



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Producción de hongos ostra (*Pleurotus ostreatus*) usando como sustrato residuos de corteza de eucalipto ricos en lignina producidos por la empresa NOVOPAN

López Dalmazzo, Elio Xavier

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

Ing. Vargas Verdesoto, Rafael Eduardo









28 de Agosto del 2020

URKUND

Document Information

Analyzed document	TESIS ElioLopez_urkund.docx (D78254646)
Submitted	8/28/2020 12:47:00 AM
Submitted by	
Submitter email	revargas@espe.edu.ec
Similarity	6%
Analysis address	revargas.espe@analysis.urkund.com

Sources included in the report

SA	TESIS PARA URKUND Estefania Calero.docx Document TESIS PARA URKUND Estefania Calero.docx (D40287683)		1
SA	INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN Pleurotus ostreatus.COTR-2019.docx Document INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN Pleurotus ostreatus.COTR-2019.docx (D61844916)		1
SA	1A_TOME_RAMOS_CARLOS_ODORICO_MAESTRIA_2019 (1).docx Document 1A_TOME_RAMOS_CARLOS_ODORICO_MAESTRIA_2019 (1).docx (D63799161)		2
W	URL: https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB946.pdf Fetched: 7/3/2020 10:52:51 PM		3
SA	TESIS IVIS CASIQUE Y MAELCY DIAZ.docx Document TESIS IVIS CASIQUE Y MAELCY DIAZ.docx (D64339984)		2
W	URL: https://www.researchgate.net/profile/Jose_Sanchez20/publication/321686533_La_Biolo ... Fetched: 2/15/2020 3:59:51 AM		2
W	URL: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642010000200003 Fetched: 8/28/2020 12:48:00 AM		1
W	URL: https://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/13043/1/63398539.pdf Fetched: 10/17/2019 10:55:14 PM		1

Recibido



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, **“Producción de hongos ostra (*Pleurotus ostreatus*) usando como sustrato residuos de corteza de eucalipto ricos en lignina producidos por la empresa NOVOPAN”** fue realizado por el señor **López Dalmazzo Elio Xavier** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 28 de agosto del 2020

Ing. Vargas Verdesoto Rafael Eduardo

C. C.: 170820053-8

DIRECTOR



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **López Dalmazzo Elio Xavier**, con cédula de ciudadanía n° 171816167-0, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Producción de hongos ostra (*Pleurotus ostreatus*) usando como sustrato residuos de corteza de eucalipto ricos en lignina producidos por la empresa NOVOPAN”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 28 de agosto del 2020

.....
López Dalmazzo Elio Xavier

C.C.: 171816167-0



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo, **López Dalmazzo Elio Xavier**, con cédula de ciudadanía n° 171816167-0, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“Producción de hongos ostra (*Pleurotus ostreatus*) usando como sustrato residuos de corteza de eucalipto ricos en lignina producidos por la empresa NOVOPAN”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 28 de agosto del 2020

.....
López Dalmazzo Elio Xavier

C.C.: 171816167-0

Dedicatoria

Este trabajo es dedicado a Erika y María Paz. Nunca abandonaste tu ímpetu de ayudarme a ser mejor a no desmayar antes las dificultades, con tu amor incondicional hiciste que siempre viera un final prometedor y luche para alcanzarlo. Este logro es nuestro, de los tres, de nuestra familia.

Elio Xavier López Dalmazzo.

Agradecimiento

A mis Padres que sembraron todo lo bueno que puedo brindar a los demás y me han dado las herramientas para poder sobresalir en la vida.

A mis hermanos por su apoyo incondicional, por su cariño y paciencia, por las batallas ganadas, experiencias y dificultades de las que hemos salido juntos como uno solo.

A mis suegros y cuñada por su apoyo constante y aprecio, sin su ayuda muchas cosas positivas no hubieran pasado.

Al Ing. Rafael Vargas quien confió en mí para elaborar y llevar a cabo este proyecto de investigación.

A mis amigos que me acompañaron durante toda la carrera, hicieron que cada momento sea significativo.

Elio Xavier López Dalmazzo

Índice de contenido

Dedicatoria	6
Agradecimiento	7
Índice de contenido	8
Índice de tablas	11
Índice de figuras	11
Abreviaturas	13
Resumen	14
Abstract	15
Capítulo I Introducción	16
Formulación del Problema.	16
Justificación del Problema.....	18
Objetivos de la Investigación	20
Objetivo general.....	20
Objetivos específicos.....	20
Capítulo II Marco Teórico	21
Generalidades	21
Bacidiomicetos.....	21
Ciclo sexual de los Bacidiomicetos.....	22

	9
Importancia de los hongos	22
Hongos comestibles cultivables.	23
Cultivo hongos comestibles.	23
Hongos Ostra – <i>Pleurotus ostreatus</i>	24
Taxonomía y morfología de <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
Sustratos para crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
Desechos agroindustriales como sustrato de <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
Composición de la corteza de eucalipto.	28
Degradación de lignina por <i>Pleurotus ostreatus</i>	28
Pudrición blanca.....	29
Enzimas Lignocelulóticas	30
Capítulo III Materiales y Métodos	32
Materiales	32
Organismo vivo.....	32
Materia Orgánica.....	32
Material de laboratorio.....	32
Equipos.....	32
Reactivos.	32
Métodos	32
Inóculo.....	32

	10
Preparación del sustrato.....	33
Inoculación.....	36
Condiciones de crecimiento.....	36
Diseño Experimental.....	38
Variables fenológicas.....	39
Variables Químicas.....	40
Capítulo IV Resultados y discusión.....	41
Composición química de la corteza de eucalipto usada como sustrato.....	41
Número de días en periodo de incubación.....	43
Número de días para cosecha.....	46
Rendimiento.....	49
Eficiencia Biológica.....	52
Contenido proteico de Pleurotus ostreatus.....	55
Capitulo V Conclusiones y recomendaciones.....	58
Conclusiones.....	58
Recomendaciones.....	59
Bibliografía.....	61

Índice de tablas

Tabla 1 . Tratamientos usados para la evaluación del cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	39
Tabla 2. Variables químicas corteza de eucalipto pre y post cosecha.	42
Tabla 3. Días en periodo de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos.....	43
Tabla 4. Días en que se cosecharon los cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos.	47
Tabla 5 Porcentaje Rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos.	50
Tabla 6. Eficiencia Biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos.	54
Tabla 7. Contenido proteico de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en distintos desechos agroindustriales como sustrato	56

Índice de figuras

Figura 1. Ciclo sexual de hongos Basidiomicetos.	22
Figura 2. <i>Pleurotus ostreatus</i> en etapa de fructificación.....	25
Figura 3. Tallos excéntricos de <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
Figura 4. Patios empresa NOVOPAN	33
Figura 5. Proceso de secado.....	34
Figura 6. Proceso de hidratación.....	35
Figura 7. Proceso de pasteurización.	36
Figura 8. Aparición de primordios.	37
Figura 9. Etapa de cosecha.....	38
Figura 10. Días en periodo de incubación de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos ..	45

Figura 11. Días de cosecha de los cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus ostreatus</i> , para los 10 tratamientos.	48
Figura 12. Rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos.	52
Figura 13. Eficiencia biológica de <i>Pleurotus ostreatus</i> para 10 tratamientos.	53

Abreviaturas

A. Afrecho

C/N. Relación Carbono – Nitrógeno

Ce. Corteza entera

CO. Carbono orgánico

Ct. Corteza triturada

EB. Eficiencia biológica

MO. Materia orgánica

NT. Nitrógeno total

Tn. Tratamientos (1-10)

Resumen

En el presente estudio se realizó el cultivo de *Pleurotus ostreatus* usando corteza de eucalipto y afrecho en diferentes proporciones como sustratos. Se hizo un diseño experimental completamente al azar que consistió en 10 tratamientos de 4 repeticiones cada uno con diferentes combinaciones en proporción de corteza de eucalipto triturada y no triturada con el afrecho. Se evaluaron variables fenológicas del hongo como el número de días que cada tratamiento se mantuvo en periodo de incubación, el tiempo que se requirió para cosechar los cuerpos fructíferos, la Eficiencia Biológica (EB) y el rendimiento y variables químicas del sustrato como el contenido de nitrógeno (NT), materia orgánica (MO) y relación carbono – nitrógeno (C/N). Los resultados se analizaron mediante análisis de ANOVA ($P=0,05$), y las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se determinaron usando la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($P=0,05$). Los tratamientos que contenían corteza de eucalipto en su totalidad, ya sea entera o triturada fueron los que mejor rendimiento y EB obtuvieron, 16,32% y 48,20 % respectivamente. El tratamiento con mejor invasión de micelio en el sustrato permaneció 20 días en incubación y se demostró mediante la proporción C/N (252,60) que la corteza de eucalipto es un sustrato viable para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Palabras clave

- **LIGNOCELULOSA**
- ***P. OSTREATUS***
- **CORTEZA EUCALIPTO**

Abstract

In the present study, the cultivation of *Pleurotus ostreatus* was carried out using eucalyptus bark and bran in different proportions as substrates. A completely randomized experimental design was made with 10 treatments of 4 repetitions each one with different combinations in proportion of eucalyptus bark crushed and not crushed with the bran. Phenological variables of the fungus were evaluated such as the number of days that each treatment was kept in the incubation period, the time required to harvest the fruiting bodies, the Biological Efficiency (BE) and the yield and chemical variables of the substrate such as the content of nitrogen (NT), organic matter (OM) and carbon - nitrogen ratio (C / N). Results were analyzed by ANOVA analysis (P = 0.05), and differences between treatments were determined using Duncan's multiple comparison test (P = 0.05). The treatments that contained eucalyptus bark in its entirety, either whole or crushed, were the ones with the best performance and EB obtained, 16.32 and 48.20% respectively. The treatment with the best invasion of mycelium in the substrate remained in incubation for 20 days and it was demonstrated by the C / N ratio (252.60) that the eucalyptus bark is a viable substrate for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*.

Keywords

- **LIGNOCELLULOSE**
- ***P. OSTREATUS***
- **EUCALYPTUS BARK**

Capítulo I

Introducción

Formulación del Problema.

La madera es un material apetecible para el ser humano gracias a la facilidad de ser transformada, diversidad y disponibilidad en todo el mundo. Características que han aportado para que alrededor de este recurso se satisfagan un sin número de nuestras necesidades (Costales Sotelo, 2013). En el Ecuador la industria maderera tiene aproximadamente 70 años de actividades y genera grandes aportes a la economía nacional (Mena & Suárez, 2011). Existen siete empresas madereras en el país dedicadas a la fabricación de tableros contrachapados, aglomerados y de fibras de densidad media MDF, como son Endesa – Botrosa, Aglomerados Cotopaxi, CODESA, Plywood, Arboriente, y NOVOPAN (Cruz & Cruz, 2007).

En la fabricación de estos productos se utilizan principalmente las especies de Pino y Eucalipto, materia prima que es extraída del patrimonio forestal de cada empresa. NOVOPAN posee un patrimonio forestal de más de 7.400 hectáreas establecidos con las especies de Pino y Eucalipto, las cuales se distribuyen en proyectos propios (5611 Has) y en aquellos establecidos bajo la modalidad de Convenio (1840 Has) (NOVOPAN, 2019).

En el proceso de transformación de la madera, la preparación del tronco de los árboles comienza con el descortezado, el cual representa un 9,3% del volumen total del árbol de eucalipto (Muñoz et al., 2013). Este proceso genera gran cantidad de residuos en forma de corteza, a decir de la generación de estos desechos en NOVOPAN, David Racines, Jefe de Patios de Madera, estima que la planta del sector de Itulcachi – Pichincha genera alrededor de 50 toneladas diarias de desechos orgánicos ricos en lignina, estos residuos no pueden ser incluidos en el proceso productivo ya que su naturaleza fibrosa causa daños en la maquinaria,

representando un coste elevado a la empresa por mantenimiento y estancamiento de producción.

La corteza de *Eucalyptus urophylla* es un material lignocelulósico constituido en gran parte por celulosa (49,03%), lignina (24,49%) y hemicelulosa (20,37%) (Schmidt, 2006). La lignina es un polímero tridimensional amorfo constituido a partir de unidades fenilpropano que se unen entre sí por enlaces tipo alquil-aril-éter o carbono-carbono. Una de las dificultades más importantes a la hora de degradar este material es, precisamente separar las fuertes uniones químicas que existen entre los polifenoles y los polisacáridos no glucosídicos, objetivo que se puede alcanzar por métodos mecánicos y químicos (Alvarado & Heredia, 2011), o bien se puede alcanzar la degradación de este material por acción de organismos vivos como *Pleurotus ostreatus* que utiliza la lignina como sustrato para su fructificación (Fernández-Fueyo et al., 2016).

La biomasa rica en lignina que proviene de diferentes cultivos alrededor de todo el mundo produce aproximadamente 73,9 toneladas al año, produciendo un problema de utilización de este tipo de desecho en las industrias madereras (Kim & Dale, 2004). Con esta premisa Sekan et al. (2019) en su revisión del potencial biotecnológico de *Pleurotus spp* nos dice que los sistemas enzimáticos de estos hongos tienen como objetivo la descomposición de la matriz de lignina y la liberación de otros monómeros, oligos y polímeros de estructura de lignocelulosa hasta mineralizar las fibras de lignina a CO₂ y agua.

Los hongos basidiomicetos, división a la que pertenece el *Pleurotus ostreatus*, son un recurso global para tratar o disminuir el impacto ambiental de los desechos agroindustriales, en este sentido además de proveer una alternativa a la disposición final de estos residuos proporciona también, una fuente barata y nutritiva de alimento (Alananbeh et al., 2014).

Justificación del Problema.

Actualmente, los desafíos de la sostenibilidad global están estrechamente relacionados, la contaminación, el cambio climático, la energía y la seguridad alimentaria son problemáticas que de una u otra manera coexisten para agravar o para dar soluciones a estas circunstancias adversas (Zuin & Ramin, 2018) . Según Liu et al (2015) solo los enfoques holísticos que abarquen todas estas problemáticas como un solo sistema, serán efectivos para identificar y proponer soluciones adecuadas para las mismas, especialmente aquellos enfoques que están relacionados con la investigación, el desarrollo y la innovación. Según el Director General de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) después de años de progreso, el hambre mundial ha aumentado desde el 2015 (FAO, 2017), por ende, es de vital importancia que desde nuestras capacidades encontremos alternativas económicas y sustentables que den paso a mitigar la escases de alimentos nutritivos para el ser humano.

La creciente contaminación ambiental, el agotamiento de los recursos naturales, el aumento del interés político y social por preservar el medio ambiente y la falta de un control organizado y sistemático de las consecuencias de la contaminación han llevado a la evidente necesidad de introducir una gestión ambiental. Sistemas definidos por estándares, como la norma internacional ISO 14001: 2004 (Gordić et al., 2014). Bajo el marco de este tipo de normativas se desarrollan muchas empresas en el país, sin embargo, pese a los esfuerzos de mantener una disposición adecuada de los desechos que se producen durante sus procesos productivos en algunos casos existen residuos que son más complejo de tratar que otros.

Los desechos lignocelulósicos generalmente se producen en grandes cantidades en todo el mundo, industrias como la de fabricación de aglomerados de madera en su proceso productivo generan grandes cantidades de este tipo de desechos (Akpınar & Ozturk Urek, 2017) y han

centrado su interés en la disposición de este material hacia su recuperación energética. Sin embargo, entusiasma considerar a desechos como la corteza de eucalipto, con alto contenido de lignina, como sustrato para el cultivo y producción de hongos comestibles. Esta alternativa expone una solución a las problemáticas anteriormente enunciadas, ya que los hongos no solo pueden convertir los materiales de desecho lignocelulósicos en alimentos para humanos, sino que también pueden producir notables productos nutricionales que tienen muchos beneficios para la salud (Girmay et al., 2016).

Pleurotus ostreatus es el segundo hongo comestible en todo el mundo, justo después de *Agaricus bisporus*. Hongos del género *Pleurotus* crecen naturalmente sobre madera, hojarasca y otros sustratos lignocelulósicos no madereros (Fernández-Fueyo et al., 2016), además crecen en un amplio rango de temperaturas, en comparación con otras especies de hongos comestibles, las especies de *Pleurotus* necesitan un corto tiempo de crecimiento y sus cuerpos fructíferos no suelen ser atacados por enfermedades o plagas (Hoa et al., 2015). Lo que hace de *Pleurotus ostreatus* el candidato idóneo para dar un tratamiento amigable con el ambiente a los desechos lignocelulósicos que resultan de la fabricación de aglomerados de madera, incluso por sus características no solo se lo postula como una opción adecuada para degradar desechos agroindustriales sino que con su cultivo en este tipo de sustratos se convierte en una fuente de alimento rica en nutrientes.

Objetivos de la Investigación.

Objetivo general.

Producir Hongos Ostra (*Pleurotus ostreatus*) usando como sustrato residuos de corteza de eucalipto ricos en lignina producidos por la empresa NOVOPAN.

Objetivos específicos.

- Determinar la composición de carbono y nitrógeno, así como la relación carbono/nitrógeno de la corteza de eucalipto generada como residuo en la empresa NOVOPAN
- Establecer el rendimiento de producción de *Pleurotus ostreatus* usando como sustratos corteza de eucalipto y afrecho en distintas combinaciones.
- Obtener la eficiencia biológica al cultivar *Pleurotus ostreatus* en sustratos con alta cantidad de lignina.
- Verificar el contenido proteico de *Pleurotus ostreatus* que lo convierte en una alternativa de alimento nutritivo para el ser humano.
- Definir el tiempo de cosecha de *Pleurotus ostreatus* al ser cultivado en residuos lignocelulósicos.

Capítulo II

Marco Teórico

Generalidades.

Los hongos son los organismos de mayor distribución en la naturaleza, pueden adaptarse a la vida terrestre, acuática y sus esporas son abundantes en el aire, pueden crecer sobre objetos inanimados y sobre seres vivos. Se los considera los mayores y más importantes degradadores de materia orgánica en el planeta, su éxito se basa en su capacidad de adaptación ya que sobreviven y se reproducen a distintas temperaturas, diversas condiciones atmosféricas y en diferentes sustratos (Godoy, 2019). Son organismos eucariotas heterótrofos que se clasifican en tres grandes filos: *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota* (Ibarra Islas, 2019).

Se estima que el reino Fungi está constituido por 1.5 millones de especies, solo 70000 de ellas han sido descritas, cerca del 50% de las especies de hongos existentes son comestibles en diferentes grados, y de los hongos descritos a nivel mundial, alrededor del 32% corresponde a los hongos Basidiomicetos (Ramírez Aristizábal & Arango Londoño, 2017).

Basidiomicetos.

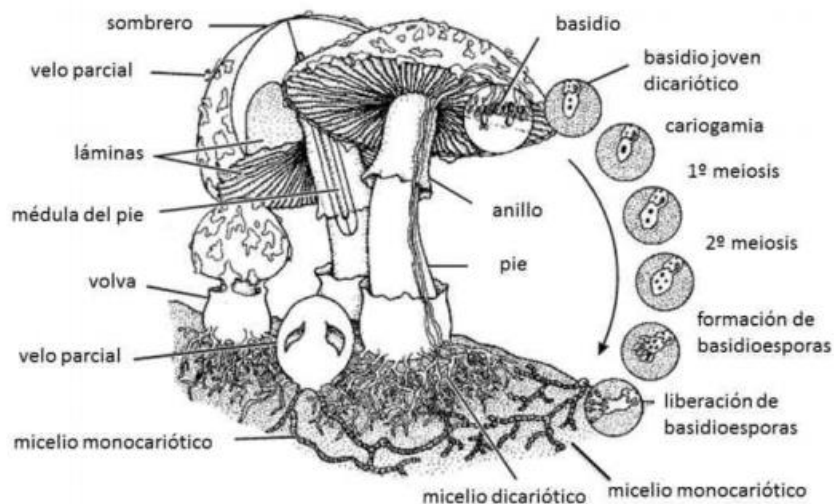
Agrupar a una gran cantidad de hongos de distintos tamaños, formas y rasgos. Se caracterizan por la producción de esporas sexuales en cuerpos fructíferos llamados basidiocarpos o basidiomas, el cual porta estructuras especializadas conocidas como basidios los cuales producen cuatro basidiosporas que al madurar son expulsadas al exterior (Sánchez Vázquez & Royse, 2002). La mayoría de los basidiomicetos producen un micelio bien desarrollado de colores blanco, amarillo brillante o naranja y generalmente se dispersa hacia el frente, creciendo en forma de abanico (Sánchez Vázquez & Royse, 2002).

Ciclo sexual de los Basidiomicetos.

Las basidiosporas producidas en las puntas de los basidios germinan en micelios haploides, al aparearse con otro micelio haploide compatible producen la plasmogamia que da origen a un micelio dicariótico, a partir del cual se forma el basidioma o cuerpo fructífero del hongo, del cual se formarán los basidios. El basidio dicariótico sufre una cariogamia que produce un núcleo diploide, mismo que atraviesa las dos etapas de la división meiótica que dará lugar cuatro núcleos haploides. En esta etapa se forman las esterigmas que fusionadas a los cuatro núcleos forman las basidiosporas (Kuhar et al., 2013).

Figura 1.

Ciclo sexual de hongos Basidiomicetos.



Nota: tomado de Kuhar et al (2013)

Importancia de los hongos.

Los hongos desempeñan un rol biológico importante en la degradación de la materia orgánica, procesos industriales de fermentación, producción de biomoléculas usadas en medicamentos, alimentación y procesos de remediación ambiental (Ibarra Islas, 2019).

Hongos comestibles cultivables.

Los hongos se han consumido desde el inicio de las civilizaciones. Los Griegos creían que los hongos proporcionaban fuerza en la batalla, los chinos por otro lado, se han enfocado más en su valor nutricional. En la actualidad los hongos se consideran alimentos valiosos por su bajo contenido calórico, y porque proporcionan nutrientes importantes como selenio, potasio, vitamina D, proteínas y fibra (Valverde et al., 2015). El hongo más cultivado en el mundo para consumo humano ha sido *Agaricus bisporus*, seguido de *Lentinus edodes*, *Pleurotus* spp. Y *Flammulina velutipes* (Miles & Chang, 2004).

Cultivo hongos comestibles.

Preparación de la semilla. La semilla se refiere al micelio del hongo que se va a usar para invadir cierto sustrato. Este micelio madre se obtiene a partir de cultivos puros que se mantiene criopreservados en agar o a partir de la zona himenial de un cuerpo fructífero que se lo hace crecer en botellas o cajas Petri con agares nutritivos como sustrato (López-Rodríguez et al., 2008). La semilla se inocula en granos como trigo, centeno, mijo y sorgo para su conservación y posterior uso en sustratos secundarios. Los granos se lavan y remojan en agua por 24 horas, terminado este proceso se hierven de 10 a 15 minutos hasta que se expandan y son retirados del calor hasta que alcanzan una humedad del 50%, en este momento los granos están listos para ser esterilizados y posteriormente inoculados con el micelio madre (Sánchez Vázquez & Royse, 2002).

Inoculación. Se refiere a la mezcla homogénea en condiciones de asepsia de la semilla con el sustrato. La semilla puede encontrarse en grano como inóculo colonizado o líquido en medios de cultivos nutritivos, para fines de producción se recomienda el uso del inóculo en grano ya que permite tener un micelio más vigoroso (Sánchez Vázquez & Royse, 2002).

Incubación. Es la etapa que permite la colonización del sustrato por el micelio o semilla, el micelio se expande bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y oscuridad.

Durante la incubación se debe proporcionar al hongo una temperatura constante y acorde a sus requerimientos para que la colonización se lleve a cabo con la tasa de crecimiento más alta posible (Sánchez Vázquez & Royse, 2002). La temperatura adecuada para el sitio de incubación esta alrededor de 20 a 28 °C, con una humedad relativa de entre 70 a 80 % (Fernández, 2004).

Fructificación. La fructificación se da inicio en el momento en que el micelio haya colonizado todo el sustrato, en esta etapa se forma una superficie homogénea blanca de carácter algodonoso que no permite distinguir a simple vista las características físicas iniciales del sustrato (Sekan et al., 2019). Para esta etapa es necesario modificar las condiciones de luminosidad, temperatura y humedad que se mantenían en la etapa de incubación, así, la temperatura debe ser ligeramente menor, la humedad debe oscilar entre 85-90% y el cuarto oscuro usado en la incubación debe permitir la entrada de luz para esta etapa (Sánchez Vázquez & Royse, 2002).

Cosecha. En condiciones óptimas dos o tres días después de que se haya adecuado las condiciones para la fructificación empiezan a aparecer los primordios. De cuatro a seis días después, los primordios se han desarrollado cubriendo la mayor superficie de la unidad de cosecha y están en madurez óptima para ser cosechados (Sánchez Vázquez & Royse, 2002). Para el inicio de la cosecha se debe ponderar hacerlo en el momento en que los cuerpos fructíferos hayan alcanzado el mayor tamaño posible y se los debe cortar con un instrumento estéril de la base del tallo que tiene contacto con el sustrato (López-Rodríguez et al., 2008).

Hongos Ostra – *Pleurotus ostreatus*.

Pleurotus ostreatus debe su denominación como hongo ostra gracias a que su sombrero o tapa posee una forma de concha espatulada que lo asemeja a una ostra (Miles & Chang, 2004).

El género *Pleurotus* es el hongo xilotrófico más explotable, con valiosas propiedades biotecnológicas, médicas y nutricionales. Las características relevantes de los representantes de este género para proporcionar herramientas industriales atractivas de bajo costo se han informado en numerosos estudios para resolver la presión de los problemas ecológicos. Además, varias especies de *Pleurotus* son altamente adaptables, no requieren condiciones especiales para el crecimiento y poseen resistencia a enfermedades y plagas contaminantes. Las propiedades únicas de las especies de *Pleurotus* se utilizan ampliamente en muchas tecnologías ambientales, como el reciclaje de residuos orgánicos sólidos, la degradación de contaminantes químicos y la producción de bioetanol (Sekan et al., 2019).

Figura 2.

Pleurotus ostreatus en etapa de fructificación.



Nota: imagen obtenida del trabajo del autor.

Varias especies del género *Pleurotus* tiene un alto valor comercial en el mercado mundial de hongos comestibles cultivados, al ser el segundo hongo comestible en todo el mundo, después

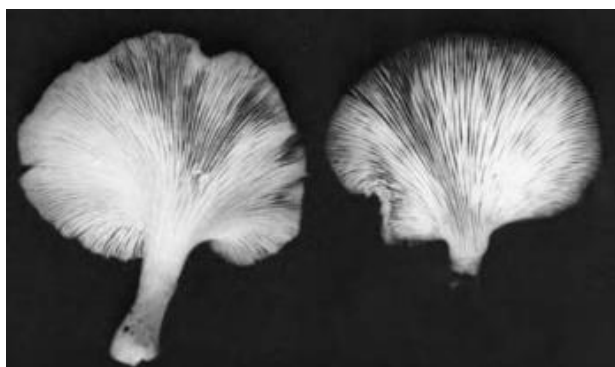
del Champiñón (Fernández-Fueyo et al., 2016). Este género de hongos se caracteriza por la presencia de aminoácidos esenciales, como arginina, glutamina y ácido glutámico, así como vitaminas y minerales (da Silva et al., 2012). El más popular dentro de este género es el *Pleurotus ostreatus* posee un gran valor nutricional debido a su alto contenido de proteínas, fibra y carbohidratos (Sekan et al., 2019).

Taxonomía y morfología de Pleurotus ostreatus.

Las especies de *Pleurotus spp.* Representan un grupo bien definido de hongos basidiomicetos del orden Agaricales y la familia Tricholomataceae. Se caracterizan particularmente por la producción de cuerpos frutales con un tallo excéntrico y una tapa o sombrero con forma de concha con la parte más ancha alejada del tallo (Rajarathnam et al., 1987). Generalmente los cuerpos fructíferos miden mínimo 2 - 3 cm de ancho y máximo 15 – 20 cm. Dependiendo las condiciones de cultivo, los cuerpos fructíferos pueden ser blancos, color crema, marrón, marrón oscuro o negro (Rajarathnam et al., 1987).

Figura 3.

Tallos excéntricos de Pleurotus ostreatus.



Nota: tomado de Miles et al (2004)

Sustratos para crecimiento de Pleurotus ostreatus.

En el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* se puede usar como sustrato todos aquellos vegetales, parte de ellos o sub productos que sean ricos en lignina, como pajas de cereales, maderas, aserrín y sub productos agroindustriales (France et al., 2019).

Desechos agroindustriales como sustrato de Pleurotus ostreatus.

De acuerdo con la Organización Internacional de Maderas Tropicales el consumo de madera es de 350 millones de metros cúbicos, de esta cantidad 100 millones de metros cúbicos provienen de plantaciones forestales de eucaliptos (J. Silva, 2011), la demanda de productos derivados de la madera de eucalipto es, a nivel internacional, la que demuestra un mayor crecimiento sostenido, según FAO (2000) en su informe de los recursos de plantaciones forestales a nivel mundial solo en Latinoamérica existe una superficie de 17 860 000 hectáreas plantadas con Eucalipto de las cuales 18 161 000 están destinadas a la fabricación de productos industrializados de la madera de esta especie. En el proceso de transformación que se le da a este tipo de madera, genera corteza como residuo del proceso industrial, esta corteza representa hoy en día un residuo forestal destinado, en la mayoría de las veces a su almacenamiento en grandes extensiones de terreno sin un tratamiento adecuado. Sin embargo la corteza posee interesantes posibilidades de aprovechamiento por su elevado contenido de fenoles, terpenos, lignina, celulosa y hemicelulosa (Pérez Díaz, 2008).

Pleurotus ostreatus se puede cultivar en diferentes desechos agrícolas, como son las cáscaras de café (da Silva et al., 2012), mazorcas de maíz (Kihumbu et al., 2008), aserrín (Fasidi, 1996) y corteza de eucalipto (Cavallazzi et al., 2004). El uso de estos residuos depende de la capacidad del hongo para producir un complejo de enzimas lignocelulósicas (Buswell et al., 1995). Este complejo incluye las enzimas oxidativas lacasa y la peroxidasa de manganeso (MnP), que están

involucradas en la degradación de la lignina, y las enzimas hidrolíticas xilanasa y celulasa, que están involucradas en la degradación de la hemicelulosa y la celulosa, respectivamente (Rodrigues da Luz et al., 2012).

Composición de la corteza de eucalipto.

La corteza de *Eucalyptus urophylla* es un material lignocelulósico constituido en gran parte por celulosa (49,03%), lignina (24,49%) y hemicelulosa (20,37%) (Schmidt, 2006). Otros autores señalan que la corteza de eucalipto está compuesta por lignina en un 18.13% y un 25% de su composición total (Pérez Díaz, 2008) (Orea-Igarza et al., 2006).

Degradación de lignina por *Pleurotus ostreatus*.

La lignocelulosa es el componente principal de la pared celular de las plantas leñosas, provee el soporte mecánico de las plantas que habitan en la tierra y la protección física contra herbívoros y saprobiontes. La complejidad química de la lignina ha aumentado durante el curso de la evolución desde los pteridofitos y gimnospermas antiguos hasta las especies leñosas más evolucionadas (Barceló et al., 2004). Las estructuras tubulares rígidas son necesarias en las plantas superiores para transportar agua y nutrientes, sin embargo, al mismo tiempo, las microfibrillas de celulosa junto con la lignina y la hemicelulosa forman un biocompuesto natural que permite a los árboles soportar su enorme peso (Janusz et al., 2017).

La degradación de la lignina es causada por ciertos hongos y diversas especies bacterianas, siendo los primeros los más eficientes y estudiados en relación a este tema (Breen & Singleton, 1999) (Huang et al., 2013). El número de especies de hongos capaces de descomponer la lignina es muy extenso y no se conocen con exactitud, solamente en América del Norte existen entre 1600 y 1700 especies de hongos degradadores de madera (Gilbertson, 1980), estos se encuentran distribuidos a nivel mundial como parásitos en los ecosistemas forestales naturales

desempeñando funciones importantes en la biósfera, ya que evitan la acumulación de materia orgánica de plantas muertas (Couturier et al., 2012).

Los hongos que descomponen la madera (saprófitos) son degradadores primarios de lignina y son el único grupo de microorganismos capaces de mineralizar este abundante producto vegetal que representa aproximadamente el 25% de la materia orgánica removible en la biosfera (Kuhad et al., 1997) (Huang et al., 2013). A partir de la forma en que producen la descomposición de la madera, los hongos saprófitos se dividen en tres grupos principales: los primeros son los hongos de podredumbre blanca, los segundos son los hongos de pudrición marrón y por último los hongos de pudrición blanda, todos estos tipos de hongos son capaces de descomponer la lignina, pero solos los hongos de pudrición blanca degradan este material completamente a CO₂ y H₂O (Janusz et al., 2017). Los miembros del orden Polyporales y Agaricales, es decir, *Ganoderma spp.*, *Phlebia radiata*, *Lentinula edodes* o *Pleurotus spp.*, en su mayoría representan hongos de pudrición blanca (Blanchette, 1995).

Pudrición blanca.

Los hongos de la podredumbre blanca pueden degradar la lignina y dejar niveles relativamente altos de celulosa o hemicelulosa de color blanco junto con fragmentos de lignina degradados; alternativamente, estos hongos pueden degradar la lignina y la celulosa simultáneamente (Bai et al., 2017). La pudrición blanca consiste en que el organismo efector remueve la lignina antes o al mismo tiempo que remueve el componente de celulosa de la madera, reduciendo principalmente su resistencia a la compresión. El ataque enzimático generalmente producido por hongos de pudrición blanca debilita la madera degradando la celulosa y la lignina de las paredes celulares y sustrayendo la lignina entre células, ya que la

lignina es de color marrón oscuro, este tipo de pudrición deja la madera de un blanco pálido o decolorado aspecto en los últimos estadios del proceso de pudrición (Luley, 2006).

Enzimas Lignocelulóticas

Lacasa. Es capaz de catalizar la oxidación de varios compuestos aromáticos, el fenol particularmente, con la subsiguiente reducción de oxígeno a agua (Zare-Maivan & Shearer, 1988). La lacasa se encuentra presente en plantas, insectos y bacterias, sin embargo, es en los hongos y particularmente los basidiomicetos donde su acción se expone con mayor intensidad (Urairuj et al., 2003). Los hongos de la podredumbre blanca son los microorganismos más eficientes capaces de una degradación aerobia extensa de la lignina. Debido al mayor potencial redox de la lacasa de hongos en comparación con la lacasa de plantas o bacterias, se utilizan en varias aplicaciones biotecnológicas tales como degradación de colorante, biorremediación, tratamientos de suelo, entre otros (Chawachart et al). La lacasa de hongos se considera un factor clave en la degradación de la lignina y la eliminación de fenoles potencialmente tóxicos que surgen durante la morfogénesis, la esporulación o la fitopatogénesis y la virulencia fúngica (Gianfreda et al., 1999).

Celulasa. Son un grupo muy diverso de enzimas que catalizan la hidrólisis de los enlaces glucosídicos beta 1-4, que mantienen unida la cadena de celulosa, componente principal de la corteza de eucalipto (Ibarra Islas, 2019).

Manganeso Peroxidasa. Un factor importante que afecta los procesos de biodegradación es la presencia de metales en el sustrato. Durante la biodegradación en el sustrato de paja de trigo *Pleurotu ostreatus* produce enzimas lignolíticas Manganeso Peroxidasa y Lacasa. La peroxidasa de manganeso puede oxidar sustratos naturales con la posterior despolimerización de lignina o

xenobióticos recalcitrantes para producir radicales aromáticos, así como fenoles y otros pequeños compuestos potenciales redox (Sekan et al., 2019).

Capítulo III

Materiales y Métodos

Materiales

Organismo vivo.

Semilla de *Pleurotus ostreatus*.

Materia Orgánica.

Corteza de Eucalipto y afrecho

Material de laboratorio.

Mecheros de alcohol, balanza, fundas de polipropileno con capacidad para 2 kg, guantes de protección industrial, gafas de protección, mascarilla, guantes quirúrgicos estériles, tanque de gas, fósforos, espátula, tijeras.

Equipos.

Moto guadaña, machete, cocina industrial, tanque metálico de 100 litros, estantería de acero y madera, atomizador, mesa metálica, termohigrómetro.

Reactivos.

Cal, Alcohol industrial, alcohol 70%, creolina.

Métodos.

Inóculo.

El inóculo usado para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* consistió en granos de trigo invadidos por micelio del Hongo Ostra. Este inóculo fue comprado a DIKARYA “Hongos Gourmet.”

Preparación del sustrato.

Los sustratos utilizados fueron corteza de eucalipto y afrecho. La corteza fue donada por la empresa NOVOPAN justo después del proceso de descortezado de los eucaliptos que llegan al patio de tratamiento de la empresa, inmediatamente después del descortezado se recogió la corteza evitando su exposición a condiciones no controlables, la corteza se recogió íntegra, sin ningún tipo de tratamiento. El afrecho se consiguió de los molinos de Alimentos Moderna.

Figura 4.

Patios empresa NOVOPAN



Nota: se identifica espacio físico donde diariamente se almacena de manera temporal la corteza de eucalipto, para luego ser trasladada a un almacenamiento permanente.

Secado. Para el secado de la corteza de eucalipto se extendió una lona en el suelo y se dejó secar al sol por tres días hasta observar que el color de la corteza haya cambiado producto de la pérdida de humedad. La exposición a la luz solar además del secado permitió que los elementos volátiles que componen la corteza de eucalipto se evaporarán dejando así una corteza libre de agentes que puedan interferir con el crecimiento del hongo.

Para el afrecho no hubo necesidad de secado al ser obtenido directamente del molino, su condición fue la adecuada.

Figura 5.

Proceso de secado.



Nota: secado al sol de la corteza de eucalipto por 72 horas.

Triturado. Para obtener corteza de eucalipto de entre 2 a 5 cm se usó en primer lugar un machete para la reducción mecánica del tamaño de la corteza con mayor superficie, después del triturado manual se llegó al tamaño deseado por medio de una moto guadaña. Este paso se hizo con la mitad de la cantidad de corteza, la otra mitad fue usada del tamaño que se obtuvo de los patios de NOVOPAN.

El afrecho no fue sometido a este paso ya que su granulometría era la indicada.

Hidratación. Tanto el afrecho, la corteza de eucalipto triturada y la corteza sin triturar se pesaron en seco antes de su hidratación. Después del pesaje se sumergió los sustratos en baldes llenos de agua potable por 24 horas. Posterior a las 24 horas se retiró el exceso de agua colocando el material sobre el colador hasta que el sustrato tenga la humedad idónea (70-80%). Como referencia para la determinación de la humedad se tomó del colador un puñado de sustrato que al presionarlo en la mano no escurría agua pero la mano se mantenía húmeda.

Retirado el exceso de humedad se adicionó cal al 1% del peso en seco de cada uno de los sustratos.

Figura 6.

Proceso de hidratación.



Nota: corteza entera de Eucalipto sumergida en agua durante 24 horas.

Unidades experimentales. Consistieron en fundas de polipropileno con capacidad para 2kg llenadas y selladas con las combinaciones de sustrato que se detallan en el diseño experimental (Tabla 1).

Pasteurización. Los sustratos fueron pasteurizados por vapor de agua. Se elaboró un doble fondo en un tanque metálico de 100 litros. El tanque fue llenado en su quinta parte con agua permitiendo una distancia de 15 cm con la base del doble fondo. Se introdujeron las unidades experimentales y se selló herméticamente el tanque con plástico grueso. Por medio de una cocina industrial se calentó el agua al interior del tanque por dos horas permitiendo la pasteurización del sustrato. Una vez transcurridas las dos horas se dejó enfriar las bolsas de polipropileno por una hora aproximadamente y se las colocó en una mesa metálica.

Figura 7.

Proceso de pasteurización.



Nota: pasteurización del sustrato por vapor.

Inoculación.

Con la ayuda de mecheros de alcohol se propició un ambiente estéril en la mesa metálica donde una a una las unidades experimentales fueron inoculadas con 100g de semilla del hongo. Las fundas fueron selladas y etiquetadas con el tratamiento correspondiente.

Condiciones de crecimiento.

Fase de incubación. Las unidades experimentales se colocaron en estanterías previamente desinfectadas con creolina sin acceso a la luz solar hasta que el sustrato fuera colonizado en su totalidad por el micelio del hongo. A medida que el sustrato iba siendo invadido por el micelio se realizaron perforaciones horizontales en las fundas usando una tijera estéril. En esta fase se realizó un riego diario con el cual se mantuvo una humedad de 70-80% y una temperatura que oscilaba entre 21-26°C.

Fase de crecimiento. Las fundas completamente colonizadas se transfirieron a un espacio con disponibilidad de luz solar para el desarrollo de los cuerpos fructíferos, con los primeros

primordios hasta el desarrollo total del hongo se mantuvo una temperatura oscilante de 19-23°C y una humedad de 80-95%, en esta fase se realizaron tres riegos diarios hasta la cosecha del cuerpo fructífero.

Figura 8.

Aparición de primordios.



Nota: aparición de los primeros primordios en el tratamiento T1.

Cosecha. Los basidiomas que alcanzaron un diámetro aproximado de 10-13cm o que empezaron a cambiar su forma de cóncava a convexa fueron cortados de las fundas con tijera estéril desde la base del tallo, en la unión con el sustrato y pesados después de cada cosecha.

Figura 9.

Etapa de cosecha.



Nota: cuerpos fructíferos del T1 listos para ser cosechados.

Diseño Experimental.

Se estableció un diseño completamente aleatorizado con cuatro réplicas por tratamiento. Los datos se analizaron en el programa estadístico IBM SPSS Statistics, mediante análisis de ANOVA ($P=0,05$), y las diferencias entre tratamientos se determinaron usando la prueba de comparaciones múltiples de Duncan ($P=0,05$). Las proporciones que se usaron en cada unidad experimental se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1 .*Tratamientos usados para la evaluación del cultivo de Pleurotus ostreatus*

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Repeticiones
T1	Ct	(100)	4
T2	Ct + A	(75 + 25)	4
T3	Ct + A	(50 + 50)	4
T4	Ct + A	(25 + 75)	4
T5	A	(100)	4
T6	Ce	(100)	4
T7	Ce + A	(75 + 25)	4
T8	Ce + A	(50 + 50)	4
T9	Ce + A	(25 + 75)	4
T10	A	(100)	4

Nota: el porcentaje en peso está dado de un total de 2000g.

Ct: Corteza triturada Ce: Corteza entera A: Afrecho

Variables fenológicas.

Se midieron variables como el número de días que cada tratamiento se mantuvo en periodo de incubación, el tiempo que se requirió para cosechar los cuerpos fructíferos, la Eficiencia Biológica (EB) como el porcentaje de producción de hongos en relación al peso seco del sustrato

y el rendimiento como porcentaje de producción de hongos en relación al peso húmedo del sustrato.

Variables Químicas

Se midieron variables químicas del sustrato (corteza de eucalipto) al inicio y al término del ensayo: contenido de nitrógeno, materia orgánica y relación carbono nitrógeno (C/N). Para el cuerpo fructífero producido se realizó una revisión bibliográfica del contenido proteico de *Pleurotus ostreatus* ya que el ensayo para medir esta variable fue imposibilitado por el estado de emergencia que se dio en el Ecuador debido a la Pandemia por COVID-19.

Capítulo IV

Resultados y discusión

Composición química de la corteza de eucalipto usada como sustrato.

Se analizaron muestras de corteza antes de empezar el ensayo y al finalizar los tratamientos en EcuachemLab el cual es un laboratorio acreditado por Agrocalidad para este tipo de ensayos. Se obtuvo la materia orgánica, nitrógeno total y se calculó la relación Carbono/Nitrógeno (C/N), mediante las ecuaciones 1 y 2. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Ecuación 1:

$$C/N(\%) = \frac{CO(\%)}{NT(\%)}$$

Ecuación 2:

$$CO(\%) = \frac{MO(\%)}{1,724}$$

En la búsqueda de tecnologías para pre tratamiento de desechos lignocelulósicos y su reutilización, Alvira et al (2010) mencionan que los desechos agroindustriales como las maderas duras tienen una relación carbono nitrógeno (C/N) de 150-450/1. Estos valores concuerdan los que se obtuvieron en el ensayo con corteza de eucalipto, además en el mismo estudio cultivan *P. ostreatus* usando como sustrato aserrín de madera dura, resultando con una eficiencia biológica de 46,8%, este valor de eficiencia se acerca considerablemente al valor de EB de T1 (48,20%). Esta comparación resulta satisfactoria y pone al eucalipto como alternativa de sustrato con beneficios para el cultivo de *P. ostreatus*.

NOVOPAN produce decenas de toneladas al día en el proceso de descortezado del eucalipto, la respuesta que dio este desecho como sustrato en este estudio avizora un camino para que esas toneladas de corteza no vayan a almacenarse solamente, sino que pueden generar un valor agregado a la compañía produciendo alimentos con alto nivel proteico (Alananbeh et al., 2014). Sin dejar de lado el residuo de la corteza que aún es aprovechable, después del cultivo observamos que la relación C/N ha disminuido sustancialmente y puede ser aprovechable ahora sí para compostaje ya que los compuestos lignocelulósicos han sido degradados por el hongo (Blanchette, 1995). La FAO (2015) en su manual de compostaje del agricultor advierte que la relación C/N para iniciar este proceso debe ser baja de modo que los microorganismos tengan nitrógeno disponible para generar proteínas y enzimas que ayude al compostaje del material.

Tabla 2.

Variables químicas corteza de eucalipto pre y post cosecha.

Estadío Corteza	Materia Orgánica (%)	Nitrógeno Total (%)	Relación C/N
Pre cosecha	91,45	0,21	252,60
Post cosecha triturado	86,78	0,31	162,38
Post cosecha entero	84,51	0,26	188,54

Jaramillo Mejía et al (2019) en su estudio incrementa la tasa del inóculo 13% del peso seco, logrando eficiencias biológicas y rendimientos prolongados, esta puede ser una alternativa para generar más cosechas y de este modo tener un sustrato post cultivo con valores menores de relación C/N, lo que harías más aprovechable al desecho agroindustrial como compostaje. Luego

de terminado el cultivo las unidades experimentales permanecían con un micelio contundente, especialmente en los T1, T2, T6 y T7 ya que el micelio por la porosidad del sustrato invadió todo el volumen de la funda, al observar este acontecimiento se tomaron 100 gramos de este sustrato y se los colocó como inóculo siguiendo todo el proceso descrito en la metodología, después de casi 30 días el micelio del hongo había colonizado el sustrato y se empezaron a observar la aparición de primordios. Este hallazgo impulsa aún más a aprovechar este desecho agroindustrial producido por NOVOPAN y obtener todos los beneficios posibles.

Número de días en periodo de incubación.

Se tomó como referencia el final de la incubación al momento en que el micelio del hongo colonizó todo el sustrato, y aparecieron los primeros primordios. Los resultados se observan en la Tabla 3 y Figura 10.

Tabla 3.

Días en periodo de incubación de Pleurotus ostreatus para 10 tratamientos.

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Días de incubación
T1	Ct	(100)	21 a,b
T2	Ct + A	(75 + 25)	20 a
T3	Ct + A	(50 + 50)	22 b,c
T4	Ct + A	(25 + 75)	29 d
T5	A	(100)	46 e
T6	Ce	(100)	23 c

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Días de incubación
T7	Ce + A	(75 + 25)	23 c
T8	Ce + A	(50 + 50)	22 b,c
T9	Ce + A	(25 + 75)	29 d
T10	A	(100)	46 e

Nota: (a-e) Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Ct: Corteza triturada Ce: Corteza entera A: Afrecho

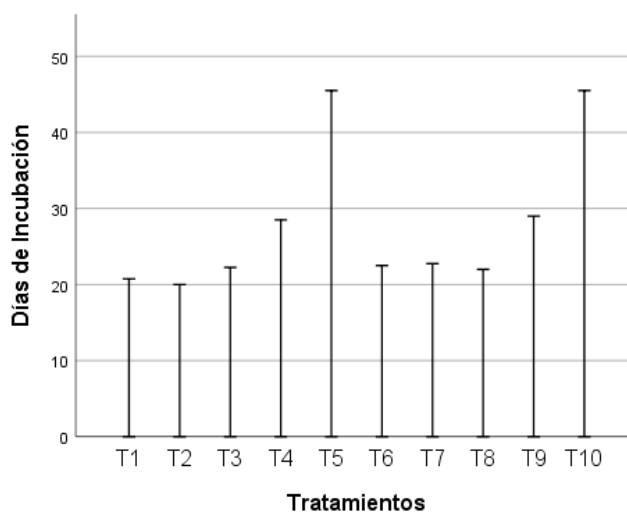
Las medias en el tiempo de incubación en los tratamientos fueron considerablemente diferentes entre los distintos tratamientos. El menor tiempo de incubación se dio para T1 y T2 con 21 y 20 días respectivamente, teniendo a T2 como el de mayor significancia en diferencia a los otros tratamientos. El mayor tiempo de incubación fue para los tratamientos en los que el sustrato fue únicamente el afrecho (T5 y T10) los cuales son significativamente iguales entre sí (46 días).

Kunjadia et al (2016) Realiza un estudio donde se cultiva *P. ostreatus* en sustratos lignocelulósicos y en mezclas con sustratos no lignocelulósico en iguales proporciones que en este trabajo y obtienen los siguientes resultados en el tiempo de incubación 26,7 días (100%-0%), 26,3 días (75%-25%), 26 días (50%-50%), 26,7 días (25%-75%) y 28,3 días (0%-100%). Garzón Gómez y Cuervo Andrade (2008) usaron como sustrato para cultivo de *Pleorotus ostreatus* una mezcla de café, aserrín de eucalipto, bagazo de caña y tallo de maíz en proporciones iguales y reportan 26 días como su periodo de incubación más corto. El tiempo de

incubación usando como sustrato corteza de eucalipto, especialmente triturada, mejoró en comparación con otros estudios.

Figura 10.

*Días en periodo de incubación de *Pleurotus ostreatus* para 10 tratamientos*



Si bien los tratamientos en los que se usó como sustrato únicamente el afrecho fueron los que más tardaron en la aparición de primordios, se debe mencionar que en T5 y T10 el crecimiento de micelio de *P. ostreatus* se extendió con mayor velocidad en la superficie del sustrato, es decir fueron las primeras bolsas en tener una capa blanca por la cobertura del micelio (16 días), pero como se ha mencionado, fue únicamente en la superficie ya que al mover las fundas se notaba que el micelio no colonizaba en profundidad al sustrato y no fue sino hasta el día 46 que hubo la aparición de los primeros primordios.

Curvetto et al (2002) menciona en su estudio que las condiciones del sustrato para el cultivo de *P. ostreatus* son esenciales para su crecimiento, en este contexto indica que la aireación y drenaje del sustrato son aspectos a considerar en el cultivo del hongo. La gran diferencia en el tiempo de aparición de los primordios en T5 y T10 con respecto a los demás tratamientos se debería a que el afrecho, por su morfología y la hidratación previa, se volvió un sustrato muy compacto que no permitió el intercambio gaseoso dentro la funda y más aún cuando estuvo sellada. El diminuto tamaño de las partículas de afrecho y el microambiente bajo en oxígeno provocaron un efecto inhibitorio en el desarrollo de los primordios (Zhang et al., 2002). Al contrario, los tratamientos que tuvieron combinación con corteza de eucalipto produjeron mejores resultados en los días en periodo de incubación por el tamaño de partícula.

Según Garzón y Cuervo (2008). El hongo en su fase de crecimiento micelar prefiere el consumo de carbohidratos solubles y hemicelulosa respecto a la celulosa y la lignina. El afrecho químicamente se compone en un 30% de celulosa, 50% de hemicelulosa y 15% de lignina (Kumla et al., 2020). La mayor cantidad de hemicelulosa en el afrecho permitió una colonización del micelio en 16 días, mejorando el tiempo de colonización de los sustratos con corteza de eucalipto la cual consta de un 20,37% de hemicelulosa en su composición química (Schmidt, 2006). Sin embargo la escasa permeabilidad del afrecho no permitió el rápido desarrollo de primordios después de la colonización convirtiéndolo a T5 y T10 como los tratamientos deficientes en esta variable fenológica.

Número de días para cosecha.

Los resultados del tiempo en que se obtuvo las cosechas de los distintos tratamientos se muestran en la Tabla 4 y Figura 11.

Tabla 4.

Días en que se cosecharon los cuerpos fructíferos de Pleurotus ostreatus para 10 tratamientos.

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Días para cosecha		
			1ª Cosecha	2ª Cosecha	Total
T1	Ct	(100)	42 a	75 b,c	117 a,b
T2	Ct + A	(75 + 25)	44 a,b	72 a	115 a
T3	Ct + A	(50 + 50)	46 c,d	74 a,b	120 b,c
T4	Ct + A	(25 + 75)	47 d	76 b,c	123 c,d
T5	A	(100)	65 e	102 d	167 e
T6	Ce	(100)	43 a,b	75 b,c	118 a,b
T7	Ce + A	(75 + 25)	45 b,c	73 a,b	118 a,b
T8	Ce + A	(50 + 50)	47 d	75 b,c	122 c,d
T9	Ce + A	(25 + 75)	47 d	78 c	125 d
T10	A	(100)	67 e	101 d	167 e

Nota: (a-e) Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Ct: Corteza triturada Ce: Corteza entera A: Afrecho

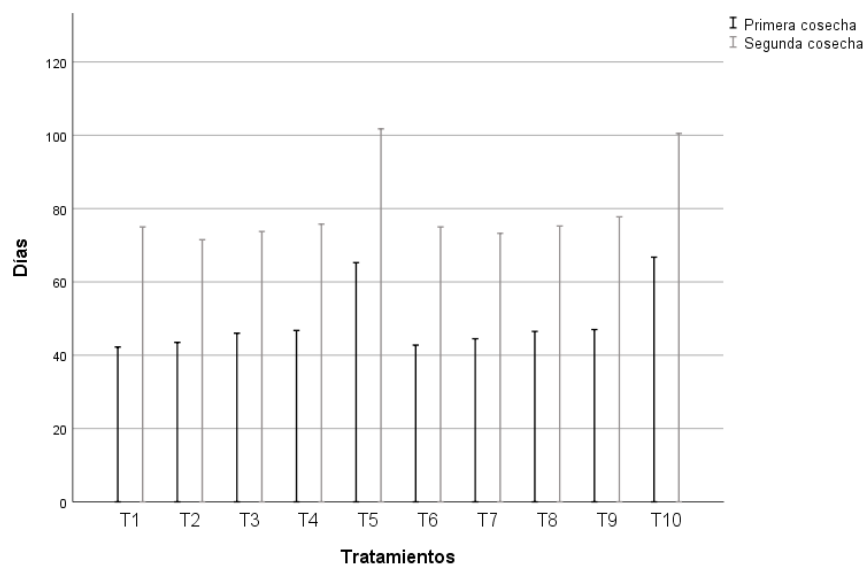
Los tratamientos en los que se desarrollaron los cuerpos fructíferos con más rapidez fueron los que se componen en su totalidad o mayoría de corteza de eucalipto (T1, T2, T6 y T7), se muestra que no hay diferencia significativa entre el T1, T2, y T6 por lo que es indiferente en este caso si la corteza fue o no triturada para que se diera una pronta primera cosecha. Tampoco se

observa una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos que tienen igual proporción de corteza y afrecho, lo que nos demuestra nuevamente que para el tiempo de fructificación es irrelevante si la corteza fue o no triturada, contrario al tiempo de incubación en donde se mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con corteza triturada (T1 y T2) y corteza entera (T6 y T7) en similares proporciones.

Una vez más los tratamientos que solo se componen de afrecho (T5 y T10) muestran resultados desfavorables ya que son los que necesitan de un mayor tiempo para desarrollar los cuerpos fructíferos del hongo tanto en la primera como en la segunda cosecha. Se insiste en que la compactación producida por la hidratación del sustrato y su tamaño de partícula influyeron también en el desarrollo de los cuerpos fructíferos.

Figura 11.

*Días de cosecha de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*, para los 10 tratamientos.*



En la segunda cosecha se determinó 4 grupos con diferencias estadísticaente significativas de estos el T2 alcanzó en menor tiempo carpóforos de un diámetro aceptable para ser cosechados, en los demás tratamientos donde predomina la corteza de eucalipto y que habían tenido una pronta primera fructificación (T1 y T6) no existen diferencias significativas con los tratamientos que poseen un 75% y 50% de afrecho en su composición (T4 y T8 respectivamente).

La etapa de fructificación en el cultivo comercial de *P. ostreatus* depende en gran medida de las condiciones ambientales más que las propiedades del sustrato que ya no se puede manipular (Picornell Buendía et al., 2016). De esta forma se puede explicar la similitud de tiempos en la segunda cosecha a pesar de haber tenido una diferencia significativa en la primera, se debe a que los tratamientos que tuvieron un menor periodo de incubación fueron trasladados antes a las condiciones ambientales de fructificación, produciendo una primera cosecha en menor tiempo (Pardo et al), posterior a la primera cosecha, las condiciones como luz, temperatura y humedad se mantuvieron iguales para todos los tratamientos ya que a partir del día 47 todas las fundas pasaron al área de fructificación con excepción de T5 y T10 que pasaron al día 67.

Rendimiento.

Los resultados de esta variable se informan en la Tabla 5 y Figura 12. Se reporta que los tratamientos que presentaron mejores rendimientos fueron los que tuvieron a la corteza de eucalipto como principal sustrato (T1, T2, T6, T7) indistintamente si la corteza estaba o no triturada. Presentan además una diferencia estadística significativa con el rendimiento de los tratamientos restantes.

T1 y T6 fueron los que mayor rendimiento presentaron (16,32 y 16,33 % respectivamente), ambos tratamientos solo presentan corteza de eucalipto como sustrato para el crecimiento del hongo. Guevara Calero (2018) cultivó *P. djamor* sobre residuos agroindustriales como viruta de

eucalipto, consiguiendo un rendimiento de 5,24%. (Varnero et al., 2010) cultivó hongos ostra en residuos lignocelulósicos obteniendo un rendimiento de 4,23% usando eucalipto como sustrato. Tisdale et al (2005) en sus cultivos de *Pleurotus ostreatus* usando como sustrato madera en Hawai obtuvieron un rendimiento de 23,95% cuando sembraron el hongo sobre eucalipto, ellos pre trataron los sustratos para eliminar sustancias que afecten al desarrollo del hongo. Nuestros resultados de rendimiento si bien no alcanzan el 23,95% que produjeron Tisdale et al (2005). Superan en una buena proporción a los resultados obtenidos por otros autores, esto puede deberse a que en la metodología se planteó un secado de la corteza, lo que permitió eliminar sustancias volátiles que hubiesen podido modificar el rendimiento de los cultivos, también hay que tomar en cuenta que el cultivo en la etapa de fructificación se dio en condiciones ambientales de luz solar a diferencia de otros autores que usaron lámparas para proveer de luz al cultivo (Guevara Calero, 2018) (Varnero et al., 2010).

Tabla 5

Porcentaje Rendimiento de Pleurotus ostreatus para 10 tratamientos.

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Rendimiento (%)		
			1ª Cosecha	2ª Cosecha	Total
T1	Ct	(100)	10,02 a	6,30 a	16,32 a
T2	Ct + A	(75 + 25)	6,81 b	4,02 b	10,83 b
T3	Ct + A	(50 + 50)	3,84 c	1,43 c	5,27 c
T4	Ct + A	(25 + 75)	3,52 c	0,76 c	4,28 c
T5	A	(100)	3,31 c	0,90 c	4,21 c

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Rendimiento (%)		
			1ª Cosecha	2ª Cosecha	Total
T6	Ce	(100)	9,45 a	6,86 a	16,33 a
T7	Ce + A	(75 + 25)	6,75 b	4,43 b	11,19 b
T8	Ce + A	(50 + 50)	3,61 c	1,34 c	4,95 c
T9	Ce + A	(25 + 75)	3,53 c	0,77 c	4,29 c
T10	A	(100)	3,31 c	0,90 c	4,21 c

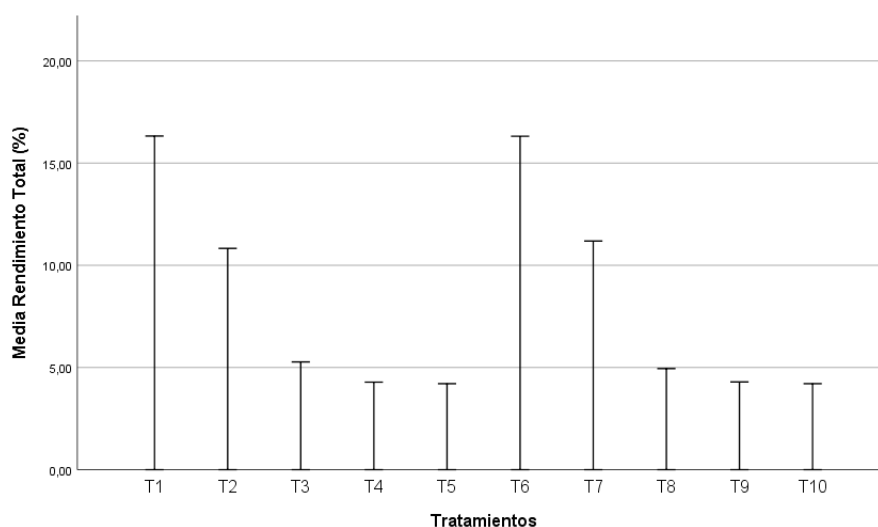
Nota: (a-c) Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Ct: Corteza triturada Ce: Corteza entera A: Afrecho

P. ostreatus en su etapa de fructificación a diferencia de la etapa de incubación necesita más cantidad de materia orgánica que nitrógeno, debido a que el carbono disponible es el elemento que usará el hongo para la formación de bacidiomas (Fernández, 2004). El alto contenido de carbono orgánico en el sustrato de corteza de eucalipto por sobre el afrecho se refleja en la relación C/N de la Tabla 2, la corteza cuenta con un valor elevado de C/N por lo que el hongo puede desarrollar sus cuerpos fructíferos y lograr un mejor rendimiento. Los rendimientos bajos son de los tratamientos que cuentan con igual o en menor proporción la corteza en la composición del sustrato (T3, T4, T5, T8, T9 y T10) y presentan una diferencia significativa con T1, T2, T6 y T7.

Figura 12.

Rendimiento de Pleurotus ostreatus para 10 tratamientos.



Eficiencia Biológica

Los resultados se muestran en la Tabla 6 y Figura 13.

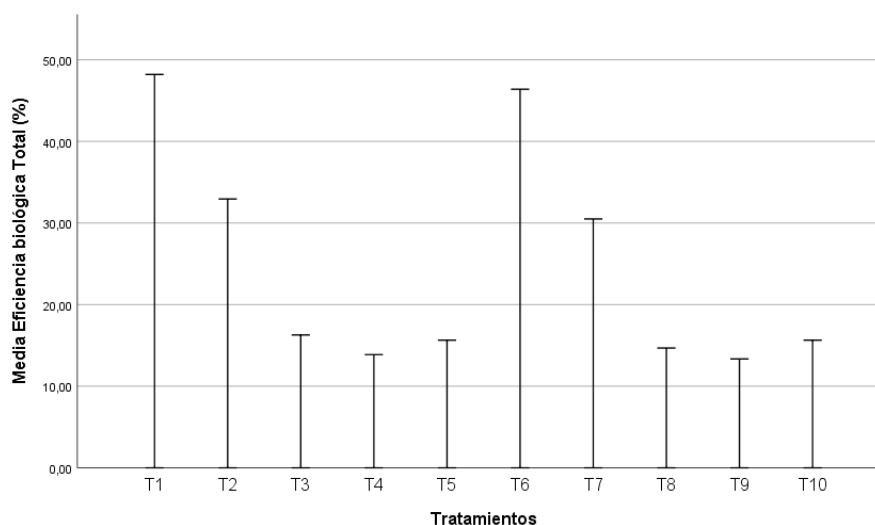
Kumla et al (2020) cultivaron *Pleurotus ostreatus* en combinaciones de desechos lignocelulósicos como maderas duras y obtuvieron una EB mínima de 27,3% cuando se usaron solamente serrín de maderas duras como sustrato y una máxima de 46,5 % cuando estas maderas duras se combinaron con paja de trigo o tallos de maíz. Lomque quiere decir que el 40% de los tratamientos propuestos en este estudio se encuentran dentro de un rango considerable de EB.

Un valor alto de EB asegura que el sustrato elegido es idóneo para el cultivo de *P. ostreatus*, Sin embargo para que un cultivo se considere rentable la eficiencia debería superar el 50%

(Kumla et al., 2020). T1 consta como el tratamiento con mejor EB (48,20%) a pesar que no llega al 50% es un resultado que nos permite tener en cuenta a la corteza de eucalipto como alternativa de sustrato para cultivo de *P. ostreatus* y de esta manera reutilizar los desechos agroindustriales como una alternativa sustentable para el medio ambiente como lo han hecho diferentes autores (Sekan et al., 2019) (Guevara Calero, 2018) (Blanchette, 1995) (da Silva et al., 2012) (Fernández-Fueyo et al., 2016) (Picornell Buendía et al., 2016).

Figura 13.

Eficiencia biológica de Pleurotus ostreatus para 10 tratamientos.



Los tratamientos con mejor EB contienen en su totalidad o en 75% corteza de eucalipto que debido a sus características como el tamaño de partícula, la corteza a diferencia del afrecho permite que haya una correcta aireación y accesibilidad a los nutrientes. El tamaño de partícula afecta directamente al crecimiento y fructificación de *P. ostreatus* (Sánchez Vázquez & Royse,

2002), por este motivo Rajarathnam et al (1987) recomiendan un tamaño de partícula de 2 a 5 cm para el cultivo de hongos ostra.

Tabla 6.

Eficiencia Biológica de Pleurotus ostreatus para 10 tratamientos.

Tratamiento	Sustrato	% en peso	Eficiencia Biológica (%)		
			1ª Cosecha	2ª Cosecha	Total
T1	Ct	(100)	29,59 a	18,61 a	48,20 a
T2	Ct + A	(75 + 25)	20,71 b	12,24 b	32,95 b
T3	Ct + A	(50 + 50)	11,86 d	4,42 c	16,27 c
T4	Ct + A	(25 + 75)	11,41 d	2,46 c	13,87 c
T5	A	(100)	12,30 d	3,34 c	15,65 c
T6	Ce	(100)	26,88 a	19,50 a	46,39
T7	Ce + A	(75 + 25)	17,50 c	12,99 b	30,49 b
T8	Ce + A	(50 + 50)	10,70 d	3,98 c	14,69 c
T9	Ce + A	(25 + 75)	10,97 d	2,37 c	13,35 c
T10	A	(100)	12,30 d	3,34 c	15,65 c

Nota: (a-c) Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Ct: Corteza triturada Ce: Corteza entera A: Afrecho

Al igual que con el rendimiento las segundas cosechas siguen un modelo similar en ambas variables con una disminución en relación a la primera cosecha lo cual es normal como reporta (Garzón Gómez & Cuervo Andrade, 2008), ya que los nutrientes necesarios para la fructificación permanecen en menos cantidad porque ya se han formado cuerpos fructíferos. Esta disminución en la cantidad de nutrientes se ve reflejada en la Tabla 2 donde hay una merma de materia orgánica tanto para la corteza entera como la triturada y a su vez una elevación del contenido total de nitrógeno con respecto a la corteza antes del cultivo. Este fenómeno nos muestra que mientras siga habiendo una baja C/N seguirán desarrollándose primordios pero no habrá una buena fructificación, de esta manera se corrobora lo que nos expone (Hoa et al., 2015), a mayor C/N mayor rendimiento y a menor C/N mayor EB.

Contenido proteico de *Pleurotus ostreatus*

Debido a la pandemia ocasionada por el COVID-19 no se pudo llevar a cabo este ensayo, sin embargo a través de varios autores se presenta a continuación los valores nutricionales en forma de proteína que se generaron a partir de cultivos de *P. ostreatus* usando como sustratos desechos agroindustriales.

Tabla 7.

Contenido proteico de Pleurotus ostreatus cultivado en distintos desechos agroindustriales como sustrato

Residuo	Proteína cruda (%)	Eficiencia Biológica (%)	Referencia
Paja de trigo	14,6	51,1	(Girmay et al., 2016)
Paja de cebada	12,8	21,3	(Prasad et al., 2018)
Paja de arroz	23,4	84,6	(Prasad et al., 2018)
Elote	29,7	66,1	(Adedokun & Akuma, 2013)
Tallo de soja	24,7	85,2	(Adenipekun & Omolaso, 2015)
Tallo algodón	30,1	44,3	(Triyono et al., 2019)
Cáscara de arroz	5,9	9,5	(Prasad et al., 2018)
Bagazo caña	27,1	65,7	(Adedokun & Akuma, 2013)
Aserrín acacia	19,5	46,4	(Adedokun & Akuma, 2013)
Eucalipto	25,4	4,23	(Varnero et al., 2010)
Paja + Eucalipto	24,4	14,93	(Varnero et al., 2010)

En la Tabla 7 se muestra que el mayor porcentaje de proteína que obtiene los cuerpos fructíferos del hongo es cuando se usa como sustrato el tallo de algodón, a pesar que la eficiencia biológica no es la óptima si se producen carpóforos con un alto contenido proteico

(Triyono et al., 2019). Cuando se usa Eucalipto como sustrato los autores identifican que los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* tienen un contenido proteico de 24,4,93% con una EB de 14,93%. La EB del T1 de 48,20% es casi el doble de la EB expresada por Varnero (2010) que en el mismo estudio registra una C/N de 1009 para el sustrato eucalipto antes del cultivo, esta C/N es muy alta en relación a la expresada en la Tabla 2 de 252,60, este valor más bajo de C/N permitiría al hongo disponer de más recursos orgánicos en forma de nitrógeno lo que generaría un hongo con mayor proporción proteica en sus cuerpos fructíferos.

Según los resultados obtenidos por varios autores en la Tabla 7 existen otros desechos lignocelulósicos que se están usando para el cultivo de *P. ostreatus*, es el caso del tallo de algodón que genera cuerpos fructíferos con un alto contenido proteico. En el ensayo de Triyono (2019) para generar carpóforos de alto contenido proteico usan sustratos con C/N de 78 lo cual está muy por debajo de la proporción C/N que se registra en la Tabla 2 para corteza de eucalipto, por esta razón una alternativa para mejorar el contenido proteico de *P. ostreatus* sería la combinación con sustratos con una relación C/N baja.

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- Los hongos que causan la pudrición blanca entre ellos *Pleurotus ostreatus* prefieren los sustratos con valores de C/N altos debido a que consumen polímeros lignocelulósicos. Se ratifica que el uso de corteza de eucalipto como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* por sus características químicas es viable al obtener EB de hasta 48,20%
- Para que la corteza de eucalipto funcione como sustrato para *P. ostreatus*, no es necesario que haya una trituración de la misma ya que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre la corteza entera y triturada en la EB y el rendimiento. Lo que si es necesario en el pre tratamiento de la corteza es el secado a través de la luz solar ya que depura a la corteza de elementos volátiles que afectan al rendimiento del cultivo.
- A pesar que el sustrato afrecho fue usado en este estudio por sus características propicias para el cultivo de *P. ostreatus*, sus beneficiosas características se vieron mermadas por el tamaño de las partículas del afrecho, por lo que se considera de vital importancia que el tamaño de la partícula del sustrato oscile entre 2-5cm, de esta manera el cultivo tendrá un adecuado intercambio gaseoso y el micelio tendrá una mayor superficie de contacto con el sustrato para su colonización.
- El factor limitante para el crecimiento del hongo en la etapa de fructificación son las condiciones ambientales, el acceso a la luz solar, la oxigenación y la constante hidratación de las unidades experimentales permitieron que las fundas que fueron

trasladadas al área de fructificación consigan carpóforos de mayor diámetro y un mejor rendimiento. Las fundas que permanecieron más tiempo en el área de incubación obtuvieron rendimientos menores.

- La empresa NOVOPAN podría tomar como una alternativa eficiente el uso de *Pleurotus ostreatus* para deslignificar la gran cantidad de corteza que producen diariamente, de esta manera obtendrán un alimento alto en proteína que puede ser comercializado y las condiciones químicas del sustrato después del cultivo permitirá el ataque de otros microorganismos usados en el compostaje que aumentará el valor agregado de este desecho que no era tratado en un inicio.
- La versatilidad de sustratos que se pueden degradar por medio de *P. ostreatus* y que nos son degradables por otros microorganismos como bacterias debido a su alto contenido lignocelulósico, lo convierte en un agente biológico prometedor para la remediación ambiental y el aprovechamiento de recursos, a estos beneficios se suma el obtener un alimento alto en contenido proteico.

Recomendaciones

- El área que se elija para el cultivo de *Pleurotus* debe tener acceso a la luz solar para que los cuerpos fructíferos se desarrollen ya que se evidenció en los resultados de rendimiento y EB que la luz solar es más efectiva que la artificial. También es importante que el lugar donde se vaya a realizar el cultivo esté libre de insectos y contaminación, en el transcurso del ensayo los primeros cuerpos fructíferos que empezaron a crecer de T1 y T2 fueron atacados por insectos que se alimentaban de los basidiomas por lo que fue necesario crear contingencia para este mal alrededor del área de cultivo.

- Automatizar los periodos de riego puede mejorar la calidad del cultivo y se evitarían contaminaciones cruzadas por el uso de atomizadores externos. Promover la industrialización de estos procesos ya que la mayoría de cultivos de Hongos Ostra de cualquier especie se realiza de forma artesanal.

Bibliografía

- Adedokun, O. M., & Akuma, A. H. (2013). Maximizing Agricultural Residues: Nutritional Properties of Straw Mushroom on Maize Husk, Waste Cotton and Plantain Leaves. *Natural Resources*, 04(08), 534-537. <https://doi.org/10.4236/nr.2013.48064>
- Adenipekun, C. O., & Omolaso, P. O. (2015). *Comparative Study on Cultivation, Yield Performance and Proximate Composition of Pleurotus pulmonarius Fries. (Quelet) on Rice Straw and Banana Leaves*. 8.
- Akpinar, M., & Ozturk Urek, R. (2017). Induction of fungal laccase production under solid state bioprocessing of new agroindustrial waste and its application on dye decolorization. *Biotech*, 7(2), 98. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0742-5>
- Alananbeh, K. M., Bouqellah, N. A., & Al Kaff, N. S. (2014). Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(6), 616-625. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.001>
- Alvarado, C., & Heredia, U. (2011). *Reducción del nivel de lignina en la corteza del eucalyptus urophylla mediante tratamiento térmico*. 18(2), 9.
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101(13), 4851-4861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>
- Bai, Z., Ma, Q., Dai, Y., Yuan, H., Ye, J., & Yu, W. (2017). Spatial Heterogeneity of SOM Concentrations Associated with White-rot Versus Brown-rot Wood Decay. *Scientific Reports*, 7(1), 13758. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14181-7>

- Barceló, A. R., Gómez Ros, L. V., Gabaldón, C., López-Serrano, M., Pomar, F., Carrión, J. S., & Pedreño, M. A. (2004). Basic peroxidases: The gateway for lignin evolution? *Phytochemistry Reviews*, 3(1), 61-78.
<https://doi.org/10.1023/B:PHYT.0000047803.49815.1a>
- Blanchette, R. A. (1995). Degradation of the lignocellulose complex in wood. *Canadian Journal of Botany*, 73(S1), 999-1010. <https://doi.org/10.1139/b95-350>
- Breen, A., & Singleton, F. L. (1999). Fungi in lignocellulose breakdown and biopulping. *Current Opinion in Biotechnology*, 10(3), 252-258. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(99\)80044-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(99)80044-5)
- Buswell, J. A., Cai, Y., & Chang, S. (1995). Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Lentinula (Lentinus) edodes*. *FEMS Microbiology Letters*, 128(1), 81-87. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(95\)00087-L](https://doi.org/10.1016/0378-1097(95)00087-L)
- Cavallazzi, J. R. P., Brito, M., Oliveira, M., Villas-Bôas, S. G., & Kasuya, M. C. M. (2004). *Lignocellulolytic enzymes profile of three Lentinula edodes (Berk.) Pegler strains during cultivation on eucalyptus bark-based medium.* /paper/Lignocellulolytic-enzymes-profile-of-three-edodes-Cavallazzi-Brito/4228f3380b5d3b26c54ff17ae6138a9e14c64d4b
- Chawachart, N., Khanongnuch, C., Watanabe, T., & Lumyong, S. (s. f.). Rice bran as an efficient substrate for laccase production from thermotolerant basidiomycete *Coriolus versicolor* strain RC3. *Fungal Diversity*, 10.
- Costales Sotelo, R. (2013). *La industria de los productos aglomerados. Desarrollo sostenido.* 173.
- Couturier, M., Navarro, D., Olivé, C., Chevret, D., Haon, M., Favel, A., Lesage-Meessen, L., Henrissat, B., Coutinho, P. M., & Berrin, J.-G. (2012). Post-genomic analyses of fungal lignocellulosic biomass degradation reveal the unexpected potential of the plant

pathogen *Ustilago maydis*. *BMC Genomics*, 13, 57. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-57>

Cruz, L. P., & Cruz, V. P. (2007). *Estudio de factibilidad financiera para la exportación de tablero aglomerado de madera hacia estados unidos por la empresa NOVOPAN del Ecuador S.A.* [Escuela Politécnica Nacional]. <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/388>

Curvetto, N. R., Figlas, D., Devalis, R., & Delmastro, S. (2002). Growth and productivity of different *Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH₄⁺ and/or Mn(II). *Bioresource Technology*, 84(2), 171-176. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00013-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00013-5)

da Silva, M. C. S., Naozuka, J., da Luz, J. M. R., de Assunção, L. S., Oliveira, P. V., Vanetti, M. C. D., Bazzolli, D. M. S., & Kasuya, M. C. M. (2012). Enrichment of *Pleurotus ostreatus* mushrooms with selenium in coffee husks. *Food Chemistry*, 131(2), 558-563. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.023>

FAO. (2000, abril 1). *Datos mundiales sobre los recursos de plantaciones forestales (FAO)*. <http://www.fao.org/3/y2316s/y2316s0b.htm>

FAO. (2017, julio 3). *FAO - News Article: World hunger on the rise again, reversing years of progress*. <http://www.fao.org/news/story/en/item/902489/icode/>

Fasidi, I. O. (1996). Studies on *Volvariella esculenta* (Mass) Singer: Cultivation on agricultural wastes and proximate composition of stored mushrooms. *Food Chemistry*, 55(2), 161-163. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00082-8](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00082-8)

Fernández, F. (2004). *Guía Práctica de Producción de Setas*. Fungitec.

Fernández-Fueyo, E., Ruiz-Dueñas, F. J., López-Lucendo, M. F., Pérez-Boada, M., Rencoret, J., Gutiérrez, A., Pisabarro, A. G., Ramírez, L., & Martínez, A. T. (2016). A secretomic view of

- woody and nonwoody lignocellulose degradation by *Pleurotus ostreatus*. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 49. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0462-9>
- France, A., Cañumir, J. A., & Cortez, M. (2019). *Producción de Hongos Ostras*. <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/146284>
- Garzón Gómez, J. P., & Cuervo Andrade, J. L. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *Nova*, 6(10), 126. <https://doi.org/10.22490/24629448.403>
- Gianfreda, L., Xu, F., & Bollag, J.-M. (1999). Laccases: A Useful Group of Oxidoreductive Enzymes. *Bioremediation Journal*, 3(1), 1-26. <https://doi.org/10.1080/10889869991219163>
- Gilbertson, R. L. (1980). Wood-Rotting Fungi of North America. *Mycologia*, 72(1), 1-49. JSTOR. <https://doi.org/10.2307/3759417>
- Girmay, Z., Gorems, W., Birhanu, G., & Zewdie, S. (2016). Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. *AMB Express*, 6(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0265-1>
- Godoy, P. (2019). Generalidades sobre micología. En *Infecciones Fúngicas Sistémicas, Manual Práctico* (p. 224). Recursos Fotográficos.
- Gordić, D., Babić, M., Jelić, D., Končalović, D., & Vukašinović, V. (2014). Integrating Energy and Environmental Management in Wood Furniture Industry. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2014/596958>
- Guevara Calero, E. (2018). *Valoración del crecimiento del hongo Ostra Rosado (Pleurotus djamor) sobre formulaciones de sustratos de residuos agroindustriales y forestales de la provincia de Cotopaxi para la producción de setas comestibles en la empresa*

ASOPROTEC. [Universidad Técnica de Ambato].

<https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/28371>

Hoa, H. T., Wang, C.-L., & Wang, C.-H. (2015). The Effects of Different Substrates on the Growth, Yield, and Nutritional Composition of Two Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, 43(4), 423-434.

<https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.4.423>

Huang, X.-F., Santhanam, N., Badri, D. V., Hunter, W. J., Manter, D. K., Decker, S. R., Vivanco, J. M., & Reardon, K. F. (2013). Isolation and characterization of lignin-degrading bacteria from rainforest soils. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(6), 1616-1626.

<https://doi.org/10.1002/bit.24833>

Ibarra Islas, A. (2019). *Aprovechamiento de residuos agroforestales en el cultivo de hongos Bacidomicetos*. Universidad Abierta y a Distancia de México.

Janusz, G., Pawlik, A., Sulej, J., Świdorska-Burek, U., Jarosz-Wilkotazka, A., & Paszczyński, A. (2017). Lignin degradation: Microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(6), 941-962.

<https://doi.org/10.1093/femsre/fux049>

Jaramillo Mejía, S., Albertó, E., Jaramillo Mejía, S., & Albertó, E. (2019). Incremento de la productividad de *Pleurotus ostreatus* mediante el uso de inóculo como suplemento.

Scientia fungorum, 49. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1243>

Kihumbu, G., Shitandi, A., & Mahungu, S. (2008). *Nutritional Composition of Pleurotus sajor-caju Grown on Water Hyacinth, Wheat Straw and Corncob Substrates*. ResearchGate.

https://www.researchgate.net/publication/228802430_Nutritional_Composition_of_Pleurotus_sajor-caju_Grown_on_Water_Hyacinth_Wheat_Straw_and_Corncob_Substrates

- Kim, S., & Dale, B. E. (2004). Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy*, 26(4), 361-375.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2003.08.002>
- Kuhad, R. C., Singh, A., & Eriksson, K. E. (1997). Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 57, 45-125. <https://doi.org/10.1007/BFb0102072>
- Kuhar, J. F., Castiglia, V. C., & Papinutti, V. L. (2013). *Reino Fungi: Morfologías y estructuras de los hongos*. <http://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/7765>
- Kumla, J., Suwannarach, N., Sujarit, K., Penkhrue, W., Kakumyan, P., Jatuwong, K., Vadthananat, S., & Lumyong, S. (2020). Cultivation of Mushrooms and Their Lignocellulolytic Enzyme Production Through the Utilization of Agro-Industrial Waste. *Molecules*, 25(12).
<https://doi.org/10.3390/molecules25122811>
- Kunjadia, P. D., Sanghvi, G. V., Kunjadia, A. P., Mukhopadhyay, P. N., & Dave, G. S. (2016). Role of ligninolytic enzymes of white rot fungi (*Pleurotus* spp.) grown with azo dyes. *SpringerPlus*, 5(1), 1487. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3156-7>
- Liu, J., Mooney, H., Hull, V., Davis, S. J., Gaskell, J., Hertel, T., Lubchenco, J., Seto, K. C., Gleick, P., Kremen, C., & Li, S. (2015). Systems integration for global sustainability. *Science*, 347(6225), 1258832. <https://doi.org/10.1126/science.1258832>
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C., & Borrero, M. (2008). Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 128-137.

- Luley, C. (2006, abril). *Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos*. Isa Hispana. <https://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi>
- Mena, S., & Suárez, D. (2011). *Análisis y Propuesta de Reducción de Desperdicio en el Proceso de Elaboración de Aglomerado en Novopan del Ecuador S.A.* [Universidad San Francisco de Quito]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/957>
- Miles, P. G., & Chang, S.-T. (2004). *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact*. CRC Press.
- Muñoz, F., Ballerini, A., & Gacitúa, W. (2013). Variabilidad de las propiedades físicas, morfológicas y térmicas de la fibra de corteza de *Eucalyptus nitens*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 15(1), 17-30. <https://doi.org/10.4067/S0718-221X2013005000002>
- NOVOPAN. (2019). *Novopan | Fábrica de paneles de madera de alta calidad*. <http://www.novopan.com.ec/>
- Orea-Igarza, U., Cordero-Machado, E., Páez, N., Díaz, R., Guevara, R., Martínez, M., & N. (2006). Composición química de la corteza de tres especies de eucaliptos, a tres alturas del fuste comercial. Parte 3 *Eucalyptus saligna* Smith. *La Revista Forestal Venezolana*, 50(1), 59-65.
- Pardo, A., Pardo, J. E., Picornell, M. R., & de Juan, J. A. (s. f.). *Suplementación de sustratos degradados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus* para su utilización en nuevos ciclos de cultivo*. 5.
- Pérez Díaz, N. (2008). *Compostaje de corteza de las especies *Eucalyptus saligna* Smith y *Eucalyptus pellita* F. Muell en la obtención de compost como fuente de sustrato para viveros forestales, Pinar del Río, Cuba* [[Http://purl.org/dc/dcmitype/Text](http://purl.org/dc/dcmitype/Text), Universitat

d'Alacant - Universidad de Alicante].

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=126379>

Picornell Buendía, M. R., Pardo-Giménez, A., & de Juan-Valero, J. A. (2016). Reuse of degraded Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm. Substrate by supplementation with wheat bran. Quantitative parameters. *Mycology*, 7(2), 53-63.

<https://doi.org/10.1080/21501203.2016.1168886>

Prasad, S., Rathore, H., & Sharma, S. (2018). Yield and proximate composition of Pleurotus florida cultivated on wheat straw supplemented with perennial grasses. *Indian Journal of Agricultural Sciences*.

https://www.researchgate.net/publication/323029667_Yield_and_proximate_composition_of_Pleurotus_florida_cultivated_on_wheat_straw_supplemented_with_perennial_grasses

Rajarithnam, S., Bano, Z., & Miles, P. G. (1987). Pleurotus mushrooms. Part I A. morphology, life cycle, taxonomy, breeding, and cultivation. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(2), 157-223. <https://doi.org/10.1080/10408398709527465>

Ramírez Aristizábal, L. S., & Arango Londoño, Á. M. (2017). *Macromicetos: Generalidades, desinfección y cultivo in vitro*. <http://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/17600>

Rodrigues da Luz, J. M., Dias Nunes, M., Albino Paes, S., Pereira Torres, D., Soares da Silva, M. de C., & Megumi Kasuya, M. C. (2012). Lignocellulolytic enzyme production of Pleurotus ostreatus growth in agroindustrial wastes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1508-1515. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400035>

- Román, P., Martínez, M. M., & Pantoja, A. (2015). *Manual de compostaje del agricultor* | FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/family-farming/detail/es/c/339921/>
- Sánchez Vázquez, J. E., & Royse, D. J. (2002). *La biología y el cultivo de Pleurotus spp* (1. ed). Grupo Noriega.
- Schmidt, O. (2006). *Wood and Tree Fungi: Biology, Damage, Protection, and Use*. Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/3-540-32139-X>
- Sekan, A. S., Myronycheva, O. S., Karlsson, O., Gryganskyi, A. P., & Blume, Y. B. (2019). Green potential of *Pleurotus spp*. In biotechnology. *PeerJ*, 7, e6664. <https://doi.org/10.7717/peerj.6664>
- Silva, J. (2011). Eucalipto- A Madeira do Futuro. *Revista da Madeira*, 114.
- Tisdale, T. E., Miyasaka, S. C., & Hemmes, D. E. (2005). Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on wood substrates in Hawaii. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(3), 201. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9020-5>
- Triyono, S., Haryanto, A., Telaumbanua, M., Dermiyati, Lumbanraja, J., & To, F. (2019). Cultivation of straw mushroom (*Volvariella volvacea*) on oil palm empty fruit bunch growth medium. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8(4), 381-392. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0259-5>
- Urairuj, C., Khanongnuch, C., & Lumyong, S. (2003). *Ligninolytic enzymes from tropical endophytic Xylariaceae*.
- Valverde, M. E., Hernández-Pérez, T., & Paredes-López, O. (2015). Edible Mushrooms: Improving Human Health and Promoting Quality Life. *International Journal of Microbiology*, 2015, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2015/376387>

- Varnero, M. T., Quiroz, M. S., & Álvarez, C. H. (2010). Utilización de Residuos Forestales Lignocelulósicos para Producción del Hongo Ostra (*Pleurotus ostreatus*). *Información tecnológica*, 21(2), 13-20. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642010000200003>
- Zare-Maivan, H., & Shearer, C. A. (1988). Extracellular Enzyme Production and Cell Wall Degradation by Freshwater Lignicolous Fungi. *Mycologia*, 80(3), 365-375. JSTOR. <https://doi.org/10.2307/3807634>
- Zhang, R., Li, X., & Fadel, J. G. (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology*, 82(3), 277-284. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(01\)00188-2](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00188-2)
- Zuin, V. G., & Ramin, L. Z. (2018). Green and Sustainable Separation of Natural Products from Agro-Industrial Waste: Challenges, Potentialities, and Perspectives on Emerging Approaches. *Topics in Current Chemistry*, 376(1), 3. <https://doi.org/10.1007/s41061-017-0182-z>