerobios, que tienen requerimientos de oxígeno diferentes según el estado fisiológico en que se encuentren, de lo cual concentraciones altas de CO₂ estimula la germinación de las esporas y el crecimiento micelial pero inhibe la fructificación; obteniendo un óptimo de crecimiento micelial a 28% de CO₂ presente en el aire. Por otra parte en ausencia de CO₂ se ha encontrado pérdida de materia orgánica y la deslignificación del sustrato a una mayor tasa.

1.6 Cultivos de hongos comestibles

Para el año 2013 se estimaba que a nivel mundial existían unas 200 especies de hongos que tienen propiedades para ser consumidas como alimento (Kalač, 2013). En la antigüedad la disponibilidad de hongos para el consumo se limitaba a la recolección en el campo. En la antigua Grecia (1200 A.C.) se recolectaban de numerosas especies de hongos que crecían a la intemperie sobre los árboles, más tarde en el año 60 A.C. en China se inicia el cultivo del género *Auricularia* spp., desde entonces se han desarrollado diversos métodos para su cultivo (Chang y Miles, 1989) luego los romanos y los celtas implementaron el cultivo ya no solo como alimento sino por sus

propiedades medicinales y tóxicas, sino también por las propiedades alucinógenas de algunas especies, siendo utilizados para rituales; después en la Edad Media eran un alimento de consumo sólo a la realeza. En el siglo XVII se inicia en Francia el cultivo bajo condiciones cerradas, en España se logra industrializar explotando el cultivo de especies como *Agaricus spp.* (Champiñón) y *Lentinula spp.* (Shiitake) (Madigan *et al.*, 2008).

En el siglo XVIII comienza el cultivo de *Pleurotus* de forma industrial con la FES abierta; abordando esta actividad una gran parte de Europa, posteriormente en Francia, Hungría, Italia y Checoslovaquia se desarrolla su cultivo por FES cerrada. Simultáneamente en América el cultivo de hongos se desarrollaba por las etnias desde varios siglos atrás con el cultivo de hongos alucinógenos (Hernández y López, 2006). En la actualidad el cultivo de hongos comestibles, se considera una actividad productiva basada en tecnologías de fermentación en medio sólido consideradas limpias para el ecosistema, fácil de realizar y que se puede desarrollar en forma personal, grupal, familiar y por comunidades.

1.7 Producción de hongos comestibles mediante Fermentación en Estado Sólido (FES).

La fermentación en estado sólido (FES) es una tecnología que tiene un origen muy antiguo, que fueron desarrollados en diversas partes del mundo (Tabla 1.1), es una técnica útil en la preparación de alimentos fermentados, cultivo de hongos comestibles, así como para la composta de forrajes y la conservación de alimentos por ensilaje (Bermúdez *et al.*, 2002).

Existe mucha controversia en cuanto a la definición de la Fermentación en Estado Sólido (FES) algunos autores la caracterizan como un proceso de fermentación en una matriz porosa sólida, el cual los espacios entre partículas contiene una fase gaseosa continua y un mínimo de agua visible, con un contenido de humedad con límite inferior de 12% y ocurre en estado no aséptico y natural (Nigamm y Singh, 1994). Las FES se caracterizan porque los productos se generan en altas concentraciones con

relativamente bajo requerimiento energético (Yang y Yuan, 1990; Mudgett *et al.*, 1992). Otros autores lo definen como un proceso biotecnológico que consiste en el crecimiento de microorganismos sobre partículas sólidas de materia orgánica en ausencia de agua libre en el sistema para su biotransformación (Pandey, 2003), otros la asumen como un sistema en el que se asegura mantener la actividad metabólica del microorganismo, sin exceder la capacidad de retención de la humedad del sólido. (Ardon, 2007). También se les considera como un proceso en el cual se desarrollan microorganismos en materiales sólidos húmedos (Julián y Ramos, 2007). La matriz porosa sólida puede estar constituida por un sustrato húmedo que participa aportando nutrientes o por un soporte inerte capaz de absorber los nutrientes necesarios para el microorganismo para que mantenga el proceso de biotransformación y degradación (Pérez-Guerra *et al.*, 2003; Ruíz-Leza *et al.*, 2007; Nevares 2012). Cabe resaltar que la FES puede ser llevada a cabo sobre diferentes residuos agrícolas como paja de trigo tusa de maíz (Robinson *et al.*, 2002; Pandey, 2003; Anele *et al.*, 2021). Originalmente, estos procesos de FES consistían en la invasión por hongos de ciertos materiales sólidos que luego eran consumidos por las personas. El Koji y el Tempeh son ejemplos de los primeros procesos de FES tradicional asiática, los quesos Camembert y Roquefort son su contraparte Europea. Actualmente, tanto en Asia como en Europa, los procesos de elaboración de dichos productos son prácticamente los mismos. Desde el punto de vista de la ingeniería, las características de las FES y el desarrollo tecnológico se ha logrado el control de algunas variables, contribuyendo a la mejor comprensión de los procesos biológicos y físicos mencionados anteriormente y marcan el camino para la industrialización futura de estos procesos (Hölker y Lenz, 2005; Rahardjo *et al.*, 2006; Rodríguez-Couto y Sanromán, 2006). Ver tabla 1.2

Tabla 1.1 Historia y desarrollo de la fermentación en estado sólido. Tomado de Rodríguez-Couto y Sanromán, (2005).

Periodo	Avance alcanzado
2600 años antes de Cristo	Producción de Pan por los egipcios.
Antes de Cristo en Asia	Producción de queso por <i>Penicillium roqueforti</i> .
	Fermentación del pescado/preservación con azúcares, almidones, sales, entre otros, proceso Koji.
Siglo XVII	Se extiende el proceso Koji de China a Japón por los sacerdotes budistas. Producción de vinagre a partir de residuos de manzana y probióticos Kéfir.
Siglo XVIII	Uso del ácido gálico en procesos industriales como el encurtido, la impresión, entre otros.
1860–1900	Aplicación en el tratamiento de residuos agrícolas.
1900–1920	Producción de enzimas fúngicas (amilasas), ácido kójico.
1920–1940	Producción de enzimas fúngicas, ácidos glucónico y cítrico. Se desarrolla el fermentador de tambor rotatorio.
1940–1950	Fantásticos avances en la industria de la fermentación. Producción de penicilina por fermentación sólida y sumergida.
1950–1960	Transformación de esteroides por cultivos fúngicos.
1960–1980	Producción de micotoxinas y de alimentos enriquecidos proteicamente.
1980–nuestros días	Producción de otros productos como alcohol y ácido giberélico.

1.8 Biorreactores para Fermentación de Estado Sólido

Las últimas décadas ha sido una de las más importantes en las invenciones tecnológicas, el desarrollo en el diseño, operación y escalamiento de biorreactores para la FES. Entre los biorreactores o fermentadores utilizados en laboratorio para las FES se encuentran los simples como placas Petri y los Erlenmeyer, los cuales no operan con aeración ni agitación forzada, en ellos solamente es controlada la temperatura del cuarto de incubación; y los complejos como columnas Raimbault, las columnas de vidrio o plásticas y el biorreactor de tambor. Para el nivel piloto e industrial se emplean

el tambor rotatorio, el fermentador de bandeja, el de cama empacada, el gas-sólido de cama fluidizada, entre otros. Ellos pueden operar en discontinuo, discontinuo alimentado o en continuo, siendo el modo discontinuo el más común (Rodríguez-Couto y Sanromán, 2006; Kumar, *et al.*, 2021).

Tabla 1.2 Aplicaciones económicas de las Fermentaciones en Estado Sólido (FES). Tomado de Pérez- Guerra *et al.*, 2003

Sector	Aplicación	Ejemplos
Biotransformación de residuos de cosechas.	Alimentos fermentados tradicionales (koji, sake, raji, tempeh), producción de proteína unicelular, enriquecimiento proteico y producción de hongos comestibles.	Agro-alimentario
Aditivos	Compuestos aromáticos, colorantes, ácidos orgánicos y aceites esenciales.	
Biorremediación y biodegradación de compuestos tóxicos.	Residuales cafeínados, pesticidas, difenilopoliclorados.	Medio ambiente
Desintoxicación biológica de residuales agroindustriales	Pulpa de café, cáscaras de yuca y de café.	
Producción de enzimas	Amilasas, aminoglucosidasas, celulasas, proteasas, pectinasas, xilanasas, glucoamilasas.	Industrial
Productos bioactivos Producción de ácidos orgánicos	Micotoxinas, giberelinas, alcaloides, antibióticos, hormonas. Ácidos cítrico, fumárico, itaicónico y láctico.	
Biocombustibles	Producción de etanol.	
Otros	Pigmentos, biosurfactantes, vitaminas, Xantano.	

Los avances más importantes se han dado en el diseño, la operación y el escalado de estos biorreactores, la clave de este avance se debe a la aplicación de las técnicas de modelación matemática para describir los fenómenos bioquímicos y fisicoquímicos de

la FES, procesos de FES actualmente clasificados en dos categorías de escala; a escala laboratorio en las cuales se utilizan pequeñas cantidades de medio sólido hasta pocos kilogramos, y el otro que es a escala piloto y escala industrial en donde se utilizan desde kilogramos hasta toneladas (Tabla 1.3).

Tabla 1.3 Clasificación y diferencias en biorreactores a nivel laboratorio, piloto e industrial. Tomado de Ruíz-Leza *et al.*, 2007.

Escala	BIORREACTOR	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Escala laboratorio	Columna	Económico, fácil montaje, monitoreo y control humedad, temperatura, biomasa y CO ₂ .	Canales preferenciales de O ₂ , dificultad en la toma de muestra y problemas en la eliminación de calor.
		Conexión en forma continua de varias columnas.	
	Columna Estéril	Control de humedad y temperatura. Sistema de esterilización previo inoculación y toma de muestra.	Formación de gradientes de concentración de O ₂ y nutrientes.
	Tambor horizontal	Mayor aireación y mezclado del sustrato.	Daño de estructura micelial. Dificultad en el control de temperatura y humedad. Poco volumen utilizado en el tambor
		Existen varios diseños con modificaciones que mejoran la remoción del calor.	
	Zymotis	Mejor transferencia de calor	Problemas de asepsia en el proceso. Mayor compactación de la cama de sustrato
	Growtek	Facilidad en la toma de muestra. Mayor contacto entre el medio de cultivo y el soporte sólido. Menor acumulación de calor en la cama de sustrato.	No cuenta con un sistema de aireación.
			Solo se pueden manejar una sola carga de 400 mL de medio líquido por fermentación.
	Proceso continuo	Menor tiempo de residencia.	Transferencia no homogénea de calor.

		Mejor mezclado y crecimiento fúngico. Mayor asepsia.	Aglomeración de células por rompimiento del micelio.
	Columna-Charola	Económico. Alta transferencia de O ₂ y aireación. Mayor transferencia de nutrientes.	Primer Prototipo. Optimizar la cantidad y tamaño de charolas en el volumen del cilindro.
		Fácil remoción de temperaturas elevadas.	
Escala piloto y/o industrial	Biocon	Automatizado en el control de las variables de estudio del crecimiento microbiano. Altos niveles de asepsia. Equipo compacto.	Dificultad en la toma de muestra. Rápida generación de calor exotérmico por crecimiento microbiano.
	Lecho fluidizado	Operación de forma continua. Menor aglomeración del sustrato. Incremento en la transferencia de O ₂ y humedad. Variedad de configuraciones de soportes.	Formación de altos esfuerzos cortantes que pueden afectar al microorganismos y rendimiento del producto.

Por ser el lugar donde transcurre el proceso biológico se genera el calor metabólico y ocurre la transferencia de masa y energía. El tamaño del reactor y la forma en que se acomoda el sustrato en su interior es el principal aspecto a tener en cuenta en la selección y diseño de un biorreactor para la FES (Dustet e Izquierdo, 2004). Para desarrollar un nuevo proceso en FES la mejor alternativa es iniciar a nivel de laboratorio los diferentes biorreactores, antes de decidir cuál es el adecuado para el microorganismo a escala industrial (Mitchell *et al.*, 1999).

Una de las funciones más importantes del biorreactor es que asegure la homogeneidad entre los componentes del sistema y condiciones óptimas para el crecimiento microbiano y la obtención del producto deseado; tomando en cuenta los problemas de transferencia de Q y O₂, que dependen de las características de la matriz utilizada para la fermentación (Ruíz-Leza *et al.*, 2007).

Los criterios más importantes para el diseño de un biorreactor pueden resumirse del siguiente modo dependiendo del tipo de biorreactor y el proceso de fermentación a utilizar (Mitchell *et al.*, 1992):

1. Los tanques deben diseñarse para que funcionen asépticamente durante numerosos días, para evitar la aparición de contaminantes en las operaciones de manipulación y bioprocesos de larga duración.
2. Deben permitir una mayor área de contacto entre las fases biótica y abiótica del sistema, para asegurar un sistema adecuado de aireación y agitación para cubrir las necesidades metabólicas de los microorganismos.
3. El consumo de energía debe de ser el mínimo posible.
4. Entradas para la adición de nutrientes y el control de pH.
5. El crecimiento microbiano es generalmente exotérmico, por lo tanto, el biorreactor debe facilitar la transferencia de calor del medio hacia las células y viceversa; y a medida que se produce el crecimiento celular, de mantener estable la temperatura deseada.
6. Mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen de cultivo.
7. Suministrar oxígeno a una velocidad tal que satisfaga el consumo.
8. El diseño del biorreactor debe mantener el cultivo aséptico; una vez que todo el sistema ha sido esterilizado y posteriormente inoculado con el microorganismo deseado.

En el caso del cultivo de hongos comestibles, por la naturaleza propia de este tipo de cultivo, los reactores carecen de agitadores, y las principales variables a tomar en

cuenta es lograr una superficie que permita el intercambio de energía y materia apropiado. En este sentido predominan dos tipos básicos de biorreactores, las bandejas horizontales o las fundas de polietileno comúnmente denominadas bolsas.

Entre las ventajas de usar bolsas de polietileno para la producción de hongos esta (Mandeel *et al.*, 2005):

- Factible usar estos biorreactores para el cultivo dentro de casas o edificaciones en desuso
- Fácil el control de contaminaciones
- Se necesita una inversión mínima inicial, con un retorno rápido del capital
- Posible una producción continua todo el año

Debido a los hábitos de crecimiento que presentan hongos ligninolíticos como el género *Pleurotus spp.*; las bolsas de polietileno permiten una mayor superficie vertical que horizontal y eso de hacer notar que dentro de ciertos límites de tamaño del reactor (4 - 20 Kg), muestran que mientras mayor sea la cantidad de sustrato que se maneje por lote, los problemas de pérdida de humedad serán menores y se incrementen los problemas de heterogeneidad en la humedad del centro de la cama de sustrato y de disipación del Q producido dentro del sustrato (Sánchez y Royse, 2002). Se reconoce la ventaja del uso de este tipo de biorreactores para la producción de hongos comestibles como las especies el género *Pleurotus spp.* Y *Lentinusedodes*, por la sencillez de su diseño y operación, además facilidad de determinar los balance de masa y rendimiento tras las producción (Kwon y Kim, 2005).

Un modelo del crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en FES según Hölker y Lenz (2005) se presenta en la figura 1.8; después de la inoculación del microorganismo, las hifas se desarrollan en una capa de micelio que se extiende sobre la superficie del sustrato. Del micelio sobresalen dos tipos de hifas: unas aéreas, que penetran en el espacio gaseoso

y otras que penetran al sustrato mediante el crecimiento a través de los poros llenos de líquido. Los espacios vacíos entre las hifas aéreas están llenos de gas (g), los espacios vacíos en el interior del micelio y del sustrato están llenos de líquido (l). La actividad metabólica ocurre, lo más próxima a la superficie del sustrato y dentro de los poros, sin embargo, las hifas aéreas también muestran actividad metabólica, ellas sirven de transporte de sustancias desde el interior del sustrato al exterior. Las enzimas hidrolíticas que son producidas por el micelio, se difunden por la matriz sólida y catalizan la degradación de las macromoléculas en moléculas simples, las cuales son utilizadas por el hongo como nutrientes. Durante la fermentación el oxígeno es consumido y se producen CO_2 , H_2O , calor (Q) y productos bioquímicos de interés, lo que trae por consecuencia la aparición de gradientes dentro de la biopelícula, como es la difusión del O_2 desde la zona gaseosa hasta las regiones de la biopelícula sobre las partículas y posterior difusión del CO_2 desde la biopelícula hacia el espacio gaseoso.

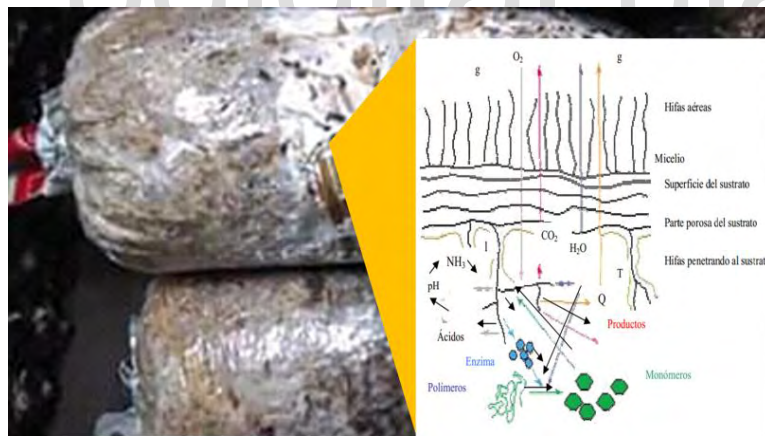


Figura 1.8 Procesos a micro escala de que ocurren en la fermentación sólida (FES) en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Tomado de Hölker y Lenz (2005).

Uno de los grandes problemas en las FES es el intercambio de materia y energía con el entorno del reactor, siendo la disipación del calor uno de los mayores. El calor metabólico (Q) generado durante el crecimiento provoca un incremento de la

temperatura (T) causando serios problemas durante la FES, este calor debe ser eliminado o removido del reactor, esto suele ocurrir por conducción y por enfriamiento evaporativo viéndose afectado el complejo balance de agua en el sistema, que incluye el agua tomada por el micelio durante su crecimiento, el agua producida por las reacciones de hidrólisis, y el agua producida por la respiración. Otro factor a tomar en cuenta es el pH el cual cambia, debido a la liberación de los ácidos orgánicos y el intercambio de iones amonio. Los productos de interés son liberados dentro de la matriz sólida y deberán ser extraídos al final del proceso para uso posterior (Yang y Yuan, 1990).

1.8.1 Cultivo de hongos comestibles mediante FES

Dentro de los subproductos lignocelulósicos de origen agroindustrial utilizados como sustratos en la FES con el fin de producción de hongos comestibles destacan, la borra de café (Salmones *et al.*, 2005); cáscara de café (Fan *et al.*, 2003); bagazo de caña de azúcar (Klibansky *et al.*, 1993); paja de arroz (Sánchez y Royse, 2002), tusa de maíz (López-Rodríguez *et al.*, 2008), paja de trigo (Salmones *et al.*, 2005), aserrín de madera y las cáscaras de cacao y coco (Poppe, 2005; Rodríguez-Couto y Sanromán, 2006; Díaz, 2016).

Los sistemas de cultivo en FES y producción de hongos comestibles como *Pleurotus spp.*, se realizan en una serie de pasos secuenciales con los cuales se simula el crecimiento natural de estos microorganismos. Según Sánchez y Royse (2001), la tecnología del cultivo de *P. ostreatus* sigue las siguientes fases:

- a. **Obtención del micelio:** Etapa más delicada del proceso de cultivo, donde lo ideal es contar con un laboratorio equipado, aislado de los insectos; donde sea posible desinfectar y de acceso restringido para evitar contaminación de bacterias y hongos. También es necesario tener un ejemplar del hongo objetivo de excelente calidad, sin defectos como deformaciones visibles, picaduras de insectos u otros

condiciones que pudieran influir en la calidad del micelio. El espécimen puede conseguirse en los supermercados o en sistemas ecológicos donde se dan su nicho ecológico, áreas donde crece en condiciones naturales. El proceso de obtención de micelio se basa en que de los hongos se pueden obtener líneas vegetativas por propagación del micelio en estructuras de soporte como el estípite o píleo, es decir, a partir un trozo del carpóforo; y con ello volver a recrear el ciclo completo del hongo, asegurando las características fenotípicas y productivas del espécimen del cual provino. Y líneas reproductivas por cultivo policlonal, al partir de la germinación de la esporada colectada del hongo. En esta etapa de obtención del micelio del hongo, se obtiene tras el cultivo en cajas Petri como medios de cultivo convencionales apropiados como PDA (Papa, dextrosa y agar). El cultivo puro de la variante del micelio se obtendrá luego de repetidas transferencias del micelio a cajas Petri con medio de cultivo fresco.

- b. **Elaboración del inóculo o preparación de la semilla fúngica:** Etapa a desarrollarse bajo condiciones de asepsia. Es necesaria para simplificar la siembra del micelio o inoculación del substrato definitivo en donde crecerá y fructificará el hongo. El inóculo o “semilla fúngica” lo constituye un substrato intermedio que contiene micelio secundario del hongo, con características ideales para su multiplicación, poder de infección y colonización del substrato definitivo. Como substratos intermedios se utilizan granos de sorgo, trigo o maíz. La semilla fúngica madre se obtiene al depositar fracciones del cultivo puro de la cepa obtenido en la fase anterior, sobre el substrato intermedio. De este modo se tendrá suficiente cantidad de substrato intermedio impregnado con el micelio para infectar grandes cantidades del sustrato final. La presentación del inóculo en el mercado es regularmente de un kilogramo, embalado ya sea en bolsas o en frascos.

- c. **Selección del sustrato:** El sustrato es el material orgánico que se aprovecha para el cultivo de los hongos, que permita su alimentación y posterior fructificación. Las propiedades físico-químicas de un sustrato determinan que hongos pueden crecer sobre él. La selectividad de los sustratos, depende de los nutrientes disponibles en él, la acidez, la actividad microbiana que soporta, su capacidad de aeración, contenido de agua, entre otros. Debido a la diversidad de sustratos sobre los que se pudieran crecer los hongos comestibles, es posible aprovechar diversos materiales lignocelulósicos dependiendo de su disponibilidad; resaltando el rastrojo de gramíneas como trigo, jaragua, cebada, avena, tusa de maíz entre otros
- d. **Preparación del sustrato:** El proceso de preparación del sustrato consiste en humectarlos, desinfectarlos y desinfestarlos; con el propósito de eliminar micro y macroorganismos que puedan competir con el crecimiento del hongo, y brindar condiciones de humedad que favorezcan el desarrollo de los carpóforos del hongo.
- e. **Inoculación del sustrato:** Inocular el sustrato es lo que comúnmente se le conoce como siembra, y consiste en mezclar el inóculo producido o adquirido en el mercado; con el sustrato definitivo. El sustrato inoculado se acondiciona en contenedores que pueden ser bolsas plásticas como biorreactores, o tocones de árboles; donde crecerá el micelio y emergerán finalmente los carpóforos del hongo.
- f. **Incubación:** Realizada la inoculación, el micelio inicia su crecimiento sobre el sustrato en que fue puesto. La incubación es la etapa que permite la colonización y propagación de micelio sobre el sustrato, bajo condiciones de temperatura, luminosidad, ventilación y humedad óptimas, para obtener la mayor tasa de crecimiento posible.

- g. **Fructificación:** Luego que el micelio ha colonizado completamente el sustrato, debe procederse a cambiar las condiciones ambientales mantenidas durante la fase de incubación a efecto de inducir el brote y crecimiento de los primordios. Durante esta etapa, la aplicación de riego es importante para mantener alto porcentaje de humedad en el ambiente, en el caso de *Pleurotus spp.* los carpóforos no se obtienen todos a la vez, generalmente se producen en oleadas, separadas por períodos cortos de crecimiento micelial, formación y desarrollo de nuevos primordios.
- h. **Cosecha:** Cuando los carpóforos han alcanzado un estado de madurez fisiológica, se procede a la recolección y acopio. Esta se realiza en forma manual utilizando cuchillos inoxidables desinfectados y cortándolos desde la base para evitar daños al micelio.

Según Schiess (2006), la comercialización e industrialización de hongos implica diversas alternativas de procesamiento, entre las que destacan:

- Deshidratados (enteros, laminados o transformados en sémola o polvo de hongos)
- Encurtidos (en sal, azúcar y vinagre),
- Fermentados en salmuera o en aceite (de oliva o vegetal)
- Congelados, pulverizado, extractos y concentrados.

En resumen, el proceso de cultivo de hongos comestibles como *P. ostreatus* se divide en dos etapas, una microbiológica o de cultivo de tejidos, encaminada a la producción del inóculo, y otra que constituye en sí, la producción de los carpóforos (Figura 1.9).

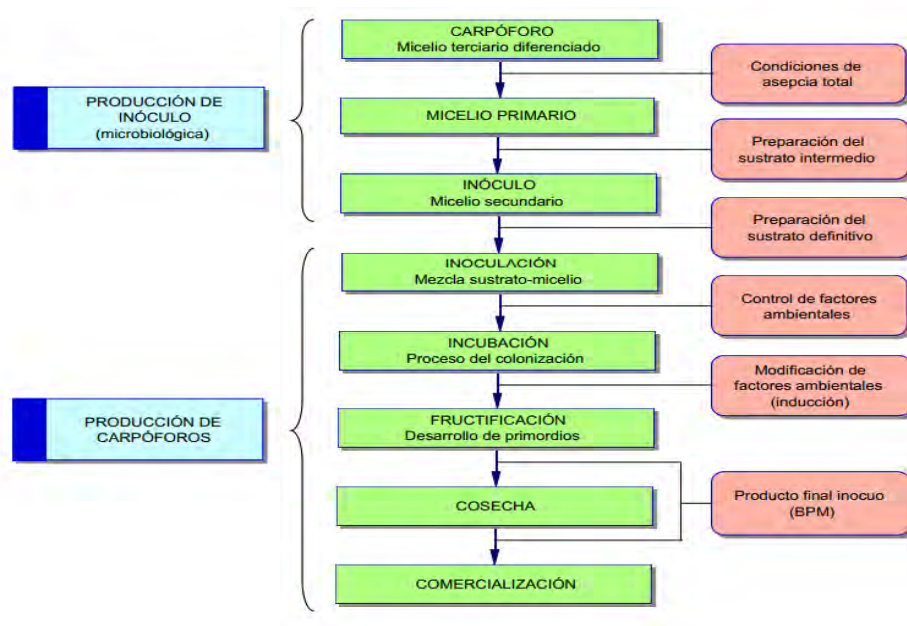


Figura 1.9 Etapas de la producción de hongos comestibles. Tomado de Ardón (2007).

1.9 Evaluación de la producción de hongos comestibles

La producción se estima de diversas formas, sin embargo la más empleada es la Eficiencia Biológica (EB) la cual se define como la bioconversión de la energía y biodegradación del sustrato para la producción de carpóforo, y depende básicamente del tipo de sustrato utilizado. Se expresa en porcentaje y la fórmula para obtenerla es la siguiente:

$$\% EB = \frac{\text{Peso fresco de los carpóforo obtenido (g)}}{\text{Peso seco del sustrato (g)}} \times 100\%$$

Otro término empleado para la evaluación de la producción es tasa de producción (TP); la cual se define como la eficiencia biológica entre el tiempo requerido para la cosecha (Sánchez y Royse, 2001):

$$TP = \frac{\%EB}{\text{tiempo de cultivo}}$$

CAPITULO II

Antecedentes

El desarrollo del cultivo de hongos comestibles ha sido un proceso gradual, en muchos casos de ensayo y error en el que tanto los pequeños y grandes cultivadores, como los investigadores académicos, han estudiado múltiples variables que afectan el cultivo de estos organismos. Uno de ellos es el reactor utilizado. En el caso del cultivo de *Pleurotus spp.* su cultivo ha sido ensayado en reactores tipo bandeja, recipientes cilíndricos, rejillas de madera o poliestireno, Bloques conformados en bolsas plásticas (Quimio *et al.*, 1990).).

Las bolsas plásticas principalmente las de polietileno, son un biorreactor tipo cama empacada, ampliamente utilizado en la producción de hongos comestibles como las especies el género *Pleurotus spp.* Y *Lentinusedodes*, según Zadrazil & Kurtzman (1982) el cultivo en bolsas de plástico producen más cosecha que otros tipos con menor nivel de contaminación. La geometría de la bolsa es variable y mientras en los países asiáticos predomina el uso de bolsas cilíndricas de poco volumen las cuales una vez inoculadas se colocan horizontalmente en forma de pared, y en las que la inoculación y cosecha se realizan por uno de los extremos, los europeos utilizan principalmente grandes bolsas perforadas (Mandee *et al.*, 2005) La industria de insumos fúngicos ha desarrollado varios tipos de bolsas, incluso esterilizales en autoclaves. Las dimensiones y geometría de las bolsas es variable pueden ser de 40x60 cm o de 60x90 cm y con capacidad de hasta 15 Kg de sustrato (Sánchez y Royse, 2002). Sin embargo, la información disponible en cuanto al comportamiento del cultivo en estos reactores es escasa.

Mandee *et al.*, (2005). Estudiaron la viabilidad de utilizar varios subproductos lignocelulósicos como sustratos potenciales para el cultivo de tres especies de hongos ostra y determinación de su rendimiento óptimo. Las 3 especies de hongos (*P. ostreatus* y *P. sajor-caju*). Fueron cultivadas en, papel de oficina sin clasificar, fibras

de cartón, fibras vegetales (*Bromus fasciculatus*, familia; *Gramínea*) y aserrín blanco. La inoculación de los sustrato la realizaron por el método de inoculación multicapa utilizando un 5% de inóculo. Uno de los objetivos de este trabajo fue estudiar el efecto del tipo de reactor sobre el rendimiento en el cultivo del hongo *P.columbinus* en subproductos de papel, los cultivos se realizaron en cuatro contenedores diferentes, estos consistieron de: bolsas de polietileno (60x 45 cm), bandejas de plástico (34 x 24 x 4,5 cm), platos de cerámica (25 cm de diámetro 5,5 cm de altura), bolsas de red de poliéster de tamaño similar a las bolsas de polietileno con orificios de 3 mm de diámetro. En todos los ensayos utilizaron subproductos del papel como sustrato. Los resultados mostraron diferencias significativas de la EB dependiendo del tipo de biorreactor, La máxima EB 109,4 % fue obtenida en las bolsas de polietileno, los resultados de EB en el resto de los reactores fue (86,1, 71,9 y 56,1 %) en los reactores de platos de cerámica, bandejas de plástico y sacos de poliéster respectivamente, además los carpóforos en las bolsas de polietileno fueron superiores en términos de calidad, rendimiento total de carpóforos por reactor y bajo nivel de contaminación.

Pazos et al., (2012) realizaron un estudio para determinar la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 sobre rastrojo de maíz, para ello realizaron cultivos en fundas de polietileno transparente., comparando diferentes tamaños y capacidades de reactor. El diseño consistió en tres tamaños de funda de 17,78 x 25, 40 cm (Pequeña), 25, 40 x 40,64 cm (Mediana) y 35,56 x 50,80 cm (Grande), en corridas de 10 fundas de polietileno cada una con cargas de 0,25 Kg (pequeño), 1,25 Kg (mediano) y 2,5 Kg (grande). Y determinaron la relación entre el tiempo de cultivo, la EB de los cultivos y el área superficial del reactor ocupada por el cultivo. Los resultados mostraron mayor velocidad de crecimiento en todas las fases de crecimiento, en los reactores de 0,25 Kg (P) 45 días en total comparada con 51 y 60 días de los reactores de 1.25 y 2,50 Kg respectivamente. En cuanto a la relación área/volumen establecen que esta disminuye conforme aumenta el tamaño del reactor y concluyen que el rendimiento biológico del hongo es dependiente de esta variable, creciendo mejor en los reactores (P) que ofrecen mayor área superficial. En cuanto al

efecto del tamaño del reactor en la EB no encuentran diferencias significativas, indicando que la eficiencia biológica no puede considerarse un parámetro decisivo a la hora de escoger un tamaño de reactor y por esta razón deben considerarse conjuntamente con otras variables como son tamaño de los carpóforos, velocidad de crecimiento, tiempo de cultivo, frecuencia de contaminación entre otras.

Cristóbal et al., (2015) evaluaron la eficiencia biológica de dos cepas de *P. ostreatus* cultivadas en tres sustratos y sus combinaciones: rastrojo de frijol, maíz y elote. Como unidad experimental se utilizaron bolsas de polietileno de 40x60 cm, conteniendo 2500 g de sustrato inoculado. La cepa silvestre colonizó entre 18-25 días, y la testigo entre 22-30 días. La cepa nativa se adaptó mejor a las condiciones climáticas locales presentando mayor eficiencia biológica en el sustrato maíz frijol (25-75 %) (130.3 %) y maíz-frijol (75-25 %) (126.5%), y baja eficiencia biológica en el elote (100%) (40.28%), mientras que la cepa comercial en los mismos sustratos resultó menor (71.42 y 112.72%, respectivamente).

Sánchez y Royse, (2017). En su libro “La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.*”, discute brevemente el uso de bolsas de plástico como un tipo de biorreactor tipo cama empacada, ampliamente utilizado en la producción de hongos comestibles como las especies del género *Pleurotus spp.* Y *Lentinusedodes*, principalmente el polietileno. Material que la industria ha desarrollado en varios tipos, incluso esterilizables en autoclaves. Las dimensiones de las bolsas pueden ser de 40x60 cm o de 60x90 cm y con capacidad de hasta 15 Kg de sustrato. Material al que se recomienda hacer perforaciones post-inoculación para que se establezca un intercambio gaseoso entre el sustrato y el ambiente.

CAPITULO III

3.1 Justificación

Desde los años 70 se desarrolló en varios países de Latinoamérica (México, Ecuador, Chile y Perú) el cultivo de hongos comestibles de forma industrial, basados en el cultivo de especies del género *Pleurotus* por las facilidades de cultivo y propiedades, como sus pocas necesidades nutricionales, facilidad de adaptación a los ambientes de cultivo, requiriendo de técnicas simples y económicas; siendo los desechos agroindustriales una de las mejores fuentes de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo necesarias para el desarrollo adecuado de la biomasa fúngica de estos hongos (Madigan *et al.*, 2008).

En Venezuela el cultivo de hongos comestibles ha sido una actividad que se ha venido desarrollando desde 1968 con el cultivo del champiñón (*Agaricus bisporus*), extendiéndose a la producción del hongo “Orellana” (*Pleurotus ostreatus*) como un alimento gourmet; partiendo de aislados importados de países como Argentina, México, EEUU y España (Torres y Hurtado, 2003); actualmente desarrollada en los estados Trujillo y Táchira, comercializándose de forma fresca o enlatados. Sin embargo, por sus propiedades los hongos comestibles como los pertenecientes al género *Pleurotus* ha sido de interés de estudio por los últimos años en el país, como una alternativa de producción de extractos enzimáticos útiles como fuentes de enzimas hidrolíticas exógenas para el alimento de rumiantes (Márquez-Araque *et al.*, 2007). Incluso, Morillo *et al.* (2013) evaluaron la eficiencia biológica de *P. ostreatus* crecido en hojas de caña y tusa de maíz.

A pesar de que la tecnología de cultivo de hongos comestibles como *P. ostreatus* no es compleja para desarrollarse de forma personal, familiar o comunal, es necesario realizar investigaciones concernientes a la definición de las condiciones del proceso de cultivo, tamaño del inóculo, tipos de sustrato, tiempos de cultivo y cosecha, entre otros. Uno de los factores más importantes que influye en el proceso de producción de hongos

comestibles, es el tamaño del biorreactor donde se desarrolla el cultivo. Actualmente, no se cuenta con estudios que determinen la influencia del tamaño del biorreactor en la calidad del rubro y los rendimientos de producción de los carpóforos del hongo; para adaptar la tecnología a los diferentes tipos de sustrato y condiciones climáticas en el Estado Mérida, es por ello que se realiza esta investigación.

3.2 Hipótesis

En la producción del hongo *P. ostreatus* uno de los factores más importantes en la calidad del rubro, eficiencia biológica y tasa de producción es el tamaño del biorreactor para la producción; por lo tanto, al comparar diferentes tamaños de biorreactores de producción, se esperarían variaciones en los parámetros de producción estudiados (EB y TP) y calidad de los carpóforos.

3.3 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto del tamaño del biorreactor en el tamaño de los carpóforo, la eficiencia biológica, rendimientos y tasa de producción de cultivos del hongo *P. ostreatus* en tusa de maíz.

Objetivos específicos

- Determinar las características morfo-anatómicas de *P. ostreatus* cepa BIOMI104 en tusa de maíz, y el efecto del tamaño del biorreactor en el tamaño y calidad de la producción.
- Determinar el efecto del tamaño del biorreactor en la eficiencia biológica y tasa de producción de la producción de *P. ostreatus* en tusa de maíz.
- Determinar la relación área-volumen del tamaño del biorreactor para la producción de *P. ostreatus* en tusa de maíz.

CAPITULO IV

Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos —SIXTO DAVID ROJAS de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes, Estado Mérida.

4.1 Materiales

4.1.1 Microorganismo

Se utilizó la cepa BIOMI-104 de *P. ostreatus* perteneciente al cepario del Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos “SIXTODAVIDROJO” (BIOMI), la cual se mantuvo en cuñas de PDA a 4 °C con repiques cada 3 meses.

4.1.2 Medios de Cultivo:

Medios convencionales: Medio Papa Dextrosa Agar Himedia®.

Medios no convencionales: Tusa de maíz

Reactivos: Los reactivos a utilizados fueron de grado analítico

4.2 Métodos

Las experiencias que se detallan a continuación se realizaron por triplicado, y sometidas a análisis estadísticos a través de la prueba de ANOVA de un factor, para las comparaciones de los tratamientos, y para la determinación de las diferencias estadísticas entre los diversos tratamientos por la prueba de rangos múltiples de Tukey ($\alpha = 0.05$).

4.2.1 Preparación de los medios de cultivo

El medio agar papa dextrosa (PDA) se preparó según las instrucciones del fabricante, distribuyendo 150 mL del medio en Erlenmeyer de 250 mL y esterilizándose según lo

descrito con anterioridad (en lo sucesivo a este medio se le denominara como medio PDA).

4.2.2 Preparación de inóculos

A partir de un cultivo de la cepa de *P. ostreatus* en cuña, se tomó con una asa un trozo de micelio y se transfirió al centro de cajas de Petri de 4,5 cm radio, las cuales contenían medio PDA. Las cajas inoculadas se incubaron a 27°C en oscuridad hasta que el hongo cubrió toda la superficie de la placa. Posteriormente, haciendo uso de un bisturí estéril se tomaron trozos del cultivo de 1 cm² cada uno, dos trozos se transfirieron a cada frasco conteniendo 0,2 Kg de granos de maíz previamente lavados, hidratados y esterilizados. La incubación se realizó durante 22 días a 27°C en oscuridad. A este cultivo se le denominó en lo sucesivo inóculo primario.

4.2.3 Preparación del sustrato e inoculación de los biorreactores

Se siguió el procedimiento estándar utilizado en el laboratorio BIOMI para el cultivo de *P. ostreatus* en medios sólidos; la tusa de maíz seca fue molida en un molino de martillo a un tamaño de partícula menor a 5 mm, se sumergió en agua durante 12 horas para su hidratación, posteriormente se sometió a desinfección por calor, para ello el material húmedo se sumergió en agua en ebullición y se mantuvo en estas condiciones durante 4 horas. Se drenó el exceso de agua y se dejó enfriar. Para su posterior inoculación y empaque en los biorreactores

La inoculación se realizó manualmente y en condiciones asépticas. Para ello, se tomó una parte del sustrato y se colocó formando una capa de unos 2 cm en el fondo del reactor, a continuación se agregó una capa del inóculo primario (previamente desmenuzado), este procedimiento de formar capas alternas se repitió hasta lograr el empaquetado total del reactor, (se puso especial atención en que el peso y volumen ocupado por el cultivo fuese similar en todos los reactores de la misma clase). Finalmente los reactores fueron cerrados con una cinta de amarre. En todos los casos

se mantuvo una tasa de inoculación de 10% inoculo/sustrato contenido en el biorreactor ambos en peso húmedo. Los biorreactores consistieron en bolsas de polietileno transparentes con capacidad neta de 5, 10 y 20 Kg y cuyas dimensiones fueron (25,40 x 40, 35,56 x 50,80 y 55,56 x 82, 80 cm) y que en lo sucesivo se denominaron P, M y G respectivamente.

4.2.4 Proceso de Incubación y Fructificación

Los biorreactores inoculados se colocaron en una cámara oscura de 4,5 m de largo; 3,0 m de ancho y 2,2 m de altura, esta cámara contaba con puertas corredizas de acceso, iluminación artificial, un ventilador para asegurar el intercambio de aire, y un sistema de humidificación para asegurar la humedad relativa (*Hr*) del ambiente; trabajando a temperatura ambiente. Cada dos días se realizaron observaciones para determinar el grado de invasión del sustrato.

Los biorreactores totalmente sellados, se mantuvieron por 4 días en la cámara oscura, al cuarto día se realizaron perforaciones en forma de cruz en las partes laterales, superior e inferior de los biorreactores, para facilitar la entrada de aire. A partir de este día la humedad fue mantenida a un valor superior al 80% y una temperatura entre los 19 °C a 22 °C. Las biorreactores permanecieron en esta cámara hasta el desarrollo completo del micelio.

A continuación, se trasladaron los cultivos a la cámara de fructificación y se incubaron a 25°C, con un 75 % a 95 % de *Hr* e iluminación natural por 11 h, por el tiempo necesario hasta observada la aparición de primordios de carpóforos promovidos por la presencia de luz tenue, y la perforación cada 5 cm² de la superficie de los biorreactores. El seguimiento del crecimiento de los carpóforos se realizó de manera visual. La cosecha se realizó con un bisturí, una vez que se alcanzó el tamaño y apariencia de madurez apropiados siguiendo el procedimiento de Vedder, (1996).

4.2.5 Determinación de las características morfo-anatómicas de *P. ostreatus* cepa BIOMI104 en tusa de maíz.

La metodología de caracterización de *P. ostreatus* cepa BIOMI104, se centró en el análisis de las características morfo-anatómicas del pleurocarpo; descripción macroscópica del píleo, láminas y estípites comparando con las características taxonómicas del género *Pleurotus spp.*, frente a claves taxonómicas permitiendo la identificación a nivel de género (Largent y Stuntz, 1977; Largent *et al.*, 1977) (Anexo 1), y especie (Petersen *et al.*, 2006) (Anexo 2).

4.2.6 Determinación del efecto del tamaño del biorreactor en el tamaño y calidad de la producción de *P. ostreatus*.

Para evaluar el efecto del biorreactor en el tamaño de los carpóforos, se tomó en cuenta el peso promedio del carpóforo cosechado (g) y midiendo el tamaño del pleurocarpo por cada biorreactor; clasificando los carpóforos en tres grupos de hongos; hongos de tamaños menores de 5 cm de diámetro (grupo C), hongos de diámetros entre 5-10 cm (grupo B) y hongos de diámetros mayores a 10 cm (grupo A).

4.2.7 Determinar el efecto del tamaño del biorreactor en la eficiencia biológica y tasa de producción de la producción de champiñón ostra (*P. ostreatus*) en tusa de maíz.

Para evidenciar un efecto del tamaño del biorreactor en el cultivo de *P. ostreatus* sobre tusa de maíz; se determinó cuantitativamente la eficiencia biológica (relación del peso fresco de los hongos producidos entre el peso del sustrato seco x 100), y tasa de producción (relación del porcentaje de eficiencia biológica entre el número total de días del proceso) para cada uno de los biorreactores, a través del registro del sustrato en cada biorreactor y el peso de los carpóforos por cosecha hasta llegar a la segunda oleada de cosechas. Se midió el tiempo transcurrido durante todo el proceso, desde la siembra del micelio en los reactores hasta la cosecha, para determinar el tiempo de trabajo en cada tipo de biorreactor para incubar y para fructificar.

4.2.8 Determinación de la Relación área-volumen de los biorreactores para la producción de *P. ostreatus* en tusa de maíz.

Siguiendo la metodología de Pazo *et al.* (2010), se determinó la relación área-volumen de los biorreactores, para ello se midió la altura ocupada por el material en cada biorreactor. Obteniendo el promedio de cada tamaño de biorreactor, determinando la altura que ocupó el sustrato. Con este valor y las dimensiones de las bases de los biorreactores, se determinó el área lateral de crecimiento del hongo en cada tipo de biorreactor. Para determinar el área superficial superior se trazó en un papel el perfil superior de la tusa de maíz inoculada y se pesó, valor se relacionó con el peso de una unidad de área trazada previamente en un papel del mismo tipo. La relación determinó el área superior que ofrece cada tipo de biorreactor para el crecimiento del hongo. Al añadir este valor al área lateral, se obtuvo el área superficial total para el crecimiento del hongo.

La determinación del volumen efectivo ocupado por el cultivo dentro del reactor, se realizó llenando los reactores hasta el límite superior que ocupa el cultivo, posteriormente se drenó el agua y se determinó su volumen utilizando un cilindro graduado.

CAPITULO V

Resultados y Discusión

5.1 Características morfo-anatómicas de las cepas BIOMI104.

La cepa BIOMI 104 de *P. ostreatus* se cultivó en tusa de maíz (*Zea más*) por FES, reflejando un desarrollo en conjunto de 6 a 10 primordios para dar origen a los carpóforos.

Tabla 2.1 Características de la cepa BIOMI-104 de *P. ostreatus*.

PILEO			
Carpóforo (Anterior)		Carpóforo (Posterior)	
	Forma:		
	Vista Lateral: Plano convexo Vista Apical: Petalóide. Disco: Obtuso. Margen: Arqueado. Borde: Liso. Viscosidad: Seca.	Color: Crema. Brillo: Mate. Textura: Glabro. Consistencia: Carnosa-quebradiza. Diámetro: 11,5 cm. Grosor: 4 cm.	
ESTIPITE		HIMENIO	
Unión: Lateral Forma: Compacta. Consistencia: Correosa. Contextura: Dura. Color: Crema claro. Diámetro: 0,8 cm. Largo: 4,2 cm.			Frecuencia: Juntas. Unión: Decurrentes. Ancho: Anchas. Lamelas: Redondeadas. Ramificación: No. Color: Crema. Grosor: 0,56 cm.

En la tabla 2.1 se muestran las características morfoanatómicas que presentó la cepa BIOMI 104 de *P. ostreatus* cuando se cultivó en tusa de maíz (*Zea más*) por FES.

Por cada brote se obtuvo un promedio de entre 6 y 10 primordios. Los carpóforos obtenidos tenían un píleo liso y convexo típico de *Pleurocarpo* propia de los hongos del género *Pleurotus spp* (Largent y Stuntz, 1977). Para OECD, (2006) y para Menolli *et al.*, (2010), obtuvieron características similares a las expuesta en este trabajo, donde en su vista lateral presentaron carpóforos planos - convexos y en cuanto a la vista apical presentaron formas varias desde el lenguado, petaloide y cóncavo; con un disco desde el de tipo deprimido, umbilicado hasta el obtuso; margen arqueada; bordes de tipo crenulado, ondulados, enteros, con un grado de humedad seco y colores mate, pasando por los cremas claros y oscuros, con textura glabra y consistencia carnosas quebradiza y fibrosa.

En cuanto al estípite presentaron uniones al píleo de forma lateral y excéntrica, con formas cilíndricas y comprimidas sinuosas, así como ventricosas, contexto sólido y colores desde el blanco a crema. El himenio era de color blanco a crema claro, sin patrones de ramificación con láminas atenuadas o redondeadas, muy juntas, anchas y de forma decurrente. Las morfologías del estípite y del himenio se asemejan a lo expuesto por Guzmán, *et al.*, (1994), Sánchez y Royse (2001), García- Mendoza, (2002) y Sánchez y Royse (2017).

5.2 Crecimiento del micelio de *P. ostreatus* en los reactores

En la Tabla 2.2 se presentan las características obtenidas de las etapas de crecimiento de la cepa BIOMI-104 de *P. ostreatus* que corresponden al promedio de las corridas realizadas en este trabajo.

En general se reconoce que la humedad relativa del aire es un factor muy importante para el desarrollo del hongo y que especialmente influye en la transición de su forma vegetativa a la reproductiva. Baja humedad relativa trae como consecuencia el secado gradual del sustrato y de los cuerpos fructíferos que se producen, algo que de ningún modo puede ser positivo. En general se han realizado estudios en los que la humedad del aire oscila entre 31 y 100 %. Mantener valores altos de humedad relativa aire puede

implicar un costo de inversión y operación del proceso que en muchos casos no pueden ser asumidos. Por otro lado, aire sobresaturado puede conducir a condensación y a la presencia de gotas de agua que se acumulan en la superficie del medio de cultivo y ambientes de la cámara de incubación y dar lugar a contaminación, este es un factor de diseño que resulta de gran interés de optimizar para la producción industrial (Burrage *et al.*, 1988; Mitchell *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2009; Pineda-Insuasti *et al.* 2014). En este trabajo la humedad relativa fue mantenida a valores de 59 – 75 % (Tabla 2.2) que según Pettipher, (1987) y Pineda-Insuasti *et al.*, (2014) están en los rangos normales para los procesos de fermentación sólida. La temperatura del cultivo es otro factor muy importante para el desarrollo de la mayoría de los hongos. Sin embargo, parecería que *P. ostreatus* es menos exigente en sus requisitos de temperatura para la fructificación; la temperatura que utiliza según la bibliografía maneja rangos entre 7 y 37 °C, en dependencia de la cepa y de la región geográfica de donde procede (Pineda *et al.*, 2014; Pettipher, 1987). Por tanto, las condiciones de temperatura para el cultivo utilizadas en este trabajo, tanto en las etapas de crecimiento del micelio en la tusa de maíz y en su etapa de fructificación hasta el segundo brote presentadas en la tabla 2.2, entran en el rango normal según la bibliografía.

Tabla 2.2 Características de las etapas de crecimiento de la cepa BIOMI-104 *P. ostreatus*.

Fase de desarrollo	Condiciones ambientales		Tiempo de Incubación (días)	
PDA	T = 25 °C		9	
Inoculo Primario	T = 25 °C		18	
Tusa de maíz (cámara oscura)	Tmax (°C)	26,3 ± 0,1	Reactor P	22
	Tmin (°C)	22,1 ± 0,1	Reactor M	29
	Hr (%)	76,68 ± 2,14	Reactor G	34
Tusa de maíz (cámara de fructificación hasta cosecha del segundo brote)	Tmax (°C)	25,8 ± 0,1	Reactor P	16
	Tmin (°C)	22,1 ± 0,1	Reactor M	22
	Hr (%)	77,6 ± 2,7	Reactor G	26

En cuanto a la duración del proceso de incubación en cámara oscura (Colonización) y fructificación hasta el segundo brote y que se realizó en la cámara de fructificación, se

pudo constatar que dependiendo del tamaño del biorreactor, el tiempo transcurrido varía durante las distintas etapas del proceso (colonización y posterior fructificación), entre más grande el biorreactor mayor tiempo se toma en incubación y posterior fructificación. En cuanto al tiempo de incubación, la duración fue de 22, 29 y 34 días para los biorreactores P, M y G respectivamente, mostrando que el proceso de desarrollo del micelio en el reactor más grande G, tiene un tiempo de incubación mayor que el resto, siendo 1,55 veces mayor que el tiempo de incubación del biorreactor P y 1,17 veces mayor que el tiempo del biorreactor M y este a su vez, es 1,32 veces mayor que en el caso del reactor P.

En lo relativo al tiempo necesario para la fructificación hasta el segundo brote, los cultivos mostraron un comportamiento similar al observado durante la incubación. Los tiempos de fructificación mostraron que en los reactores G el proceso es más lento con duración de 26 días, un tiempo 1,62 veces mayor que el tiempo del reactor P que fue de 16 días y a su vez, 1,18 veces mayor que M que tardó 22 días; mientras que, M es 1,37 veces mayor que P. Pazos *et al.*, (2012) reporta tiempos similares de incubación utilizando rastrojo de maíz, observando además la misma tendencia, a medida que aumenta el tamaño del reactor, aumentó el tiempo de incubación. Tendencia similares fue reportada por Zadrazil, (1979) y Pettipher, (1987).

5.3 Efecto del tamaño del biorreactor sobre la calidad de los carpóforos de *P. ostreatus*.

En relación con la calidad de los carpóforos obtenidos, los datos reportados en la Tabla 2.3 indican que el tamaño promedio de los carpóforos varía dependiendo del tamaño del biorreactor. En este caso, los carpóforos del biorreactor P mostraron un tamaño promedio de 4,7 cm clasificados como tipo C, siendo su tamaño de 1,93 veces menor que el tamaño de los carpóforos obtenidos en el biorreactor M, que fue de 9,1 cm tipo B y 2,70 veces menor que el tamaño de los carpóforos obtenidos en el biorreactor G con promedio de 12,7 cm tipo A. Mientras que los carpóforos del biorreactor M fueron de un tamaño 1,39 veces menor al obtenido en los biorreactores

G. Por otra parte, con respecto al peso promedio de los carpóforos obtenidos, se determinó que esta variable tiene un comportamiento similar al observado en el caso del tamaño promedio de los carpóforos, en el sentido que el peso promedio de los carpóforos aumenta en relación directa con el aumento del tamaño del biorreactor (33, 42 y 55 g) en cada uno de los tipos de biorreactores P, M y G respectivamente. Si consideramos que los cultivos, se realizaron bajo las mismas condiciones de medio de cultivo, concentración de inóculo y condiciones ambientales, los resultados aquí reportados muestran una clara relación entre el tamaño del reactor y la calidad de los carpóforos obtenidos, bajo estos parámetros el mejor resultado fue el obtenido en los reactores G con capacidad de 11,5 Kg de cultivo, estos resultados son semejantes a lo reportado por Pazos *et al.*, (2012).

El comportamiento de los cultivos de *P.ostreatus* en dependencia del tamaño de cada reactor puede explicarse por a la forma en que crecen estos hongos en el sustrato sólido. Cuando se realiza la inoculación, las partículas del inóculo se distribuyen en toda la masa del sustrato, cada uno de estas partículas de inóculo inician el crecimiento ramificándose en todas direcciones y ocupando las superficies del sustrato y los espacios vacíos, en esta etapa se puede considerar que el cultivo es una colonia formada por los individuos producto del crecimiento a partir de cada una de las partículas del inóculo. Sin embargo, durante el crecimiento los micelios provenientes de cada partícula se entrelazan y se producen interrelaciones complejas, eso ocurre indefinidamente hasta que prácticamente todo el micelio se transforma en un individuo y el hongo sigue su crecimiento hasta colonizar completamente el sustrato. Al momento de inducirse la fructificación, se produce la translocación de contenidos plasmáticos desde el micelio hasta los sitios en que se producen los primordios, y dependiendo de la disponibilidad de esas sustancias los cuerpos fructíferos serán de mayor o menor tamaño y calidad, esta es una de las razones por las que los reactores con mayor cantidad de sustrato generalmente producen cuerpos fructíferos de mayor calidad (Gaitan-Hernandez, *et al.*, 2006). Sin embargo como se verá más adelante la relación superficie

/ volumen la cual varia al variar el tamaño del reactor pone algunos límites al tamaño máximo del biorreactor que puede usarse.

Tabla 2.3 Características de la producción de *P. ostreatus* cepa BIOMI 104 bajo tusa de maíz en diferentes tamaños de biorreactor.

Características	Biorreactor		
	P	M ^a	G ^b
Peso del cultivo en (Kg)	2,8 Kg	5,7 kg	11,5 kg
Tamaño promedio de los carpóforos (cm)	4,7 ± 0,6	9,1 ± 0,7	12,7 ± 0,6
Peso promedio de los carpóforos (g)	33 ± 1	42 ± 1	55 ± 1
Numero de carpóforos	15 ± 2	106 ± 7	138 ± 7
Clasificación de los carpóforos	A	B	C
Peso total de los carpóforos obtenidos (Kg)	0,50 ± 0,03	4,45 ± 0,09	4,92 ± 0,02

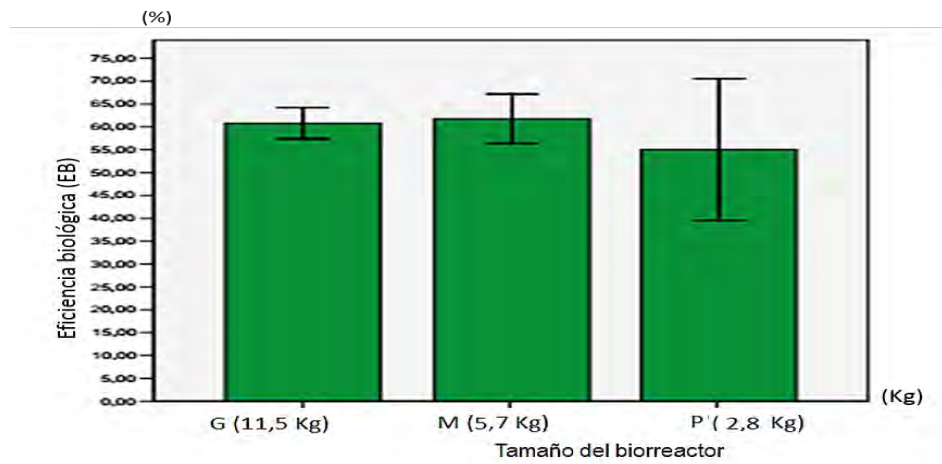
Biorreactor pequeño (P), biorreactor mediano (M^a), y biorreactor grande (G^b)

Nota: ^a, y ^b diferencia significativa en la tasa de crecimiento micelial, la producción de biomásas con respecto a la temperatura y los medios de cultivo con $P < 0,05$.

5.4 Efecto del tamaño del biorreactor en la eficiencia biológica y tasa de producción de *P. ostreatus* en tusa de maíz

Según Mane *et al.*, (2007) La eficiencia biológica (EB) no solo depende del balance nutricional del medio de cultivo, sino también de otros aspectos ambientales, como la capacidad de retención de agua del sustrato, temperatura de incubación, intensidad y duración de la iluminación, la aireación y la humedad relativa en varias etapas del cultivo. Desde el punto de vista biotecnológico, este parámetro es muy importante porque determina el potencial biológico de los sustratos para la producción de hongos (Ríos *et al.*, 2010; Díaz y Carvajal, 2014). En la figura 2.1, se muestran los valores de eficiencia biológica obtenidos en este trabajo, como puede observarse, la EB fue de 55,

62 y 55 % para los reactores P. M y G respectivamente; resaltando que los cultivos realizados en el biorreactor M presentó la mayor EB (62 %). Sin embargo, el tratamiento estadístico mostró que no hay diferencias significativas entre los tres tipos de reactores ($P < 0,05$). Según este resultado el tamaño del reactor en nuestro caso no afectó significativamente la eficiencia biológica. Por otra parte, los valores de EB presentados son superiores a los reportados por Catucumbamba, (2013) quien obtuvo EB de 23,2% utilizando paja de cebada y afrecho de cereales, obteniendo la mayor eficiencia biológica se obtuvo en el tratamiento con paja con el 34,2%. Y los obtenidos por Ríos *et al.*, (2010) y Kumla *et al.*, (2020) en cultivos de *P. ostreatus* en combinaciones de desechos lignocelulósicos como maderas duras y obtuvieron una EB mínima de 27,3% cuando se usaron solamente aserrín de maderas duras como sustrato y una máxima de 46,5 % cuando estas maderas duras se combinaron con paja de trigo o tallos de maíz. Herreros Huamaní, (2021) obtuvieron una EB utilizando el tratamiento con chala de maíz, obteniendo una media de 23.631%, es decir por cada 100 Kg de peso de bolsa con sustrato 23.631 Kg representa el peso fresco de *P. ostreatus*. No obstante, Cueva y Monzon, (2014) reportaron una EB cerca al 70 % utilizando rastrojo de maíz estos valores son superiores a los obtenidos en este trabajo. Finalmente Lopez-Rodriguez *et al.*, (2008), obtuvieron una EB 57,8 % utilizando tusa de maíz, valores similares a los de EB obtenidos por nosotros utilizando el mismo sustrato. Según Salmones *et al.*, (1997) un valor alto de EB asegura que el sustrato elegido es idóneo para el cultivo de *P. ostreatus*, Sin embargo para que un cultivo se considere rentable la eficiencia debería superar el 50%, por lo que este estudio utilizando tusa de maíz tiene una EB en el rango aceptable.



Nota: ^a diferencia significativa en la EB (%) con respecto a todos los demás biorreactores con $P < 0,05$.

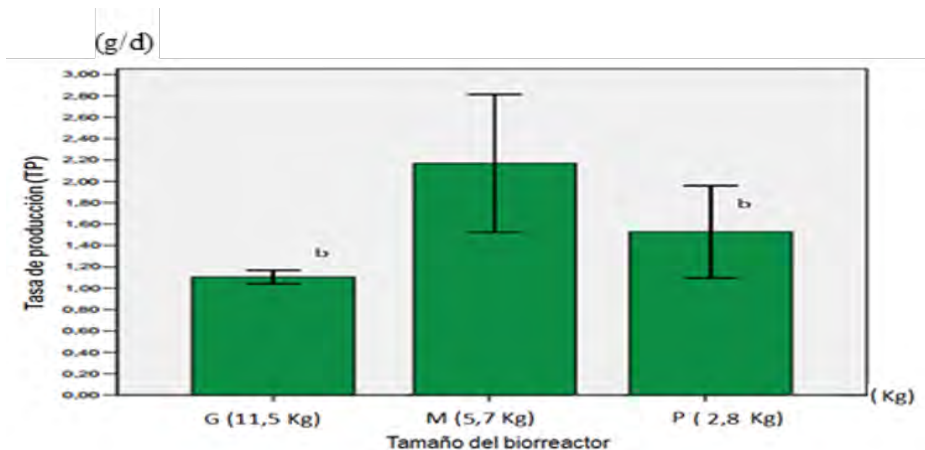
Figura 2.1 Comparación entre las eficiencias biológicas (EB) para los diferentes tamaños de biorreactor; Biorreactor para 2,8 Kg (P); 5,7 Kg (M); y 11,5 Kg (G), para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* cepa BIOMI 104.

En cuanto a la tasa de producción (TP), este es un parámetro importante porque permite discriminar la eficiencia entre los diferentes cultivos independientemente de las condiciones en que se llevaron los mismos. La TP de cultivos *P. ostreatus* varían dependiendo el tipo de sustrato y tecnologías de cultivo. Salmones *et al.*, (1997) reportaron tasas de producción de 0,34 y 1,68 g/d utilizando paja de cebada. Savon *et al.*, 2007, reportaron 1,31 y 4,50 g/d en pulpa de café y virutas de cedro. Romero *et al.* (2010) reporta una tasa de producción de *P. ostreatus* en sustrato a base de paja de trigo de 2.08g/d, seguido de cebada con 1.77g/d; y hoja de plátano con 1.71g/d. Por último, Zarate (2015), empleando panca de maíz, reportó 2.07g/d. Por lo tanto, la tasa de producción presentada en este trabajo de acuerdo a los datos expuestos en la bibliografía y trabajos similares está dentro de los valores normales.

En los resultados mostrados en la figura 2.2, se puede apreciar que la tasa de producción varía en los diferentes tamaños de reactor, en este caso, el biorreactor M mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) cuando es comparado con los otros tamaños de reactor. La tasa de producción del reactor M (2,17 g/d) resultó 2,43 veces mayor que

la obtenida en el reactor P (1,11 g/d) y a su vez 1,6 veces mayor que la obtenida en los reactores G (1,56 g/d).

en la Figura 2.2 se presentan los resultados de los promedios de la tasa de producción (TP) de *P. ostreatus* cepa BIOMI104 cultivado sobre tusa de maíz y bajo diferentes tamaños de reactores.



Nota: ^{a,b}diferencia significativa en la EB (%) con respecto a todos los demás biorreactores con $P < 0,05$.

Figura 2.2 Comparación entre las tasas de producción para los diferentes tamaños de biorreactores para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* cepa BIOMI 104.en tusa de maíz. Biorreactor para 2,8 Kg (P); 5,7 Kg(M); y 11,5 Kg (G).

5.5 Determinación de la relación área/volumen

Tabla 2.4. Áreas y relaciones área/volumen para cada tipo de biorreactores para el cultivo de *P.ostreatus* cepa BIOMI104.Bio

Características	Biorreactores		
	P	M	G
Área total (cm ²)	602,93	980,51	1600,35
Área efectiva (cm ²)	501,33	678,25	830,53
% área efectiva	83,15	69,17	51,87
Área / volumen (cm ² /cm ³)	0,10	0,067	0,042
Volumen ocupado por el cultivo (L)	5	10	20

Nota: En todos los casos la densidad de empaque fue de 0,575 Kg de sustrato húmedo/ Litro

Por otra parte, en los resultados mostrados en la Tabla 2.4 se aprecia que la relación superficie /volumen disminuye a medida que se incrementa el tamaño de los reactores y en este caso, el biorreactor P tiene la relación área / volumen más grande ($0,10 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$) pero arrojó la menor tasa de producción ($1,5 \text{ g/d}$) Sin embargo, como se observó anteriormente (tabla 2.2) es el que presenta los menores tiempos de colonización y fructificación. En el otro extremo, se encuentra el biorreactor G con la relación área/ volumen más pequeña ($0,042 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$) y con una tasa de producción de 1.56 g/d , este reactor fue el que presentó los mayores tiempos de colonización y fructificación lo que podría considerarse una desventaja desde el punto de vista biotecnológico, pero como se observó (tabla 2.3) fue el que produjo los carpóforos de mejor calidad y peso. No obstante, fue el biorreactor tipo M con una relación área/volumen de $0,067$, el que presentó con una diferencia significativa ($P < 0,05$; en relación a los otros tipos de reactor) la mayor productividad (2.7 g/d) valor $2,43$ y $1,6$ veces mayor que el obtenido para los reactores P y G respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados por Pazos *et al.*, (2010) con *P. ostreatus*, cultivado sobre rastrojo de maíz y bajo diferentes tamaños de biorreactor.

De los resultados obtenidos en los cultivos de *P. ostreatus* realizados utilizando tusa de maíz como sustrato, se infiere que el tamaño del reactor afecta el crecimiento, fructificación y calidad de los carpóforos obtenidos. Se puede apreciar que a medida que aumenta el tamaño del reactor, se incrementa el tiempo que tarda el micelio en colonizar completamente el sustrato y la fructificación, además, la calidad tanto en peso y tamaño de los carpóforos producidos mejora significativamente a medida que aumenta el tamaño del reactor, lo que hace más factible la utilización de los reactores M y G. Por otro lado, a pesar de las variaciones antes mencionadas, la eficiencia biológica no fue significativamente afectada y se obtuvo valores semejantes a los obtenidos por otros autores ya mencionados. Por tanto, el otro factor a tomar en cuenta, es la relación área/volumen que determina el área que dispone el cultivo para intercambiar materia y energía con el medio ambiente. Este factor afecta principalmente la velocidad a la que se pueden realizar la multitud de reacciones

bioquímicas implicadas en el proceso. En consecuencia, los biorreactores P tuvieron una relación área /volumen más grande, debido a que el intercambio de calor, oxígeno y CO₂ es muy eficiente y la velocidad de colonización y fructificación ocurre en menor tiempo que la observada en los reactores más grandes. Por lo que, mientras mayor relación área/volumen tenga el reactor no necesariamente se obtendrán mejores rendimientos en el cultivo debido a que la limitación en la cantidad de sustrato afecta directamente la cantidad y forma de los carpóforos obtenidos, concordando con Matthews, (2008).

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

- El tamaño del biorreactor afecta de manera significativa la colonización, fructificación y calidad de los carpóforos del hongo *P. ostreatus* BIOMI₁₀₄ cultivado sobre tusa de maíz.
- A medida que se incrementa el tamaño del biorreactor, los tiempos de colonización del sustrato y fructificación por parte de *P. ostreatus* BIOMI₁₀₄ se hacen más largos.
- La calidad y peso de los carpóforos de *P. ostreatus* BIOMI₁₀₄ obtenidos depende directamente del tamaño del reactor, en el biorreactor P los carpóforos fueron de menor calidad y peso que los obtenidos en los biorreactores M y estos a su vez fueron superados a los cosechados en los biorreactores G.
- La eficiencia biológica de *P. ostreatus* BIOMI₁₀₄ crecido en tusa de maíz no resultó afectada de forma significativa por el tamaño del reactor.
- Por cada brote se obtuvo un promedio de entre 6 y 10 primordios. Los carpóforos obtenidos tenían un píleo liso y convexo típico de *Pleurocarpo* propia de los hongos del género *Pleurotus spp.* Además, se observó que existe un incremento en el tiempo de incubación a medida que se aumenta el tamaño del biorreactor.
- Todos los tratamientos presentaron una eficiencia biológica superior al 40%. Sin embargo, de acuerdo a el efecto en el tamaño y calidad de los carpóforos, así como la tasa de producción el mejor biorreactor sería el biorreactor M con una EB de 61% y TP de 2,17 g/d.

- Los biorreactores P tuvieron una relación área /volumen más grande que el resto, con los menores tiempos de colonización y fructificación pero con una baja productividad. Por lo que, mientras mayor relación área/volumen tenga el biorreactor no se obtuvieron mejores rendimientos en el cultivo.

RECOMENDACIONES

- Continuar con la investigación profundizando en el valor nutricional, para conocer los valores reales nutricionales que se obtienen al consumir *P. ostreatus* mediante el uso de FES y tusa de maíz.
- Realizar ensayos piloto de producción para estudiar las metodologías a aplicar en el manejo del proceso a gran escala
- Realizar más estudios para elucidar el efecto de la tasa de inoculación y densidad de empaque y utilizar otros tamaños de reactores con vista a optimizar el proceso de cultivo de *P. ostreatus*
- Producir los hongos comestibles de *P. ostreatus* con diferentes sustratos a base de rastrojos agrícolas ya sea de trigo, cebada, maíz y otros, por tener mayor margen de utilidad y que se encuentren disponibles en la zona.

REFERENCIAS

- Adamović, M., Grubić, G., Milenković, I., Jovanović, R., Protić, R., Sretenović, L., & Stoićević, L. (1998). The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 71(3-4), 357-362.
- Ajith, T., & Janardhanan, K. (2007). Indian medicinal mushrooms as a source of antioxidant and antitumor agents. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 40:3, 157.
- Alexopoulos, C., Mims, C., & Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology* (Vol. 4^a edition). New York.: Editorial John Wiley and sons, 880.
- Almeida, S. M., Umeo, S. H., Marcante, R. C., Yokota, M. E., Valle, J. S., Dragunski, D. C., ... & Linde, G. A. (2015). Iron bioaccumulation in mycelium of *Pleurotus ostreatus*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46, 195-200.
- Alpuche, G. y O. Paredes (1996). ; Potencial en la biotecnología para la producción de hongos comestibles empleando desperdicios agrícolas. *Acta Universitaria*, 1(4), 1-15.
- Anele, U. Y., Anike, F. N., Davis-Mitchell, A., & Isikhuemhen, O. S. (2021). Solid-state fermentation with *Pleurotus ostreatus* improves the nutritive value of corn stover-kudzu biomass. *Folia microbiologica*, 66(1), 41-48.
- Ardón C. (2007). Producción de hongos comestibles, informe investigación, Maestría docencia universitaria con especialidad en evaluación educativa. Facultad de Humanidades, Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala, Cap: 1: 1-19.
- Beltrán Delgado, y., Morris Quevedo, H., Domínguez, O. D., Batista Corbal, P., Y Llauradó Maury, G. (2021). composición micoquímica y actividad antioxidante de la seta *Pleurotus ostreatus* en diferentes estados de crecimiento. *Acta Biológica Colombiana*, 26(1), 89-98.
- Bermúdez RC, Donoso C, Martínez CE, Ramos EI, Morris HJ. (2002) Efecto de la luz en la concentración de micosteroides de *Pleurotus ostreatus* var. florida. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 16:13-18

- Buchanan, P. (2003). Contributed papers on Biodiversity of Southern Hemisphere fungi. *New Zealand Journal of Botany*, 41:3, 377-377.
- Burrage, S. W., Varley, M. J., Noble, R., & Perrin, P. S. G. (1988). A microcomputer-based environmental control system for mushroom cropping tunnels. *Computers and electronics in agriculture*, 2(3), 193-207.
- Cardona, L. F. (2001). Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. *Crónica forestal y del medio ambiente*, 16, 99-119.
- Catucuamba Echeverría, Jenny Adriana. (2013). Evaluación de la producción del cultivo del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*), sobre tamo de cebada, con aplicación de afrecho, y diferente porcentaje de micelio, en la parroquia Pifo, provincia Pichincha. Diciembre 03, 2021, de Universidad Estatal de Bolívar . Facultad de Ciencias Agropecuarias . Escuela de Ingeniería Agronómica Sitio web: <https://dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/1153>
- Chávez Véliz, J. D. (2017). Obtención y evaluación de extractos enzimáticos con actividad celulítica y lignolítica a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivados en tusa de maíz (Bachelor's thesis, Quevedo: UTEQ). 68p.
- Ciappini, M. C., Gatti, B., & Zamora, M. L. L. (2004). *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú. estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. *Invenio*, 7(12), 127-132.
- Cogorni, P. F. B. O., Schulz, J. G., Alves, E. P., Gern, R. M. M., Furlan, S. A., & Wisbeck, E. (2014). The production of *Pleurotus sajor-caju* in peach palm leaves (*Bactris gasipaes*) and evaluation of its use to enrich wheat flour. *Food Science and Technology*, 34(2), 267-274.
- Cristóbal, P. A., García, R. M., Y Avendaño, H. L. (2015). Eficiencia biológica de *Pleurotus* spa nativo de Oaxaca (itao-27) sobre rastrojos de frijol, maíz y olotel [biological efficiency of edible native mushroom from Oaxaca *Pleurotus* spp (itao-27) on stubble of bean, corn and corn cob]. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 2(2).

- Díaz A. (2016) Cultivo del Hongo *Pleurotus ostreatus* en Concha de Cacao. Facultad de Ciencias Departamento de Biología Universidad de los Andes.
- Donoso, J. y J. Aguirre. (1980). Cultivo de hongos comestibles lignívoros. Corporación de Fomento. Gerencia de Desarrollo, 4-70.
- Dustet JC y Izquierdo E. (2004) Aplicación del balance de masa y energía al proceso de fermentación en estado sólido de bagazo de caña de azúcar con *Aspergillus niger*. Biotecnología Aplicada 21:85-91.
- Espinoza, R.M. (1997). Podría utilizarse la celulosa de pañales desechables para el cultivo de hongos comestibles. Vida Universitaria: 12, 1-2.
- Fan LA, Soccol T, Pandey A, Soccol CR. (2003) Cultivation of *Pleurotus mushrooms* on Brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid. Micología Aplicada International 15(1):15-21.
- Fasidi, I. O., Kadiri, M., Jonathan, S. G., Adenipekun, C. O., &Kuforiji, O. O. (2008). Cultivation of tropical mushrooms. Ibadan: Ibadan University Press. 81.
- Félix, N. F. E., Vaca, M., & Izurieta, B. (2014). Obtención de extractos enzimáticos con actividad celulolítica y ligninolítica a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* 404 y 2171 en rastrojo de maíz. Revista Politécnica, 33(1).
- Furci George-Nascimento, G. M. (2007). Fungi Austral: Guía de campo de los hongos más vistosos de Chile. CORMA. 1-200.
- García M.(1987). Cultivo de setas y trufas. Editorial Mundi. 2-255.
- García N, Bermúdez RC, Roussos S, Perraud-Gaime I, Augur C. (2008) Enzymatic biotransformation of coffee pulp polyphenols by *Pleurotus* spp. XXIVth International Conference on Polyphenols, 8-11.
- García-Mendoza, C. (2002) El cultivo de los hongos superiores comestibles, un recurso de desarrollo ineludible en el siglo XXI. Anal. Real Acad. Nac. Farm.;68(4):753-776.
- Guzmán, G. (1998). Análisis cualitativo y cuantitativo de la diversidad de los hongos de México (Ensayo sobre el inventario fúngico del país). La Diversidad Biológica de Iberoamérica, II Volumen Especial, 111–175.

- Guzmán, G.; Montoya, L.; Mata, G. Y Salmenes, D. (1994). Studies in the genus *Pleurotus*, III. The varieties of *P. ostreatus*-complex based in interbreeding strains and in the study of basidiomata obtained in culture. *Mycotaxon* 50:365-378
- Han, J. H., Kwon, H. J., Yoon, J. Y., Kim, K., Nam, S. W., & Son, J. E. (2009). Analysis of the thermal environment in a mushroom house using sensible heat balance and 3-D computational fluid dynamics. *Biosystems engineering*, 104(3), 417-424.
- Hernández-Corredor, López-Rodríguez, C., Suárez-Franco, C., & Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 128-137.
- Herrera, T., & Ulloa, M. (1998). El reino de los hongos: Micología básica y aplicada. México: Fondo de cultura económica – UNAM. 552 p
- Herreros Huamaní, C. A. (2021). Producción de Hongos Ostra (*Pleurotus ostreatus*) En Sustratos Agrícolas En Vilcabamba–Grau–Apurímac.
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lucking, R., Lumbsch, H. T., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., Vilgalys, R., Aime, M. C., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G. L., Castlebury, L. A., Crous, P. W., Dai, Y. -C., Gams, W., Geiser, D. M., Griffith, G. W., Gueidan, C., Hawksworth, D. L., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R. A., Hyde, K. D., Ironside, J. E., Koljalg, U., Kurtzman, C. P., Larsson, K. -H., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miadlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J. -M., Mozley-Stanridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J. D., Roux, C., Ryvarden, L., Sampaio, J. P., Schussler, A., Sugiyama, J., Thorn, R. G., Tibell, L., Untereiner, W. A., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M. M., Winka, K.,

- Yao, Y. -J. & Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol. Res.*, 111:509–547
- Hölker U y Lenz J. (2005) Solid–State fermentation – are there any biotechnological advantages?. *Current Opinión in Microbiology* 8:301-306.
- Julián MC y Ramos LB (2007) Fermentación en estado sólido (i). Producción de alimento animal. *Tecnología Química XXVII* (3):17-22.
- Kachlishvili, E., Penninckx, M. J., Tsiklauri, N., & Elisashvili, V. (2006). Effect of nitrogen source on lignocellulolytic enzyme production by white-rot basidiomycetes under solid-state cultivation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(4), 391-397.
- Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 209-218
- Kamitsuji H, Honda Y, Watanabe T, Kuwahara M. (2005) Mn 2+ is dispensable for the production of active MnP2 by *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 327:871-876
- Kato, L. A., & Ferreira Jr, W. C. (2003). Modelo de propagação de lesões foliares causadas por fungos. *Revista de Biomatemática*, 13, 45-53.
- Kerem Z y Hadar Y. (1998) Lignin-Degrading Fungi: mechanisms and utilization. *Agricultural Biotechnology* 27:351-365.
- Klibansky M, Mansur M, Gutiérrez I. (1993) Productions of *Pleurotus ostreatus* mushrooms on sugar cane agrowastes. *Acta Biotechnology*. 13(1):71-78.
- Kong, W.-S. (2005). Descriptions of commercially important *Pleurotus* species. In *Mushroom Growers Handbook 1: Oyster Mushroom Cultivation*. (Vol. 1, pp. 54–61).
- Kumar, V., Ahluwalia, V., Saran, S., Kumar, J., Patel, A. K., & Singhanian, R. R. (2020). Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial

- secondary metabolites, challenges and solutions. *Bioresource Technology*, 124:566.
- Kumari, D., & Achal, V. (2008). Effect of different substrates on the production and non-enzymatic antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom). *Life Sci. J*, 5:3, 73–76.
- Kumla, J., Suwannarach, N., Sujarit, K., Penkhrue, W., Kakumyan, P., Jatuwong, K., Vadthanarat, S., & Lumyong, S. (2020). Cultivation of Mushrooms and Their Lignocellulolytic Enzyme Production Through the Utilization of Agro-Industrial Waste. *Molecules*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122811>
- Kummer, P. (1871). *Der führer in die pilzkunde*. . Zerbst. 155p.
- Largent, D., & Stuntz, D. (1977). How to identify mushrooms to genus I: Macroscopic Features. U.S.: Mad River Press, Eureka. 166p.
- Largent, D., Johnson, D., & Watling, R. (1977). How to Identify Mushrooms to Genus III: Microscopic Features. California: MadRiverPress. Eureka. 148p.
- Levin, L. (1996). Biodegradación de materiales lignocelulósicos por hongos. Secretaría de Ciencias y Técnica. Universidad de Buenos Aires. 1-20.
- López, A., & García, J. (2009). *Pleurotus levis* Agaricales: Lentinaceae. *Funga Veracruzana*, 103, 1–4.
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C., & Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 128-137.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2008). *Brock Biology of microorganisms* 12th edn. International Microbiology, 11, 65–73.
- Mandeel QA, Al-Laith AA, Mohamed SA. (2005) Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21:601–607.

- Mane, V. P., S. S. Patil., A. A. Syed., and M. V. Baig. (2007). Bioconversion of low quality lignocellulosic agricultural waste into edible protein by *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. *J Zhejiang Univ Sci B*. 8(10): 745-51
- Márquez-Araque, A. T., Mendoza Martínez, G. D., González Muñoz, S. S., BuntinxDios, S. E., & Loera Corral, O. (2007). Actividad fibrolítica de enzimas producidas por *Trametes* sp. EUM1, *Pleurotus ostreatus* IE8 y *Aspergillus niger* AD96. 4 en fermentación sólida. *Interciencia*, 32(11), 780–785.
- Matthews, Guy. 2008. *Fermentation Equipment Selection: Laboratory Scale Bioreactor Design Considerations*. Chapter 2. *McNeil B y Harvey L Eds*. New York.
- Menolli Junior, N., Asai, T., Capelari, M., & Paccola-Meirelles, L. D. (2010). Morphological and molecular identification of four Brazilian commercial isolates of *Pleurotus* spp. and cultivation on corn cob. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53(2), 397–408.
- Miles, P. G., & Chang, S.-T. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press. 451p.
- Mitchell D, Pandey A, Sangsurasak P, Krieger N. (1999) Scale-up strategies for packed-bed bioreactors for solid-state fermentation. *Process Biochemistry* 35(1- 2):167-178.
- Mitchell, D. A., Krieger, N., & Berovič, M. (2006). *Solid-state fermentation bioreactors*. Springer, Heidelberg, 19.
- Morillo, O., Guerrero, B., Toro, J., Castañeda, R., García, P., Cuervo, W. (2012). Evaluación de la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en hoja de caña y tusa de maíz. *Observador Del Conocimiento*, 2, 213–221.
- Mudgett, R. E., Nash, J., & Rufner, R. (1992). Controlled gas environments in solid substrate fermentations [White-rot fungi degradation of lignocellulosic wastes]. *Developments in Industrial Microbiology*.
- Murakami, S., & Takemaru, T. (1990). Genetic studies of *Pleurotus salmoneostramineus* forming albino basidiocarps. *Reports of the Tottori Mycological Institute*, 28, 199-204.

- Murcia, M., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A., Vera, A., Honrubia, M., & Parras, P. (2002). Antioxidant activity of edible fungi (truffles and mushrooms): losses during industrial processing. *Journal of Food Protection*®, 65:10, 1614–1622.
- Nevares Quiñones, D. M. (2012). Aprovechamiento de residuos agroforestales para el cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus* sp.). (Tesis Doctoral). Instituto politécnico Nacional de Mexico. 119.
- Nigamm, P., & Singh, D. (1994). Solid-state (substrate) fermentation systems and their applications in biotechnology. *Journal of Basic Microbiology*, 34(6), 405-423.
- OECD (2006), Safety Assessment of Transgenic Organisms, Volume 1: OECD Consensus Documents, Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, OECD Publishing, Paris, Section 11 OYSTER MUSHROOM (*PLEUROTUS* SPP.) Pag 278-279.
- Pandey A. (2003) Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering*, 13:81-84.
- Pazos, D., Izurieta, B. & Espín, N., (2012). Estudio de la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 sobre rastrojo de maíz. *Revista Politécnica*, 2010, Vol. 31(1): 65–69.
- Pérez-Guerra N, Torrado-Agrasar A, López-Macias C, Pastrana L. (2003) Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. *Electronic Journal of Environmental, Agriculture and Food Chemistry* 2(3):343-350.
- Pernía, B., Demey, J., Inojosa, Y., & Naranjo-Briceño, L. (2012). Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclástico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal*, 3:1 , 1–40.
- Pettipher, G. L. (1987). Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on lignocellulosic waste. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 41(3), 259-265.
- Phillips, R. (1991). *Mushrooms of North America*. Little Brown and Company. 1: 320.
- Pineda-Insuasti, J. A., Ramos-Sánchez, L. B., & Soto-Arroyave, C. P. (2014). Producción de *Pleurotus ostreatus* por fermentación en estado sólido: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 48(2), 13-23.

- Poppe J. (2005) Capítulo 5 Sustrato. En: Manual del cultivador de hongos 1. Cultivo del hongo ostra. Publicado por MushWord, Corea. pp:83-93.
- Potter, N., & Hotchkiss, J. (1995). *Ciencia de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acirbia S.A. . 667p.
- Quimio, T. H., Chang, S. T., & Royse, D. J. (1990). Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. 106, 62–70.
- Rahardjo Y, Tramper , Rinzema A. (2006) Modeling conversión and transport phenomena in solid-state fermentation: A review and perspectives. *Biotechnology Advances* 24:161-179.
- Rajaratnam, S., Bano, Z., & Miles, P. G. (1987). *Pleurotus* mushrooms. Part I A. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding, and cultivation. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 26(2), 157-223.
- Rios, M. Hoyos J., y Mosquera, S. (2010). Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* *Rev.Bio.Agro*.8(2): 86-94.
- Robinson, T., Singh, D., & Nigamm, P. (2002). Fermentación en estado sólido: una tecnología microbiana promisoría para la producción de metabolitos secundarios. *Vitae*, 9(2), 27-36.
- Rodríguez-Couto S y Sanromán MA. (2005) Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. *Biochemical Engineering Journal* 22(3):211-219.
- Rodríguez-Couto S y Sanromán MA. (2006) Application of solid-state fermentation to food industry—A review. *Journal of Food Engineering* 76(3):291-302
- Romero, O., Huerta, A., Damián, M. A., Macías, A., Rivera, J. A., Parraguirre, F. C., & Huerta, Y. J. (2010). Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L., cv. roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. *Agronomía costarricense*. 34(1): 53-63

Royse DJ & y Sánchez JE. (2017). Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países iberoamericanos. En La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. (Sánchez JE & Royse DJ, eds). Editorial El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México, pp. 17-25

Ruíz-Leza, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana de ingeniería química*, 6(1), 33-40.

Salmones, D., Gaitán-Hernández, R., Pérez, R., & Guzmán, G. (1997). Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Revista Iberoamericana de Micología*, 14, 173-176.

Salmones D., Gaitán-Hernández, R. & Ortega, C. (2021). Cepas de *Pleurotus pulmonarius* con alta capacidad productiva seleccionadas de micelios dicarióticos. *Scientiafungorum*, 50, e1270.

Salmones D, Mata G, Waliszewski K. (2005) Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. *BioresourceTechnology* 96:537–544.

Sánchez, J., & Royse, D. (2001). La biología y el cultivo de *Pleurotus* sp. . México: El Colegio de la Frontera Sur. 293p.

Sánchez, O.J. y Cardona, C.A. (2007). Producción de Alcohol Carburante: Una Alternativa para el Desarrollo Agroindustrial. Manizales (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 386 p.

Sánchez, and Montoya. (2020). "Assessment of Polysaccharide and Biomass Production from Three White-Rot Fungi by Solid-State Fermentation Using

Wood and Agro-Industrial Residues: A Kinetic Approach" *Forests* 11, no. 10: 1055

Savón, R. C. B., Fernández, C. D., Manrique, C. E. M., Sevilla, E. I. R., & Quevedo, H. J. M. (2002). Efecto de la luz en la concentración de micosteroides de *Pleurotus ostreatus* var. Florida. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 16(1), 13-18.

Savón, R. C. B., Oduardo, N. G., & López, A. M. (2007). Fermentación sólida para la producción de *Pleurotus* sp. sobre mezclas de pulpa de café y viruta de cedro. *Tecnología química*, 27(2), 55-62.

Singer, R. (1986). The Agaricales in modern taxonomy. Koeltz Scientific Books. 4: 981-988.

Torres, M. G., & Hurtado, A. R. (2003). Potencial de la microbiota nativa comestible y medicinal en el municipio de Quibdó. Trabajo de grado. Biólogo con énfasis en recursos naturales. Facultad de Ciencias. Universidad Tecnológica del Chocó. Quibdó, Chocó, 116.

Urcelay, C., Robledo, G., Heredia, F., Morera, G., & Montaña, F. G. (2012). Hongos de la madera en el arbolado urbano de Córdoba. Córdoba, Argentina. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (UNC-CONICET). 104p.

Valencia del Toro, G. (2002). Estudios sobre la expresión del color de los esporóforos de *Pleurotus* spp. por apareamiento de neohaplontes compatibles y progenies monospóricas. México, DF: Tesis de doctorado.UNAM. 128p.

Vedder, P. (1996). Cultivo moderno del champiñón. Trad. JM Galindo. Editorial Española 4:369 p.

- Velioglu, Z., & Urek, R. O. (2015). Optimization of cultural conditions for biosurfactant production by *Pleurotus djamor* in solid state fermentation. *Journal of bioscience and bioengineering*, 120(5), 526-531.
- Yang, S. S., & Yuan, S. S. (1990). Oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in solid state fermentation of sweet potato residue. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 6(3), 236-244.
- Yildiz, S., Yildiz, Ü. C., Gezer, E. D., & Temiz, A. (2002). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochemistry*, 38(3), 301-306.
- Zadrazil, F. & Kurtzman, Jr. R.H. (1982). The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. In *Tropical Mushrooms, Biology, Nature and Cultivation Methods*, ed. Chang, S.T. & Quimio, T.H. pp. 277–298.
- Zadrazil, F., (1979). The Ecology and Industrial Production of *P. ostreatus*. *P. florida*, *P. cornucopiae*, and *P. eryngii*. *Mushroom Science*, Vol 9, No 1, pp 621–652
- Zárate, J. R. (2015). Producción y desarrollo de cuatro aislamientos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.), cultivados en restos de cosecha. Tesis Ing. Agrónomo. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina. 117 p.

ANEXOS

Anexo1 Key to identify Mushrooms to genus using only macroscopic features (Largent, 1986).

In this key, only characteristics of mushrooms that can be seen with the unaided eye or with a hand lens are used. Since this key is based only on macroscopic features, you may not be able to identify correctly all genera of mushrooms you study (Largent, 1986).

1. Sporocarp not growing on other mushrooms.....6
6. Undersurface of pileus with normal, blade-like gills.....10
10. Pileus with definite stipe that may be central, eccentric, or (rarely) even lateral.....21
10. Pileus sessile; laterally attached and sheaving, or attached by a short lateral tubercle or "pseudostipe", or basally attached and funnel-shaped or spatulate (pleurotoid habit).....11
11. Spores not as above.....13
13. Spores white to pale yellowish or cream-colored, or (rarely) pale dingy lilac.....15
15. Gills not split along their edges and rolled back laterally.....16
16. Gills narrow or broad, but not strongly crisped or sinuous; pileal thickness varies, but if thin enough to be membranous it is also soft and fleshy.....17
17. Pileus varying in consistency from soft and pulpy to pliable and leathery, but not corky; gills not tough and leathery.....19
19. Edges of gills entire.....20
20. Pileus soft and pulpy or fleshy.....

Pleurotus

21. Gills not
deliquescent.....
...23

23. Stipe when broken or split lengthwise showing evidence of fibrous
context.....25

25. Volva not
present.....
31

31. Annulus absent; however, a cortina may be
present.....51

51. Gills
attached.....
.....58

58. Flesh of mature pilei soft and pulpy to soft-fibrous, or very fragile (not reviving when
molded after having been dried); spores white, pale yellowish, or some other
color.....61

61. Stipe central, or nearly
so.....65

61. Stipe definitely and consistently centric, sometimes almost
lateral.....62

62. Spores white to pale yellowish or cream-colored, or pallid
lilac.....*Pleurotus*

65. Gills variously attached, but neither adnate-subdecurrent nor
decurrent.....77

77. Stipe stouter than the above, usually 5 mm or more thick, fleshy-fibrous and soft, or pulpy,
or with a firm cartilaginous "rind" and soft interior; pileus flesh ordinarily at least 3-5 mm thick
at the center, rarely thin enough to be called
membranous.....91

91. Spores white to pale cream-colored (rarely cream-colored with a faint pinkish tinge) to pale
pink, or

salomon-pink,	dingy	salmon,	to	brownish-	
salmon.....					92
92. Gills thin, usually close or crowded, rarely subdistant, and not waxy-appearing.....					96
96. Spore wite to cream-colored to pale pink, al times cream-colored with a faint pinkish tinge; mature					
gills	not	pink	from	the	
spores.....					97
97.		Not		as	
above.....					
.....					98
98. Carpophore growing out of cones or growing oud of decaying wood (i.e.lignicolous).....					99
99.Carpophore on cones or on decaying wood; gills not completely sterile (some especies of <i>Pleurotus</i>)					

Anexo2 Keys of género *Pleurotus* (Petersen et al., 2012).

Keys abound for limited groups (Vilgalys et al., 1993, for the *P. ostreatus* complex) or of limited accuracy (Pilát, 1935; Kühner and Romagnesi, 1953; Hilber, 1982, 1993, 1997). To devise a key to this group is fraught with problems, for basidiome colors, hosts, and stature often intergrade, and geographical distribution is often wide and therefore creates overlaps. Especially vexing is the separation of *Pleurotus pulmonarius* from its sister monomitic, pleurotoid species, *P. ostreatus* and *P. populinus*. With these problems in mind, the following key to biological species is offered.

1. Anamorphic spores produced on basidiomata or associated vegetative mycelium.....	2
1. Anamorphic spores, if formed, not associated with basidiomata	4
2. Anamorphic state a lawn of simple conidiophores producing black arthrospores, dry initially but later slimy; Australa, New Zeald.....	<i>P. australis</i>

2. Anamorphcoremioid, with black, slimy heads of arthrospores..... 3
3. Pileus pale tan to brown; distribution roughly pantropical..... *P. cystidiosus*
3. Pileus deep olive, olive-black, occasionally with purplish tints; New Zealand, Australia..... *P. purpureo-olivaceus*
4. Stipe central to weakly eccentric 5
4. Stipe strongly eccentric or lateral 11
5. Pileus tan, brown, rufous brown, usually concave6
5. Pileus pearl gray, white, or banana yellow 8
6. Basidiomata arising from a sclerotium *P. tuber-regium*
6. Basidiomata without sclerotium 7
7. Root parasite; pileus tan to brown; Europe *P. eryngii*
7. On rotting wood; pileus tan, brown, usually with ruddy tints..... *P. cornucopiae*
8. Pileus and stipe white to pearl gray 9
8. Pileus banana yellow; stipe white (*citrinopileatus* form) *P. cornucopiae*
9. Stipe nearly lateral; on Agave, Opuntia; northern Africa, Mexico *P. opuntiae*
9. Stipe central; all basidiome parts white 10

10. Pileus surface velutinous to plushy; warm climates; anamorph unknown

P. levis

10. Pileus surface strigose to wooly; cool, wet climates; anamorph of tan to Brown arthrospores in culture

P. dryinus

11. Stipe tissue
dimitic..... 12

11. Stipe tissue
monomitic.....
... 14

12. Partial veil present over young lamellae..... *P. calyptratus*

12. Partial veil absent
..... 13

13. Basidiomata usually everted; pileus surface ruddy tan to ruddy brown..... *P. cornucopiae*

13. Basidiomatapleurotoid; pileus surface white, yellow-olive, brown, olive-brown, pink or gray..... *P. djamor*

14. On coniferous wood; northern China, far eastern Russia *P. abieticola*

14. On deciduous wood (chiefly)
..... 15

15. Pileus and lamellae buffy tan to pastel tan; lamellae subdistant; spore print pallid buff; spores 9-12 x 3-5 m m; North America; usually on Populus wood..... *P. populinus*

15. Pileus various shades of off-white, tan, brown, deep gray, bluish olive to olive-black; spore print avellaneous; spores 7-10 m m long; worldwide; usually on deciduous wood..... 16

16. Fruiting predominately in winter; pileus tan, brown, gray-brown, olive-black; North Temperate Zone

.....

P. ostreatus

16. Fruiting predominately in late summer (Europe, Asia, eastern North America) or spring (western North America); pileus white, tan, gray-brown; North Temperate Zone..... *P. pulmonarius*.

www.bdigital.ula.ve

Anexo 3 Análisis estadístico de la eficiencia biológica de la cepa *P. ostreatus* BIOMI 104
bajo diferentes tamaños de biorreactores en tusa de maíz.

Descriptivos

	Biorreactor	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
EB	2,8 Kg	3,0	60,8	1,4	0,8	57,4	64,2	59,7	62,3
	5,7 Kg	3,0	61,8	2,2	1,3	56,4	67,2	59,9	64,2
	11,5 Kg	3,0	55,0	6,2	3,6	39,5	70,5	50,3	62,1
	Total	12,0	52,7	12,5	3,6	44,8	60,6	30,0	64,2
TP	2,8 Kg	3,0	1,1	0,0	0,0	1,0	1,2	1,1	1,1
	5,7 Kg	3,0	2,2	0,3	0,2	1,5	2,8	2,0	2,5
	11,5 Kg	3,0	1,5	0,2	0,1	1,1	2,0	1,4	1,7
	Total	12,0	1,4	0,5	0,1	1,1	1,8	0,9	2,5

Tabla ANOVA

ANOVA

				Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
EB	Inter- grupos	(Combinados)		1601,62	3,00	533,87	38,90	0,00
		Término lineal	Contraste	18,99	1,00	18,99	1,38	0,27
			Desviación	1582,62	2,00	791,31	57,66	0,00
	Intra-grupos			109,78	8,00	13,72		
	Total			1711,40	11,00			
TP	Inter- grupos	(Combinados)		2,60	3,00	0,87	32,58	0,00
		Término lineal	Contraste	0,91	1,00	0,91	34,20	0,00
			Desviación	1,69	2,00	0,84	31,77	0,00
	Intra-grupos			0,21	8,00	0,03		
	Total			2,81	11,00			

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo para la evaluación del efecto de los

tamaños de los biorreactores en la EB (eficiencia biológica) y TP (Tasa de producción). El F, que en el caso de la EB es igual a 57,66, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos; y para TP es igual 31,77. Puesto que el p de significancia del test F es inferior a 0,05 para las relaciones en TP, pero no en EB; demostrando que hay diferencia estadísticamente significativa entre los tamaños de los biorreactores en relaciones a la TP, con un nivel de confianza del 95,0%.

Para determinar la relaciones en EB, se seleccionaron otros Tests como pruebas Pruebas post hoc, para evaluar los diferentes tamaños de biorreactores.

www.bdigital.ula.ve

Comparaciones múltiples

Variable dependiente		(I) Biorreactores	(J) Biorreactores	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Límite inferior	Límite superior
EB	HSD de Tukey	2,8Kg	5,7 Kg	-0,97	3,02	0,99	-10,66	8,72
			11,5 kg	5,78	3,02	0,30	-3,91	15,46
		5,7 Kg	2,8Kg	0,97	3,02	0,99	-8,72	10,66
			11,5 Kg	6,74	3,02	0,19	-2,94	16,43
		11,5 kg	2,8Kg	-5,78	3,02	0,30	-15,46	3,91
			5,7 Kg	-6,74	3,02	0,19	-16,43	2,94
TP	t de Dunnett (bilateral)(a)	5,7 Kg	Biorreactor 2,8Kg	0,97	3,02	0,98	-7,74	9,68
		11,5 Kg	2,8Kg	-5,78	3,02	0,21	-14,49	2,93
		2,8Kg	5,7 Kg	-1,06	0,13	0,00	-1,49	-0,64
			11,5 Kg	-0,42	0,13	0,05	-0,85	0,00
		5,7 Kg	2,8Kg	1,06	0,13	0,00	0,64	1,49
			11,5 Kg	0,64	0,13	0,01	0,21	1,07
	t de Dunnett (bilateral)(a)	11,5 Kg	Biorreactor 2,8 Kg	0,42	0,13	0,05	0,00	0,85
			5,7 Kg	-0,64	0,13	0,01	-1,07	-0,21
		9,2 Kg	2,8 Kg	1,06	0,13	0,00	0,68	1,45
		11,5 Kg	2,8 Kg	0,42	0,13	0,03	0,04	0,81

Bajo la prueba de Post hot, se evidencia una diferencia significativa entre los diferentes tipos de biorreactores, exceptuando entre los de 5,7 Kg y 2,8 Kg, biorreactores M y P, tanto en EB como TP.

Anexo 4. Valores de Eficiencia Biológica y Tasa de Producción, para cada Biorreactor.

Características	Biorreactores		
	P	M	G
Peso (kg)	2,8	5,7	11,5
Eficiencia Biológica (%)	55,01	61,76	60,79
Tasa de Producción (g/d)	1,53	0,98	1,11