
EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA BIOLÓGICA DE *Pleurotus ostreatus* EN HOJA DE CAÑA Y TUSA DE MAÍZ

Morillo¹ O., Guerrero² B., Toro¹ J., Tovar¹ B., Castañeda³ R., García² P., Cuervo⁴ W., Torres⁵ Y.

¹Fundación CIEPE

²Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes

³INIFAT, Cuba

⁴Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, España

Instituto de Ingeniería Agrícola - Facultad de Agronomía, UCV

osmthom@yahoo.com

Resumen

El cultivo de hongos comestibles es un proceso biotecnológico, que permite convertir materiales lignocelulósicos en productos de alto valor nutricional. El hongo *Pleurotus spp.*, es el segundo más cultivado en el mundo, en su cultivo se utilizan diversos sustratos lignocelulósicos provenientes de la agricultura y agroindustria, con rendimientos dependientes de la composición del sustrato utilizado. Bajo esta premisa se presenta la evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre hoja de caña y tusa de maíz, mediante la estimación de la eficiencia biológica. Para ello se aplicaron 5 tratamientos, correspondientes al cultivo del hongo sobre bloques de sustratos elaborados con tusa de maíz, hoja de caña, mezcla de ambos (1:1), tusa de maíz con cal y hoja de caña con cal, realizando 5 replicas por tratamiento para un total de 25 bloques de sustrato sólido de 3Kg cada uno, acondicionados a 68% de humedad en bolsas de polietileno. La inoculación de los bloques de sustratos, se realizó por inyección de un homogenizado de micelio del hongo proveniente de un cultivo líquido. Los cuerpos fructíferos recolectados en dos cosechas fueron pesados y relacionados con el peso seco del sustrato para la estimación de la eficiencia biológica. A través del análisis de varianza para un factor y las pruebas de comparación múltiple de Tukey, se determinó que existe diferencia significativa entre los tratamientos, siendo la hoja de caña el de mayor eficiencia biológica (53,10±2,72), representando así un sustrato potencial para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Palabras clave: tecnología de alimentos, hongos comestibles, sustratos lignocelulósicos

Introducción

El cultivo de hongos comestibles es un proceso biotecnológico que permite convertir materiales lignocelulósicos en productos de alto valor nutricional, esta considerada la segunda tecnología microbiológica más importante económicamente después de la levadura. Dentro de esta tecnología se han identificado alrededor de 300 especies de hongos comestibles, pero sólo 30 han sido domesticadas y 10 comercializadas, siendo el *Pleurotus spp.*, el segundo más cultivado en el mundo por su valor ecológico, económico y sus propiedades nutricionales Sánchez (2010).

Los hongos del género *Pleurotus* son saprofitos, descomponedores de madera, se alimentan de la materia orgánica en la que están creciendo, degradando estructuras lignocelulósicas con las enzimas que liberan al medio. La diversidad del género *Pleurotus* abarca al menos 30 especies, entre ellas, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. smithii*, *P. levis*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-cajou*, *P. citrinopileatus* y *P. ostreatus*. Este último también conocido como el hongo “ostra”.

La tecnología de su cultivo ha tenido un desarrollo rápido y amplia aceptación en el mercado por sus propiedades nutricionales, sabor, consistencia, adaptación a un amplio intervalo de temperatura Ardon (2007). Es capaz de crecer en una amplia variedad de residuos orgánicos, como paja de trigo, maíz, algodón, coco, bagazo de caña de azúcar y aserrín. Melo de Carvalho, Sales-Campos, Nogueira de Andrade (2010). Su capacidad productiva también ha sido evaluada sobre hoja de plátano

Romero, Huerta, Damián, Macías, Tapia, Parraguirre, Juárez (2010), capacho de uchuva, cáscara de arveja, tusa de maíz López-Rodríguez, Hernández-Corredor, Suárez-Franco, Borrero (2008), paja de arroz y pulpa de café Vega, Mata, Salmones, Caballero (2006).

El cultivo del *P. ostreatus* tiene la ventaja de aprovechar los subproductos agrícolas con el fin de generar un producto alimenticio de alto contenido proteico sin uso de productos químicos, el sustrato agotado sirve de materia prima para la obtención de abono orgánico, mediante los procesos de composteo o vermicomposteo. Su tecnología es fácil de implementar y puede convertirse en una fuente de ingresos económicos.

Las ventajas del cultivo de *P. ostreatus*, aunado a la actividad agrícola en Venezuela, producción de cereales, hortalizas, raíces, tubérculos, plantaciones tropicales, granos leguminosos y frutas Mora y Rojas (2007) y los procesos de transformación agroindustriales del país, procesadoras de arroz, maíz y caña de azúcar entre otros, constituyen un escenario potencial para el desarrollo de cultivo de *Pleurotus spp.*, tanto a nivel artesanal como a nivel industrial en Venezuela.

Bajo esta premisa, la Fundación CIEPE, el laboratorio de Biotecnología de Microorganismo de la ULA y el INIFAT-Cuba, con la colaboración de otras instituciones, han venido trabajando sobre una línea de investigación orientada al desarrollo y difusión de la tecnología del cultivo de especies de *Pleurotus* con residuos agroindustriales generados en el país.

La siguiente investigación tiene como

objetivo evaluar la eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* utilizando la hoja de caña, subproducto generado de la cosecha de la caña de azúcar y la tusa de maíz residuo generado del procesamiento de maíz en la elaboración de cachapas.

Materiales y métodos

A continuación se describen los materiales y métodos utilizados en la evaluación de la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en hoja de caña y tusa de maíz.

Materiales

Microorganismo.

Pleurotus Ostreatus, cepa proveniente de la colección de cultivos puros de hongos del Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical “Alejandro de Humboldt” (INIFAT) WFCC 853.

Medios de cultivo.

El medio sólido utilizado fue el M200, preparado con 3 g/l extracto de levadura, 3 g/l extracto de malta, 5 g/l de peptona, 10 g/l de glucosa y 20 g/l de agar. El medio de cultivo líquido fue preparado según la fórmula del medio M200, pero sin agar.

Sustratos.

Los materiales lignocelulósicos utilizados como sustratos fueron la tusa de maíz, generada en la manufactura artesanal de cachapa (procedente de la Cooperativa Cachapas COA, ubicada en el Municipio Independencia, Estado Yaracuy) y hoja de caña, subproducto generado en la cosecha de la caña azúcar (cultivos procedentes del sector San Pablo, ubicada en el Municipio Sucre,

estado Mérida).

Métodos

Caracterización fisicoquímica de los sustratos.

Los materiales lignocelulósicos fueron secados a 70 °C durante una hora en un secador de lecho fluidizado marca Aeromatic, posteriormente molidos en un molino marca Stein Mill, el producto de la molienda se pasó a través de un tamiz (A.S.T.M 250 mm, 60 MESH). Finalmente se determinó el contenido de humedad AOAC (1990), método 945.39, grasa AOAC (1990), método 920.85, cenizas AOAC (1995), método 923.03, fibra cruda AOAC (1995), método 920.86, proteína AOAC (1995), método 992.23, factor 6,25 y el contenido de carbohidratos estimado utilizando la ecuación 1:

$$\% \text{Carbohidrato} = 100 - (\% \text{Proteína cruda} + \% \text{Grasa} + \% \text{Ceniza} + \% \text{Fibra cruda}) (1)$$

Determinación del contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y extractivos.

El acondicionamiento de los sustratos para la determinación del contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y extractivos, se realizó siguiendo la metodología de la norma TAPPI T257 cm-85 muestreo y preparación de madera para análisis y la Norma TAPPI T-264-cm-97 preparación del material libre de extraíbles.

Al material acondicionado se le determinó el contenido de lignina insoluble en ácido (norma TAPPI T- 222 om-98), contenido de celulosa seifert (método de Kürshner-Hoffer), contenido

de sustancias solubles en benceno-etanol (norma TAPPI T-264 om-97), contenido de sustancias solubles en etanol al 95% (norma TAPPI T-264 om-97), contenido de sustancias solubles en agua a 95° C (norma TAPPI T 207 om-93) y la hemicelulosa se estimó utilizando la ecuación 2:

$$\% \text{Hemicelulosa} = 100 - (\% \text{Lignina} + \% \text{Celulosa} + \% \text{Solubles en benceno-etanol} + \% \text{Solubles en etanol al 95\%} + \% \text{Solubles en agua caliente 95°C})$$

Elaboración de los bloques de sustrato.

Para la elaboración de los bloques de sustrato se ajustó el tamaño de partícula del material lignocelulósico, utilizando una picadora de pasto para reducir el tamaño de las partículas de la hoja de caña de 3 a 5 cm; mientras que para la tusa de maíz fue quebrantada, utilizando un molino de martillo para disminuir el tamaño de partícula entre 0,5 - 1 cm. Una vez reducido el tamaño de partículas ambos materiales fueron colocados en sacos de polipropileno y sumergidos en agua durante 24 horas, después de este periodo se dejaron escurrir hasta eliminar toda el agua en exceso. El material hidratado fue empacado en bolsas de polietileno de alta densidad de 6 litros de capacidad. Cada bloque fue preparado con 3 Kg de sustrato. Las bolsas fueron cerradas (amarradas), colocando en la punta unos cilindros plásticos de 10 cm de largo por 2 cm de diámetro, conteniendo fibra de vidrio, esto con la finalidad de facilitar el intercambio de gases con el ambiente de forma estéril. Se prepararon 5 repeticiones de cada experimento con la siguiente combinación de sustratos: 100% tusa

de maíz, 100% tusa de maíz con cal (2% respecto al peso seco del sustrato), 100% bagazo de caña, 100% bagazo de caña con cal (2% respecto al peso seco del sustrato) y una mezcla de 50% tusa de maíz con 50% bagazo de caña. Una vez preparados los bloques de sustrato, fueron sometidos a un tratamiento térmico con vapor durante un periodo de 6 horas, para ello se colocaron las bolsas en el fondo de un barril metálico sobre una rejilla, la cuarta parte del barril se lleno de agua. El calor para la generación de vapor se suministro utilizando un mechero a gas. Una vez concluido el tiempo de calentamiento, se dejó reposar durante 48 h para observar signos de contaminación.

Preparación de inóculos

Se inocularon placas de petri, conteniendo medio de cultivo sólido M200 con micelio de *Pleurotus ostreatus* conservado en cuñas con el mismo medio. Las placas inoculadas fueron incubadas en oscuridad a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ durante un periodo de 8 días. A partir del micelio crecido en las placas, se inocularon enlarmeyer de 250 ml, conteniendo 75 ml de medio de cultivo líquido, luego fueron incubados a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ con agitación durante un periodo de 8 días, posterior a este tiempo fueron transferidos a un enlarmeyer de 2000 ml conteniendo el mismo medio de cultivo líquido e incubados bajo las mismas condiciones. El inóculo líquido fue homogenizado en una licuadora Osterizer a máxima velocidad, previo a su uso.

Inoculación de los bloques de sustrato

Cada bloque de sustrato fue inoculado con 50 ml de inóculo líquido homogenizado de micelio de *P. ostreatus*, para este procedimiento se utilizó una aguja de acero inoxidable de 50 cm de largo y 0,5 cm de diámetro, conectado a una inyectora de 50 ml. La inoculación se realizó introduciendo la aguja a lo largo del sustrato en el centro del bloque, describiendo un eje concéntrico.

Incubación

Los bloques de sustrato inoculados fueron incubados en una primera fase en ausencia de luz a una temperatura de 27 ± 1 °C y una humedad relativa aproximada de 80%. Esta primera fase se llevó a cabo en la cámara de incubación, donde los bloques de sustrato fueron apilados y cubiertos con un plástico negro. El tiempo de incubación finaliza en el momento en que el sustrato es totalmente colonizado por el hongo. La segunda fase de incubación se realiza en presencia de luz natural (incidencia indirecta), para ello los bloques de sustrato fueron colgados dentro de la cámara de cultivo. Las bolsas que cubren los bloques de sustrato fueron perforadas para la salida de los primordios sobre la superficie de la bolsa y formación de los cuerpos fructíferos.

Cosecha

Luego de la aparición de los primordios comienza el desarrollo de los cuerpos fructíferos, los cuales al alcanzar la madurez fueron recolectados de forma manual cortando con una cuchilla estéril la base del tronco del hongo. Finalmente los cuerpos fructíferos frescos fueron pesados en una balanza analítica.

Evaluación de la eficiencia biológica

A partir del peso fresco de los cuerpos

fructíferos se determinó la eficiencia biológica (EB) mediante la aplicación de la ecuación (3).

$$EB = \left(\frac{P_{\text{Carpóforo}}}{P_{\text{SecoSustrato}}} \right) * 100$$

Donde: EB: eficiencia biológica expresado en porcentaje

$P_{\text{carpóforos}}$: peso de los carpóforos frescos expresados en Kg o g

$P_{\text{SecoSustrato}}$: peso seco de los materiales lignocelulosicos en Kg o g

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados por análisis de varianza para un solo factor y posteriormente se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($<0,05$) para determinar las diferencias entre los tratamientos aplicados.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en cada etapa de esta investigación, son detallados a continuación, los resultados referentes a la caracterización fisicoquímica son expresados en base seca (BS) y base húmeda (BH).

Caracterización fisicoquímica de los sustratos

Los resultados de la caracterización fisicoquímicas de la tusa de maíz y de la hoja de caña, se presentan en la tabla 1. Estos indican que la tusa de maíz presenta un contenido de proteína y grasa superior a los reportados por Cardona, Sorza, Posada y Carmona (2002) (2,3 y 0,4 % respectivamente) y superior a los determinados en la hoja de caña; del mismo modo el contenido de fibra es menor al reportado por el autor (32%) y al determinado en la hoja de caña. Cabe destacar que la composición fisicoquímica de la tusa de maíz depende del proceso de donde es obtenido.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de la tusa de maíz y hoja de caña

Análisis	Tusa de maíz		Hoja de caña	
	BH	BS	BH	BS
Humedad (%)	10,42±0,06	-	8,24±0,06	-
Grasa Cruda (%)	2,05±0,58	2,29	1,32±0,05	1,44
Cenizas (%)	1,27±0,07	1,42	3,63±0,00	3,96
Fibra (%)	21,83±1,46	24,37	29,36±0,97	32,00
Proteína (%)	6,35±0,50	7,09	4,45±0,50	4,90
Carbohidratos (%)	58,08±0,57	64,84	52,95±0,42	57,70

Fuente: Elaboración propia

En cuanto al contenido de lignina y celulosa encontrados en la tusa de maíz (Tabla 2) son similares a los reportados por Duque (2007), pero menores que los encontrados en la hoja de caña. De igual

forma los valores de lignina y celulosa en la hoja de caña son similares a los reportados por Benítez (2009), 14 y 45 % respectivamente.

Tabla 2. Contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y extractivos

Análisis	Tusa de maíz	Hoja de caña
Solubles en benceno-etanol	6,64±0,22	3,67±0,22
Solubles en etanol 95%	7,86±0,97	0,61±0,08
Solubles en agua caliente 95 °C	16,07±1,00	16,48±0,98
Lignina insoluble en acido	12,48±0,12	15,36±0,69
Celulosa	33,61±0,69	46,85±1,01

Fuente: Elaboración propia

Inoculación e incubación de los bloques de sustrato.

Los 25 bloques de sustrato fueron preparados de acuerdo a la metodología descrita. La figura 1 muestra el inóculo líquido de *Pleurotus ostreatus* (1), homogenizado (2), inoculación por inyección (3) y bloques de sustrato inoculados y apilados para la fase de

oscuridad (4). La fase de incubación en oscuridad se alcanzó en un periodo de 63 días, tiempo en el cual todos los bloques de sustrato fueran invadidos totalmente por el micelio del hongo.



Figura 1. Inoculación de los bloques de sustrato

En la Figura 2, se muestra varias etapas del crecimiento *P. ostreatus*, durante la segunda fase de incubación del crecimiento: bloques de sustrato

totalmente invadidos (1), primordios (2), cuerpos fructíferos jóvenes (3) y maduros (4).

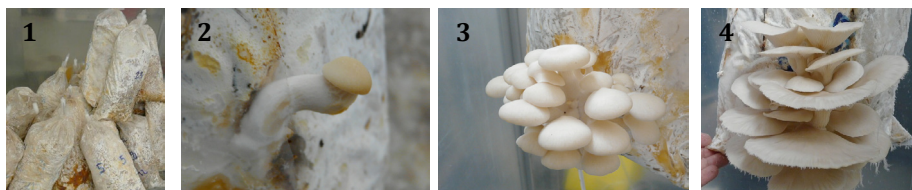


Figura 2. Etapas de crecimiento del *P. ostreatus* durante la 2^{da} Fase de incubación

Cosecha Los cuerpos fructíferos recolectados fueron pesados para la estimación de la EB, proceso que se realizó para dos cosechas del cultivo. Los carpóforos obtenidos presentaron

un color blanco a blanco crema, textura carnosa, olor característico, el diámetro del píleo fue muy variado entre 5 y 20 cm. En la figura 3 se observan parte de los carpóforos cosechados



Figura 3. Cosecha de *P. ostreatus*

Análisis estadístico. Mediante el ANOVA se determinó que existe una diferencia significativa entre los tratamientos aplicados (Tabla 3). Determinando que hay un efecto sobre la EB del *Pleurotus ostreatus* cuando se utiliza tusa de maíz o hoja de caña como sustrato y cuando se le agrega cal al sustrato. El tratamiento donde se utilizó 100% hoja de caña presentó la mayor eficiencia biológica ($53,10 \pm 2,72$),

seguido del tratamiento donde se utilizó hoja de caña con cal ($35,88 \pm 6,02\%$).

Tabla 3. Análisis de varianza. EB vs. Sustrato

Fuente	G L	SC	MC	F	P
Tratamiento	4	2089.1	522.3	44.20	0.000

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey, permitió determinar que existe diferencia significativa entre el tratamiento 100% hoja de caña y el resto de los tratamientos (hoja de caña con cal, tusa de maíz, tusa de maíz con cal y a la mezcla hoja de caña-tusa de maíz), entre la mezcla hoja de caña-tusa de maíz, hoja de caña con cal y tusa de

maíz con cal. También se observó que existe diferencia significativa entre la hoja de caña con cal y la tusa maíz y diferencia entre la tusa de maíz y la tusa con cal. Los resultados se presentan en la Tabla 4. En la columna de letras, las diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Turkey.

Tabla 4. Eficiencia biológica y rendimiento

Sustrato	Replicas	Efic. B	Media	
Hoja de caña	1	50,22	53,10±2,721	a
	2	57,07		
	3	54,58		
	4	51,56		
	5	52,09		
Hoja de caña con cal	1	31,92	35,88±6,027	b
	2	44,51		
	3	36,35		
	4	30,90		
	5	35,74		
Hoja de caña-tusa de maíz (1:1)	1	26,90	23,90±6,027	c
	2	27,50		
	3	24,84		
	4	13,28		
	5	27,02		
Tusa de maíz con cal	1	32,27	32,10±1,06	eb
	2	31,88		
	3	30,70		
	4	31,61		
	5	33,62		
Tusa de maíz	1	23,75	23,25±3,107	fc
	2	25,42		
	3	25,00		
	4	17,81		
	5	24,27		

Conclusiones

La hoja de caña representa un potencial como sustrato en el cultivo de hongos, no solo por la capacidad invasiva del *Pleurotus ostreatus* sobre el mismo, sino por su disponibilidad.

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* representa una tecnología fácil de implementar, representando un alternativa de producción de alimentos de alto valor nutricional desde niveles artesanales a industriales.

Agradecimiento

Nuestros más sinceros agradecimientos al Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación de Venezuela, Fundación Centro de Investigación del Estado Para la Producción Experimental (Fundación CIEPE), Proyecto N° PO02AE03-02-15 y al Laboratorio de Biotecnología de Microorganismos (BIOMI) de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes (Mérida, Venezuela), quienes financiaron la realización de esta investigación. De igual manera agradecemos al laboratorio de Bioprocesos y el de Cereales y Oleaginosas de la Fundación CIEPE (Yaracuy, Venezuela) e INIFAT (La Habana, Cuba) por su colaboración.

Referencias Bibliográficas

- AOAC. (1995). Official methods of analysis (16th Ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Ardón C. (2007). La producción de los hongos comestibles. Maestría en Docencia Universitaria con Especialidad en Evaluación Educativa. Guatemala
- Benitez, M.; Suárez J. (2009). Elaboración de una metodología para el estudio experimental de la digestión anaerobia de agroresiduos en particular residuos cañeros. V Seminario Euro Latinoamericano de Sistemas de Ingeniería (FIEE). [En línea]. Recuperado de: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/9357>
- Cardona, M.; Sorza, J.; Posada, S.; Carmona, J. (2002). Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. Facultad de Ciencias Agrarias: Universidad de Antioquia. 15 (2): 240-246.
- Duque, S. (2007). Etanol a partir de desechos agrícolas. Hidrólisis ácida de celulosa. [en línea] : www.idea.unal.edu.co/eventos/Cisdal/.../E4_oscar_r_avella.pdf
- 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.
- Melo de Carvalho, C.; Sales-Campos, C.; Nogueira de Andrade, M. C. (2010). Mushrooms of the *pleurotus* genus: a review of cultivation techniques. Interciencia. 35 (3): 177-182.
- Mora, E., Rojas López, J. (2007). Los cultivos líderes de la agricultura venezolana (1984-2005). Agroalimentaria. 12 (25): 33-44.
- Romero O., Huerta, M., Damián, M. A., Macías, A., Tapia, A. M., Parraguirre, J. F., Juárez, J. (2010). Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*musa paradisiaca* L., CV. ROATAN) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. Agronomía Costarricense 34(1): 53-63.
- Sánchez C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms applied microbiology biotechnology. 85:1321-1337.
- Vega, A.; Mata, G.; Salmones, D.; Caballero, R. E. (2006). Cultivo de cepas nativas *Pleurotus djamor* en Panamá, en paja de arroz y pulpa de café. Revista mexicana de micología. 23: 93-97.