



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE MANABÍ**

**MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**CARRERA MEDIO AMBIENTE**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO EN  
MEDIO AMBIENTE**

**TEMA:**

**UTILIZACIÓN DEL HONGO *Pleurotus sapidus*. EN LA  
DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ  
PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA  
ORGÁNICA.**

**AUTORES**

**MENDETA MORRILLO RONALD ROBERTY**

**MARCILLO VÉLEZ FABIÁN VICENTE**

**TUTOR**

**ING. MANUEL SALTOS GILER M. Sc.**

Calceta 2013

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Ronald Roberty Mendieta Morrillo y Fabián Vicente Marcillo Vélez, declaran bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos nuestros derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

.....  
**RONALD R. MENDIETA MORRILLO**

.....  
**FABIÁN V. MARCILLO VÉLEZ**

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ingeniero Manuel Saltos Giler M. Sc., profesor de la carrera de Ingeniería en Medio ambiente de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”, **CERTIFICA:** Que los señores egresados Ronald Roberty Mendieta Morrillo y Fabián Vicente Marcillo Vélez, realizaron la tesis de grado titulada **“UTILIZACIÓN DEL HONGO *Pleurotus sapidus*. EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA”**. Bajo la dirección del suscrito habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....  
**ING. MANUEL SALTOS GILER M.Sc.**

**TUTOR**

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** la tesis titulada “**UTILIZACIÓN DEL HONGO *Pleurotus sapidus*. EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA**” que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Ronald Roberty Mendieta Morrillo y Fabián Vicente Marcillo Vélez, previa a la obtención del título de Ingeniero en Medio Ambiente, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....

**Dr. Holger Muños Ponce Ph. D**

**MIEMBRO**

.....

**Ing. Wilber Saltos Aráuz**

**MIEMBRO**

.....

**Ing. Carlos Solórzano Solórzano**

**PRESIDENTE**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por darnos la vida y por permitirnos la oportunidad de culminar una etapa más en el largo camino de la vida.

A la ESPAM Manuel Félix López por ser ese templo del saber que nos dio la oportunidad de forjarnos día a día.

A nuestros padres por todo el apoyo y comprensión que nos brindaron durante la realización de este trabajo.

A nuestro estimado tutor por su paciencia y dedicación durante todo el proceso de desarrollo de este trabajo, y

Al Ing. Mario López Vera por brindar sus conocimientos en microbiología, siendo de esta manera un aporte fundamental de nuestra investigación.

A los miembros del tribunal por haber aportado con sus conocimientos para que este trabajo pudiese ser finalmente concluido.

Los Autores

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por ser los guías en mi camino, aquellos que en los momentos más difíciles supieron estar conmigo.

A mis maestros ya que sin sus conocimientos no hubiese podido trazar mis metas.

A mi sobrino Ashley Mendieta Mendoza por ser mi inspiración para seguir superándome.

.....  
**Ronald Roberty Mendieta Morrillo**

**Autor**

## **DEDICATORIA**

A dios por darme vida para así poder trazar mis metas y mis sueños.

A mi familia y en especial a mi madre por apoyarme en los momentos más duros de mi vida.

A mi hermana Claudia Marcillo para que se sienta orgullosa de mi logro alcanzado.

.....

**Fabián Vicente Marcillo Vélez**

**Autor**

## CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA.....	ii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL .....	iv
.....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
.....	vi
DEDICATORIA .....	vii
.....	vii
CONTENIDO GENERAL .....	viii
CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS .....	xii
RESUMEN .....	xiv
SUMMARY.....	xv
I. ANTECEDENTES.....	1
1.1.    PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. ....	1
1.1.1.    FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. ....	2
1.2.    JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3.    OBJETIVOS.....	4
1.3.1.    OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2.    OBJETIVOS ESPECÍFICOS. ....	4
1.4.    HIPÓTESIS.....	5
II.    MARCO TEÓRICO.....	6
1.1.    INOCULACIÓN .....	6
1.2.    MEDIO DE CULTIVO.....	6
1.3.    PAPA DEXTROSA AGAR (PDA).....	6
1.3.1.    AGAR CZAPEK-DOX .....	7
1.3.1.1.    FORMA DE ACTUACIÓN .....	7
1.3.1.2.    COMPOSICIÓN .....	7
1.3.2.    SABOURAUD .....	8
1.3.2.1.    MÉTODO.....	8
1.4.    RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO .....	8

1.5.	SUELO AGRÍCOLA .....	9
1.6.	LA MATERIA ORGÁNICA .....	9
1.7.	RASTROJO DE MAÍZ.....	9
1.7.1.	LA QUEMA DE RASTROJOS, RIBAZOS Y PASTIZALES...	9
1.7.2.	RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO DEL MAÍZ Y OTROS SUSTRATOS .....	10
1.8.	CONSTITUYENTE DE LOS VEGETALES QUE NO HACEN POSIBLE LA DEGRADACIÓN RÁPIDA DE LOS MISMOS.....	10
1.8.1.	LA LIGNOCELULOSA .....	10
1.8.2.	HEMICELULOSA .....	11
1.8.3.	CELULOSA .....	11
1.9.	LOS HONGOS.....	13
1.10.	SISTEMA ENZIMÁTICO .....	14
1.11.	LOS HONGOS <i>PLEUROTUS</i> .....	15
1.11.1.	ASPECTOS TAXONÓMICOS DE LOS HONGOS .....	15
1.11.2.	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS SETAS DEL <i>Pleurotus sapidus</i> .....	16
1.11.3.	CICLO REPRODUCTIVO DE LAS SETAS .....	18
1.11.4.	CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS DE LAS SETAS .....	19
1.12.	REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES PARA EL DESARROLLO DE LOS MACROMICETOS .....	20
1.12.1.	CARBONO .....	20
1.12.2.	POLÍMEROS.....	21
1.12.3.	AZÚCARES.....	21
1.12.4.	LÍPIDOS .....	21
1.12.5.	NITRÓGENO.....	21
1.12.6.	MINERALES.....	22
1.12.7.	VITAMINAS .....	22
1.12.8.	CARBOHIDRATOS .....	23
1.12.9.	GRADO DE ACIDEZ .....	23
1.12.10.	RELACIÓN C:N EN EL DESARROLLO DE LOS <i>PLEUROTUS</i> .....	23
1.12.11.	HÁBITAT .....	23
1.13.	INOCULANTE PARA EL HONGO .....	24

1.13.1.	PREPARACIÓN DEL INÓCULO .....	24
1.13.2.	FASES GENERALES DEL CULTIVO DE HONGOS .....	25
	EL LABORATORIO: .....	25
	EN LOCALES O AL AIRE LIBRE: .....	25
1.14.	ABONOS ORGÁNICOS.....	26
1.15.	ELABORACIÓN DE ABONO .....	26
1.15.1.	EL ABONO ORGÁNICO PRESENTA LAS SIGUIENTES VENTAJAS.....	26
1.16.	COMPOST.....	26
1.16.1.	PARÁMETROS A CONTROLAR EN LA ELABORACIÓN DE COMPOST.....	26
1.17.	MARCO LEGAL.....	27
III.	DISEÑO METODOLÓGICO .....	28
3.1.	UBICACIÓN.....	28
3.2.	EXPERIMENTO 1.....	29
3.2.1.	TRATAMIENTOS.....	29
3.2.2.	DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL.....	29
3.2.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	29
3.2.4.	PRUEBA FUNCIONALES .....	30
3.2.5.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	30
3.2.5.1.	MÉTODO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO .....	30
3.2.5.2.	DATOS A TOMAR Y MÉTODO DE EVALUACIÓN.....	32
3.3.	EXPERIMENTO 2.....	33
3.3.1.	TRATAMIENTOS.....	33
3.3.2.	DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL.....	34
3.3.3.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	34
3.3.3.1.	MÉTODO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO .....	34
3.3.3.2.	PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA MULTIPLICACIÓN DE SEMILLA .....	34
3.3.3.3.	PREPARACIÓN DEL INOCULO .....	35
3.3.4.	PREPARACIÓN DEL SUSTRATO (RASTROJO DE MAÍZ) PARA LA DEGRADACIÓN POR EL HONGO <i>P. sapidus</i> .....	35
3.3.5.	INOCULACIÓN DE LA SEMILLA EN EL SUSTRATO.....	35
3.3.6.	VARIABLES Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN. ....	36

IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	37
4.1.	DIÁMETRO PROMEDIO (m) DE CRECIMIENTO MICELIAL DEL <i>P. sapidus</i> .....	37
4.2.	MORFOLOGÍA MICELIAL DEL HONGO <i>PLEUROTUS Sapidus</i> . .....	39
4.3.	PORCENTAJE DE LIGNINA PRESENTE EN EL RASTROJO DE MAÍZ.....	40
4.4.	PORCENTAJE DE RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO PRESENTE EN RASTROJO DE MAÍZ. ....	41
4.5.	PORCENTAJE DE NUTRIENTES NPK.....	42
4.6.	PESO PROMEDIO DE COSECHA DEL HONGO <i>PLEUROTUS Sapidus</i> DE A LOS 30 DÍAS.....	43
4.7.	EVALUACIÓN ECONÓMICA.....	46
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. ....	48
	BIBLIOGRAFÍA. ....	50
	ANEXOS .....	54

## CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO 2.1 RELACIÓN C:N DE DIFERENTES SUSTRATOS AGROINDUSTRIALES.....	11
CUADRO 2.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FORRAJE DE MAÍZ EN DIFERENTES EDADES DE CRECIMIENTO.....	13
CUADRO 2.3. REQUERIMIENTOS BÁSICOS PARA EL CRECIMIENTO DE LAS SETAS .....	22
CUADRO 3.1. CARACTERÍSTICAS TOPOGRÁFICAS Y CLIMATOLÓGICAS DEL CANTÓN BOLÍVAR.....	31
CUADRO 3.2. LOS NIVELES Y EL FACTOR DE ESTUDIO, DIO COMO RESULTADO LOS SIGUIENTES TRATAMIENTOS.....	32
CUADRO 3.3. ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA.....	33
CUADRO 3.4. TABLA DE LOS TRATAMIENTOS.....	37
CUADRO 4.1.- DIÁMETRO PROMEDIO (MM) DE CRECIMIENTO MICELIAL DEL <i>P. Sapidus</i> . (DIÁMETRO/HORAS) ENTRE LOS TRATAMIENTOS ESTUDIADOS EN LAS FECHAS QUE SE PRESENTAN DENTRO DE ESTA INVESTIGACIÓN “UTILIZACIÓN DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA, 2012” .....	43
FIGURA 4.1. MORFOLOGÍA MICELIAL DE CEPAS DE <i>P. Sapidus</i> : PDA ALGODONOSO IRREGULAR, SBOURAUD ALGODONOSO EXUBERANTE, CZAPEK FILAMENTOSO IRREGULAR.....	44
CUADRO 4.2.- MORFOLOGÍA MICELIAL DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> ENTRE LOS TRATAMIENTOS ESTUDIADOS EN ESTA INVESTIGACIÓN “UTILIZACIÓN DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA, 2012” .....	45
CUADRO 4.3.- PORCENTAJE DE LIGNINA PRESENTE EN EL RASTROJO DE MAÍZ ENTRE LOS TRATAMIENTOS REALIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN “UTILIZACIÓN DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA, 2012” .....	46
CUADRO 4.4.- RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO EN TRATAMIENTOS ESTUDIADOS EN ESTA INVESTIGACIÓN “UTILIZACIÓN DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA, 2012” .....	47

CUADRO 4.5- MACRONUTRIENTES (NPK) PRESENTES EN LOS TRATAMIENTOS ESTUDIADOS EN ESTA INVESTIGACIÓN “UTILIZACIÓN DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA, 2012” .....	48
FIGURA 4.2. BOLSA CULTIVADA A LAS 72 HORAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN CON 0.06 KG DE SEMILLA DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN KG DE RASTROJO DE MAÍZ. SE PUEDE NOTAR COMO LA BOSA PRESENTO UN IMPORTANTE CRECIMIENTO DEL MICELIO Y UNA RÁPIDA ADAPTACIÓN EN EL SUSTRATO.....	50
FIGURA 4.3. BOLSA CULTIVADA A LAS 72 HORAS DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN CON 0.04 Y 0.05 KG DE SEMILLA DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN KG DE RASTROJO DE MAÍZ. SE PUEDE NOTAR COMO LA BOSA PRESENTO UN IMPORTANTE CRECIMIENTO DEL MICELIO Y UNA RÁPIDA ADAPTACIÓN EN EL SUSTRATO.....	51
CUADRO 4.6.- PESO PROMEDIO DE COSECHA DEL HONGO <i>PLEUROTUS Sapidus</i> A LOS 30 DÍAS EN LOS TRATAMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN “UTILIZACIÓN DEL HONGO <i>P. Sapidus</i> EN LA DEGRADACIÓN LIGNOCELULÓSICA DEL RASTROJO DE MAÍZ PARA LA ELABORACIÓN DE ABONO EN AGRICULTURA ORGÁNICA, 2012” .....	52
CUADRO 4.7, COSTO DE PRODUCCIÓN DE ABONO ORGÁNICO Y DE HONGO COMESTIBLE (KG) SOBRE EL PROCESO BIOTECNOLÓGICO APLICANDO CONCENTRACIÓN DE 0.06 KG DE <i>P. Sapidus</i> /KG DE SUSTRATO A LOS 30 DÍAS DE INSTALADO EL EXPERIMENTO.....	53

## RESUMEN

El objetivo general de la investigación fue Aplicar el hongo *Pleurotus sapidus* en rastrojo de maíz para acelerar la degradación lignocelulósica en la obtención de abono orgánico. Como objetivos específicos se plantearon: Determinar el medio de cultivo más idóneo para la reproducción *in vitro* del *P. sapidus* en el laboratorio de microbiología; Comprobar la eficiencia del hongo *P. sapidus* en el proceso de degradación de materia orgánica; Realizar un análisis económico del mejor tratamiento para obtener datos de factibilidad. El experimento uno se realizó bajo un (DCA) unifactorial 3 (tipos de medios) con cinco repeticiones; donde el mejor medio de cultivo para la reproducción *In vitro* del hongo *P. sapidus* fue el medio de cultivo Sabouraud obteniéndose el 88.86 mm de diámetro promedio y el mejor tipo de morfología micelial (algodonoso exuberante). El experimento dos, se dispuso un (DCA) con tres tratamientos y cinco repeticiones cada repetición estuvo conformada por un kg de sustrato, donde la mejor concentración de semilla del hongo para la degradación y producción de setas fue la de 0.06 kg/ kg de sustrato obteniéndose el 12.05 de degradación de lignina. La mayor disminución del porcentaje de relación C:N se presentó con eficiencia en 88.98 % menos con respecto al porcentaje de la masa inicial y la mejor alternativa de producción biotecnológica al manifestar un costo bajo por kg de producto, con 0.45 y 5.20 dólares. Los mejores % de nutrientes mineralizados se obtuvo el tratamiento uno con (NPK) presentando valores de 0.76, 0.24 y 0.53%.

## PALABRAS CLAVES

*Pleurotus sapidus*, Lignina, Inoculación, biodegradación, medio de cultivo.

## SUMMARY

Research's general objective was to apply the mushroom "*Pleurotus sapidus*" in a corn stover to accelerate the degradation lignocellulosic to obtain organic fertilizer. According to the specific objectives we have; to determinate the best way of cultivation for the reproduction of in vitro *P. sapidus*, at the microbiology laboratory, To demonstrate the efficiency of the mushroom *P. sapidus*, during the degradation process of the organic material ; to realize an economic analysis of the best treatment to obtain information of feasibility.

The experiment number one was made under a ( DCA) unifactorial 3 ( types of means) with five repetitions where the best means of cultivation for the reproduction In vitro of the mushroom *P. sapidus* was the cultivation means "Sabouraud" by this way we obtained 88.86 mm of average diameter and the best type of mycelial morphology (cottony lush ) The experiment number two was done by a ( DCA) with three treatment and five repetitions, each repetition was formed by kg of substratum where the best concentration of mushroom's seed for the degradation and production of "mushrooms" was the 0.06 kg/kg of substratum obtaining 12.05 of lignin's degradation. The most decrease of the percentage of relation with C:N, was presented with efficiency 88.98 % less according to the percentage of the initial mass and the best alternative of biotechnology production to manifest a low price per Kl of product 0.45 y 5.20 dollars. The best percentage of mineralized nutrients was obtained by the treatment number one with (NPK) presenting values of 0.76, 0.24 y 0.53%.

## KEY WORDS

*Pleurotus sapidus*, Lignin, inoculation, biodegradation, means of cultivation.

## **ANTECEDENTES.**

### **PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.**

A nivel mundial la materia orgánica representa la principal reserva y fuente de carbono de la biosfera en los ecosistemas terrestres y de su conservación depende en gran medida la vida del planeta. Sin embargo, a pesar de su gran trascendencia, ha sido descuidada desde la década de los años 50, con la utilización y el incremento de los fertilizantes sintéticos que han venido provocando contaminación en el ambiente. (Peña. E. *et. al.* 2002).

En la actualidad la quema de los residuos agrícolas está ocasionando un aumento de la temperatura global por la emisión de gases, producto de las actividades antrópicas que generan altos volúmenes de Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>), Metano (CH<sub>4</sub>) y demás gases de efecto invernadero, creando los más serios problemas que afronta el planeta por dos razones, alteración de la composición química de la atmósfera y calentamiento de la biosfera (MINAET. 2009).

En la provincia de Manabí, los sistemas de cultivos y cosechas en donde los agricultores aplican conocimientos empíricos que a su vez no toman en cuenta ciertos efectos ambientales que son causadas por dichas actividades. El inadecuado aprovechamiento de los residuos agrícolas deteriora el medio ambiente, ya que cuando se quema de los residuos agrícolas (rastreo de maíz) se aporta una gran cantidad de carbono al suelo pero igualmente conlleva a ciertos impactos ambientales como la desaparición parcial o total de la población microbiana, contaminación de aire, agua, erosión del suelo y en lo consiguiente aporta al aumento del calentamiento global. (IFAD. 2011).

Los residuos sólidos orgánicos, sean de origen vegetal o animal, al ser descompuestos por microorganismos en diferentes condiciones, completando un ciclo natural se convierten en abono orgánico. Su uso pues es un alternativa para evitar la contaminación de suelos y corrientes de agua. Por otro lado se evita la expulsión al aire del gas metano, considerado el principal componente

de los gases de efecto invernadero y cuyo tratamiento adecuado es reutilizarlo. (Pinto. A y Vargas, V. 2008).

La presente investigación tendrá como finalidad reducir la masa de los residuos agrícolas que contiene alto contenido de lignina, que en muchos países son utilizados para alimento de animales de crianza, en otros son quemados a cielo abierto; y al utilizarlos como sustrato para la elaboración de abono orgánico y producción de hongos comestibles (*Pleurotus sapidus*) se estaría evitando la generación de gases (CO<sub>2</sub> y CO). Estos hongos (*P. sapidus*) son organismos que tienen la capacidad de degradar la celulosa, la lignina y a su vez daría un aporte en la seguridad alimentaria.

Por lo tanto el uso de microorganismos potenciales degradadores de residuos lignocelulósicos se convierte en la opción con mayor viabilidad para solucionar la problemática de la disposición final del residuo agrícola (rastrajo de maíz), que puede considerarse como un material contaminante del ambiente.

## **FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.**

¿Cómo se puede dar uso alternativo de tratamiento al residuo agrícola (rastrajo de maíz) para poder mitigar las malas prácticas ambientales en la agricultura?

## JUSTIFICACIÓN.

Actualmente la necesidad evitar o disminuir los impactos ambientales está obligando a la búsqueda de alternativas sostenibles, por lo que la tecnología ambiental está dando pasos agigantados a diversos cambios en sus procesos ya que las actividades antropogénicas son las causantes de los efectos ambientales, como es el caso del manejo de los residuos agrícolas que al no tener un adecuado manejo provocan impactos ambientales.

Cuando se queman los residuos agrícolas se pierde la capa superior del suelo con lo que se destruye la capacidad hídrica, ayudando al avance de la desertización que es uno de los impactos ambiental más comunes en la zona de Manabí. Además se destruye algo muy valioso y necesario para las planta como es la riqueza microbiana. Junto con el humo escapa el nitrógeno retenido por las raíces de muchas plantas, nitritos, nitratos que han sido elaborados por la población microbiana que habita en el humus y obtenido por las micorrizas. Se calcula que la quema de media hectárea de rastrojo de maíz hace desaparecer 100 kg. de nitrógeno, que luego deberán ser añadidos de modo artificial para una nueva cosecha (IFAD. 2011).

La mayoría de los hongos poseen un papel trascendental en la naturaleza, en las que se hallan ampliamente distribuidos, degradando y reciclando la materia orgánica muerta a merced de sus numerosas potencialidades metabólicas de tipo quimio heterótrofo.

Por consideraciones antes mencionadas, esta investigación se considera importante debido a que se espera aprobar la aplicación del hongo *P. sapidus* para acelerar la degradación del sustrato (rastrojo de maíz) en el proceso de compostaje como un mecanismo de manejo agronómico integrado, el cual puede brindar muchos beneficios tanto al productor como al ambiente, además remplazar el impacto generado al ambiente a causa de la técnica convencional de eliminación de rastrojo y de la práctica de incorporación del rastrojo por el de herbicidas.

## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO GENERAL.**

Aplicar el hongo *Pleurotus sapidus* en el rastrojo de maíz para acelerar la degradación lignocelulósica en la obtención de abono orgánico.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

Determinar el medio de cultivo más idóneo para la reproducción in vitro del *Pleurotus sapidus* en el laboratorio de microbiología general.

Comprobar la eficiencia del hongo *Pleurotus sapidus* en el proceso de degradación de materia orgánica.

Realizar un análisis económico del mejor tratamiento.

## **HIPÓTESIS.**

H<sub>1</sub>= Con el uso del hongo *Pleurotus sapidus* se acelerara la degradación del material lignocelulósico en el sustrato (rastrojo de maíz) para en la obtención de abono orgánico.

## **MARCO TEÓRICO.**

### **INOCULACIÓN**

La inoculación de semillas es un proceso tecnológico por el cual se coloca en íntimo contacto dos seres vivos, uno microbiano y otro superior (semillas de plantas), estos son capaces de asociarse y desarrollar beneficios comunes. Con este proceso se preserva no sólo la vitalidad de los microorganismos mientras permanecen en el envase sino también cuando son agregados a las semillas (Sánchez, J. 1994).

### **MEDIO DE CULTIVO**

Un medio de cultivo es un material alimenticio que se usa en el laboratorio para el desarrollo de los microorganismos. Una vez que ha sido preparado, un medio de cultivo puede ser inoculado (es decir, se le añaden organismos) y a continuación incubado en condiciones que favorezcan el crecimiento microbiano. El crecimiento de los microorganismos es el cultivo. Un cultivo axénico o puro contiene un único tipo de microorganismos (Sánchez, J. 1994).

### **PAPA DEXTROSA AGAR (PDA)**

Es un medio muy usado que sirve para aislar todo tipo de hongos. *Beauveria*, *paecilomyces*, *lecanicillium*, (*verticillium*) y *metarhizium*, los más importantes hongos, al igual que los parásitos de plantas y los hongos saprofitos crecen muy bien y esporulan en este medio (Cañedo, V. 2004).

Mediante cocción de cubos de papa de 2 cm<sup>2</sup> en agua destilada (AD), 200gr de papa en 1 dm<sup>3</sup> de (AD). El tiempo de cocción fue de 50 minutos para obtener 0.2 dm<sup>3</sup> de extracto que se filtró y envaso en los frascos. Para preparar 0.1 dm<sup>3</sup> de muestra se adicionaron 0.8 dm<sup>3</sup> de AD a 200 ml de extracto de papa, el agente gelificante y 15 de azúcar, se ajusta el pH del extracto de papa adicionando ácido tartárico.

El medio hidratado se lleva a ebullición, se estiliza en autoclave a 121 °C y 1.0546 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 15 minutos y se enfrían hasta 50 °C, se sirven en cajas Petri dentro de la cámara de flujo laminar y una vez gelificados se inocula cada medio de cultivo con fracciones del hongo, las cajas se incuban a 25 °C. (Ríos, M. *et, al.* 2010).

### **AGAR CZAPEK-DOX**

Agar selectivo para el cultivo de hongos y bacterias del suelo y según CZAPEK (1902-1903) y DOX (1910). Corresponde a las recomendaciones del Standard methods for the examination of wáter and wastewaster (1975). (MERCK. 1994).

### **FORMA DE ACTUACIÓN**

Este medio de cultivo contiene sacarosa como única fuente de carbono y nitrato como única fuente de nitrógeno. En esta medio, los hongos pueden crecer bien, en tanto que de la flora bacteriana solo pueden desarrollarse las bacterias del suelo no existentes. Según RAPER y FENELL (1965), la adición de 1% de (corn-steep liquor) favorece el crecimiento y la esporulación de la mayoría de aspergillus. Para el aislamiento de hongos del suelo, WARCUP (1950) recomienda la adición de 5 gr/litro de extracto de levadura y el ajuste del pH a 4,0. Además, por adición de 0.03 gr/litro de estreptomycin y 0.002 gr/litro aureomicina, puede inhibirse el crecimiento de la flora bacteriana acompañante WARCUP (1963) (MERCK. 1994).

### **COMPOSICIÓN**

Sacarosa 30.0; nitrato sódico 3.0; sulfato de magnesio 0.5; cloruro potásico 0.5; sulfato de hierro (II) 0.01; hidrogenofosfato dipotasico 1.0; Agar-agar 13.0 (MERCK. 1994).

## **SABOURAUD**

El Agar de Dextrosa Sabouraud es una modificación a la fórmula original del Agar de Dextrosa desarrollado por Raymond Sabouraud. Este medio es utilizado para el cultivo de hongos patógenos, particularmente de aquellos asociados con infecciones de piel. La alta concentración de dextrosa y la acidez del pH hacen a éste un medio selectivo para hongos. Con la adición de cicloheximida, estreptomina y penicilina, se obtiene un excelente medio para el aislamiento primario de dermatofitos. Este medio es también utilizado para la determinación microbiológica en cosméticos y para evaluar la presencia de hongos en alimentos. En este medio las peptonas proveen la fuente de carbono y nitrógeno para el crecimiento de los microorganismos, la dextrosa actúa como fuente de energía y el agar es agregado como agente solidificante. (MERCK. 1994).

## **MÉTODO**

Suspender 0.065 kg del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Evitar el sobrecalentamiento. Esterilizar en autoclave a 121 °C (1.0546 kg/cm<sup>2</sup>) durante 0.25 hora. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y vaciar en placas de Petri estériles. (MERCK. 1994).

## **RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO**

La relación C:N (Carbono: Nitrógeno) es un indicador muy útil a la hora de determinar si la relación entre el carbono y el nitrógeno presente en la materia prima que hayamos elegido, es la correcta para garantizarnos que nuestro compost se desarrollará correctamente durante todo el proceso. Una relación óptima para el desarrollo de los microbios y bacterias responsables del compostado está comprendida entre los valores de 25:1 y 40:1 (Elizondo, J. y Boschini, C. 2001).

## **SUELO AGRÍCOLA**

Suelo, donde la actividad primaria es la producción de alimentos, usando los suelos para crecimientos de cultivos y producción de ganado. Esto incluye tierras clasificadas como agrícolas, que mantienen un hábitat para especies permanentes y transitorias, además de flora nativa (Tulas. 2011).

## **LA MATERIA ORGÁNICA**

La materia orgánica es uno de los elementos que favorece la nutrición del suelo y a través de ésta a la planta. Su contenido en el suelo influye en las condiciones físicas y biológicas de la plantación. Así mismo, favorece la estructura del suelo posibilitando que éste se desmenuce con facilidad, al mismo tiempo, evita la desintegración de los gránulos del suelo por efecto de las lluvias; Otro factor importante de la materia orgánica es que constituye el alimento de los micros elementos del suelo que participan en forma activa en la formación y desarrollo del suelo. Producto de la descomposición de la materia orgánica en el suelo se obtiene el humus que constituye un depósito de calcio, magnesio y potasio (Labrador, J. 2001).

## **RASTROJO DE MAÍZ**

El rastrojo dejado luego de la recolección de las mazorcas muchas veces es utilizado como forraje para ganado, otras veces se incorpora al suelo como abono para la siguiente siembra, pero regularmente es amontonado y quemado. La planta de maíz es de porte robusto de fácil desarrollo y se considera de producción anual, sin embargo hay zonas donde el ciclo puede ser de 4 meses (Calderón, J. 2009.)

## **LA QUEMA DE RASTROJOS, RIBAZOS Y PASTIZALES**

Acaba con la flora y fauna y por tanto con especies de valor ecológico y con la caza.

Destruye los árboles aislados y en hilera, a lo largo de caminos y cauces.

Impide la regeneración del bosque autóctono.

Aumenta del riesgo de incendios en nuestras masas forestales.

Desertiza y erosiona la tierra.

Poluciona la atmósfera, agravando el efecto invernadero y aumentando el agujero de ozono.

Degrada el paisaje.

Perjudica por todo lo dicho a plantas, animales y personas (Calderón, J. 2009.)

## **RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO DEL MAÍZ Y OTROS SUSTRATOS**

**Cuadro 2.1** Relación C:N de diferentes sustratos agrícolas.

Residuos	C:N
Maíz	109:1
Soya	48:1
Girasol	49:1
Trigo	101:1

Fuente: (Elizondo, J. y Boschini, C. 2001).

## **CONSTITUYENTE DE LOS VEGETALES QUE NO HACEN POSIBLE LA DEGRADACIÓN RÁPIDA DE LOS MISMOS**

### **LA LIGNOCELULOSA**

La lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas, esta biomasa producida por la fotosíntesis es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas actuales de energía. El principal impedimento tecnológico para la utilización de la biomasa vegetal es, en general, la ausencia de una tecnología de bajo costo dirigida a la recalcitrancia de la lignocelulosa. La Lignina deriva del fenilpropano substituido. Actualmente se aceptan dos estructuras básicas del fenol en las ligninas de acuerdo a la existencia de uno o dos radicales  $-OCH_3$ . Las ligninas son componentes básicos de los tejidos leñosos y constituye el sostén de las plantas.

Se han desarrollado diversos métodos que mejoran la hidrólisis de la lignocelulosa, como los pretratamientos fisicoquímicos y biológicos. La finalidad

del pretratamiento es remover la lignina, hidrolizar la hemicelulosa a azúcares fermentables, y reducir la cristalinidad de la celulosa para liberar la glucosa. Palabras clave: celulosa, hidrólisis, pretratamientos químicos y biológicos (Cuervo, L. *et, al.* 2001).

### **HEMICELULOSA**

Las hemicelulosas, son los segundos polímeros en importancia, tienen una composición heterogénea de varios tipos de unidades de azúcar. Las hemicelulosas son usualmente clasificadas de acuerdo al residuo de azúcar principal en la estructura del polímero. Las hemicelulosas menos frecuentes son el arabinano formado por unidades de L-arabinosa con enlaces a 1-5 y galactano que posee unidades de D-galactosa asociadas por enlaces b 1-3. La cadena principal de azúcares de las hemicelulosas es modificada por varios grupos sustituyentes como el ácido 4-Ometilglucorónico, arabinosa, galactosa y acetil, haciendo a las hemicelulosas ramificadas y con estructura variable (Cuervo, L. *et, al.* 2001).

### **CELULOSA**

La celulosa es un polímero de D-glucosa unida por enlaces glucosídicos, que se encuentran en largas cadenas lineales (microfibrillas) unidas por puentes de hidrogeno y fuerzas de van der Waals intermoleculares, formando una estructura cristalina resistente a la hidrolisis y regiones amorfas susceptibles a la degradación enzimática. (Cuervo, L. *et, al.* 2001).

**Cuadro 2.2.** Composición química del forraje de maíz en diferentes edades de crecimiento.

Variables	Edad (días)													
	42		56		70		84		98		112		126	
	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE
<b>Hemicelulosa (%)</b>														
Hoja	35.09	5.93	31.11	0.47	34.81	0.75	27.31	1.73	31.09	0.06	32.36	1.59	30.96	1.55
Tallo	24.06	3.37	17.58	1.67	18.83	0.71	23.57	1.23	25.35	1	24.91	1.54	25.28	1.32
Mazorca									40.68	2.6	26.86	11.4	39.7	2.01
Entera	32.1	4.86	30.22	0.57	28.13	0.17	25.07	0.99	27.06	0.72	26.07	1.15	23.95	1.53
<b>Lignina (%)</b>														
Hoja	3.28	0.8	2.92	0.33	3.11	0.42	4.19	0.62	4.25	0.45	5.1	0.87	5.64	0.56
Tallo	1.92	0.22	2.8	0.17	3.27	0.17	5.03	0.72	6.5	0.2	6.56	0.95	6.86	0.67
Mazorca									1.8	0.83	3.58	0.44	3.2	0.5
Entera	2.42	0.69	2.91	0.32	3.17	0.31	4.71	0.4	5.66	0.08	5.8	0.85	5.77	0.66
<b>Celulosa (%)</b>														
Hoja	28.63	0.53	33.88	0.94	34.09	0.51	38.87	0.94	35.19	1.67	35.61	2.26	36.27	0.49
Tallo	27.66	1.96	36.29	1.44	38.35	1.67	47.45	1.89	43.82	0.15	42.54	2.37	36.66	1.04
Mazorca									19.85	2.06	30.78	14	27.15	2.33
Entera	28.85	0.94	34.05	0.99	35.81	0.47	44.03	1.47	40.42	0.98	38.44	2.98	32.44	1.3

Fuente: Elizondo, J. Y Boschini, C. 2001

## LOS HONGOS

Los hongos son organismos que forman un grupo diferente de los reinos vegetal o animal. Poseen células eucariotas, son heterótrofos, portadores de esporas y carecen de clorofila. Según Piatkin y Krivoshein, abarcan más de 1000 especies reunidas en 20 clases, se distinguen los hongos sin pared celular Myxomicota y los hongos verdaderos o Eumycota. Su forma de reproducción puede ser sexual o asexual. Con base en su tamaño y forma de crecimiento se distinguen los hongos macroscópicos y los microscópicos. Dentro de estos últimos están comprendidos los mohos, las levaduras, los hongos de interés médico y los hongos Fitopatógenos; dentro de los macroscópicos están considerados los hongos comestibles, los alucinógenos, los venenosos, etc. (Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

Los hongos constituyen un grupo muy numeroso de organismos (se han descrito aproximadamente 500.000, pero se estima que pueden existir entre 1 y 1,5 millones de especies) que presentan una amplia distribución en la naturaleza, contribuyendo a la descomposición de la materia orgánica y participando en los ciclos biológicos. Un pequeño número son patógenos de animales y plantas.

La importancia de los hongos desde el punto de vista bioquímico y ecológico, radica en el complejo sistema enzimático que poseen, gracias al cual pueden, según la especie, degradar moléculas de alto peso molecular como la celulosa, la lignina, la quitina, los taninos, entre otros. Estas son macromoléculas que presentan dificultad en su degradación; sin embargo el sistema metabólico de estos hongos les permite metabolizar esos compuestos, de los que obtienen energía para sus procesos vitales y metabolitos para su nutrición.

De ahí la importancia de los macromicetos, ya que pueden revalorizar un desecho orgánico. A fin de cuenta, el fenómeno bioquímico de degradación se traduce en que las células de los macromicetos al crecer y desarrollarse sobre sustratos que contienen esas macromoléculas producen proteínas, enzimas, con el propósito de satisfacer su propia necesidad de crecimiento y supervivencia. Estos compuestos de manufactura biológica de alto valor pueden ser aprovechados posteriormente. El estudio de estos organismos conduce, por lo tanto, al aprovechamiento eficaz

del complejo sistema enzimático que poseen para fines alimenticios, médicos, industriales o ecológicos (Sánchez, J. 1994).

Los hongos tienen altos contenidos de vitaminas que incluyen cantidades significativas de vitamina C, aunque desprovistos de vitamina A; los hongos son ricos en riboflavina, tiamina y cianocobalamina (B12), ésta última sólo se encuentra normalmente en productos animales; su contenido de niacina es casi equivalente a los niveles encontrados en la carne de cerdo, que se considera la fuente más rica de esta vitamina. También contienen un alto porcentaje de 18 minerales como el calcio, potasio, sodio y fósforo, además del ácido fólico, un ingrediente que enriquece el torrente sanguíneo y previene deficiencias como la anemia. El hierro también está presente en los hongos en una cantidad apreciable y junto con el fósforo, puede proporcionar una buena cantidad de las necesidades dietéticas diarias recomendadas. Los hongos son bajos en sodio, haciéndolos ideales para personas con ciertos tipos de dolencias del corazón y del riñón (MushWorld. 2004).

## **SISTEMA ENZIMÁTICO**

El sistema enzimático de los hongos, la secreción de ectoenzimas a la madera hace cambiar el sustrato insoluble a soluble. En cambio, las endoenzimas quedan en forma intracelular en las hifas y regulan los procesos del metabolismo interno. El sistema enzimático revela que cada hongo de pudrición blanca produce enzimas oxidativas e hidrolíticas, que actúan en la degradación de ciertos componentes de la pared celular, en este caso de la lignina y holocelulosa (Silva, R. 2002).

Los hongos de pudrición blanca pueden ser considerados los organismos más eficientes en la degradación de la lignina. Hasta ahora, cuatro tipos de enzimas degradadoras de lignina han sido aislados desde estos hongos: lacasa, manganeso peroxidasa, lignina peroxidasa y otras peroxidasas. (Messner, K. 1998).

Los efectos de la pudrición de madera se pueden clasificar en dos tipos, químicos y físicos. Dentro de los cambios químicos se puede mencionar la transformación de la celulosa en glucosa por acción de las enzimas hidrolíticas de los hongos, y

la descomposición de la lignina mediante enzimas oxidativas, provocando pudrición café, blanca y blanda. (Findlay (1967) citado por Zaid, L. 2004)

### **LOS HONGOS *PLEUROTUS***

Este tipo de hongo se encuentra normalmente en las formas vegetales. Su estructura química compleja les permite permanecer a la intemperie por largos períodos de tiempo sin ser degradados o sufrir mayores transformaciones, siendo la lignina el polímero aromático más abundante sobre la tierra (Sánchez, J. 1994).

El *Pleurotus sapidus* es una especie idéntica al *P. ostreatus*., en casi todos los aspectos, pero las esporas son de color de violeta muy pálidas en lugar de blanco, blanco. Por esta razón muchos mycologists consideran los *P. sapidus* de meramente una variedad de *P. Ostreatus* es necesaria descubrirlo (Martin, C. s/f).

Además, convierte los residuos orgánicos poco digeribles y no comestibles en alimentos para animales y humanos de buena calidad y palatabilidad, y se considera que su eficiencia en la producción de proteína por unidad de área y por unidad de tiempo es mayor que las fuentes de proteína. El micelio de este hongo también se puede emplear para controlar poblaciones de nematodos fitoparásitos y bacterias fitopatógenas y para la producción de valiosos productos biológicos durante el proceso de biodegradación de desechos de plantas (Cardona, L. 2001).

Desde los años '50 en que se descubrió la capacidad oxidativa e hidrolítica del género *Pleurotus*, que les confiere la secreción de un amplio espectro de enzimas, los cuales actúan con alta especificidad sobre las estructuras lignocelulósicas predominantes en su medio, y dada la abundancia de fuentes lignocelulósicas, es que se plantea la posibilidad de elaborar sustratos artificiales para el desarrollo de estos hongos fuera del entorno natural (Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

### **ASPECTOS TAXONÓMICOS DE LOS HONGOS**

Los especialistas calculan que los hongos alcanzan cerca de 250,000 especies diferentes en la naturaleza. Por todo esto es importante disponer de un sistema de

clasificación que sea didáctico y que permita ubicar a estas especies. Una clasificación sencilla y práctica de los hongos usada desde hace mucho tiempo, es la de dividir estos organismos en micromicetos (microscópicos) y macromicetos (macroscópicos).

Los hongos comestibles silvestres, así como los cultivados con el propósito de ser industrializados para la alimentación humana, son principalmente macromicetos, que quedan comprendidos en dos clases taxonómicas: Ascomycetes y Basidiomycetes perteneciendo la mayoría de los hongos comestibles a este último grupo (Romero y Rosales, 1998 citado por Aguilar, M. 2003).

Actualmente, dada la magnitud, variabilidad y complejidad de las especies de hongos, la clasificación se basa en una serie de caracteres morfológicos, reproductivos y genéticos. La palabra hongo ha tenido una serie de sinonimias, es decir se utilizan palabras como champiñón y seta haciendo alusión a los hongos en general. En esta ocasión, se utilizará la palabra "seta" para referirse a los hongos del género *Pleurotus* exclusivamente.

Dentro del género de *Pleurotus* existen varias especies entre las que destacan *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. sapidus*, y *P. pulmonarius*, *P. eryngii* y *P. cornucopioides*. La seta también ha recibido nombres populares como son "hongo ostra", "hongo ostión", "oreja blanca", "hongo de maguey", "hongo de encino" y "hongo de bagazo" y "oreja de cazahuate" (Garnweidner, 1995 citado por Aguilar, M. 2003).

### **CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS SETAS DEL *Pleurotus sapidus***

El hongo es una masa algodonosa (micelio) que generalmente no se ve a simple vista por estar enterrado en el suelo o bajo la corteza de los árboles. Funcionalmente es similar a las raíces de los vegetales, pero además, forma y sujeta al cuerpo fructífero de la seta (también llamado carpóforo, pleuroma, basidoma o basidiocarpo), que suele ser fugaz y cuya misión es la reproducción de la especie.

En él se forman las estructuras llamadas esporas o basidiosporas que constituyen la "semilla" de dispersión, que al depositarse en un medio adecuado conforman el desarrollo del micelio. El cuerpo fructífero de *Pleurotus* está constituido de tres

partes principales que son el sombrero o píleo, las láminas o himenio y el pie o estípite.

Algunas variedades al principio, adoptan una forma redondeada y abombada y, a medida que se va ensanchando, el píleo o sombrero se hace menos convexo y se aplana hasta acabar presentando una concavidad semejante a un plato. Su superficie es lisa generalmente uniforme. Su color varía según la especie o variedad, desde el blanco, pasando por diferentes tonos de gris, café, verde, rosa, violeta y azul, que pueden ser incluso muy llamativos. Su tamaño (que depende principalmente de la especie, de la edad y de las condiciones en que se ha desarrollado), oscila entre los 5 y 20 cm, pueden crecer juntas formando repisas o racimos laterales superpuestos sobre un costado de los bloques de cultivo (Romero y Rosales. 1998 citado por Aguilar, M. 2003).

En la cara inferior del sombrero abierto, hay unas láminas (himenio) que van desde el pie que lo sostiene, hasta el borde. Son anchas, espaciadas unas de otras, blancas o crema, a veces bifurcadas, y en ellas se producen las esporas (basidiosporas) destinadas a la reproducción de la especie. Estas complejas estructuras poseen un alto grado de diferenciación de tejidos, que están formados por hifas que provienen del micelio vegetativo, el cual se transforma en micelio reproductor. Además, en esta zona se lleva a cabo la cariogamia y meiosis, etapas fundamentales para dar lugar a la formación de los basidios, que es la estructura encargada de desarrollar y almacenar a las basidiosporas. Las láminas del himenio se componen de tres regiones: la trama, el subhimenio y el himenio. Las células de la trama son elongadas que recorren longitudinalmente todo el centro de la lámina desde el píleo hasta el borde de la misma. Las células subhimeniales son ramificadas y se originan desde la trama hasta las láminas.

La capa himenial se origina mediante un complejo de ramificaciones y crecimiento hifal de la capa de abajo llamada capa sub-himenial. La zona himenial está compuesta de basidios apretados junto con otras células llamadas basidios y cistidios (pleurocistidios y queilocistidios) en contacto unos con otros es decir pared con pared. Conforme los basidios maduran y se desarrollan emergen de la superficie de la lámina y se vuelven conspicuos.

Las basidiosporas son pequeñas, de forma oblonga, que en gran número forman masas de polvo, de color blanco con cierto tono lila-grisáceo. Cuando una espora se encuentra en el medio adecuado, germina y forma una hifa que va creciendo, ramificándose hasta que en su conjunto forman el micelio.

El pie de *Pleurotus* está muy poco desarrollado, suele ser corto, inclinado u oblicuo, de textura ligeramente correosa, blanca y rugosa en la base. Se conforma por dos regiones principales que son el tejido interno y el tejido de la superficie. El arreglo de las hifas varía para cada una de las dos regiones, pero ambas están verticalmente orientadas. Las células de la superficie se alargan para ir formando estructuras semejantes a “pelos” que son parte del micelio vegetativo encargado de la absorción de nutrientes y fijación al sustrato (García, 2002 citado por Aguilar, M. 2003).

### **CICLO REPRODUCTIVO DE LAS SETAS**

El ciclo reproductivo del hongo seta implica una sucesión de etapas que van desde la germinación de las esporas hasta la formación de los cuerpos fructíferos.

En condiciones adecuadas las esporas germinan y dan lugar al micelio. Durante la formación del micelio se va dando la agregación y compactación de las hifas, además de una alta ramificación, ensanchamiento, engrosamiento y gelatinización de la pared hifal (crecimiento, ramificación y agregación hifal).

En el primer punto se tiene la esporulación de las basidiosporas uninucleadas del hongo, las cuales al presentarse las condiciones adecuadas germinan, iniciándose el desarrollo del micelio vegetativo. Posteriormente, dos hifas de micelios compatibles se fusionan entre sí, dando como resultado la formación y crecimiento del micelio reproductivo. Este micelio se caracteriza por formar el cuerpo fructífero o carpóforo, el cual es la estructura especializada, diferenciada y diseñada para la producción y dispersión de las esporas.

La primera etapa de desarrollo del carpóforo es el primodio; el cual posee un tamaño de aproximadamente 1-2 mm de altura. Se reconoce por ser un cuerpo redondo de color blanco. El cuerpo se encuentra separado por dos regiones que

aparentemente son idénticas, pero conforme el primodio se alarga, las dos zonas se comienzan a diferenciar en las tres principales partes macroscópicas de la seta (sombrero, himenio y pie). El crecimiento regulado de las células se debe a un control establecido por los ápices de las hifas y su posterior ramificación de los compartimentos subapicales por debajo de la región 18 apical de la hifa. La diferenciación hifal ocurre aún en el estado de colonización del micelio vegetativo dentro del sustrato. Finalmente, las nuevas esporas quedan unidas a la parte del himenio acomodadas en estructuras especializadas denominadas basidios (Romero y Rosales, 1998 citado por Aguilar, M. 2003).

### **CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS DE LAS SETAS**

*Pleurotus* spp. Es un hongo particularmente interesante ya que se desarrolla naturalmente en todos los climas, desde la temperatura fría a la tropical, y en su medio natural, es uno de los agentes causantes de la pudrición blanca de la madera; no es parásito de árboles pero si es un saprófito que se desarrolla sobre madera muerta.

Dispone de una buena colección de enzimas (celulasas, glucosidasas, proteasas, entre otras) que le permiten atacar fácilmente diferentes materiales como son la lignina y la celulosa de la madera, así como los sustratos que se utilizan para su cultivo.

Realmente se desconoce exactamente cómo es el metabolismo del hongo seta, sin embargo, para alcanzar el buen crecimiento es necesario que se desarrolle en sustratos en los cuales encuentre las sustancias que necesita, como son fuentes de carbono, nitrógeno, minerales, vitaminas y feromonas, además de otros elementos como el fósforo (Romero y Rosales, 1998 citado por Aguilar, M. 2003).

Las setas son organismos quimio heterótrofos, utilizando como fuente de energía la obtenida a partir de las reacciones químicas de los compuestos y como principal fuente de carbono materia orgánica, la cual incluye carbohidratos tanto mono como polisacáridos, aminoácidos, ácidos grasos, alcoholes y lignina. Su fuente de nitrógeno puede ser tanto orgánica proveniente de aminoácidos o inorgánica a partir de nitratos y sulfato de amonio.

Este nitrógeno absorbido le permite dar la materia prima para la síntesis de proteínas. Además, el hongo debe tener una fuente rica de micronutrientes como son vitaminas y minerales (dentro de los cuales destacan: hierro, cobre, magnesio, sodio, entre otros). También, es importante que exista la presencia del ácido giberélico como feromona encargada de regular el crecimiento y desarrollo de la seta. Para suplementar algunas deficiencias en nutrimentos, estos sustratos se hacen más digeribles mediante diferentes técnicas de tratamiento (Romero y Rosales, 1998 citado por Aguilar, M. 2003).

**Cuadro 2.3.** Requerimientos básicos para el crecimiento de las setas

Requerimiento	Función	Fuente
Carbono	Fuente de energía para la elaboración de sustancias estructurales	Carbohidratos (mono y poli) Ácidos orgánicos Aminoácidos Alcoholes Lignina
Nitrógeno	Síntesis de proteínas	Mediante la degradación de aminoácidos, peptonas, caseína y otros. De la urea, por medio de sulfatos de amonio y nitratos de amonio, sodio, potasio y calcio
Minerales Crecimiento	Crecimiento	Fe, Cu, Mg, Na, K, Ca, P, y se pueden administrar por medio de cloruros y carbonatos
Vitaminas, feromonas	Factores de desarrollo	Tiamina y ácido giberélico

Fuente: (Aguilar, M. 2003).

## **REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES PARA EL DESARROLLO DE LOS MACROMICETOS**

### **CARBONO**

El carbono es necesario para los hongos porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de la célula, este elemento es el que requiere en mayores cantidades. El carbono puede ser utilizado por el hongo a partir de diferentes fuentes como polímeros, carbohidratos, lípidos. (Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

## **POLÍMEROS**

La mayoría de los basidiomicetos son considerados “degradadores de madera” porque son capaces de crecer sobre la biomasa proveniente de las plantas leñosas. Las especies de *Pleurotus* son consideradas de pudrición blanca porque son capaces de degradar materiales ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa.

Por su parte, Zadrazil observó que después de cosechar los cuerpos fructíferos de *Pleurotus*, las cantidades finales de hemicelulosa, celulosa y lignina se reducían en un 80% y concluyó diciendo que todos los materiales que contengan celulosa y lignina (con excepción de los tóxicos y metales pesados o los pobres en nitrógeno), pueden ser usados como sustratos para *Pleurotus spp.* (Zadrazil, citado por Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

## **AZÚCARES**

Los carbohidratos se encuentran entre las fuentes de carbono preferidas por las especies de *Pleurotus spp.* Según Raypeck, la glucosa, manosa y la galactosa son buenos sustratos para esta especie, mientras que la xilosa y la arabinosa producen un crecimiento deficiente (Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

## **LÍPIDOS**

La adición de aceites vegetales tiene un efecto benéfico para el crecimiento micelial de *P. sapidus* y *P. ostreatus*. Según Kurtzman, los productores de la hidrólisis de aceites deprimen el crecimiento, pero la adición de triglicéridos y metil ésteres de ácidos grasos generalmente promueven el crecimiento. El incremento en el crecimiento aumenta conforme aumenta el número de carbonos en los ácidos grasos C4-C14 y disminuye ligeramente entre C14 y C18. Al utilizar ácidos C18, el crecimiento aumenta con el grado de insaturación, siendo el ácido linoléico el mejor ácido de este grupo (Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

## **NITRÓGENO**

Los sustratos sobre los que suelen fructificar las especies de *Pleurotus* pueden contener valores bajos de nitrógeno por lo que se ha llegado a pensar que este

género es capaz de fijar nitrógeno atmosférico. Sin que esto haya sido demostrado, si es notorio que la concentración en nitrógeno en el cuerpo fructífero en algunos casos es mayor que la del sustrato sobre el cual crece. Las especies de *Pleurotus* tienen la capacidad de crecer sobre fuentes inorgánicas de nitrógeno, como el nitrato de potasio o la urea, aunque se observa que prefieren las fuentes orgánicas para su crecimiento óptimo (Monterroso, O. 2007).

## MINERALES

Desde 1943 se ha trabajado con *Agaricusbisporus*, llegando a la conclusión que tanto este como otros hongos y levadura son capaces de crecer en ausencia de calcio y que este mineral es requerido en mayores cantidades por sus efectos protectores y antagonistas con respecto de otros minerales como K o Mg. Estudios posteriores han confirmado esta aseveración. Así por ejemplo, (Srivastava y Babo), obtuvieron los rendimientos más altos para el cultivo líquido de *Pleurotus djamor* cuando usaron concentraciones de 0.22, 0.28, 0.98 y 0.049 mg/l de fósforo, potasio, calcio y magnesio respectivamente (Treschow citado por Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

Por su parte, (Manu-Tawiah), llegaron a la conclusión de que *Pleurotus ostreatus* crece mejor cuando hay  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  presente en el medio y que sus requerimientos en magnesio son tan bajos que pudieron ser suministrados por el sustrato que ellos utilizaron (turba hidrolizada). Por aparte otra parte reportaron que el cloruro de sodio no tiene efecto significativo sobre *Pleurotus ostreatus*, aunque si un muy ligero efecto en el crecimiento de *P. sapidus* (Manu-Tawiah citado por Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

## VITAMINAS

La familia de los *Pleurotus* requiere tiamina para su crecimiento en una concentración óptima de 100 mgL<sup>-1</sup> y que cuando tal vitamina está presente, ninguna otra es necesaria. También se indicó que la concentración de 50 mgL<sup>-1</sup> provoca un excelente crecimiento tanto del micelio como de los cuerpos fructíferos y que el ácido indolacético y la citosina causan en esta especie un mejor

crecimiento micelial pero que no tienen influencia sobre el rendimiento (Monterroso, O. 2007).

### **CARBOHIDRATOS**

Los carbohidratos se encuentran entre las fuentes de carbono preferidas por las especies de *Pleurotus spp.* Según Raypeck, la glucosa, manosa y la galactosa son buenos sustratos para esta especie, mientras que la xilosa y la arabinosa producen un crecimiento deficiente (Monterroso, O. 2007).

### **GRADO DE ACIDEZ**

El grado de acidez o alcalinidad del medio (pH) depende de la especie, pero puede oscilar ampliamente alrededor de la neutralidad, aunque suele variar a lo largo del cultivo, como cifras orientadoras se dice que los *Pleurotus* suelen preferir pH de 6-6,5; no significa que estos no van a crecer si el pH del medio no es óptimo, sobre todo si se añade algún aditivo regulador (Sánchez, J. y Royse, D 2002).

### **RELACIÓN C:N EN EL DESARROLLO DE LOS *PLEUROTUS***

Esta determinado que la relación óptima para el crecimiento en medio líquido de *P. ostreatus* era 40:1. Por su parte, Hong en 1978, encontró que para 15 de la misma especie, una relación de 15:23 permitía una rápida formación de cuerpos fructíferos con bajos rendimientos, que una relación de 11:42 incrementaba los rendimientos pero que disminuía la formación de cuerpos fructíferos y que tomando en cuenta los dos aspectos (rendimiento y velocidad de formación), la relación óptima debía ser 30:46 (Sánchez, J. y Royse, D. 2002).

### **HÁBITAT**

Las especies de *Pleurotus* crecen en materiales lignocelulósicos y el éxito de su desarrollo depende de varios factores ambientales. La valoración de diversos suplementación ha sido una de las áreas de constante investigación; esta suplementación influye en la composición química y el valor nutritivo de *Pleurotus*.

Adicionalmente, compuestos ricos en nitrógeno que favorece la función degradadora del hongo.

El género *Pleurotus*, es un hongo que en su ambiente natural, crece en el suelo, troncos o sobre desechos agrícolas o agroindustriales, que están constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina en porcentaje de 40-60, 15-50 y 10-30 respectivamente, alimentándose de estos nutrientes y degradándolos, y donde las condiciones ambientales sean húmedas y frías (UJAT. 2006).

## **INOCULANTE PARA EL HONGO**

### **PREPARACIÓN DEL INÓCULO**

Para la preparación del inóculo se utiliza generalmente como sustrato un grano que permita un crecimiento rápido del hongo y que de facilidad para distribuirlo en el sustrato definitivo, cuando haya colonizado bien, al momento de la siembra en éste. No se debe utilizar los granos que se expenden comercialmente para siembra en el campo, ya que generalmente están protegidos con fungicidas. La materia de la que se va a alimentar el hongo ha de ser preparada de modo que sus componentes nutritivos sean los más adecuados para la especie elegida; además ha de quedar con una estructura y composición lo más homogénea posible, capaz de sostener físicamente las setas que se formen.

Aunque los hongos pueden crecer sobre algunas sustancias determinadas o en troncos de árboles, generalmente el sustrato suele preparándose mezclando varias materias primas que se complementen entre sí. No obstante tratándose de hongos lignícolas, se podrá utilizar un sustrato como un salvado de arroz o trigo.

Una operación fundamental en la preparación de cualquier sustrato es su humidificación. Sea cual sea su composición debe mojarse hasta que su contenido de humedad llegue al 60-70%. Se dice que esa cifra se alcanza cuando al ser apretado un puñado escurre unas pocas gotas, pero un método más preciso es pesar una muestra y meterla en un horno normal (1 hora a 180 °C) se pesa después y se calcula la diferencia. Si por ejemplo, pesaba 0.1 kg antes de secarse en el horno y 0.04 kg al sacarlo.

Lo más importante de la reparación del sustrato es el tratamiento térmico a que hay que someter para destruir parásitos, agentes patógenos, semillas y posibles competidores. Generalmente basta con lo que pudiéramos llamar pasteurización, es decir, someter al sustrato húmedo a temperaturas moderadas (por ejemplo, 60 °C) durante el tiempo necesario.

La inoculación de los hongos lignícolas se debe realizar en bolsas de plástico resistentes al calor, suele realizarse la esterilización, que requiere altas temperaturas. Lo más cómodo es realizar en autoclaves, hay relación entre la presión y la temperatura. Una vez efectuada la siembra o inoculación, las bolsas se llevan al local donde se tienen en incubación para que el micelio se desarrolle e invada toda la masa. Cada especie tiene su temperatura preferida, pero suele oscilar entre los 20 y 28 °C (García, M. 2007.)

### **FASES GENERALES DEL CULTIVO DE HONGOS**

Cualquier cultivo de hongo que se emprenda supone la sucesión de unos pasos generales, algunos de los cuales suelen realizarse en laboratorios o al aire libre. En esquema son los siguientes:

#### **EL LABORATORIO:**

Selección de la especie de hongo, cepa o variedad deseada.

Cultivo puro de la variedad elegida.

Obtención del micelio en grandes cantidades (García, M. 2007.)

#### **EN LOCALES O AL AIRE LIBRE:**

Preparación del sustrato donde crecerá el hongo.

Inoculación o siembra del micelio en el sustrato.

Incubación para que el micelio invada toda la masa.

Recolección de las setas (García, M. 2007.)

## **ABONOS ORGÁNICOS**

Se entiende por abono orgánico todo material de origen orgánico utilizado para fertilización de cultivos o como mejorador de suelos, se incluyen dentro de los abonos orgánicos materiales como la gallinaza, la broza del café, coberturas, compost y ácidos húmicos, de los abonos orgánicos tenemos las siguientes clasificaciones (Meléndez, E y Soto, G. 2003).

## **ELABORACIÓN DE ABONO**

La elaboración del abono se basa en procesos de descomposición aeróbica de los residuos orgánicos y temperaturas controladas orgánicos a través de poblaciones de microorganismos existentes en los propios residuos, que en condiciones favorables producen un material parcialmente estable delinta descomposición. (Larco, E. 2004).

## **EL ABONO ORGÁNICO PRESENTA LAS SIGUIENTES VENTAJAS**

Mejora las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo.

Estimula el crecimiento de las plantas.

Los suelos conservan por más tiempo la humedad.

Favorece y estimula los microorganismos del suelo.

Se obtienen cosechas más sanas y abundantes.

Es económico y reduce los costos de producción por hectárea (Larco, E. 2004).

## **COMPOST**

Proceso biológico controlado de transformación de la materia orgánica a humus a través de la descomposición aeróbica. Se denomina COMPOST al producto resultante del proceso de compostaje. Co-compostaje: proceso de compostaje de lodos urbanos junto con otros residuos orgánicos sólidos (Meléndez, E y Soto, G. 2003)

## **PARÁMETROS A CONTROLAR EN LA ELABORACIÓN DE COMPOST**

C:N

pH

Olor

Color

Temperatura

Aireación (OMS. s/f)

## **MARCO LEGAL**

La constitución (Título VII, Régimen de Desarrollo del Buen Vivir) precisa la creación de un marco normativo especial para regular la protección y el uso sostenible de los suelos.

Art. 409.- Es de interés público y prioridad nacional la conservación del suelo, en especial su capa fértil. Se establecerá un marco normativo para su protección y uso sustentable que prevenga su degradación, en particular la provocada por la contaminación, la desertificación y la erosión.

En áreas afectadas por procesos de degradación y desertificación, el estado desarrollará y estimulará proyectos de forestación, reforestación y revegetación que eviten el monocultivo y utilicen, de manera preferente, especies nativas y adaptadas a la zona.

Art. 410.- Establece que el Estado debe promover medidas para restaurar la vegetación natural en áreas afectadas por la erosión y desertificación. Adicionalmente, la constitución hace obligatorio que el Estado brinde apoyo a campesinos y comunidades rurales para conservar y restaurar los suelos, así como para desarrollar prácticas agrícolas que protejan los suelos y promuevan la soberanía alimentaria (ASAMBLEA CONSTITUYENTE. 2008).

# DISEÑO METODOLÓGICO

## UBICACIÓN

El presente proyecto se desarrolló en el laboratorio de microbiología de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “ESPAM-MFL” ubicado en el Campus Politécnico “El Limón”, de la ciudad de Calceta del cantón Bolívar, provincia de Manabí, situada geográficamente entre las coordenadas 00° 49’ 27.9” latitud Sur, 80° 10’ 47.2” longitud Oeste y una altitud de 15.5 msnm. Las características climáticas de la zona son:

**Cuadro 3.1.** CARACTERÍSTICAS TOPOGRÁFICAS Y CLIMATOLÓGICAS DEL CANTÓN BOLÍVAR.

Clima	Cálido seco con una marcada diferencia de invierno y verano.
Latitud	0°49'27.9" Sur
Longitud	80°10'47.2" Oeste
Altitud	15.5 msnm
Humedad	78% (Relativa Media)
Evaporación	1880 mm/año
Vientos	2.5 m/s (Velocidad media)
Nubosidad	7/8
Temperatura	25.6 °C.
Heliofonia	2000 horas luz/año
Pluviosidad	1300 mm
Topografía	Irregular
Suelo	Suelo franco arenoso

**Fuente:** Corporación Reguladora de Recursos Hídricos de Manabí (C.R.M.), proyecto carrizal Chone.

## EXPERIMENTO 1

### FACTORES EN ESTUDIO

**FACTOR A:** TIPOS DE MEDIO DE CULTIVO (A).

**NIVELES.**

**A1:** PDA.

**A2:** Sabouraud.

**A3:** CZapek.

### TRATAMIENTOS

**Cuadro 3.2.** Los niveles y el factor de estudio, dio como resultado los siguientes tratamientos.

Tratamientos	Tipos de medios de cultivo
1	PDA
2	Sabouraud
3	CZapek

Fuente: (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013).

### DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló bajo un diseño completamente al azar (DCA) unifactorial con 3 tratamientos y 5 réplicas habiendo obtenido 15 unidades experimentales, en el procesamiento de resultados se empleó el paquete estadístico InfoStat versión 2008 (Di Rienzo, J. *et. al.* 2008).

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables tiempo medio de invasión micelial en (diámetro) que fue analizada estadísticamente y morfología micelial del hongo *Pleurotus sapidus* categorizada de acuerdo a su tipo de micelio considerándolo como variable cualitativa.

**Cuadro 3.3.** ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA.

ADEVA	
Fuentes de variación	Grados de libertad (n-1)
Total (r.t)-1	14
Tratamiento (t-1)	2
Error (t(r-1))	12

**Fuente:** (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013).

### **PRUEBA FUNCIONALES**

Las variables cuyo ADEVA presentaron significación estadística; fueron sometida a las comparaciones de media entre los tratamientos, y se aplicó la prueba de rangos múltiples de TUKEY al 95% de probabilidad.

El coeficiente de variación se comprobó para verificar la variabilidad de los datos obtenidos con respecto a la varianza.

La evaluación económica se la realizó en base a los costos variables de los tratamientos a estudiados, se comprobó para conocer si el producto final es económicamente viable.

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **MÉTODO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO**

La investigación se realizó en la época seca, haciendo coincidir la reproducción in vitro entre los meses de julio y agosto. Para asegurar su buen desarrollo se realizaron las siguientes prácticas:

## **ESTERILIZACIÓN DE MATERIALES**

El instrumental que se utilizó en este trabajo experimental fue esterilizado en la estufa a 180 °C durante un tiempo de 2 horas y media, los materiales de vidrios se lavaron 3 veces antes de usarlo con jabón líquido al 10% v/v.

## **MEDIO DE CULTIVO**

Previo a la instalación del experimento se utilizaron medios de cultivos sólidos en placas, los cuales son: PDA, Sabouraud y CZapek. (VER ANEXO 3)

### **PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO PDA**

Se coció 0,20 kg de papa en 0.6 dm<sup>3</sup> de agua destilada, se filtró, se agregó en el extracto de papa 0.017 kg de dextrosa y 0.02 kg de agar agar, se enrazo hasta un volumen de 0.1 dm<sup>3</sup> agregando agua destilada y se mezcló hasta que estuvo completamente homogéneo. Se acondiciono el

pH a 5.8 con respecto al valor inicial con una solución de hidróxido de sodio a 1N, posteriormente se envaso y se esterilizo a 121 °C y 1.0546 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 0.33 horas, transcurrido este proceso se depositó el medio de cultivo en cajas petri estéril de 0.09 m de diámetro dentro de la cámara de flujo laminar, posteriormente se dejó solidificar el medio y se incubo a 25.6 °C durante 24 horas para la prueba de esterilidad. Las cajas cuyo medio no presentaron contaminación se guardaron en bolsa polipropileno en refrigeración con la finalidad de evitar contaminación y deshidratación del medio

### **PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO SABOURAUD**

Se solubilizaron 0.065 kg de agar Sabouraud en 1dm<sup>3</sup> de agua bidestilada y se acondicionó el pH en 5.8 unidades con respecto al valor inicial, con una solución de hidróxido de sodio 1N. Posteriormente fue esterilizado a 121 °C y 1.0546 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 0.25 hora; transcurrido este tiempo se depositó el medio de cultivo en cajas de Petri estériles de 9 cm de diámetro dentro de la campana de flujo laminar, posteriormente se dejó solidificar el medio y se incubo a 25.6 °C durante 24 horas para prueba de esterilidad. Las cajas cuyo medio no presentaron contaminación, se guardaron en bolsas de polipapel en refrigeración con la finalidad de evitar contaminación y deshidratación del medio.

### **PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO CZAPEK**

Se disolvió 0.048 kg en un 1 dm<sup>3</sup> de agua destilada colocándola en la plancha agitadora magnética hasta disolver en su totalidad a 80 °C y regulando el pH a 5,8 unidades con respecto al valor inicial utilizando una solución de ácido clorhídrico al 1N, después fue llevado a esterilizar en autoclave (0.25 de hora a 121 °C), fue vertido en placas y llevadas a refrigeración con la finalidad de evitar contaminación y deshidratación del medio.

### **PREPARACIÓN DE AGUA DE PEPTONA**

Para preparar 1 dm<sup>3</sup> de este medio, se solubilizo 0.01 kg de peptona en 1 dm<sup>3</sup> de agua destilada con agitación y calentamiento moderado. De este medio se tomaron alícuotas de 0.01 dm<sup>3</sup> y se colocaron en tubos de ensayo de 0.015 dm<sup>3</sup> de capacidad, los mismos que fueron esterilizados a 121 °C y 1.0546 kg/cm<sup>2</sup> de presión durante 0.25 hora. Una vez fríos, se incubaron a 28 °C durante 24 horas para prueba de esterilidad y se refrigeraron hasta utilización.

### **PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DEL *P. sapidus***

Con la ayuda de un saca bocado estéril de 0.005 m de diámetro se cortaron discos de colonia pura de *p. Sapidus* de 10 días de edad, los mismos que se transfirieron al centro de la caja petri que contenían los tratamientos descritos en los factores en estudios. (VER ANEXO 4).

### **DATOS A TOMAR Y MÉTODO DE EVALUACIÓN**

Las evaluaciones del *P. sapidus*, se inició el 11/07/2012, a las 48 horas posteriores de la inoculación, y se realizaron mediciones del diámetro una vez por día hasta el 20/07/2012, efectuándose en total 10 evaluaciones en 15 unidades experimentales al azar de cada tratamiento. En cada evaluación se registraron los siguientes variables.

Diámetro promedio (m) de crecimiento micelial del *P. sapidus*.

Morfología micelial del *P. sapidus*.

**Diámetro promedio (m) de crecimiento micelial del *P. sapidus*:** Para la determinación del diámetro, se utilizó el método reportado por (Larraya et, al. 2002) en el cual se midió el tiempo en horas de crecimiento micelial en todas las cajas Petri de 0.09 m de diámetro con medio PDA, Sabraud y Czapek, al ser inoculado con un fragmento de 0.005 m de diámetro de agar que contenía micelio de la cepa

utilizada. Para el efecto, diariamente se midió en m el diámetro de las colonias en estudio que se encontraban creciendo en los medios respectivos, utilizando una regla graduada los datos se registraron desde las 48 horas hasta las 264 horas después de la inoculación. Las 10 evaluaciones en todo el proceso se le llevaron a cabo mediante técnica de observación visual. (VER ANEXO 2 y 4).

**Morfología micelial del *P. sapidus*:** Para el efecto a las 264 horas se conoció el tipo de morfología micelial que presentaba el *P. sapidus* a nivel in vitro, evaluando la población total de cada tratamiento conformada por 15 cajas Petri con las respectivas cepas, se determinó esta variable considerando en cada una el crecimiento algodonosa exuberante o el crecimiento filamentoso irregular. Todo este proceso se lo llevo a cabo mediante una observación visual con ayuda del estereoscopio. (VER FIGURA 4.1)

## **EXPERIMENTO 2**

### **FACTORES EN ESTUDIO**

#### **FACTOR A: SUSTRATO RASTROJO DE MAÍZ.**

### **TRATAMIENTOS**

Cuadro 3.4. TABLA DE LOS TRATAMIENTOS

TABLA DE LOS TRATAMIENTOS CON SUS RESPECTIVAS DOSIS	
TRATAMIENTOS	DOSIS DE GRANO INVADIDO CON MICELIO
1	0.04 kg de grano invadido con micelio * 1 kg rastrojo de maíz
2	0.05 kg de grano invadido con micelio * 1 kg rastrojo de maíz
3	0.06 kg de grano invadido con micelio * 1 kg rastrojo de maíz
Control	Materia Inicial sin tratamiento

Fuente: (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

## **DELINEAMIENTO EXPERIMENTAL**

El experimento se desarrolló bajo un diseño completamente al azar (DCA) unifactorial con 3 tratamientos y 5 réplicas habiendo obtenido 15 unidades experimentales.

## **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.**

### **MÉTODO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO**

La investigación se realizó de septiembre a diciembre del 2012 obteniendo la propagación de semillas del hongo *Pleurotus sapidus* para posteriormente ser inoculada al sustrato de rastrojo de maíz, dando como resultado la degradación del material lignocelulósico de este residuo agrícola para la elaboración de abono orgánico.

### **PREPARACIÓN DEL SUSTRATO PARA MULTIPLICACIÓN DE SEMILLA**

Como sustrato para el inóculo se utilizó granos de maíz por ser una semilla de la zona que contiene los nutrientes y la energía necesaria para desarrollar el micelio. Se eliminó la impureza que contenía el grano, posteriormente se lavó con el mismo objetivo, Los granos se colocaron en frascos de boca ancha con una cantidad de 100 gr aproximadamente y se remojaron durante 24 horas con el fin de proporcionar humedad, fueron sellados y llevados al autoclave a una temperatura de 121 °C por 0.5 hora para eliminar microorganismos y tener un medio aséptico. (VER ANEXO 5)

## **PREPARACIÓN DEL INOCULO**

Se colocó agua de peptona en cantidad de 0.015 dm<sup>3</sup> dentro de cada caja Petri que estaban totalmente colonizadas por *P. sapidus* para obtener el micelio dejándola reposar por 0.033 horas, posteriormente con una pipeta milimetrada de 0.005 dm<sup>3</sup> se extrajo el agua de peptona ya homogenizadas con esporas de *P. sapidus*, se inocularon 0.010 dm<sup>3</sup> en los frascos con granos de maíz, se sellaron y fueron llevados al proceso de incubación a una temperatura de 25.6 °C durante 8-10 días o hasta que el micelio colonice totalmente el grano.

Este procedimiento se realizó dentro de la cámara de flujo laminar, para evitar de esta manera contaminación microbiana, aquí se desinfecto con alcohol, así como la persona que ejecuto este proceso se encontraba utilizando, mascarillas, guantes y mandil.

## **PREPARACIÓN DEL SUSTRATO (RASTROJO DE MAÍZ) PARA LA DEGRADACIÓN POR EL HONGO *P. sapidus***

Se procedió a fragmentar en trozos de 0.03 a 0.05 m. de largo la caña de maíz, lo cual permitió una mejor retención de humedad y un fácil manejo del sustrato. Este proceso se realizó con una picadora comercial. El sustrato fue humedecido por 24 horas y escurrido por una 1 hora. Posteriormente fue embolsado en unidades equivalentes 1 kg de peso seco en bolsas nuevas de polipapel en medidas de 23 x 0.37 m.; luego se esterilizó en la autoclave a 121 °C. Finalmente se dejó enfriar el sustrato hasta que alcanzó la temperatura ambiente.

## **INOCULACIÓN DE LA SEMILLA EN EL SUSTRATO.**

Las fundas fueron llevadas a la sala estéril donde con unas pizas se pasó el sustrato a una funda plástica transparente para dar las condiciones de luz necesarias que ayudan al crecimiento del hongo, en una balanza analítica se pesaron los granos invadidos con el micelio del *Pleurotus sapidus* en cantidades de 0.04, 0.05 y 0.06 kg inoculando los sustratos correspondientes, logrando obtener tres tratamientos y cinco repeticiones cada uno teniendo 15 unidades experimentales. **(VER ANEXO 6).**

## **VARIABLES Y MÉTODOS DE EVALUACIÓN.**

La evaluación se realizó en base a las variables en estudio:

Porcentaje de lignina presente en el rastrojo de maíz.

Porcentaje de relación C:N.

Porcentaje de nutrientes NPK.

### **Cuantificación y caracterización del rastrojo de maíz.**

Las variables respuesta se realizaron al inicio y al final del experimento con la siguiente metodología. Se envió 0.2 kg de muestra a los laboratorios de la Escuela Politécnica Nacional en el Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología (DECAB) en el cual se realizaron análisis para determinar la composición del rastrojo de maíz siguiendo los métodos que se describe a continuación: **(VER ANEXO 1)**

Lignina por el método TAPPI T-13-0S-54,

Solubilidad en alcohol benceno TAPPI T – 60S -59

Humedad para análisis TAPPI T-412-M (6).

Cenizas por el método AOAC 2005 923.03,

Proteína y nitrógeno por el método AOAC 2001.11,

Materia orgánica por el método AOAC 2005 957.05

Humedad por el método AOAC 2005 934.01,

Potasio por el método DECAB 01

Fosforo por el método AOAC 2005 948.09 (32.1.11).

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### DIÁMETRO PROMEDIO (m) DE CRECIMIENTO MICELIAL DEL *P. sapidus*.

En el cuadro 4.1, constan los valores promedios del tiempo medio de invasión micelial de *P. sapidus*, obtenidos entre el factor y tratamientos estudiados, en las 10 evaluaciones realizadas durante el periodo de julio-agosto del 2012. Estas no reportaron diferencias estadísticas entre los tratamientos estudiados.

Se observa que el tiempo medio de invasión micelial del *P. sapidus*, se inició a las 48 horas después de inoculado en el medio de cultivo, alcanzando su mayor diámetro en T2 (agar Sabouraud) con 0.00746 m, a diferencia que el menor diámetro lo obtuvo el T3 (agar CZapek) con 0.00619 m. Posteriormente se aprecia otro diámetro del hongo a las 72 horas que correspondieron a los tratamientos T2, T1 y T3 con 0.2093, 0.1593 y 0.1532 m, respectivamente. El coeficiente de variación para las 48 y 72 horas fue de 11.02 y 2.91 % calificándolo de muy bueno a excelente, lo cual abaliza los resultados obtenidos en este ensayo.

La siguiente evaluación a las 96 horas de invasión micelial, se pudo notar que el T2 fue el que mejor diámetro alcanzado con 0.2732 m seguido del T3 con 0.2299 m y el menor valor se alcanzó en el T1 con 0.1899 m. En la evaluación a las 120 horas el mejor valor sigue obteniéndose en el T2 con 0.3566 m seguido del T3 con 0.2943 m, evidenciado que el T1 es el menos apropiado para su reproducción. Por otro lado a las 144 horas persiste el T2 como el mejor medio de reproducción con 0.4433 m seguido del T3 y T1 con 0.3859 y 0.2999 m, notando que el C.V. para estas evaluaciones fueron de 8.23, 3.76 y 3.46%, calificándolas como excelentes lo cual abaliza estos resultados.

En la evaluación a las 168 horas predomina el T2 con 0.5313 m, seguido por el T3 con un diámetro de 0.4833 m y la menor invasión micelial se evidenció en el T1 con 0.3466 m. Adicionalmente se aprecia otra evaluación a las 192 horas con la insistencia del T2 como mejor resultado dando una cifra de 0.6159 m, los

tratamientos que más bajo índice de invasión micelial obtuvieron son, T3 con 0.5753 m y el T1 con 0.4113 m. En estas evaluaciones el C.V. a las 168 y 192 horas fue de 3.96 y 5.82% respectivamente.

Para la variable invasión micelial notamos en el cuadro 1 de resultados, se presentan los valores promedios de las 216, 240 y 264 horas sobresaliendo como mejor tratamiento el T2 que es donde se evidencia el mejor crecimiento micelial con 0.7192, 0.8166 y 0.8886 m de diámetro, seguido del T3 con 0.6746, 0.7813, y 0.8539 m, resultando que el T1 es el menos eficiente en la reproducción in vitro del *P. sapidus* alcanzando valores de 0.4626, 0.5246 y 0.6169 m. El C.V. respectivo para esta evaluaciones fueron, 6.45, 5.07 y 5.43% calificándolas como excelentes, lo cual abaliza los resultados obtenidos en esta etapa de la investigación.

**Cuadro 4.1.-** Diámetro promedio (m) de crecimiento micelial del *p. sapidus*. (diámetro/horas) entre los tratamientos estudiados en las fechas que se presentan dentro de esta investigación “Utilización del hongo *P. sapidus* en la degradación lignocelulósica del rastrojo de maíz para la elaboración de abono en agricultura orgánica, 2012”

TRATAMIENTOS	FECHAS DE EVALUACIÓN (m).									
	11/07/2 012	12/07/2 012	13/07/2 012	14/07/2 012	15/07/2 012	16/07/2 012	17/07/2 012	18/07/2 012	19/07/2 012	20/07/2 012
	Dm 48	Dm 72	Dm 96	Dm 120	Dm 144	Dm 168	Dm 192	Dm 216	Dm 240	Dm 264
1 PDA	0.00653	0.01593	0.01899	0.02606	0.02999	0.03466	0.04113	0.04626	0.05246	0.06179
2 Agar SB	0.00746	0.2093	0.02732	0.03566	0.04433	0.05313	0.06159	0.07192	0.08166	0.08886
3 CZ	0.00619	0.01532	0.02299	0.02943	0.03859	0.04833	0.05753	0.6746	0.07813	0.08539
C.V (%)	0.01104	0.00291	0.00823	0.00376	0.00346	0.00396	0.00582	0.00645	0.00507	0.00543
TUK EY 0.05	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S	N.S

NS= No significativo

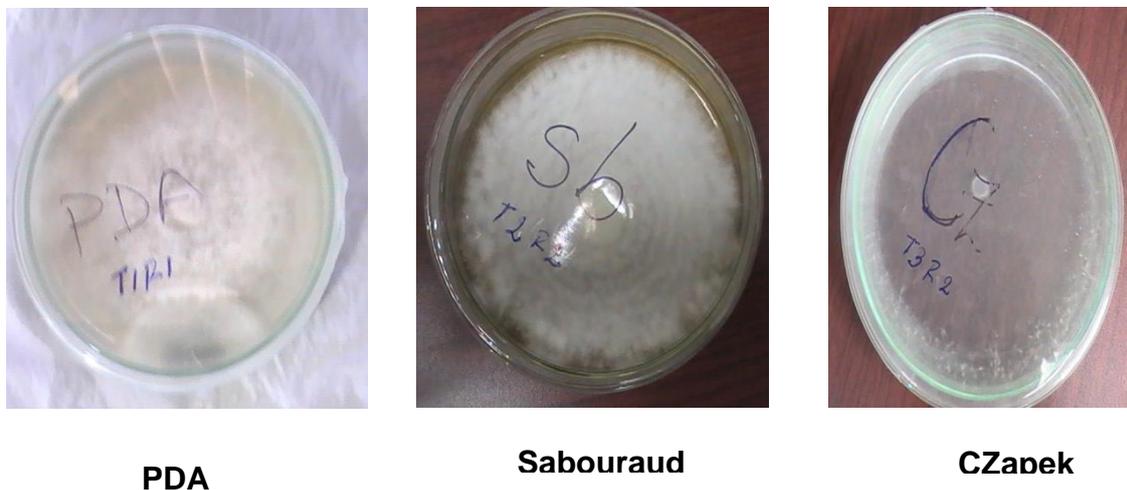
**Fuente:** (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

Analizando los resultados se puede conocer que las colonias con un medio específico pueden tener un rápido crecimiento en el tiempo, además tienen un gran potencial de producir un mayor cuerpo fructífero y esporas que aquellas colonias que crecen en medios no específicos, de esta manera se puede contribuir con un mayor número de gametos de genes viables que favorecen la reproducción de este hongo en condiciones normales. Resultados que se asemeja a Maldonado, Y. 2007. Quien obtiene crecimiento micelial hasta los 13 días para invadir el medio de cultivo total y además manifiesta que la invasión va depender de la especie biológica y las condiciones del medio de cultivo.

### **MORFOLOGÍA MICELIAL DEL HONGO *PLEUROTUS SAPIDUS*.**

Las cepas de *P. sapidus*. Sometidas a experimentación en tres medios de cultivos, PDA, Sabouraud y Czapek, en el cuadro 4.2 muestra los diferentes tipos de morfologías observados durante la investigación, los cual fue de los tipos algodonoso irregular, algodonoso exuberante y filamentososo irregular.

**Figura 4.1.** Morfología micelial de cepas de *P. sapidus*: PDA Algodonoso irregular, Sabouraud Algodonoso exuberante, Czapek Filamentososo Irregular.



**Fuente:** (Mendieta, R. Marcillo, F. 2013)

Como se puede apreciar en el cuadro 4.2, la mayoría de cepa, en el tratamiento uno se presentó como morfología Algodonosa Irregular debido a que el PDA es un medio de tipo casero ya que no contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento normal de esta especie. En el tratamiento dos, más del 90% de

hongo *P. sapidus* presento morfología de tipo Algodonoso Exuberante, esto se presentó porque el medio de cultivo de este tratamiento es selectivo y por lo tanto contiene todos los nutrientes y vitaminas que necesita este organismo para su desarrollo micelial. El tratamiento 3 presento un crecimiento Filamentoso Irregular, debido a que este medio de cultivo no posee los nutrientes y vitaminas que requiere este hongo, por lo tanto no es un medio de cultivo idóneo para para el crecimiento del *P. sapidus*.

Cuadro 4.2.- Morfología micelial del hongo *p. sapidus* entre los tratamientos estudiados en esta investigación "Utilización del hongo *P. sapidus* en la degradación lignocelulósica del rastrojo de maíz para la elaboración de abono en agricultura orgánica, 2012"

TRATAMIENTOS	TIPO DE MORFOLOGÍA MICELIAL
1 PDA	ALGODONOSO IRREGULAR
2 Sabouraud	ALGODONOSO EXUBERANTE
3 CZapek	FILAMENTOSO IRREGULAR

Fuente: (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

En el comportamiento fenotípico micelial observado en el presente experimento, se notó claramente que la morfología del hongo *P. sapidus*, va a depender de varios factores intrínsecos que repercute en la fisiología, crecimiento y reproducción, entre esos factores encontramos la luz, temperatura, humedad, nutrientes y vitaminas. Estos resultados se asemejan a los de Clark y Anderson en el 2004 que reportan que la luz tiene una influencia directa en la morfología en el crecimiento del micelio de *Pleurotus sp*, llevando a esto a tener fenotipos anormales o asimétricos que disminuye su velocidad en el crecimiento.

## **PORCENTAJE DE LIGNINA PRESENTE EN EL RASTROJO DE MAÍZ.**

Con la finalidad de describir el comportamiento del resultado obtenido en la variable porcentaje de lignina utilizando diferentes dosis de micelio inoculados en

el sustrato de rastrojo de maíz, en la tabla 4.3, se muestran los resultados obtenidos del análisis proximal para cada tratamiento probado; con respecto al contenido de lignina, el porcentaje de degradación fue mayor el tratamiento tres con 12.05%, sin embargo cabe destacar que el tratamiento uno y dos presentaron menores porcentajes de degradación con 13.14% y 12.36% respectivamente. A su vez, el porcentaje de la masa inicial registro un valor de 14.76%.

**Cuadro 4.3.-** Porcentaje de Lignina presente en el rastrojo de maíz entre los tratamientos realizados en la investigación "Utilización del hongo *P. sapidus* en la degradación lignocelulósica del rastrojo de maíz para la elaboración de abono en agricultura orgánica, 2012"

% LIGNINA		
TRATAMIENTO	MEDIA	CATEGORÍA
T3	12,05	a
T2	12,36	b
T1	13,14	c
T <sub>o</sub>	14,76	d
C.V	0.38%	-

Promedio con distintas letras difieren estadísticamente al 95 % de probabilidad.

Fuente: (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

Es importante mencionar que el comportamiento de los tratamientos estudiados era el esperado, ya que esta especie tiene la capacidad enzimática de biodegradar la lignina, resultado que se asemeja a los de Delfin, I. y Duran, C. 2003. quienes manifiestan que la lignina puede ser biodegradada por los hongos cuando se usa sustratos enriquecidos o sin enriquecer, resultado que ya había sido descritos por otros autores (Guzmán, Dávalos, *et, al* 1987 y Wang *et, al.* 2001 citado por Delfin, I. y Duran, C. 2003).

## **PORCENTAJE DE RELACIÓN CARBONO NITRÓGENO PRESENTE EN RASTROJO DE MAÍZ.**

En el caso de la relación C:N evaluada a las 5 semanas presentaron diferencia estadística entre los tratamiento incluido la relación carbono nitrógeno de la masa inicial; sin embargo, cabe destacar que el tratamiento que presento el mejor porcentaje de relación carbono nitrógeno fue el T3 disminuyendo 88.98%, seguido del tratamiento T1 y T2 que disminuyó considerablemente en 81.42 y 77.35% con respecto a la muestra inicial T<sub>o</sub> que contenía 131.70%.

**Cuadro 4.4.-** Relación Carbono Nitrógeno en tratamientos estudiados en esta investigación “Utilización del hongo *P. sapidus* en la degradación lignocelulósica del rastrojo de maíz para la elaboración de abono en agricultura orgánica, 2012”

DISMINUCIÓN DEL % LA RELACIÓN C:N CON RESPECTO AL % INICIAL EN 5 SEMANAS			
TRATAMIENTO	MEDIA	DISMINUCIÓN %	CATEGORÍA
T3	42.72	88.98	a
T1	50.27	81.42	b
T2	54.35	77.35	c
T <sub>0</sub>	131.70	-	d

Promedio con distintas letras difieren estadísticamente al 95 % de probabilidad.

**Fuente:** (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

Un efecto muy positivo fue obtenido al colocar 0.06 kg del hongo *P. sapidus* en 1 kg de sustrato. La biodegradación del rastrojo de maíz con el tratamiento mencionado obtuvo a las 5 semanas una relación C:N de 42.72:1 donde la mineralización y la inmovilización fue simultáneamente evidente. Al parecer la degradación fue incompleta debido a que el tiempo de actuación del tratamiento fue insuficiente. Esto concuerda con Kameko, C. 2003. quien indica que la relación C:N presenta un mejor grado de mineralización en la primera 10 semana de incubación de cualquier abono orgánico, y que la relación C:N óptima para que este biodisponible los nutrientes se encuentra en el rango de 20:1 hasta 25:1.

## **PORCENTAJE DE NUTRIENTES NPK**

En la tabla 4.5 podemos apreciar los valores en porcentaje de Nitrógeno, fósforo y potasio obtenido en los sustratos biodegradados de cada tratamiento, incluyendo el porcentaje de nutrientes de la masa inicial (rastrojo de maíz). Se puede observar que existe una variación entre los tratamientos por lo que se podría decir que, la concentración de 0.04 kg/kg de sustrato inoculados con el hongo *P. sapidus*, produjo porcentajes aceptable de NPK con mayor biodisponibilidad de 0.76, 0.24 y 0.53%; seguido del tratamiento 3 con 0.71, 0.17 y 0.30%. Sin embargo cabe destacar que el tratamiento dos presentó los menores porcentajes de macronutrientes con 0.23, 0.15 y 0.42%. A su vez el valor registrado de la masa inicial con respecto a los tratamientos fue bajo para el Nitrógeno con 0.38% y medianamente para el potasio con 0.24%, y alto para el caso de fósforo pero sin biodisponibilidad.

**Cuadro 4.5-** Macronutrientes (NPK) presentes en los tratamientos estudiados en esta investigación “Utilización del hongo *P. sapidus* en la degradación lignocelulósica del rastrojo de maíz para la elaboración de abono en agricultura orgánica, 2012”

% NUTRIENTES			
VARIABLES	TRATAMIENTO	MEDIA	CATEGORÍA
Nitrógeno	1	0.76	a
	3	0.71	b
	2	0.42	c
	Inicial	0.38	d
Fosforo	Inicial	0.59	a
	1	0.24	b
	3	0.17	c
	2	0.15	d
Potasio	1	0.53	a
	3	0.30	b
	Inicial	0.24	c
	2	0.23	c

Promedio con distintas letras difieren estadísticamente al 95 % de probabilidad.

Fuente: (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

La especie del hongo *Pleurotus sapidus* estudiada, demostró una eficiencia en la mineralización de los macronutrientes, Nitrógeno, fósforo y potasio, que aumento su biodisponibilidad través del proceso de degradación de la materia orgánica presente en el rastrojo de maíz. El comportamiento de este hongo varía en función de la partícula que presente en el sustrato y la concentración del micelio sobre el mismo, como se observó con el porcentaje de nitrógeno fósforo y potasio que fue mejor que el testigo inicial que contenía los macronutrientes en estado inmóvil. Estos resultados se asemejan a lo señalado por Sasaki, M y Alvarado, S. 1994, que sostienen que la mineralización de los macronutrientes va a depender del tiempo de incubación y del tamaño de la partícula para obtener un mejor resultado.

### **PESO PROMEDIO DE COSECHA DEL HONGO *PLEUROTUS SAPIDUS* DE A LOS 30 DÍAS.**

Unos de los parámetros más interesantes para caracterizar el comportamiento del hongo *Pleurotus sapidus* sobre el sustrato (rastrojo de maíz) probado, es el

tiempo de la primera cosecha, el cual se fija cuando los cuerpos fructíferos alcanzan un diámetro aproximado entre 0.05 a 0.15 m. Gaitán, H. 2002.

En la figura 2 se observa el desarrollo del micelio a las 72 horas después de la inoculación en bolsa cultivada con 0.06 kg de semilla del hongo *P. sapidus* en kg de sustrato rastrojo de maíz. Para comparar el comportamiento de las bolsas en el resto de los tratamientos, en la figura 3 se muestra bolsas cultivadas con 0.04 y 0.05 kg de semillas del hongo mencionado en rastrojo de maíz a las 72 horas de incubación. Se puede apreciar que las bolas con 0.06 kg de semillas por cada kg de sustrato obtuvieron una mayor extensión y colonización con respecto al tratamiento 1 y 2. Este rápido desarrollo es debido al adecuado balance nutricional y a la cantidad de semilla inoculada en dicho sustrato. Además se mantuvo el contenido del hongo y la calidad del sustrato, donde este sirvió como soporte y fuente de lignina indispensable para el desarrollo del hongo *P. sapidus*. Estos resultados se asemejan a lo reportado por Romero, B. y Rosales, G. 1998. Quienes señalan, pueden utilizar las fuentes de carbono como polisacáridos complejos y simples.

**Figura 4.2.** Bolsa cultivada a las 72 horas después de la inoculación con 0.06 kg de semilla del hongo *P. sapidus* en kg de rastrojo de maíz. Se puede notar como la bosa presento un importante crecimiento del micelio y una rápida adaptación en el sustrato.



**Fuente:** (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

**Figura 4.3.** Bolsa cultivada a las 72 horas después de la inoculación con 0.04 y 0.05 kg de semilla del hongo *P. sapidus* en kg de rastrojo de maíz. Se puede notar como la bolsa presento un importante crecimiento del micelio y una rápida adaptación en el sustrato.



Fuente: (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

En el Cuadro 4.6 se muestran los resultados, donde el mejor peso obtenido en la primera cosecha, se alcanzó cuando se inoculo 0.06 kg de semilla del hongo, logrando cultivar seta de un peso promedio de 0.04052 kg, que fue a los 30 días después de la siembra, mientras que los tratamientos 1 y 2 alcanzo un peso promedio de 0.01288 y 0.01520 kg a los mismos días. Al analizarlos estadísticamente hubo diferencia entre los tratamiento como se pudo notar al describirlo. Esto significa que la cantidad de semillas de hongo *Pleurotus sapidus* aplicado en el sustrato (rastrojo de maíz) influyo en el peso y en la rapidez de lograr la primera cosecha de setas a los 30 días. Es importante mencionar que para las 3 concentraciones de semillas del hongo probado se obtuvieron tiempo de cosecha y peso adecuado, ya que los intervalo de tiempo y peso se encontraron en los permitidos debido a las condiciones climáticas que favorecen a la producción de setas, resultados que se asemejan a Bautista, N . *et, al.* 2003, quienes alcanzaron entre 37 a 39 días en la primera cosecha de un hongo del genero *Pleurotus*.

**Cuadro 4.6.-** Peso promedio de cosecha del hongo *Pleurotus sapidus* a los 30 días en los tratamientos de la investigación "Utilización del hongo *P. sapidus* en la degradación lignocelulósica del rastrojo de maíz para la elaboración de abono en agricultura orgánica"

PESO PROMEDIO DE COSECHA		
TRATAMIENTO	MEDIA (kg)	CATEGORÍA
3	0.04052	a
2	0.01520	b
1	0.01288	b

Promedio con distintas letras difieren estadísticamente al 95 % de probabilidad.

**Fuente:** (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

## EVALUACIÓN ECONÓMICA

En el cuadro de 4.7 de resultados, consta el cálculo de costo de producción parcial, observándose que el tratamiento que corresponde a 0.06 kg de semilla del hongo *P. sapidus* por cada kg de sustrato (rastrojo de maíz), presento los mejores costos variables. Siendo la mejor alternativa para la producción de ambos productos por alcanzar un bajo costo en la producción de abono y la mejor producción de setas comestibles

**Cuadro 4.7.** Costo de producción de abono orgánico y de hongo comestible (kg) sobre el proceso biotecnológico aplicando concentración de 0.06 kg de *P. sapidus*/kg de sustrato.

<b>RUBROS</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>
<b>COSTO VARIABLE</b>	<b>COSTO USD</b>
<b>COSTO DIRECTO</b>	
AGAR SABOURAUD	0.10
AGUA DESTILADA	0.10
HIDRÓXIDO DE SODIO Na OH	0.05
ACIDO CLORHÍDRICO HCl	0.05
GENTAMICINA	0.10
<b>COSTO INDIRECTO</b>	
PARAFILM	0.10
ALCOHOL	0.20
GUANTES	0.10
MASCARILLAS	0.15
PAPEL TOALLA	0.03
<b>SUMINISTROS</b>	
ENERGÍA ELÉCTRICA	0.06
TOTAL	1.04
PRODUCCIÓN DE COMPOST	2.27 kg
PRODUCCIÓN DE HONGO COMESTIBLE	0.2 kg
COSTO / KG DE ABONO DÓLARES	0.45
COSTO / KG DE HONGO COMESTIBLE DÓLARES	5.20

**Fuente:** (Mendieta, R y Marcillo, F. 2013)

Respecto a la evaluación económica, se pudo mencionar que el costo viable fue obtenido en el tratamiento 3, nos hace más que confirmar los resultados estadísticos antes citados. El tratamiento mencionado es rentable para la obtención de abono orgánico y producción de las setas reduciendo el efecto negativo que se genera por la no utilización de rastrojo de maíz. Esto se refleja también en el costo de producción al presentar este mismo tratamiento un valor menor para cada producto.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

### CONCLUSIONES

En base al análisis de los resultados y a la discusión de esta investigación, concluimos que:

La fase de reproducción in vitro del *Pleurotus sapidus* es fundamental para el éxito de un protocolo de producción de setas comestibles.

El efecto de un determinado medio de cultivo sobre la reproducción de *P. sapidus* varía de acuerdo a la especie que se evalúa.

Sabouraud presento el mejor diámetro promedio en todas las evaluaciones realizadas con respecto a la reproducción.

El uso de Sabouraud mostro el mejor tipo de morfología micelial considerada como algodonoso exuberante.

La concentración de 0.06 kg de semillas *P. sapidus* sobre kg de sustrato mostro el mejor porcentaje de degradación de lignina con un 12.05 %.

La disminución del porcentaje de relación C:N, se presentó con mayor eficiencia en el tratamiento 3 siendo de 88.98 % menos con respecto al porcentaje de la masa inicial.

La concentración de 0.04 kg de semilla de hongo *P. sapidus* por kg de sustrato mostro tener los mejores % de nutrientes mineralizados como nitrógeno, fosforo y potasio con 0.76, 0.24 y 0.53 %.

El tratamiento 3 fue el que mejor peso promedio de seta cosechadas presento con 0.04052 kg.

En la evaluación económica de la producción de abono y setas comestible, el tratamiento 3 representa la mejor alternativa de producción biotecnológica al manifestar un costo bajo por kg de producto obtenido con 0.45 y 5.20 dólares.

## RECOMENDACIONES

En base a estas conclusiones se recomienda:

El uso del medio de cultivo Sabouraud, para incrementar el diámetro de la producción y el tipo de tejido micelial en la reproducción del hongo *p. sapidus*.

La concentración de 0.06 kg de semillas *P. sapidus* por kg de sustrato para incrementar la producción de setas comestible, degradación de lignina y bajar la relación C:N a condiciones de mineralización.

Efectuar un estudio, para incrementar la producción ideal del cultivo de setas comestibles combinando el rastrojo de maíz con sustrato de diversa naturaleza.

Replicar esta investigación en otras condiciones agroclimáticas, pero considerando que el tiempo de degradación del sustrato sea más prolongado al menos en unas diez semanas.

## BIBLIOGRAFÍA.

Aguilar, M. 2003. Aprovechamiento de cáscaras de pitaya para el Crecimiento de setas (*Pleurotus ostreatus*) en condiciones de laboratorio. Tesis Ing. en Alimentos. México, UTM. p12-14 (Correo electrónico) Consultado 20 marzo 2012. Formato (PDF)

(ASAMBLEA CONSTITUYENTE). 2008. CONSTITUCIÓN DEL ECUADOR. Qui-Ec. p 181

Bautista, N. Bautista, N. Venegas, R. López, L y Portugal, D. 2003. Evaluación de la producción de *Pleurotus ostreatus* sobre paja de trigo como sustrato en un módulo rustico en galeana, Municipio de Zacatepec, Estado de Morelos, México. Universidad autónoma del estado de Morelos. México p-4 disponible en:[http://www.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CB/EC/CBC-26.pdf](http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CB/EC/CBC-26.pdf)

Calderón, J. 2009. Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (*Zea mays* L.) Para la producción del hongo *Pleurotus. Ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152). Tesis Ing. Agrónomo. Universidad De San Carlos De Guatemala. Guatemala. p 27. Disponible en [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01\\_2498.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2498.pdf)

Cañedo, V. 2004. Manual de Laboratorio Para el Manejo de Hongos Entomopatogenos. Lima, Perú. p 20.

Cardona, L. 2001. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. (En línea). Colombia. Consultado, 10 de feb. Disponible en <http://www.scribd.com/doc/57242342/EI-Cultivo-de-Pleurotus>.

Cuervo, L; Folch, J y Quiroz, R. 2001. Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol. (En línea). Mex. Consultado, 12 de Ene. Formato (PDF). Disponible en [http://www.smbb.com.mx/revista/Revista\\_2009\\_3/Lignocelulosa.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2009_3/Lignocelulosa.pdf)

Delfín, L. y Durán, C. 2003. Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos por *pleurotus* (Correo electrónico) Consultado el 2 de Nov. Formato (PDF)

Di Rienzo, J., 2008. Infostat versión 2008, Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Elizondo, J. y Boschini, C. 2001. Efecto de la siembra sobre el rendimiento y calidad del forraje de maíz. Agronomía mesoamericana. Alajuela-Costa Rica. P 185

ESPAM MFL (Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López). 2012. Manual del Sistema de Investigación Institucional. 2ed. Calceta-Manabí, EC.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2009. Buenas prácticas para la elaboración de abonos y repelentes orgánicos. Ecuador. Ed. rev. p 8
- Gaitán, H. 2002. Manual práctico de setas. Aislamiento de siembra y producción. Instituto de ecología. Xalapa, Veracruz. Mex. P-56
- García, M. 2007. Cultivo de setas y trufas. Madrid-España. Mundi-Prensa. p 29-33
- IFAD (Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola). 2011. República del Ecuador Programa del Buen Vivir en Territorios Rurales. (En línea). EC. Consultado, 12 de Nov. Formato (PDF). Disponible en <http://www.ifad.org/operations/projects/design/103/ecuador.pdf>
- Kameko, C. 2003. Potencial de mineralización del nitrógeno de bokashi, compost y lombricompost producidos en la universidad EART. (En línea). CR. Consultado, 04 de mar. 2013. Formato PDF. Disponible en: [http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base\\_datos/determinacion\\_del\\_potencial\\_n.pdf](http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/determinacion_del_potencial_n.pdf)
- Labrador, J. 2001. La materia orgánica en los ecosistemas. 1 ed. España. Mundi-prensa.
- Larco.E. 2004. Desarrollo y Evaluación de Lixiviados de Compost y Lombricompost Para el Manejo de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella Fijiensis* Morelet), En Plátano. Magíster Science. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. Disponible en [http://www.musalit.org/pdf/IN070510\\_es.pdf](http://www.musalit.org/pdf/IN070510_es.pdf)
- Larraya, L., Idareta, E., Arana, D., Ritter, E., Pisabarra, A., y Ramires, L. 2002. Quantative trait Loci Controlling vegetative Growth Rate in the Edible Basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. Appl. Environ. Microbiol. p 68
- Maldonado, Y. 2007. Obtención de las cepas híbridas de *Pleurotus* spp. por apareamiento de neohaplontes compatibles. Tesis. Maestro en Bioprocesos. IPN. Mexico. D. F. p 70-76
- Martin, C. (s/f). Edible Mushrooms. 2 ed. Estados Unidos. University of Minesota Press. Ed. rev. p 62.
- Meeting. 1993. Citado por. Stoffella, P y Kahn, B. 2004. Utilización de compost en los cultivos hortícolas. Mundi – Prensa. Madrid. España. p 276
- Melendes, E y Soto, G. 2003. Abonos orgánicos. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica y la Cámara de Insumos Agropecuarios No Sintéticos. Costa Rica. p 4-5 (Correo electrónico) Consultado 7 de febrero 2012. Formato (PDF).
- MESSNER, K. 1998. Forest Products Biotechnology. Edit by Bruce, A. And Palfreyman, j. Chapter 3: Biopulping: 63-82p. Taylor & Francis Publishers. Scottish Institute for Wood Technology. University of Abertay Dundee, Scotland. UK. 326 p.

MERCK. 1994. Manual de medios de cultivos. ed rew. Alemania. p145

MINAET (Ministerio del Ambiente, energías y telecomunicaciones). 2009. Proyecto Reduciendo el Escurrimiento de Plaguicidas al Mar Caribe. Evaluación del impacto ambiental generado por la eliminación del rastrojo de piña a través de su incorporación al suelo. Costa Rica. p 3 Disponible en: <http://www.google.com/gwt/x?oe=UTF8&client=msrim&q=que+dano+causa+al+ambiente+la+quemado+de+rastrojo&channel=browser&hl=es&ei=HLCET6jal6fxsgeb0QE&start=20&source=m&u=http://cep.unep.org/repcar/proyectosdemostrativos/costa-rica-1/publicaciones-proagroin/protocolo-rastrojo.pdf>

Monterroso, O. 2007. Efecto de la suplementación de la caña de maíz (*Zea mays* L.) con nitrato de amonio, nitrato de potasio y urea en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* (Cepa ECS-152). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 46 p. (Correo electrónico) Consultado 7 de febrero 2012. Formato (PDF)

MUSHWORLD. 2004. Mushroom growers handbook 1: oyster mushroom cultivation. MushWorld – Heineart. INC. Corea. Translation: CERZOS (UNSCONICET). Argentina. p-18

OMS (Organización Mundial de la Salud) s/f. Manual para la elaboración de compost bases conceptuales y procedimientos. (En línea). EC. Consultado, 12 de Nov. Formato (PDF). Disponible en <http://www.bvsde.paho.org/bvsars/fulltext/compost.pdf>

Peña, E; Carrión, F; Rodríguez, A y Companioni, N. 2002. Manual para la producción de abonos orgánicos en la agricultura urbana. Santiago de las Vegas, Ciudad de La Habana, Cuba. p 5.

Pinto, A; Vargas, S. 2008. “efecto de los abonos orgánicos y químicos en el cultivo de amaranto (*amaranthus caudatus* l.)”.Ibarra Ecuador. p 1.

Ríos, M. Hoyos, J y Mosquera, S. 2010. Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo Col, 24 de abr. (PDF) disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n2/v8n2a12.pdf>

Romero, B. y Rosales, G. 1998. Manual práctico para el cultivo de setas (*Pleurotus* spp). Universidad autónoma de Hidalgo y Macrofungi de Mexico. Pachuca, Hidalgo, Mex. p-41

Sasaki, S. y Alvarado, M. 1994. Manual del curso básico de agricultura organica. Estacion experimental agrícola “Fabio baudrit M”, Alajuela. 30 p.

Sánchez, J. 1994. Producción de hongos comestibles. México, Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste. 109 p.

Sánchez, J. y Royse, D. 2002. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. México, Limusa .294 p.

Silva, R. 2002. Obtención de enzimas lignolíticas producidas por hongos basidiomicetos. Evaluación de su aplicación al blanqueo de pastas de madera. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid. 211 p.

Torres, M; y Hurtado. A. 2003. Potencial de la microbiota nativa y medicinal en el municipio de Quibdó. Grupo de Investigación en Recursos Vegetales. Universidad Tecnológica del Chocó.

TULAS (Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria). 2011. Libro VI, Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados. Qui-Ec. p 6

UJAT. (Universidad Juárez Autónoma de Tabasco). 2006. Verano de la investigación científica. Villahermosa-Tabasco. P 290.

Zaid, L. 2004. Estudio del biodeterioro en madera de *Eucalyptus globulus Lab.* Por método gravimétrico. Tesis de ingeniería de la madera Santiago-chile. p 17

## **ANEXOS**

## **ANEXO 1**

Informe de análisis realizados en la Politécnica Nacional.



**ESCUELA POLITECNICA NACIONAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA (DECAB )**

Campus Politécnico José Rubén Orellana Ricaurte  
Direc.: Pasaje Andalucía E12-A y Alfredo Mena Caamaño . Telf.: 2507 138  
Personas de Contacto: Tlga. Elisabeth Venegas . Telf.: 2507 144 ext. 2272 . e-mail: [elisabeth.venegas@epn.edu.ec](mailto:elisabeth.venegas@epn.edu.ec)  
Quito- Ecuador



**INFORME DE ANÁLISIS**

ORDEN. DC-OT0204 -2012

<b>Proforma</b>	:	DC-P0312-2012
<b>Empresa solicitante</b>	:	RASTROID DE MALZ
<b>Persona que solicita</b>	:	Sr. Ronald Mendieta

**Fecha de recepción de muestra :** 21-11-2012

<b>Fecha de entrega de resultados :</b>	13-12-2012
---	------------

**Análisis solicitados :** Humedad para análisis, solubilidad alcohol-benceno, proteína, lignina, cenizas, humedad al vacío, fósforo, materia orgánica.

COMENTARIOS:

PROFESIONAL RESPONSABLE  
DEL ANÁLISIS  
*[Signature]*  
Ing. Oswaldo Acosta  
QUEJAS Y SUGERENCIAS



El cliente puede canalizar las quejas sobre los resultados de los análisis, sobre el tiempo

**Importante:** Los resultados que constan en el presente informe conciernen exclusivamente a las muestras, artículos o materiales entregados al DECAB y no se extienden a lotes de producción o marcas. La reproducción total o parcial de este informe se la hará previa la autorización expresa del DECAB de la E.P.N.

## **ANEXO 2**

Diámetros evaluados a partir de las 48 horas de inoculado el hongo en las cajas Petri.

Factores en tratamiento	Variable (Diametro de crecimiento micelial en m) a las 48 horas de sembrado				
	R1	R4	R6	R8	R5
PDA	0.008	0.008	0.006	0.006	0.006
	0.008	0.006	0.008	0.004	0.006
	0.008	0.006	0.004	0.006	0.008
TOTAL	0.008	0.0066	0.006	0.0053	0.0066
Sabouraud	0.006	0.008	0.008	0.009	0.008
	0.006	0.008	0.006	0.006	0.008
	0.009	0.006	0.008	0.007	0.009
TOTAL	0.007	0.0073	0.0073	0.0073	0.0083
CZapek	0.007	0.006	0.005	0.006	0.007
	0.006	0.006	0.006	0.007	0.005
	0.005	0.006	0.005	0.008	0.008
TOTAL	0.006	0.006	0.0053	0.007	0.0066

Factores en tratamiento	Variable (Diametro de crecimiento micelial en m) a las 72 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.016	0.016	0.016	0.015	0.016
	0.018	0.017	0.015	0.016	0.017
	0.014	0.015	0.016	0.016	0.016
TOTAL	0.0016	0.0016	0.00156	0.0156	0.0163
Sabouraud	0.016	0.024	0.020	0.024	0.024
	0.022	0.020	0.021	0.020	0.020
	0.024	0.021	0.022	0.016	0.020
TOTAL	0.0206	0.0216	0.021	0.02	0.0213
CZapek	0.017	0.015	0.015	0.015	0.016
	0.016	0.017	0.016	0.015	0.015
	0.015	0.015	0.015	0.014	0.014
TOTAL	0.016	0.0156	0.0153	0.0146	0.015

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 96 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.020	0.022	0.018	0.019	0.018
	0.021	0.019	0.016	0.018	0.018
	0.022	0.018	0.018	0.019	0.019
TOTAL	0.021	0.0196	0.0173	0.0186	0.0183
Sabouraud	0.028	0.030	0.027	0.022	0.030
	0.028	0.031	0.026	0.025	0.028
	0.030	0.027	0.024	0.026	0.028
TOTAL	0.0286	0.0293	0.0256	0.0243	0.0286
CZapek	0.024	0.025	0.022	0.020	0.025
	0.025	0.023	0.022	0.021	0.027
	0.024	0.022	0.021	0.020	0.024
TOTAL	0.0243	0.0233	0.0216	0.0203	0.0253

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 120 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.025	0.027	0.026	0.026	0.027
	0.025	0.026	0.027	0.026	0.026
	0.026	0.027	0.025	0.027	0.025
TOTAL	0.0253	0.0266	0.026	0.0263	0.026.00
Sabouraud	0.035	0.039	0.036	0.035	0.038
	0.037	0.035	0.035	0.033	0.035
	0.033	0.037	0.036	0.037	0.034
TOTAL	0.035	0.037	0.0356	0.035	0.0356
CZapek	0.030	0.030	0.028	0.028	0.030
	0.030	0.028	0.029	0.029	0.034
	0.028	0.027	0.030	0.026	0.033
TOTAL	0.0293	0.0283	0.029	0.0276	0.0323

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 144 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.030	0.030	0.031	0.028	0.028
	0.031	0.030	0.033	0.031	0.029
	0.029	0.029	0.029	0.029	0.033
TOTAL	0.030	0.029	0.031	0.0293	0.030
Sabouraud	0.048	0.042	0.043	0.045	0.046
	0.041	0.045	0.040	0.045	0.047
	0.047	0.048	0.040	0.046	0.042
TOTAL	0.0453	0.045	0.041	0.0453	0.045
CZapek	0.040	0.037	0.036	0.038	0.039
	0.038	0.035	0.040	0.037	0.040
	0.039	0.039	0.040	0.040	0.041
TOTAL	0.039	0.037	0.0386	0.0383	0.040

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 168 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.035	0.036	0.033	0.033	0.033
	0.036	0.038	0.035	0.035	0.031
	0.037	0.036	0.031	0.034	0.037
TOTAL	0.036	0.0366	0.033	0.034	0.0336
Sabouraud	0.053	0.050	0.050	0.055	0.054
	0.058	0.056	0.052	0.051	0.055
	0.054	0.057	0.049	0.053	0.050
TOTAL	0.055	0.0543	0.0503	0.053	0.053
CZapek	0.048	0.046	0.048	0.046	0.050
	0.047	0.049	0.049	0.045	0.052
	0.050	0.052	0.050	0.044	0.049
TOTAL	0.0483	0.049	0.049	0.045	0.0503

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 192 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.048	0.040	0.034	0.036	0.038
	0.048	0.044	0.042	0.040	0.045
	0.046	0.038	0.030	0.042	0.046
TOTAL	0.0473	0.0406	0.0353	0.0393	0.043
Sabouraud	0.067	0.060	0.058	0.064	0.060
	0.065	0.067	0.057	0.060	0.063
	0.063	0.064	0.060	0.059	0.058
TOTAL	0.065	0.0636	0.0583	0.061	0.060
CZapek	0.055	0.055	0.057	0.053	0.057
	0.053	0.058	0.058	0.055	0.061
	0.064	0.065	0.052	0.063	0.057
TOTAL	0.0573	0.0593	0.0556	0.057	0.0583

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 216 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.054	0.050	0.038	0.038	0.044
	0.055	0.054	0.047	0.031	0.040
	0.053	0.040	0.043	0.044	0.054
TOTAL	0.054	0.048	0.0426	0.0376	0.049
Sabouraud	0.076	0.070	0.067	0.074	0.074
	0.077	0.075	0.069	0.070	0.074
	0.071	0.072	0.070	0.070	0.070
TOTAL	0.0746	0.0723	0.0686	0.0713	0.0726
CZapek	0.069	0.067	0.067	0.069	0.064
	0.069	0.067	0.064	0.067	0.070
	0.071	0.066	0.063	0.070	0.069
TOTAL	0.0696	0.0666	0.0646	0.0686	0.0676

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 240 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.060	0.058	0.042	0.046	0.056
	0.062	0.050	0.049	0.044	0.047
	0.060	0.048	0.058	0.048	0.059
TOTAL	0.0606	0.052	0.0496	0.046	0.054
Sabouraud	0.088	0.081	0.078	0.081	0.082
	0.086	0.084	0.079	0.079	0.083
	0.083	0.081	0.080	0.080	0.080
TOTAL	0.0856	0.082	0.079	0.080	0.0816
CZapek	0.080	0.077	0.076	0.079	0.073
	0.081	0.075	0.078	0.075	0.082
	0.080	0.078	0.077	0.079	0.082
TOTAL	0.0803	0.0766	0.077	0.0776	0.079

Factores en tratamiento	Variable (Diámetro de crecimiento micelial en m) a las 264 horas de sembrado				
	R1	R2	R3	R4	R5
PDA	0.068	0.065	0.064	0.050	0.059
	0.074	0.066	0.050	0.053	0.053
	0.070	0.070	0.065	0.054	0.066
TOTAL	0.0706	0.067	0.0596	0.0523	0.0593
Sabouraud	0.090	0.090	0.087	0.090	0.090
	0.090	0.088	0.089	0.088	0.090
	0.089	0.086	0.088	0.089	0.089
TOTAL	0.0896	0.088	0.088	0.089	0.0896
CZapek	0.088	0.087	0.084	0.085	0.080
	0.087	0.085	0.085	0.084	0.084
	0.088	0.086	0.086	0.086	0.086
TOTAL	0.0876	0.086	0.085	0.085	0.0833

## **ANEXO 3**

Preparación de los medios de cultivo



Foto: 1  
Cortes de papa

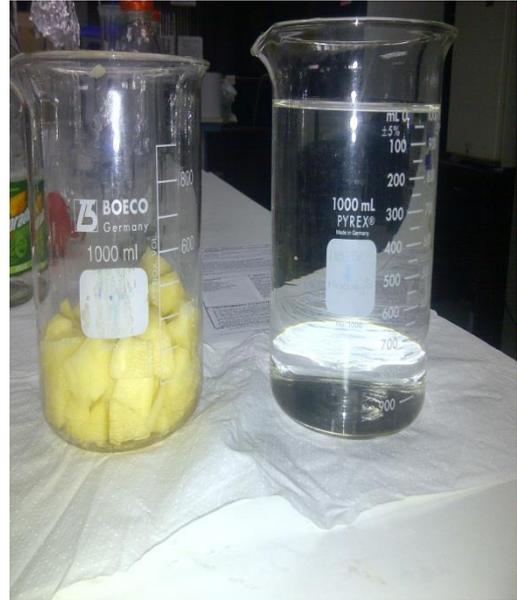


Foto: 2  
Preparación de las cantidades

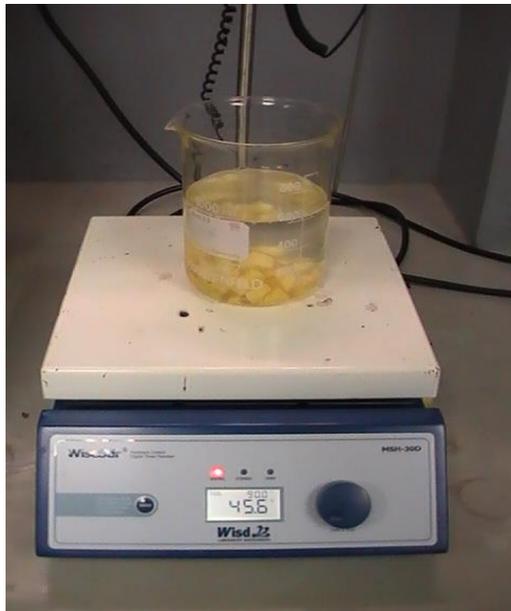


Foto: 3  
Cocción de cubos de papa

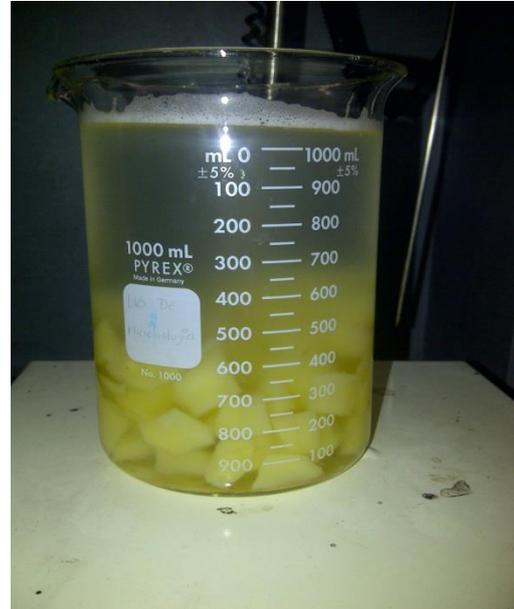


Foto: 4  
Cubos Cocidos



Foto: 5  
Cocción de cubos de papa



Foto: 6  
Destilación del caldo



Foto: 7  
Pesaje

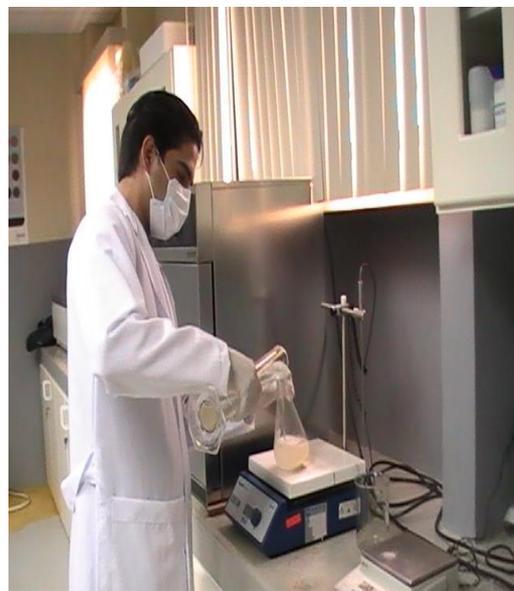


Foto: 8  
Mezcla



Foto: 9  
Preparación del Agar



Foto: 10  
Agar PDA

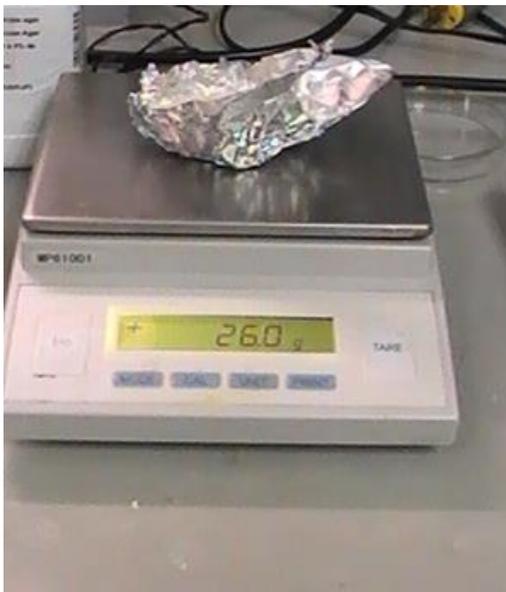


Foto: 11  
Pesaje de agar Sabouraud



Foto: 12  
Agitación del agar Sabouraud



Foto: 13  
Pesaje de Agar CZapek

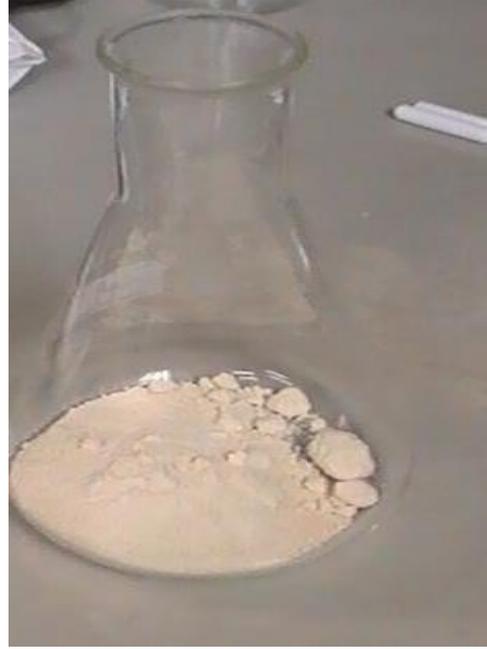


Foto: 14  
CZapek



Foto: 15  
Agar CZapek

## **ANEXO 4**

Propagación del hongo *Pleurotus sapidus* invitro



Foto: 1  
Esterilización del área de trabajo



Foto: 2  
Cepas madre del *Pleurotus sapidus*



Foto: 3  
Propagación in vitro



Foto: 4  
Rotulación de los Tratamientos



Foto: 5  
Cajas inoculadas



Foto: 6  
Incubación de los tratamientos

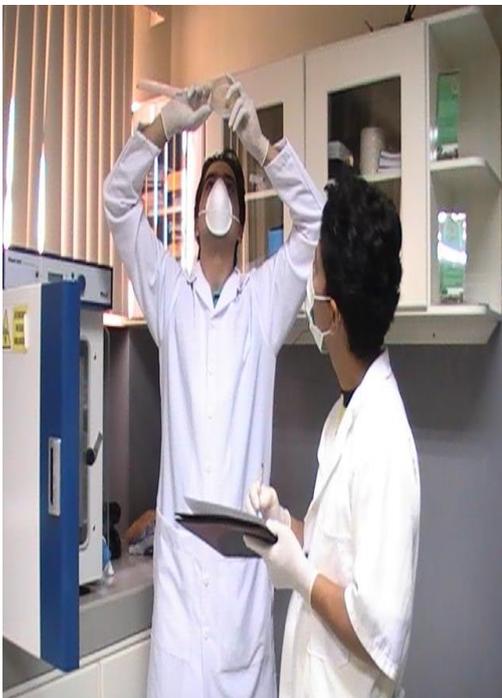


Foto: 7  
Medición radial

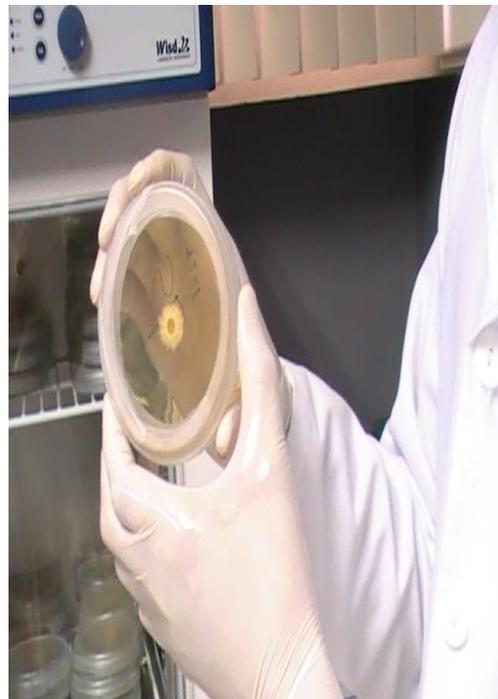


Foto: 8  
Caja inoculada

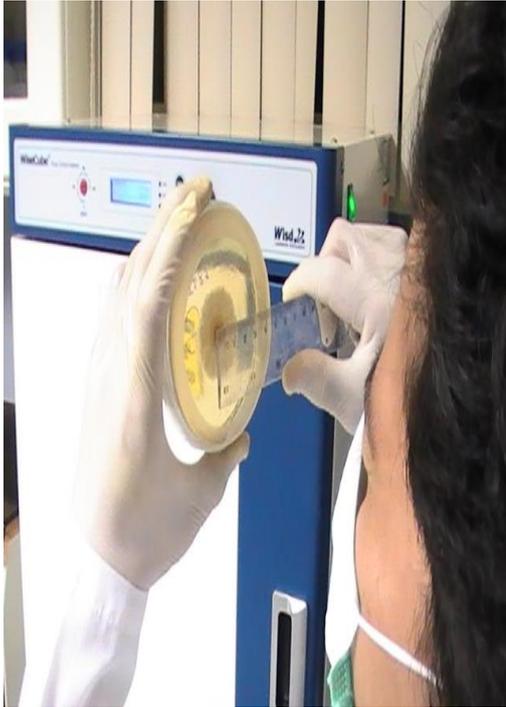


Foto: 9

Medición de crecimiento

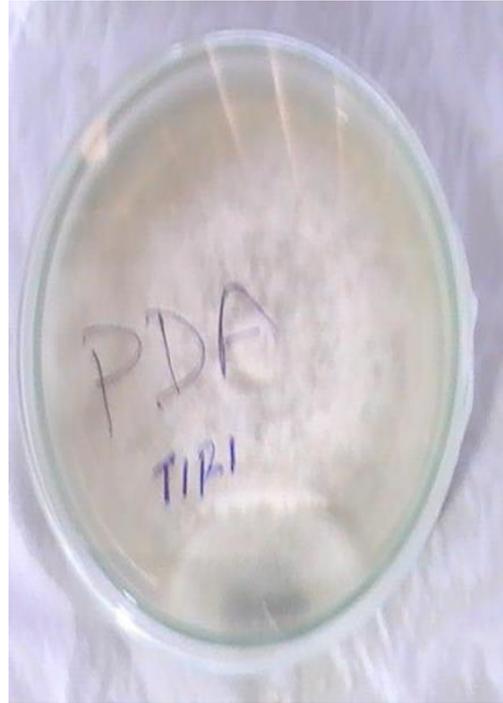


Foto: 10

PDA

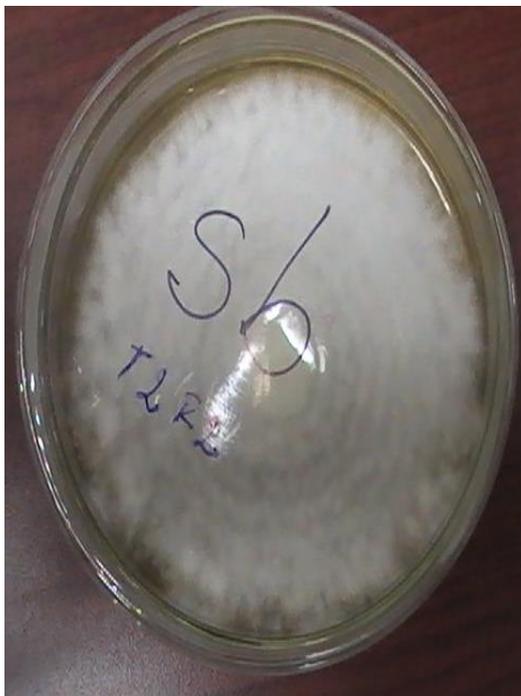


Foto: 11

Sabouraud



Foto: 12

CZapek

## **ANEXO 5**

Obtención de la semilla del hongo *Pleurotus sapidus*



Foto: 1

Selección de semillas de maíz



Foto: 2

Semillas de maiz



Foto: 3

Esterilización de frascos mediante sulfato de cromo

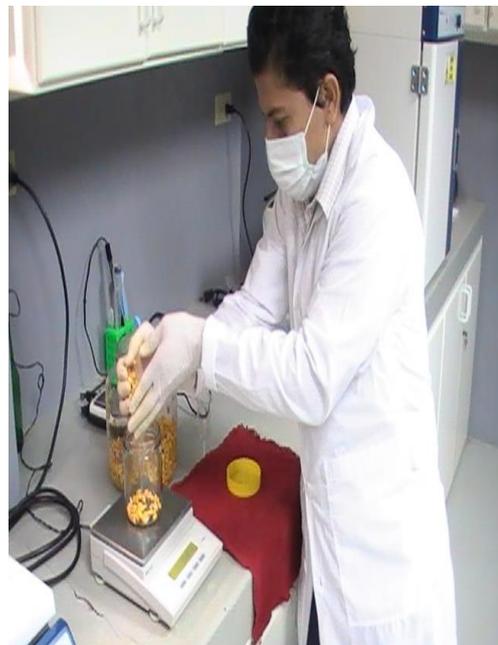


Foto: 4

Pesaje de semillas de maíz



Foto: 5  
Semillas listas para esterilizar



Foto: 6  
Esterilización de las semillas



Foto: 7  
Inoculación del hongo en las  
semillas de maíz



Fotos: 8  
Incubación de semillas  
inoculadas

## **ANEXO 6**

Preparación e inoculación del sustrato.



Foto: 1

Proporción de humedad al sustrato de rastrojo de maíz



Foto: 2

Preparación del sustrato para luego esterilizar



Foto: 3

Pesaje de los granos de maíz



Foto: 4

Cambio de bolsas



Foto: 5  
Tratamientos inoculados



Foto: 6  
Tratamiento final



Foto: 7  
Seta de la primera cosecha del hongo *Pleurotus sapidus*