

Growth of *Pleurotus ostreatus* on non-supplemented agro-industrial wastes

**Julio Amílcar Pineda-Insuasti¹, Luis Beltrán Ramos-Sánchez²,
Claudia Patricia Soto-Arroyave³, Andrea Freitas-Fragata⁴,
Laurimar Pereira-Cruz⁴**

¹Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente. Calle principal, Fincas San Agustín, San Antonio, Ibarra, Ecuador y Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Ibarra. cebaecuador@gmail.com

²Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Camagüey. Circunvalación Norte, km 5 1/2, Camagüey 74650, Cuba. luis.ramos@reduc.edu.cu

³Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Ibarra. Av. Jorge Guzmán Rueda y Av. Aurelio Espinosa Pólit. Ciudadela "La Victoria", Ibarra, Ecuador. Telf. (593-6) 2643 520. csoto@pucesi.edu.ec

⁴Coordenação do Ciclo Básico, Escola Superior de Tecnologia, Universidade do Estado do Amazonas. Andrea.fragatta@gmail.com, lcruz@uea.edu.br
Ave. Darcy Vargas, No. 1200. Complemento Parque 10 De Novembro.
CEP 69050-020. Manaus. Brasil. Telf. (092) 3878-4308.

Abstract

The aim of this work was to determine the best conditions for the growth of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. The variables investigated were: type of strain, type of solid substrate and particles size. In the first instance two local strains were tested resulting best the strain CEBA-GLIIE-010106, based on the linear growth rate. The growth rate for this strain was of 0,583 mm/h. In the second variable three wastes were considered: the whole plant of bean, the stalk part of the banana plant and sugarcane bagasse, all produced in Ecuador. The particle size was investigated from 6 to 9 mm. As response variables three variables were chosen: Productivity, the bio-conversion and the unit cost of raw materials. According to the statistical analysis it was demonstrated that for the three response variables there is no significant difference for the particle size in the range studied and that the best solid substrate for the growth is the waste from the harvest of bean, with bioconversión of 12,83% and productivity of 0,51 g_{DM} mushroom kg⁻¹ DM initial substrate d⁻¹ and unit cost of raw materials of 39,67 \$/kg_{Biomass}.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, agro-industrial waste, Solid-state Fermentation, edible mushrooms.

Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en residuos agroindustriales no suplementados

Resumen

El objetivo de este trabajo fue determinar las mejores condiciones para el crecimiento del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Las variables investigadas fueron: tipo cepa, tipo de sustrato sólido y tamaño de partículas. En el primer caso fueron analizadas dos cepas locales y en base a la velocidad de crecimiento lineal se eligió a la cepa CEBA-GLIIE-010106. Esta cepa exhibió una velocidad de 0,583 mm/h, creciendo en medio rico. En las otras dos variables fueron analizados tres niveles: residuos de fríjol, resi-

duos de plátano y bagazo de caña; todos producidos en el Ecuador. El tamaño de partícula fue investigado a 6 a 9 mm. Fueron escogidas como variables respuestas: la productividad, la bioconversión y el costo unitario de materias primas. El análisis estadístico demostró que no existe diferencia significativa entre los tamaños de partícula en el rango investigado y que el mejor sustrato para el crecimiento es el residuo de fréjol, con una bioconversión de 12,83%, una productividad de $0,51 \text{ g}_{\text{MS hongo}} \text{ kg}^{-1}_{\text{MS sustrato inicial}} \text{ d}^{-1}$ y costo unitario de las materias primas de $39,67 \text{ \$/kg}_{\text{MS hongo}}$.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, residuos agroindustriales, Fermentación en Estado Sólido, hongos comestibles.

Introducción

Los procesos de Fermentación en Estado Sólido (FES) han sido utilizados desde hace siglos para la preparación de alimentos [1]. El diseño de estos procesos requiere del conocimiento de ciertos factores asociados a las necesidades del crecimiento del microorganismo: la cantidad y tipo de nutrientes, la influencia de la actividad del agua, de la temperatura y el pH, por citar los más reportados [2]. Problemas como el crecimiento limitado de la biomasa, sobrecalentamiento del medio y bajos rendimientos en base al consumo de las materias primas y a la síntesis de productos son algunas de las consecuencias que se derivan de diseños basados en conocimiento limitado del sistema. Estas deficiencias pudieran afectar significativamente la viabilidad económica del proceso, aun cuando se parta de materias primas baratas, como son la mayoría de los residuos agroindustriales. Entre los residuos lignocelulósicos susceptibles de ser utilizados en la fermentación en estado sólido y destacados en la bibliografía se destacan: la alfalfa, la paja de cebada y arroz, los residuos de fréjol, los pastos, el tamo de trigo, los residuos del maíz, el aserrín de madera, residuos de algodón, de girasol, de cacao, de café, del bagazo de caña, los residuos del plátano, de la soya, de la papa y los residuos de flores [3-6]. Todos estos se producen en volúmenes notables, no compiten con la alimentación humana y en ocasiones producen efectos ambientales indeseados. Esos materiales deben ser objeto de pretratamientos físicos y químicos, como la molienda, la explosión con vapor, así como su digestión ácida o básica con vistas a mejorar las características relacionadas con la porosidad del sustrato, su capacidad de retención de agua y nutrientes, así como la accesibilidad a la celulosa y hemicelulosas, al romperse el sello que impone la lignina [7]. En Ecuador, la superficie cultivada de banano, caña de azúcar y

fréjol, es de 180 331 ha; 82 749 ha y 24 379 ha, respectivamente. Son cultivos que se cosechan todo el año alcanzando una producción de 5 274 232 t de bananos; 5 402 376 t de caña de azúcar y 13 805 t de fréjol [8]. Actualmente en Ecuador no existe ningún tipo de manejo adecuado para la disposición final de los residuos generados en estas producciones por lo que se realiza frecuentemente de forma inapropiada. Esto indica la existencia de un gran potencial contaminante y, al mismo tiempo, la posibilidad de su aprovechamiento con mejores fines.

En la estructura de estos residuos agrícolas encontramos principalmente celulosa, lignina y hemicelulosa. Adicionalmente se hallan ciertas cantidades de proteína, grasa, fibra, calcio, fósforo, nitrógeno y potasio [4]. Esta composición es la base para la producción de biomasa de los hongos comestibles. Sin embargo, dadas las características de cada residuo y las demandas de cada cepa, no siempre se consigue un aprovechamiento eficiente. Ante la disponibilidad de diversos residuos agroindustriales, es necesario probar la aceptación que para el crecimiento tiene cada uno ante las cepas disponibles. Otro factor que ha sido señalado clave para el crecimiento de macromicetos es el tamaño de partícula [9, 10], el cual mientras más pequeño tiende a dar mayor área para el contacto entre la hifa y la partícula. Cuando es demasiado pequeño tiende a producir apelmazamientos que dan como resultado todo lo contrario. Para procesos de fermentación sólida el tamaño de partícula reportado es variable y llega hasta 12 mm [11, 12], siendo más frecuente entre 2 mm y 6 mm.

La biodiversidad ecuatoriana es muy rica debido a los diferentes climas que se hallan en su geografía y aún están por estudiar en buena parte. En la Sierra Oriental ecuatoriana hay numerosas cepas de hongos comestibles nativos. En el Centro Ecuatoriano de Biotecnología

Ambiental (CEBA) se dispone de dos cepas de *Pleurotus ostreatus* aisladas previamente de la Sierra con el objetivo de aprovecharlas en la producción de proteínas para el consumo humano. De éstas se desea seleccionar la más productiva, en el contexto de los residuos disponibles en el Ecuador. Por eso, el objetivo de este trabajo es crear las bases de un sistema productivo a través de la selección de la cepa, el residuo y el tamaño de partículas que mayor eficacia muestran en la conversión de residuos lignocelulósicos en biomasa comestible.

Materiales y métodos

Estrategia experimental

El trabajo se realizó en dos etapas. En la primera se seleccionó la cepa que tiene mayor potencial de crecimiento en un medio rico. Posteriormente se probó esta cepa ante la presencia de diferentes residuos agroindustriales troceados a diferentes tamaños de partículas con vistas a elegir la mejor opción. A la primera etapa se le llamó "Experimento 1" y a la segunda, "Experimento 2".

Microorganismos

Se utilizaron las cepas: CEBA-GLIIE-010105 (Cepa 1) y CEBA-GLIIE-010106 (Cepa 2) de *Pleurotus ostreatus*, aisladas previamente de la sierra ecuatoriana en la provincia de Imbabura. Estas cepas fueron identificadas en la Universidad Central de Ecuador y depositadas en la colección de cultivos del CEBA. El cultivo puro se multiplicó en placas Petri con Extracto Malta-Agar de OXOID. El inóculo se preparó siguiendo la metodología descrita por Stamets [4].

Sustratos

Para la selección de la mejor cepa (Experimento 1) se utilizó un medio rico basado en agar-extracto de malta (MEA) proporcionado por la empresa FUNGI PERFECTI. Su preparación se hizo siguiendo la técnica de Stamets [13]. En el Experimento 2 se usaron tres tipos de residuos lignocelulósicos sin otros suplementos nutritivos. Los residuos de frijón del género *Phaseolus vulgaris*, cosechados en Ecuador procedentes de la comunidad afro-ecuatoriana "La Concepción",

provincia del Carchi. De este residuo se toma la planta integral, incluyendo las vainas una vez retirado el frijón. El tallo del plátano del género *Musa paradisiaca* fue escogido como segundo residuo. Este material fue recolectado en la comunidad de "Getsemaní", ciudad de Ibarra. Los residuos de la caña de azúcar (el bagazo) del género *Saccharum*, procedentes de la empresa Ingenio Azucarero del Norte (IANCEM) de la ciudad de Ibarra. Los residuos se trocearon utilizando la máquina picadora PENAGOS PE800 de fabricación colombiana. Luego de picados se procedió a secarlos al sol. A las muestras de los residuos secados se les practicó un análisis de humedad residual, con el fin posterior de ajustarla en el medio.

Métodos analíticos

La velocidad de crecimiento promedio fue calculada midiendo el diámetro de las colonias en la placa, dividido por el tiempo de cultivo. La biomasa seca del hongo y la materia seca del sustrato inicial se determinaron secando 10g a 105°C hasta peso constante. El tiempo de aparición del primordio y el tiempo en el que se debe hacer la primera cosecha fueron anotados también. Sólo se realizó una cosecha, cuando el tamaño el cuerpo fructífero alcanzaba 6 cm como promedio en la bolsa.

Estimación de los criterios de efectividad

La mejor cepa se seleccionó en base a la velocidad de crecimiento promedio; r_x (mm/h). La medición del crecimiento del micelio se realizó con una cinta métrica directamente sobre la placa Petri previamente marcada. La velocidad se calculó dividiendo el crecimiento al final del cultivo por el tiempo transcurrido. La elección del tipo de sustrato y tamaño de partícula se hizo en base a la bioconversión de la masa seca del sustrato (BC), la productividad de la biomasa (PEB) y el costo unitario parcial de la biomasa (CUB). Este costo se calcula sólo para las materias primas. Como normalmente este costo representa una alta porción del costo total de un producto en la industria química y biotecnológica [14] y, teniendo en cuenta lo fácil de su determinación en la fase inicial del desarrollo de la tecnología, se decidió emplearlo como indicador de eficiencia económica de los tratamientos. Esta variable económica como se

basa en el contexto local de precios, aunque es de gran importancia para la futura inserción de la tecnología en la práctica, tiene el inconveniente de que no puede generalizarse pues en otras regiones la correlación de precios puede ser diferente y es posible a que se llegue a otro resultado. No obstante, debido a la necesidad de aprovechar los recursos locales se recomienda analizar los resultados según corresponda a cada país. Estas variables se calcularon tal como sigue:

$$BC = \frac{M_{BSF}}{M_{MSO}} \quad (1)$$

$$PB = \frac{BC}{T_F} \quad (2)$$

$$CUB = \frac{C_{MP}}{(M_{BSF} / 1000)} \quad (3)$$

donde BC : bioconversión de la masa seca de sustrato inicial, ($\text{g}_{\text{MS hongo}} \text{kg}^{-1}_{\text{MS Sustrato}}$). M_{BSF} : masa seca final cosechada del hongo, (g). M_{MSO} : masa de sustrato seco inicial, (kg). PB : Productividad del hongo ($\text{g}_{\text{MS de hongo}} \text{g}^{-1}_{\text{MS inicial se sustrato}} \text{h}^{-1}$). T_F : Tiempo de fermentación, (día). CUB : Costo unitario de materias primas ($\text{\$ kg}_{\text{MS hongo}}$). C_{MP} : costo de las materias primas empleadas en el medio de cultivo ($\text{\$}$).

Los precios de adquisición de los residuos estudiados fueron: Bagazo de caña; 150 $\text{\$/t}$; residuos de fréjol; 100 $\text{\$/t}$ y residuos de banano; 50 $\text{\$/t}$. En el caso del bagazo, el precio utilizado es el de venta que usa el central azucarero IANCEN de la ciudad de Ibarra que lo vende para diversos usos. Los residuos de banano y de fréjol no tienen precio de venta oficial por lo que se decidió asignarles como precio los gastos de transportación promedios.

Diseño experimental y tratamiento estadístico

En la selección de la mejor cepa se estudiaron dos tipos de cepas: CEBA-GLIIE-010105 y CEBA-GLIIE-010106 de *Pleurotus ostreatus*. Se usó un diseño completamente al azar, con 5 réplicas por tratamiento para un total de 10 corridas. El experimento fue realizado en un solo bloque. La mejor cepa se eligió haciendo uso de un análisis de varianza y la prueba de diferencia mínima

de Fisher (LSD) con el paquete estadístico STATGRAPHIS®, Centurión XV, versión 15.2.05. En el estudio de los sustratos se tuvo en cuenta el tipo de sustrato, con tres niveles, correspondientes a los sustratos antes descritos y el tamaño de partícula con dos niveles; 6 y 9 mm. En el estudio de los sustratos se eligió un diseño en bloques completos al azar 3×2 , con tres réplicas por tratamiento, para un total de 18 experimentos. Se aplicó un análisis de varianza con dos factores, así como la prueba de LSD de Fisher, empleando el paquete estadístico antes mencionado.

En la selección inicial de cepas se usó como unidad experimental una placa Petri de 100x15 mm, con un volumen útil de 10 mL, mientras que en el segundo experimento se usaron bolsas plásticas de 500 g de capacidad (unidad experimental).

Procedimiento experimental

En el primer experimento se preparó el medio de cultivo diluyendo 50 g de agar extracto de malta en 1000 mL de agua. Se esterilizó a 121°C y 15 psi por un tiempo de 15 minutos. El medio esterilizado se sirvió en las placas Petri y luego se inoculó con la cepa en el centro de la placa. Las placas sembradas se colocaron en la incubadora y se le ajustó la temperatura a 20°C. Pasados siete días (168 h) se realizó la medición de crecimiento lineal del micelio. En el segundo experimento los sustratos colocados en las bolsas se pasteurizaron en un esterilizador de presión ALL AMERICAN, a 0,2 MPa por un tiempo de 30 min. La inoculación del sustrato se realizó con 50 g de inóculo cuando hubo alcanzado la temperatura ambiente. El inóculo de micelio (semilla) del hongo fue mezclado homogéneamente con la masa del residuo estéril, ajustándose su materia seca 20%. Las bolsas se colocaron en la cámara de colonización y se ajustan los parámetros de operación a: temperatura del aire; 20°C y humedad relativa; 90%. Se siguió el desarrollo del crecimiento, anotando en cada caso el día en que apareció el primer brote del cuerpo fructífero (primordio) y el tiempo en el que se realizaba la primera cosecha. La cosecha de biomasa se realizó al final del tratamiento, cortando el cuerpo fructífero en la base y pesándolo recién colectado para luego determinarle su materia seca.

Resultados y discusión

Experimento 1. Selección de cepas

Comparación de las medias de r_x para los dos cepas: en la Tabla 1 se muestran los resultados de la medición de la velocidad de crecimiento de ambas cepas, según el orden de ejecución de cada corrida experimental.

Estos resultados en la velocidad de crecimiento lineal son elevados pues, si se comparan con los reportados por varios autores en diferentes años y partes del mundo [15-24], en cepas semejantes, resultan estar por encima de todos. Este resultado es debido probablemente a que el medio empleado en esos reportes no es tan rico para el crecimiento como el empleado aquí. No obstante, este experimento revela que estas dos cepas tienen un buen potencial para su explotación comercial en cuanto a este indicador.

A estos resultados se les aplicó posteriormente un análisis de varianza cuyos resultados se muestran en la Tabla 2.

Como el valor-p de la prueba-F es menor que 0,01, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de r_x de una cepa y de la otra, con un nivel superior al 99,0% de confianza.

Los resultados de la aplicación del procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, se ofrecen en la Tabla 3. Según esta ta-

Tabla 1
Resultados del crecimiento de las cepas en medio rico

Orden de Ejecución	Cepa	Crecimiento radial (mm)	r_x (mm/h)
1	2	100	0,595
2	2	97	0,577
3	1	86	0,512
4	1	87	0,518
5	2	98	0,583
6	2	97	0,577
7	1	85	0,506
8	1	86	0,512
9	1	87	0,518
10	2	98	0,583

bla se puede afirmar con un 95% de confianza que la velocidad de crecimiento de la cepa 2 es estadísticamente superior a la de la Cepa 1.

De esta manera quedó definido que el Experimento 2 fuera realizado utilizando la Cepa 2 como candidato para la futura producción de biomasa proteica de este hongo.

Experimento 2. Análisis de los sustratos

En la Figura 1 se representan los tiempos de aparición del primordio y de la primera cosecha para cada uno de los tratamientos. Estas dos

Tabla 2
Análisis de varianza realizado a la velocidad de crecimiento celular

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	0,0121801	1	0,0121801	307,58	0,0000
Intra grupos	0,0003168	8	0,0000396		
Total (Corr.)	0,0124969	9			

Tabla 3
Pruebas diferencia mínima significativa (LSD) para r_x por cepa

Cepa	Réplicas	Media	Grupos Homogéneos
1	5	0,514	X
2	5	0,584	X
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1-2	*	-0,07	0,0108161

* indica una diferencia significativa.

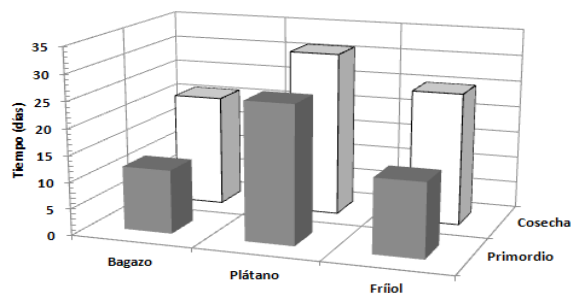


Figura 1. Tiempo de formación del primordio y de cosecha para cada sustrato.

variables, mientras más pequeñas sean, mejor el tratamiento, debido a que están en relación directa con la productividad del proceso.

En estas mediciones el tamaño de partículas no influyó en producir diferencias, por lo que se decidió representar sólo las medias para la variable tipo de sustrato. Se observa que los mejores resultados se alcanzan para el bagazo de caña y el frijón.

En la Tabla 4 se muestran los resultados calculados para las variables BC, PEB y CUB en cada uno de los tratamientos aplicados.

En la Tabla 5 se muestra el análisis de varianza realizado a las tres variables respuestas: BC, PEB y CUB. Según éste, el tamaño de partícula no ejerce ningún efecto significativo en ninguna de las tres variables, en el rango investigado para este factor. En cambio, la influencia del tipo de sustrato es altamente significativa en todos los casos, con un nivel de significación inferior al 5%. Los resultados de la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher se muestran a continuación en la Tabla 5, en la que se muestran los grupos homogéneos que hacen notar la diferenciación del frijón en todos los casos.

Las diferencias estadísticamente significativas se muestran en la Tabla 6. En cuanto a la bioconversión (BC), término que se puede interpretar como indicador de eficacia, se observa en todos los casos que para el frijón se logran los mejores resultados, mientras que entre el bagazo y la banana no son significativas las diferencias.

En cuanto a la productividad de la biomasa, indicador de la eficiencia del aprovechamiento del tiempo y el espacio en la Tabla 7, la banana es la que peores resultados muestra, aunque la ligera

Tabla 4

Resultados experimentales del contraste de sustratos y tamaños de partícula usando la cepa 2

Tratamiento	Tipo de sustrato	Tamaño de corte (mm)	BC ($\text{g}_{\text{MS hongo}} \text{kg}^{-1} \text{MS Sustrato}$)	PB ($\text{g}_{\text{MS hongo}} \text{kg}^{-1} \text{MS Sustrato} \text{ día}^{-1}$)	CUB ($\text{\$/kg}^{-1} \text{MS hongo}$)
1	Bagazo	6	10	0,48	7,50
2	Bagazo	6	4	0,19	18,75
3	Bagazo	6	6	0,29	12,50
4	Bagazo	9	13	0,62	5,77
5	Bagazo	9	12	0,57	6,25
6	Bagazo	9	9	0,43	8,33
7	Frijón	6	16	0,64	3,13
8	Frijón	6	14	0,56	3,57
9	Frijón	6	11	0,44	4,55
10	Frijón	9	11	0,44	4,55
11	Frijón	9	13	0,52	3,85
12	Frijón	9	12	0,48	4,17
13	Banana	6	11	0,37	2,27
14	Banana	6	10	0,33	2,50
15	Banana	6	11	0,37	2,27
16	Banana	9	7	0,23	3,57
17	Banana	9	8	0,27	3,13
18	Banana	9	6	0,2	4,17

Tabla 5
Análisis de varianza para los efectos del tipo de sustrato y el tamaño de partícula sobre la bioconversión

Variable	Fuente de variabilidad	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
BC	A:Tipo de sustrato	61,4444	2	30,7222	4,24	0,0363
	B:Tamaño de partícula	0,222222	1	0,222222	0,03	0,8635
	Residuos	101,444	14	7,24603		
	Total (Corregido)	163,111	17			
PEB	A:Tipo de sustrato	0,145678	2	0,0728389	5,33	0,0190
	B:Tamaño de partícula	0,00045	1	0,00045	0,03	0,8586
	Residuos	0,191433	14	0,0136738		
	Total (Corregido)	0,337561	17			
CUB	A:Tipo de sustrato	165,346	2	82,6728	9,76	0,0022
	B:Tamaño de partícula	9,75347	1	9,75347	1,15	0,3013
	Residuos	118,536	14	8,46688		
	Total (Corregido)	293,635	17			

Nota: Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Tabla 6
Resultados de la Aplicación del método de diferencia mínima a las variables respuestas

Variable	Tipo de sustrato	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
BC	Banana	6	8,833	1,0989	X
	Bagazo	6	9,000	1,0989	X
	Fríjol	6	12,833	1,0989	XX
PEB	Banana	6	0,295	0,0477	X
	Bagazo	6	0,430	0,0477	XX
	Fríjol	6	0,513	0,0477	XX
CUB	Banana	6	2,985	1,1879	X
	Fríjol	6	3,970	1,1879	X
	Bagazo	6	9,850	1,1879	XX

Tabla 7
Significación de las diferencias para un 95% de confianza

Variabes	Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
BC	Bagazo - Banana		0,1667	3,3333
	Bagazo - Fríjol	*	-3,8333	3,3333
	Banana - Fríjol	*	-4,0000	3,3333
PEB	Bagazo - Banana		0,1350	0,1448
	Bagazo - Fríjol		-0,0833	0,1448
	Banana - Fríjol	*	-0,2183	0,1448
CUB	Bagazo - Banana	*	6,8650	3,6032
	Bagazo - Fríjol	*	5,8800	3,6032
	Banana - Fríjol		-0,9850	3,6032

Nota: * indica una diferencia significativa.

ventaja del bagazo sobre ésta no es significativa. Es el fríjol el substrato que exhibe los mejores resultados de forma significativa respecto a la banana, aunque no llega a conseguir igual ventaja sobre el bagazo.

En el costo de las materias primas para la biomasa producida (CUB), indicador de eficiencia económica, el resultado es algo diferente pues el bagazo resulta en el último lugar, principalmente debido a su precio de adquisición que se diferencia notablemente de los demás substratos. En cuanto a la banana y al fríjol las diferencias no son significativas, aunque la banana resultó ligeramente inferior en este indicador. Ponderando estas tres variables es evidente que los residuos del fríjol han dado los mejores resultados: mejor bioconversión, mejor productividad y menor costo de materias primas. Así pues, se eligió el fríjol como substrato a emplear en la tecnología que se desarrolla para la producción de biomasa proteica de la cepa local del basidiomiceto *Pleurotus ostreatus*. En relación a los otros dos residuos, los resultados de su empleo en otro contexto dependerán del precio de ambos pues técnicamente no muestran grandes diferencias.

Conclusiones

Los resultados indican que la cepa 2, identificada como CEBA-GLIIE-010106 mostró resultados superiores a la cepa 1, con un potencial de velocidad de crecimiento en el entorno superior de lo que se ha reportado en la literatura para cepas comerciales. Esta cepa crece en residuos agroindustriales ecuatorianos mostrando que el tamaño de partícula no muestra diferencias significativas en el rango estudiado de 6 mm a 9 mm. El tipo de substrato sí resultó determinante en los indicadores de calidad del crecimiento, siendo los residuos de fríjol donde se expresaron los mejores resultados aunque en cuanto a costo debe tenerse en cuenta

Agradecimientos

Los autores agradecen la valiosa aportación voluntaria de los siguientes profesionales, ciudadanos e instituciones: Julio Cesar Pineda Ayala, líder comunitario del Ecuador; a la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación (SENACYT) del Ecuador; al Cen-

tro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA) y a la Universidad "Ignacio Agramonte y Loynaz" de Camagüey, Cuba.

Referencias bibliográficas

1. Ali HKQ, Zulkali MMD. Utilization of Agro-Residual Ligno-Cellulosic Substances by Using Solid State Fermentation: A Review. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, Vol. 6, Nro. 1-2 (2011) 5-12.
2. Bermúdez R, Ramos I, Donoso C, García N, Martínez C. Fermentación sólida de la cáscara de cacao por *Pleurotus* sp. *Tecnología Química*, Vol. 22, Nro. 3. (2002) 53-58.
3. Pineda J. Conversión de residuos de proteas en proteína para alimentación humana. In: U. d. Camaguey editor. II Conferencia Internacional Ciencia y Tecnología por un Desarrollo Sostenible (CYTDES), Camagüey: Universidad de Camagüey; Vol. II. (2007) p. 1-12.
4. Stamets P. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ten Speed Press. Berkeley & Toronto; 2000.
5. Ramos G. *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos de palma aceitera como importante fuente proteica para la dieta humana. Riobamba: ESPOCH; Tesis de Maestría; 2007.
6. Cayetano M. Cultivo de pleurotus sobre residuos de las cosechas de jamaica (*Hibiscus sabbdariffa*) y plátano (*Musa paradisiaca*). *Revista Mexicana de Micología*, Vol. 026, (2008). 57-60.
7. Brethauer S, Wyman CE. Review: Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, Vol. 101, (2010) 4862-4874.
8. INEC. III Censo Nacional Agropecuario vol. 1. Quito; 2000.
9. Membrillo I, Sanchez C, Meneses M, Favela E, Loera O. Particle geometry affects differentially substrate composition and enzyme profiles by *Pleurotus ostreatus* growing on sugar cane bagasse. *Bioresource Technology* Vol. 102, (2010) 1581-1586.
10. Membrillo I, Sánchez C, Meneses M, Favela E, Loera O. Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostrea-*

- tus strains. *Bioresource Technology* Vol. 99, (2008) 7842-7847.
11. Pandey A, Soccol CR. Bioconversion of Biomass: A Case Study of Ligno-cellulosics Bioconversions in Solid State Fermentation. *Braz. arch. biol. technol.*, Vol. 41, Nro. 4. (1998) 379-390.
 12. Asgher M, Asad MJ, Legge RL. Enhanced lignin peroxidase synthesis by *Phanerochaete Chrysosporium* in solid state bioprocessing of a lignocellulosic substrate. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol. 22, Nro. 5. (2006). 449-453.
 13. Stamets P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. www.fungi.com. Acceso: Julio de 2011.
 14. Peters MS, Timmershaus KD. Plant Design and Economics for Chemical Engineers. McGraw-Hill, Inc.; 1991.
 15. Soto-Cruz O, Saucedo-Castañeda G, Pablos-Hach JL, Gutiérrez-Rojas M, Favela-Torres E. Effect of substrate composition on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodologies. *Process Biochemistry*, Vol. 35, (1999) 127-133.
 16. Frimpong-Manso J, Obodai M, Dzomeku M, Apertorgbor MM. Influence of rice husk on biological efficiency and nutrient content of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fr.) Kummer. *International Food Research Journal*, Vol. 18, (2011) 249-254.
 17. Gibriel AY, Ahmed M, Rasmy N, Rizk I, Abdel-Rehen NS. Cultivation of Oyster Mushrooms (*Pleurotus* spp.): Evaluations of Different Media and Organic Substrates. En: Royse editor. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Penn State Univ.; Cairo:(1996) 415-421.
 18. Gregori A, Švagelj M, Pahor B, Berovič M, Pohleven F. The use of spent brewery grains for *Pleurotus ostreatus* cultivation and enzyme production. *New Biotechnology*, Vol. 10, 1016/j.nbt.2008.08.003, (2008).
 19. Donini LP, Bernardi E, do-Nascimento JS. Colonização do substrato capim-elefante suplementado com farelos por *Pleurotus ostreatus*. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, Vol. 6, Nro. 2. (2006) 185-193.
 20. Chukwurah NF, Eze SC, Chiejina NV, Onyeonagu CC, Ugwuoke KI, Ugwu FSO, Nkwonta CG, Akobueze EU, Aruah CB, Onwuelughasi CU. Performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in different local agricultural waste materials *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11, Nro. 8 (2012) 8979-8985.
 21. Donini LP, Bernardi E, Minotto E, do-Nascimento JS. Desenvolvimento *in Vitro* de *Pleurotus* spp. sob a Influência de Diferentes Substratos e dextrose. *Arq. Inst. Biol.*, Vol. 72, Nro. 3. (2005) 331-338.
 22. Marino RH, de-Abreu LD, Mesquita JB, Ribeiro GT. Crescimento e Cultivo de Diferentes Isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer em Serragem da Casca de Coco. *Arq. Inst. Biol.*, Vol. 75, Nro. 1. (2008) 29-36.
 23. Hasan MN, Rahman MS, Nigar S, Bhuiyan MZA, Ara N. Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Different Pretreated Substrates. *Int. J. Sustain. Crop Prod.*, Vol. 5, Nro. 4. (2010) 16-24.
 24. Bhatti MI, Jiskani MM, Wagan KH, Pathan MA, Magsi MR. Growth, Development and Yield of Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex. Fr.) Kummer as Affected by Different Spawn Rates. *Pak. J. Bot.*, Vol. 39, Nro. 7. (2007) 2685-2692.

Recibido el 4 de Diciembre de 2013

En forma revisada el 10 de Diciembre de 2014