



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**EFFECTO DEL HONGO DE PODREDUMBRE BLANCA EN LA MEJORA
NUTRICIONAL DE LOS RESIDUOS DE COSECHA MECANIZADA DE LA CAÑA
DE AZÚCAR COMO ALIMENTO EN RUMIANTES**

JULIO CÉSAR LÓPEZ VIDAL

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO, MEXICO
2015

La presente tesis, titulada “**Efecto del hongo de pudredumbre blanca en la mejora nutricional de los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar como alimento en rumiantes**”, realizado por el alumno: Julio César López Vidal, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

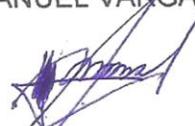
CONSEJO PARTICULAR



CONSEJERO: DR. EMILIO MANUEL ARANDA IBÁÑEZ



ASESOR: DR. LUIS MANUEL VARGAS VILLAMIL



ASESOR: DR. JESÚS ALBERTO RAMOS JUÁREZ



ASESOR: DR. DANIEL C. MARTÍNEZ CARRERA

H. CÁRDENAS, TABASCO, A 31 DE JULIO DEL 2015

EFFECTO DEL HONGO DE PODREDUMBRE BLANCA EN LA MEJORA NUTRICIONAL DE LOS RESIDUOS DE COSECHA MECANIZADA DE LA CAÑA DE AZÚCAR COMO ALIMENTO EN RUMIANTES

Julio César López Vidal, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2015

Objetivo. Fue evaluar la degradación de los componentes fibrosos y el valor nutritivo de los residuos de la cosecha mecanizada de la caña de azúcar (RCMCA) inoculado con el hongo *Pleurotus ostreatus*. **Metodología.** Se utilizó la variedad de caña MEX69-290. El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial 2x3x4, donde el factor 1 fue sin y con inóculo; el factor 2 fue la esterilización, pasteurizado sin y con cal de RCMCA y el factor 3 fue el tiempo de crecimiento del hongo en los RCMCA: 0, 7, 15 y 25 días con 4 repeticiones dando un total 96 unidades experimentales. A 130 g de MS de los RCMCA se le agregó 300 ml de agua y 43 g de hongo semilla. Se determinó pH, MS, PC, FDN, FDA, HMC, CEL, LIG y DIMS a las 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h. **Resultados.** Se encontró interacción en MS y pH. PC: 1.8, 4.6, FDN: 80.1, 68.5, FDA: 48.5, 40.1 CEL: 24.5, 18.4, LIG: 15.5, 13.8 sin inóculo y con inóculo respectivamente ($P \leq 0.01$), la degradación de MS a 96 h incubación rumen con 25 días crecimiento del hongo fue 61.7, 56.4 esterilizado 61.8, 54.7 pasteurizado sin cal 63.40, 54.3 pasteurizado con cal inóculados y no inóculados respectivamente. **Conclusión.** Para los RCMCA inoculado con el hongo los valores fueron mayores la PC, degradación de la MS y menores FDN, FDA, celulosa, y lignina. El hongo *Pleurotus ostreatus* sobre RCMCA incrementó la degradación de los componentes fibrosos y mejoró su valor nutritivo. Se recomienda evaluar el uso de estos residuos en la producción de carne con animales bovinos y ovinos.

Palabras claves: Hongo *Pleurotus ostreatus*, residuos de caña de azúcar, esterilización, pasteurización.

EFFECT OF WHITE ROT FUNGUS IN THE NUTRITIONAL IMPROVEMENT OF WASTE HARVESTING OF SUGAR AS FOOD IN RUMINANTS

Julio César López Vidal, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2015

Objective. It was to evaluate the degradation of fibrous components and the nutritional value of the residues of the mechanized harvesting of sugarcane inoculated with the fungus *pleurotus ostreatus* (RCMCA). **Methodology.** The variety of cane mex69-290 was used. The design was used completely randomized with factorial 2 x 3 x 4 arrangement, where factor 1 was, without and with I inoculum; 2 factor was the sterilization, pasteurized without and with RCMCA lime and factor 3 was growth of the fungus in the RCMCA: 0, 7, 15 and 25 days with 4 replications giving a total 96 units experimental. 130 g of the RCMCA MS was added 300 ml water and 43 g mushroom seed. It was determined pH, MS, PC, FDN, FDA, HMC, CEL, LIG y DIMS at 6, 12, 24, 48, 72 and 96 h. **Results.** Interaction was found in MS and pH. PC: 1.8, 4.6, FND: 80.1, 68.5, FAD: 48.5, 40.1, CEL: 24.5, 18.4, LIG: 15.5, 13.8 without inoculum and with inoculum respectively ($P \leq 0.01$), the degradation of MS to 96 h incubation with 25 days rumen fungal growth was 61.7, 56.4 sterilized 61.8, 54.7 pasteurized without lime 63.40, 54.3 pasteurized with lime inoculated and uninoculated respectively. **Conclusion.** For the RCMCA inoculated with the fungus were greater PC, Degradation of DM and minor FDN, FDA, Cellulose and Lignin. The fungus *pleurotus ostreatus* on RCMCA increased the degradation of fibrous components and improved nutritional value. It is recommended to evaluate the use of these residues in meat production in cattle and sheep.

Key words: Fungus *Pleurotus ostreatus*, residue of sugar cane, sterilization, pasteurization.

DEDICATORIAS

A Dios, porque gracias a ti, he cumplido otra meta más en mi vida, teniéndote presente y seguir perseverando en este camino. Por esas pruebas que me has puesto y las he pasado con tanto esfuerzo. ¡GRACIAS!

“No, hermanos, yo no pretendo haberlo conseguido todavía. Digo solamente esto: olvidando lo que dejé atrás, me lanzo hacia adelante y corro hacia la meta, para ganar el premio del cielo para el cual Dios nos llamó en Cristo Jesús”. Filipenses 3, 13 -14

A mis padres Julio César López Ramos y Salomé Vidal Olán, por la paciencia que me han tenido en apoyarme en esta etapa de mi formación académica. Por esos desvelos y atenciones que me han brindado. ¡GRACIAS!

A mis abuelos paternos Anacleto y Magdalena, por aquellos momentos que me dieron de ánimo para seguir luchando y terminar mi maestría con éxito.

A mi abuela materna Luisa, que siempre me acuerdo de ella, y en los momentos que me apoyó durante el transcurso de la maestría.

A mi abuelo materno Nato, a mi abuela Beta y a mi tía Loli (q.e.p.d.), por brindarme sus afectos en vida y compartir buenos momentos con ellos.

AGRADECIMIENTOS

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo de la beca otorgada para impulsar el estudio de mi postgrado y obtener el grado de maestro en ciencias.
- Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco por impartirme el conocimiento durante mi estudio en la maestría.
- Al Colegio de Postgraduados Campus Puebla por compartirme sus avances tecnológicos en el área de Hongos Comestibles.
- Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillo por capacitarme en el aprendizaje de la técnica de lignina.
- Al Dr. Emilio Manuel Aranda Ibáñez por brindarme su amistad y apoyo como consejero de este servidor durante la maestría.
- Al Dr. Luis Manuel Vargas Villamil por su amistad y apoyo como tutor temporal durante los primeros meses de mi maestría.
- Al Dr. Jesús Alberto Ramos Juárez por el apoyo y asesoría en el transcurso del proceso de la tesis.
- Al Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera por apoyarme durante mi estancia en el CP Campus Puebla para la realización de la fase experimental.
- Al Dr. Porfirio Morales Almora por la capacitación del problema especial y a la Dra. Mercedes Sobal Cruz por las facilidades otorgadas para la realización de mi tesis durante mi estancia en el CP Campus Puebla.
- A la LPI-5 por haberme facilitado los medios necesarios para la realización de la tesis.
- Al Sr. Juan Andrés Lee por la enseñanza de la técnica de lignina durante mi estancia en el CP Campus Montecillo.
- A los compañeros del Laboratorio de Hongos Comestibles del CP Campus Puebla, por compartir sus conocimientos y brindarme su amistad con este servidor.
- A los compañeros de la Generación Primavera PROPAT 2012, por los buenos momentos compartidos durante el transcurso de la maestría.
- A los compañeros de las otras generaciones a: Gaby, Ernesto, Berenice, Wilber, Lidia, Elmer, Eglá, Gloria, Ana, Reyna, Maritza por su amistad y afecto. Al Sr. José Jiménez De Dios por haberme apoyado en el laboratorio de ciencia animal.

INDICE

EFFECTO DEL HONGO DE PODREDUMBRE BLANCA EN LA MEJORA NUTRICIONAL DE LOS RESIDUOS DE COSECHA MECANIZADA DE LA CAÑA DE AZÚCAR COMO ALIMENTO EN RUMIANTES	i
EFFECT OF WHITE ROT FUNGUS IN THE NUTRITIONAL IMPROVEMENT OF WASTE HARVESTING OF SUGAR AS FOOD IN RUMINANTS	ii
DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
INDICE	v
INDICE DE CUADROS	x
INDICE DE FIGURAS	xi
INDICE DE ANEXO.....	xiii
ABREVIATURAS USADAS	xiv
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS E HIPOTESIS	3
2.1 Objetivo general.	3
2.2 Objetivos específicos.	3
2.3 Hipótesis.....	3
III. REVISION DE LITERATURA	4
3.1 La caña de azúcar en el mundo.	4
3.1.1 Situación actual de la ganadería en México y en Tabasco.....	4
3.2 La Caña de Azúcar.	6
3.2.1 Descripción.	6
3.2.2 Clima.....	7
3.2.3 Siembra.....	8

3.2.4 Cosecha.....	8
3.2.5 Su uso.....	9
3.2.6 Calidad de la Caña	10
3.3 Principales constituyentes químicos de la caña de azúcar.	12
3.4 Los residuos agrícolas de la cosecha de la caña de azúcar (RAC).	17
3.4.1 Fases del proceso de producción del azúcar.....	17
3.4.1.1 Fase agrícola.....	17
3.4.1.2 Fase agroindustrial.....	17
3.4.1.3 Fase industrial.....	18
3.5 Pared Celular.....	18
3.5.1 La pared celular y sus generalidades.	18
3.5.1.1 Pared celular primaria.	19
3.5.1.2 Pared celular secundaria.	21
3.6 Los Residuos Fibrosos.....	23
3.6.1 Características generales de los residuos fibrosos.	23
3.7 Los Hongos de pudrición blanca y su biotecnología.	26
3.8 El género <i>Pleurotus</i> spp.....	27
3.8.1 Hongos Basidiomicéticos.....	28
3.9 Generalidades del hongo seta (<i>Pleurotus ostreatus</i>).	29
3.9.1 Ubicación taxonómica.....	29
3.9.2 Ciclo de vida.....	29
3.9.3 Requerimientos nutricionales de los hongos.	31
3.10 Fermentación en estado sólido (FES).	31
3.10.1 Definición.....	31
3.10.2 Influencia de factores ambientales en la FES.	32

3.10.2.1 La Humedad y la actividad del agua.	32
3.10.2.2 El pH.....	33
3.10.2.3 La temperatura.	33
3.10.2.4 La aireación.....	34
3.10.2.5 El tamaño de partícula.....	34
3.10.2.6 El medio de cultivo.	34
3.10.2.7 Aislamiento por medio de tejido.....	35
3.10.2.8 La elaboración de inóculo.....	35
3.11 Aplicaciones de tratamiento en el sustrato.	35
3.11.1 Esterilización.....	35
3.11.2 Pasteurización.....	36
3.11.3 El sembrado.	37
3.11.4 La incubación del hongo.....	37
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	39
4.1 Ubicación del trabajo de estudio.	39
4.1.1 Primera etapa: Colegio de Postgraduados Campus Puebla.....	39
4.1.2 Segunda etapa: Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.	40
4.2 Obtención de la materia prima.....	42
4.3 Material biológico utilizado.	43
4.4 Preparación del medio de cultivo.	43
4.5 Producción de Semilla.....	44
4.5.1 Preparación del Sustrato.	44
4.5.2 Siembra del hongo.....	44
4.6 Fase Experimental.	45
4.6.1 Diseño Experimental.	45

4.6.2 Modelo Estadístico.....	45
4.6.3 Método de aleatorización para las unidades experimentales.....	46
4.6.4 Preparación del Sustrato a Inocular.....	47
4.6.5 Aplicaciones de Tratamiento para el Sustrato.....	47
4.6.5.1 Esterilizado.....	47
4.6.5.2 Siembra del Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	47
4.6.5.3 Pasteurización Sin Adición de Cal.....	48
4.6.5.4 Siembra del Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	49
4.6.5.5 Pasteurización Con Adición de Cal.....	49
4.6.5.6 Siembra del Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	50
4.6.5.7 Cosecha del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	50
4.6.5.8 Secado y Empaquetado.....	51
4.7 Parámetros bromatológicos a evaluar.....	51
4.7.1 Determinación de la Materia Seca (% MS).....	51
4.7.2. Determinación de pH en los sustratos.....	51
4.7.3 Determinación de Proteína Cruda (% PC).....	52
4.7.4 Determinación de la Fibra Detergente Neutro (% FDN) y Fibra Detergente Acido (% FDA).....	52
4.7.5 Determinación del Contenido Celular (% CC).....	52
4.7.6 Determinación de la Hemicelulosa (% HMC).....	52
4.7.7 Determinación de celulosa – lignina.....	52
4.7.8 Determinación de la degradación in situ de la materia seca (% DIMS).....	53
4.8 Análisis estadístico.....	54
4.9 Ajuste de los datos en base seca.....	54
V. RESULTADOS Y DISCUSION.....	55

5.1 Descripción del crecimiento del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> en las muestras de residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar.....	55
5.2. Parámetros Fermentativos.....	56
5.2.1 El pH.....	56
5.3 Variables Bromatológicas.....	59
5.3.1 Materia Seca (MS).....	59
5.3.2 Fibra detergente neutro (FDN).....	61
5.3.3 Fibra detergente ácido (FDA).....	63
5.3.4 Hemicelulosa (HMC).....	64
5.3.5 Celulosa (CEL).....	66
5.3.6 Lignina (LIG).....	68
5.3.7 Proteína cruda (PC).....	69
5.3.8 Contenido celular (CC).....	70
5.4 Degradación <i>in situ</i> de la materia seca (DIMS).....	71
VI. CONCLUSIONES	73
VII. BIBLIOGRAFIA	74
VIII. ANEXO	87

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades de fibra y sus componentes (%) de tres variedades de caña de azúcar de 12 meses de edad.....	7
Cuadro 2. Digestibilidad <i>in situ</i> (%) de caña de azúcar en tres variedades.....	7
Cuadro 3. Promedio de la composición química de los tallos y de los jugos de la caña de azúcar.....	14
Cuadro 4. Composición promedio nacional de residuos de la cosecha cañera.....	24
Cuadro 5. Residuos y residuales que han sido utilizados en la alimentación animal en Cuba.....	25
Cuadro 6. Uso de residuos y residuales de la industria azucarera en la alimentación animal en Cuba.	26
Cuadro 7. Valores de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, celulosa y lignina en los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar como factores principales.....	63
Cuadro 8. Valores de la proteína y contenido celular de los RCMCA como factores principales.....	71
Cuadro 9. Promedios de la degradación <i>in situ</i> de la materia seca con base al inóculo, a la aplicación en el sustrato y el tiempo de crecimiento del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	72

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características de calidad de la caña de azúcar.	12
Figura 2. Posibles vías de la termólisis de la sacarosa y formación de melanoidinas durante el procesamiento de la caña de azúcar. FUENTE: Shafizadek <i>et al.</i> , (1979).	15
Figura 3. Anillos aromáticos de carácter fenólico comunes a los flavonoides de la caña de azúcar.....	16
Figura 4. Descomposición térmica de las antocianinas presentes en la caña de azúcar. FUENTE: Smith y Paton, 1985.	16
Figura 5. Representación esquemática de la pared celular vegetal a cuatro niveles, aumentando de a hacia e. a Corte transversal de una fibra de madera mostrando la lámina media y la pared celular primaria y secundaria. b Sección transversal de una porción de la pared secundaria con microfibrillas. c Un manojito de microfibrillas. d Los filamentos micelares. e Corte transversal de una micela, mostrando la composición ultraestructural: la lignina, hemicelulosa y celulosa. El espacio entre las fibras vegetales (lámina media), microfibrillas, microfibrillas y los filamentos micelares está ocupado por lignina (Dávila <i>et al.</i> , 2006).	19
Figura 6. Estructura de la Celulosa (Taiz y Zeiger, 2006).....	20
Figura 7. Estructura química de la lignina (Barceló <i>et al.</i> , 2005)	22
Figura 8. Hongos Lignolíticos de: 1A. Pudrición Parda, 1B. Pudrición Parda, 1C. Pudrición Blanca (Téllez <i>et al.</i> , 2009).....	27
Figura 9. Ejemplo de hongo del género <i>Pleurotus</i> (Carrillo, 2012)	28
Figura 10. Ciclo de vida de <i>Pleurotus</i> spp. a) Basidiospora; b) Germinación y formación del micelio homocarión; c) Fusión de dos micelios homocarióticos compatibles; d) Formación del micelio dicarión; e) Formación de primordios; f)	

Desarrollo del carpóforo; g) Himenio; h) Formación de los basidios; i) Basidio diferenciado y basidiosporas (Sánchez y Royse, 2001).....	30
Figura 11. Colegio de Postgraduados Campus Puebla (Google Earht, 2014).....	39
Figura 12. Climas del Puebla (INEGI, 2013).....	40
Figura 13. Colegio de Postgraduados Campus Tabasco (Google Earht, 2014).	41
Figura 14. Climas de Tabasco (INEGI, 2013).....	42
Figura 15. Diseño del experimento en base al modelo estadístico.....	45
Figura 16. Representación fotográfica de las muestras inoculadas con hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> obtenidas con los tratamientos esterilizado (EST), pasteurización sin cal (PSC) y pasteurización con cal (PCC) durante los días de crecimiento en el Laboratorio de Hongos Comestibles del Colegio de Postgraduados Campus Puebla comparado con los residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar natural obtenidas en el campo.	55
Figura 17. Primordio en fase inicial durante el ciclo de vida del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> (Sánchez y Royse, 2001)	56
Figura 18. Efecto del pH sobre los tratamientos esterilizado, pasteurización sin cal y pasteurización con adición de cal a través del tiempo en los RCMCA inoculadas con el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	58
Figura 19. Efecto del pH sobre los tratamientos: esterilizado, pasteurización sin cal y pasteurización con adición de cal a través del tiempo en los RCMCA no inoculadas.	59
Figura 20. Efecto del tratamiento esterilizado, pasteurizado sin cal y pasteurización con cal sobre el porcentaje de MS de los RCMCA inoculados con hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	61
Figura 21. Efecto del crecimiento del hongo a los 0, 7, 15 y 25 días sobre el porcentaje de HMC de los RCMCA con y sin inóculo de hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> .	66

INDICE DE ANEXO

Anexo 1. Resultados de las variables medidas en relación a las fuentes de variación.	87
Anexo 2. Análisis de varianza de la materia seca.	87
Anexo 3. Análisis de la varianza del pH.....	88
Anexo 4. Análisis de la varianza de la fibra detergente neutro.	89
Anexo 5. Análisis de la varianza de la fibra detergente ácido.....	90
Anexo 6. Análisis de la varianza de la hemicelulosa.	91
Anexo 7. Análisis de la varianza de la proteína cruda.	92
Anexo 8. Análisis de la varianza del contenido celular.	93
Anexo 9. Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el inóculo sobre la materia seca de los residuos fibrosos de la caña de azúcar.	94
Anexo 10. Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el tiempo de crecimiento del hongo sobre el nivel de pH en los residuos de cosecha de la caña de azúcar con inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	94
Anexo 11. Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el tiempo de crecimiento del hongo sobre el nivel de pH en los residuos de cosecha de la caña de azúcar sin inóculo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	94
Anexo 12. Efecto de la interacción del tiempo de crecimiento del hongo por el inóculo sobre la hemicelulosa de los residuos fibrosos de la caña de azúcar.....	94
Anexo 13. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para hacer el experimento (Parte1).	95
Anexo 14. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para hacer el experimento (Parte 2).	95

ABREVIATURAS USADAS

RCM	Residuos de cosecha mecanizada
RCMCA	Residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar
RAC	Residuos agrícolas de cosecha
ha	Hectáreas
T	Tonelada
t/ha	Tonelada por hectárea
%	Porcentaje
cm	Centímetros
m	Metros
EST	Esterilizado
PSC	Pasteurización sin cal
PCC	Pasteurización con cal
MS	Materia seca
pH	Potencial hidrógeno
PC	Proteína cruda
CC	Contenido celular
FDN	Fibra detergente neutro
FDA	Fibra detergente ácido
HMC	Hemicelulosa
CEL	Celulosa
LIG	Lignina
DIMS	Degradación in situ de la materia seca
°C	Grados Celsius o centígrados
FES	Fermentación en estado sólido

I. INTRODUCCION

En el sureste de México, el uso de la caña ha sido utilizado como fuente de alimento para consumo humano y animal; por lo que ha tenido un alza en cuanto a la fabricación de sus subproductos como la melaza, el bagazo, el tallo, las hojas y sus residuos que queda al final de la cosecha. La caña de azúcar es considerada como un banco energético y muestra una extraordinaria producción de biomasa cuando se utiliza para la alimentación animal, ya sea en forma integral o con los residuos de cosecha, así como los subproductos de la industria azucarera (Stuart y Fundora, 1994). Los alimentos con raciones preparadas con caña de azúcar integral combinada con granos y fuentes proteicas procesadas resultan costosas al productor (Aguirre, 2001). Sin embargo, esta gramínea se clasifica como un alimento voluminoso que presenta limitaciones nutricionales cuando se ofrece como único alimento a rumiantes.

Cuando se combina con otros forrajes e ingredientes alimenticios, la caña representa una opción nutricional de bajo costo y mayor eficiencia en la producción animal (Muñoz y González, 1998). Su principal limitante es el bajo contenido proteico, y se ha buscado alternativas para mejorar el valor nutritivo de la caña para animales poligástricos, ya sea por fermentación o combinándola con cereales y concentrados proteicos (Elías *et al.*, 1990). Si estos recursos forrajeros se utilizan estratégicamente durante el período de sequía o de nortes, podrían ser considerados como una alternativa exitosa para la alimentación de rumiantes en el estado de Tabasco, ya que la caña de azúcar es el cultivo de mayor superficie sembrada y ocupa el octavo lugar en el país como cultivo perenne (SAGARPA, 2005).

Cuando dichas épocas provocan estragos a los potreros: una por la falta de disponibilidad de agua y otra por el descenso de la temperatura, nos lleva a un problema que es la baja disponibilidad y calidad de los pastos, los cuales son el recurso alimenticio básico para los animales (Aranda *et al.*, 2000; Meléndez *et al.*, 1980). Por eso, la integración creciente entre la ganadería y la agroindustria

azucarera, resulta del uso de cantidades cada vez mayores de los residuos de la cosecha como alimento para ganado, tienen resultados positivos, tanto del punto de vista económico (Naseveen 1986; Namer 1991), como ecológico (Stuart, 1990). Estas consideraciones son válidas no solo para las grandes instalaciones azucareras sino también para la producción a pequeña escala (Monroy, Torres y Vinegra 1980).

La intención de usar los residuos de cosecha mecanizados (RCM) de la caña de azúcar, como fuente de alimentación de los animales, surgió a lo largo del siglo XX cuando se fundaron una serie de centrales que impulsaron su desarrollo y mejoras en las tecnologías de cultivo. La cosecha manual que abundaba en ese tiempo se hizo insuficiente, y se introdujo la cosecha mecanizada y la práctica de la quema previa a la cosecha, para aumentar los rendimientos de los corteros y máquinas y así reducir los niveles de materia extraña (Rodríguez, 2008). Ante los nuevos sistemas de cosecha, la caña mecanizada es aprovechada para la transformarla en azúcar, mientras que los residuos derivados de estos no se aprovechan.

En la actualidad se ha venido impulsando la cosecha mecanizada como alternativa a la falta de cortadores y a los problemas ambientales relacionados con la quema de la caña. Cuando se cosecha mecánicamente 2500 ha aproximadamente y queda alrededor de 18 t/ha de residuos fibrosos (hojas secas, verdes, tallos etc.), dependiendo de la variedad (Salgado *et al.*, 2011). Por ello, se busca nuevas tecnologías que permitan utilizar estos residuos fibrosos con el fin de mejorar el contenido de nutrientes para el animal y una de ellas es el manejo de agentes biológicos en el rumen y cubrir las necesidades nutrimentales del animal.

II. OBJETIVOS E HIPOTESIS

2.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto del hongo *Pleurotus ostreatus* en el mejoramiento del valor nutricional de los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar.

2.2 Objetivos específicos.

- Evaluar el efecto del hongo en la composición química de las paredes celulares de los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar
- Evaluar el efecto del hongo en la degradación de la fibra en los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar.

2.3 Hipótesis.

El hongo *Pleurotus ostreatus* favorece la degradación de los componentes de la fracción fibrosa de los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar.

III. REVISION DE LITERATURA

3.1 La caña de azúcar en el mundo.

La industria azucarera tiene gran importancia a nivel mundial por lo que esta se ha situado en los últimos tres años, en el rango de 112 millones de toneladas, destacándose como principales productores Brasil, Tailandia, Australia, Cuba e India, consumiéndose durante el mismo periodo 114 millones de toneladas. La producción mundial de caña de azúcar está directamente relacionada con la producción de azúcar y encuentra en la remolacha azucarera su gran competidor mundial. Los países de la Comunidad Económica Europea subvencionan fuertemente la producción del azúcar de remolacha para atenuar los costos con las importaciones de azúcar de caña producido en los trópicos (Pessôa, 2006).

3.1.1 Situación actual de la ganadería en México y en Tabasco.

La producción de carne en México está constituida principalmente por bovinos que representa un 30.51%, según la SIAP, (2010). Según estudios de la FAO, (2010) ubicaron a México en el sexto productor mundial de carne vacuna con 1, 954, 010 toneladas (t) por lo que esta cantidad no cubre la demanda de alimentación en el país. En el 2010 fue de 32, 642, 134 cabezas de bovinos, de los cuales 30, 267, 511 corresponden a bovinos de carne según el inventario pecuario nacional (SIAP, 2010). Se estima que el 60% de la superficie nacional se dedica a la ganadería bovina, la cual se desarrolla en todas las regiones ecológicas del país. Debido a los sistemas de producción se diferencian entre sí por la tecnología aplicada e integración en la cadena productiva asociadas al clima, vegetación y a la disponibilidad de recursos alimenticios, ya sean de producción nacionales o importados. El ganado de carne es llevado al sureste del país, principalmente para abastecer el mercado local y regional. Por lo que en las zonas áridas y semiáridas del país, se caracterizan por presentar bajas precipitaciones y periodos prolongados de sequía, provocando con ello un déficit en la producción de pastos, lo que provoca

una baja productividad en términos de carne y leche. Predomina el sistema de alimentación en agostaderos e incluso el uso de rastrojos o esquilmos principalmente de cereales. En las zonas tropicales del país se caracterizan por la utilización del sistema de producción de bovina de doble propósito (producción de carne y leche). Según Pérez *et al.*, (2003), la ordeña se realiza generalmente de forma manual y en instalaciones rústicas por el ganado predominante son las cruces de Cebú con la raza Suizo, entre otras. En Tabasco, la ganadería local ha tenido resultados que nos pondría a pensar si se necesita alguna mejoría en los programas de manejo; en el 2010 más 1, 485, 070 cabezas de bovinos que incluían de carne y de leche escrito en el inventario pecuario, se requirió mejoramiento en sus programas de manejo (SIAP, 2010), por lo que es el décimo productor de ganado bovino con un volumen de producción de 121, 433 toneladas representando el 3.63% de la producción nacional. Tabasco al encontrarse ubicado en la zona de clima tropical, comparte las características de la zonas ganaderas tropicales de país. Por las que estas características del sistema y la situación climatológica influye en el rendimiento y calidad de los pastos, por lo que su respuesta productiva de los bovinos varía anualmente en algunas regiones donde dependen de los pastos nativos o mejorados como única fuente de nutrientes, por lo que alguna manera no proporciona las necesidades alimenticias del animal por lo que provoca una baja productividad.

3.2 La Caña de Azúcar.

3.2.1 Descripción.

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) pertenece a la familia de las gramíneas, con el tallo leñoso de unos 2 metros de altura, hojas largas, lampiñas y flores purpúreas en panoja piramidal. El tallo está lleno de un tejido esponjoso y dulce del que se extrae el azúcar. La caña de azúcar se cultiva prácticamente en todas las regiones tropicales y subtropicales de la tierra (Muñoz, 2005). La Caña de Azúcar es una gramínea tropical, un pasto gigante emparentado con el sorgo y el maíz. Tiene un tallo macizo de 2 a 5 metros de altura con 5 ó 6 cm. de diámetro. El sistema radicular lo compone un robusto rizoma subterráneo; El tallo acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado en el ingenio forma el azúcar. La sacarosa es sintetizada por la caña gracias a la energía tomada del sol durante la fotosíntesis con hojas que llegan a alcanzar de dos a cuatro metros de longitud. En su parte superior encontramos la panocha, que mide unos 30 cm de *largo* (SIAP, 2012).

Aunque la caña de azúcar, es un cultivo que se produce en más de 100 países y cuya producción de biomasa supera la de cualquier otro vegetal de los que se puede aprovechar como alimento animal (Martin, 2005). También es una planta que contiene 15% de sólidos (azúcar y fibra) y su fibra es altamente lignificada lo que disminuye su digestibilidad (Urdaneta, 2005), presenta bajo contenido de proteína (<4%), bajo contenido de minerales y una ausencia casi total de grasa y almidones lo que limita el aprovechamiento adecuado de esta gramínea en la alimentación de rumiantes (Aranda *et al.*, 2004). Por ello las raciones alimenticias con caña de azúcar se deben enriquecer con fuentes proteicas y minerales, para mejorar su valor nutricional y no se recomienda como única fuente de alimento.

Cuadro 1. Propiedades de fibra y sus componentes (%) de tres variedades de caña de azúcar de 12 meses de edad.

Componentes	Variedades		
	Q-107	Mex 69-290	Mex 83-481
Proteína	1.94	1.93	2.53
*CC	50.03	47.98	39.61
*FND	49.98	52.02	60.40
*FAD	35.08	33.64	40.19
Celulosa	25.02	24.78	29.80
Hemicelulosa	14.89	18.38	20.21
Lignina	8.59	7.39	8.8
Sílice	1.48	1.50	1.60

Aranda *et al.*, (2004). *CC= Contenido celular; *FND= Fibra detergente neutro; *FAD= Fibra detergente acida

Cuadro 2. Digestibilidad in situ (%) de caña de azúcar en tres variedades.

Sustrato	Horas	Variedades		
		Q-107	Mex 69-290	Mex 83-481
Caña Integral	3	47.6	46.2	36.6
	6	49.6	46.5	37.7
	9	49.5	47.3	37.9
	12	51.9	49.2	39.8
	24	55.2	54.7	45.8
	48	56.2	57.1	47.9
	72	58.9	61.9	52.5
	96	61.8	63.8	55.1

Aranda *et al.*, (2004)

3.2.2 Clima.

La temperatura, la humedad y la luminosidad, son los principales factores del clima que controlan el desarrollo de la Caña. La Caña de Azúcar es una planta tropical que se desarrolla mejor en lugares calientes y soleados. Cuando prevalecen temperaturas altas la caña de azúcar alcanza un gran crecimiento vegetativo y bajo estas condiciones la fotosíntesis se desplaza, hacia la producción de carbohidratos de alto peso molecular, como la celulosa y otras materias que constituyen el follaje y el soporte fibroso del tallo. Es indispensable también proporcionar una adecuada cantidad de agua a la caña durante su desarrollo, para que permita la absorción, transporte y asimilación de los nutrientes. La Caña de Azúcar se cultiva con éxito en la mayoría de suelos, estos deben contener materia orgánica y presentar buen

drenaje tanto externo como interno y que su pH oscila entre 5.5 a 7.8 para su óptimo desarrollo. Se reportan buenos resultados de rendimiento y de azúcar en suelo de textura franco limoso y franco arenoso (SIAP, 2012).

3.2.3 Siembra.

Se reproduce por trozos de tallo, se recomienda que la siembra se realice de Este a Oeste para lograr una mayor captación de luz solar. El material de siembra debe ser de preferencia de cultivos sanos y vigorosos, con una edad de seis a nueve meses, se recomienda utilizar la parte media del tallo, se deben utilizar preferentemente esquejes con 3 yemas. El tapado de la semilla se puede realizar de tres formas: manualmente utilizando azadón, con tracción animal o mecánicamente. La profundidad de siembra oscila entre 20 a 25 cm, con una distancia entre surco de 1.30 a 1.50 m. La semilla debe de quedar cubierta con 5 cm de suelo, el espesor de la tierra que se aplica para tapar la semilla no sólo influencia la germinación y el establecimiento de la población, sino también el desarrollo temprano de las plantas (SIAP, 2012).

3.2.4 Cosecha.

Aunque la cosecha de la planta se realiza aproximadamente cada año (en las regiones cálidas), su rápida capacidad de rebrote permite varias cosechas sucesivas a partir de la siembra inicial. En nuestro país las renovaciones del cultivo se realizan entre cada 4 y 8 años y es común encontrar en las zonas paneleras cultivos con más de 20 años de establecidos. Al ser un cultivo perenne permite una captura permanente del recurso tropical más abundante, la luz solar. Esta disminuye los costos y los riesgos asociados a la siembra en los cultivos semestrales, anuales y mantiene una cobertura constante sobre el suelo disminuyendo los costos de control de malezas y permite un uso más eficiente del agua y un mejor control de la erosión. Durante su largo proceso evolutivo, la caña de azúcar ha desarrollado una muy alta capacidad para la producción y almacenamiento de sacarosa (azúcar). Por ésta

casualidad su cultivo se ha diseminado por todo el mundo tropical y subtropical (Muñoz, 2005).

La faena de la recolección se lleva a cabo entre los once y los dieciséis meses de la plantación, es decir, cuando los tallos dejan de desarrollarse, las hojas se marchitan y caen y la corteza de la capa se vuelve quebradiza. Se quema la plantación para eliminar las malezas que impiden el corte de la Caña. Aunque se han ensayado con cierto éxito varias máquinas de cortar caña, la mayor parte de la zafra o recolección sigue haciéndose a mano. El instrumento usado para cortarla suele ser un machete grande de acero con hoja de unos 50 cm de longitud y 13 cm de anchura, un pequeño gancho en la parte posterior y empuñadura de madera. La Caña se abate cerca del suelo y se corta por el extremo superior, cerca del último nudo maduro, ya cortadas se apilan a lo largo del campo, de donde se recogen a mano o a máquina para su transporte al Ingenio, que es un molino en el cual se trituran los tallos y se les extrae el azúcar. El azúcar se consigue triturando los tallos y macerando con poderosos rodillos estriados de hierro y se someten, simultáneamente, a la acción del agua para diluir el jugo ya que contiene alrededor del 90% de sacarosa existente en la Caña. El jugo se trata con cal y se calienta para que se precipiten las impurezas; se concentra luego por evaporación y se hierve para que cristalice. Posteriormente se dejan enfriar los cristales y se refina la melaza: se disuelve en agua caliente y se hace pasar a través de columnas de carbón gracias a lo cual los cristales se decoloran (SIAP, 2012).

3.2.5 Su uso.

La Caña de Azúcar se utiliza preferentemente para la producción de Azúcar, adicionalmente se puede utilizar como fuente de materias primas para una amplia gama de derivados, algunos de los cuales constituyen alternativas de sustitución de otros productos con impacto ecológico adverso (cemento, papel obtenido a partir de pulpa de madera, etc.). Los residuales y subproductos de esta industria, especialmente los mostos de las destilerías contienen una gran cantidad de

nutrientes orgánicos e inorgánicos que permiten su reciclaje en forma de abono, alimento animal, etc. En este sentido es importante señalar el empleo de la cachaza como fertilizante, las mieles finales y los jugos del proceso de producción de azúcar pueden emplearse para la producción de alcohol, lo que permite disponer de un combustible líquido de forma renovable y la incorporación de los derivados tradicionales (tableros aglomerados, papel y cartón, cultivos alternativos para alimento animal y mieles finales). Una pequeña parte la producción de Caña de Azúcar tiene fines de producción de piloncillo, el cual se obtiene de la concentración y evaporación libre del jugo de la caña, también es conocido como panela. El piloncillo tiene varios usos, como materia prima en la industria de la repostería, pastelería, y como endulzante en diversos alimentos y también se usa para la elaboración de alcohol otros licores. Otra cantidad de caña aún más pequeña se utiliza como fruta de estación, aunque se vende todo el año, se concentra en la temporada navideña para las piñatas y el tradicional ponche (SIAP, 2012).

3.2.6 Calidad de la Caña

El procesamiento de la caña de azúcar para la obtención de la sacarosa empieza realmente en el campo. La variedad de caña, el suelo en el cual se cultiva, las prácticas de manejo que incluyen las dosis y épocas de aplicación de los fertilizantes, y el grado de madurez determinan la calidad del material producido. La caña con óptima calidad da mayores rendimientos fabriles para beneficio, tanto de los ingenios como de los cultivadores del sector azucarero.

La calidad se reconoce en el momento de la molienda por la cantidad de azúcar recuperable o rendimiento que se obtiene por tonelada de caña molida, lo cual depende de características como: (1) alto contenido de sacarosa, (2) bajo contenido de materiales extraños, (3) bajo contenido de sólidos solubles diferentes de la sacarosa, y (4) bajos niveles de fibra.

Es importante mencionar que otras características como tallos erectos, maduración y longitud uniformes, y facilidad para el corte permiten la obtención de material poco contaminado y de buena calidad para los molinos. En general, las características principales de la caña de buena calidad dependen de factores relacionados con:

1. Características agronómicas.
2. Aspectos morfológicos.
3. Calidad de los jugos.
4. Condiciones agroclimáticas.

Aunque la calidad de los jugos está determinada principalmente por un alto nivel de sacarosa, otros constituyentes químicos de carácter orgánico determinan la calidad del procesamiento y del producto final, tal como se describe a continuación.

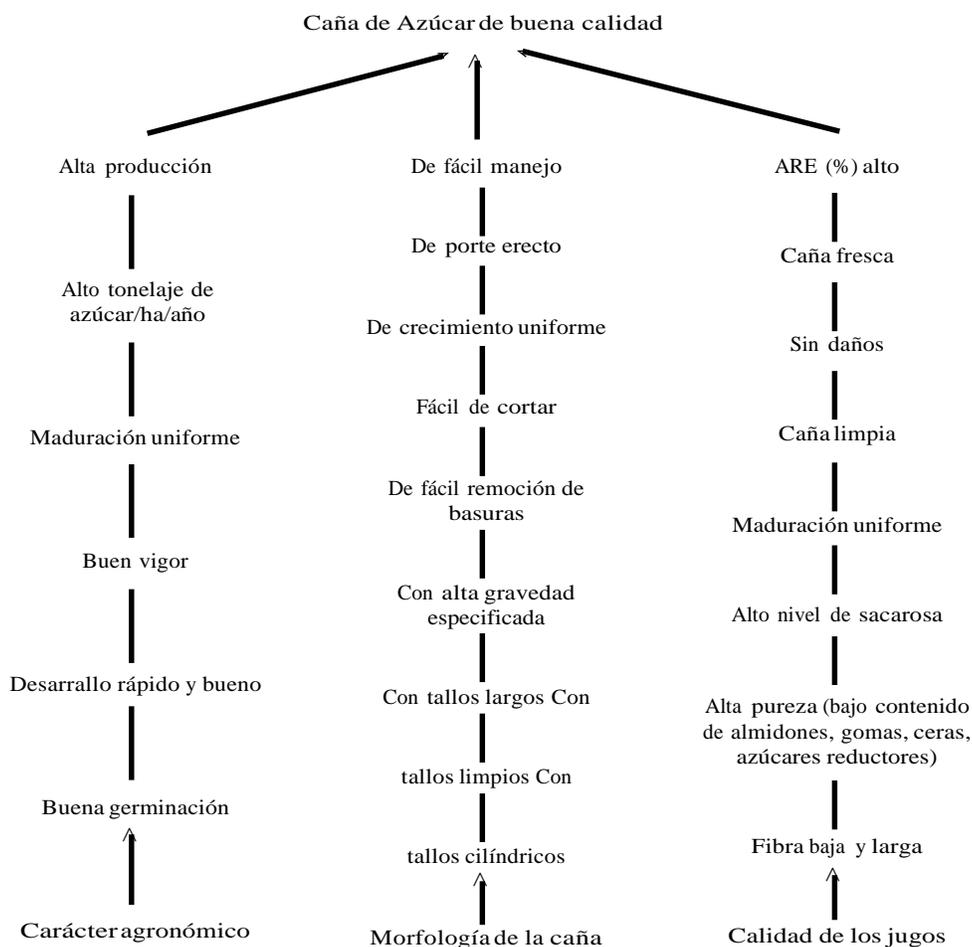


Figura 1. Características de calidad de la caña de azúcar.

3.3 Principales constituyentes químicos de la caña de azúcar.

La caña de azúcar está constituida por jugo y fibra. La fibra es la parte insoluble en agua y está formada principalmente por hemicelulosa, celulosa y lignina, la cual, a su vez, está constituida por azúcares sencillos como glucosa (dextrosa). El contenido porcentual de sólidos (sacarosa, azúcares reductores y otros constituyentes) solubles en agua se denomina comúnmente brix (expresado en porcentaje). La razón porcentual entre la sacarosa en el jugo y el brix se conoce como pureza del jugo. El contenido aparente de sacarosa, expresado como un porcentaje en peso y determinado mediante un método polarimétrico, se denomina “pol”. Los sólidos solubles diferentes de la sacarosa, que incluyen los azúcares reductores como la glucosa y otras sustancias orgánicas e inorgánicas, se

denominan usualmente “no-pol” o no-sacarosas, los cuales porcentualmente resultan de la diferencia entre el brix y el pol.

En la caña, el agua representa entre 73% y 76%. Los sólidos totales solubles (brix, % caña) varían entre 10% y 16%, y la fibra (% de caña) oscila entre 11% y 16%. Entre los azúcares más sencillos se encuentran la glucosa y la fructosa (azúcares reductores), que existen en el jugo de cañas maduras en una concentración entre 1% y 5%. La calidad del azúcar crudo y de otros productos como el color y el grano (dureza) de la panela dependen, en parte, de la proporción de estos azúcares reductores, los cuales cuando aumentan por causa del deterioro o falta de maduración de la planta, pueden producir incrementos en el color y grano defectuoso en la panela (Clarke *et al.*, 1986a).

La cristalización comercial del azúcar (sacarosa) es afectada por otras clases de azúcares, diferentes a la fructosa y a la glucosa, que se encuentran presentes en los jugos. Este grupo de carbohidratos conocidos como oligosacáridos, debido a que están constituidos por más de dos y menos de 10 unidades de azúcares sencillos (monosacáridos), causan un alargamiento en el eje “C” de la estructura cristalina, o sea, alteran el tamaño del cristal de sacarosa. Entre los principales oligosacáridos reconocidos en la caña de azúcar se encuentran: theanderosa, erlosa, gentianosa, cestosa y leucrosa. En Suráfrica se considera que la formación de otros oligosacáridos depende de la maduración del cultivo y sus niveles incrementan rápidamente con el deterioro de la caña después del corte (SMRI, 1992).

Además de los azúcares presentes en el jugo, existen otros constituyentes químicos de naturaleza orgánica e inorgánica, representados por sales de ácidos orgánicos, minerales, polisacáridos, proteínas y otros no-azúcares. La calidad de los jugos afecta el procesamiento de la caña y la recuperación de la sacarosa en los ingenios; en este sentido se reconoce que algunos polisacáridos como los almidones reducen y dificultan la filtración durante el proceso químico, ya que se incorporan en los cristales del azúcar crudo (Imrice y Tilbury, 1972; Chen, 1968). Imrice y Tilbury

(1972) encontraron que el contenido de almidones en los tallos de la planta es una característica varietal, susceptible de ser reducida mediante prácticas agrícolas como el riego y la fertilización con potasio.

Los jugos de la caña de azúcar contienen pequeñas cantidades de almidón, aproximadamente entre 50 y 70 mg/l, en forma de gránulos, los cuales durante la molienda se separan del tejido vegetal y se solubilizan en forma de dos estructuras moleculares: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es esencialmente un glucano lineal con enlaces de glucosa $\alpha(1,4)$ y la amilopectina, aunque es también un glucano, exhibe uniones $\alpha(1,4)$ asociadas con una estructura altamente ramificada de enlaces $\alpha(1,6)$. Además de los almidones, se han aislado de los jugos de la caña fresca otros polisacáridos identificados en Louisiana (Clarke *et al.*, 1986b), el cual por hidrólisis produce arabinosa, galactosa, glucosa, manosa, xilosa y pequeñas cantidades de rhamnosa.

Cuadro 3. Promedio de la composición química de los tallos y de los jugos de la caña de azúcar.

Constituyente químico	%
En los tallos:	
<i>Agua</i>	73-76
<i>Sólidos</i>	24-27
<i>Sólidos insolubles</i>	10-16
<i>Fibra</i>	11-16
En el jugo:	
<i>Azúcares</i>	
<i>Sacarosa</i>	75-92
<i>Glucosa</i>	70-88
<i>Fructuosa</i>	02-04
<i>Sales</i>	02-04
<i>Inorgánicas</i>	3.0-3.4
<i>Orgánicas</i>	1.5-4.5
<i>Ácidos orgánicos</i>	01-03
<i>Aminoácidos</i>	1.5-5.5
<i>Otros no azúcares</i>	1.5-2.5
<i>Proteínas</i>	0.5-0.6
<i>Almidones</i>	0.001-0.050

Existen dos fuentes básicas de colorantes provenientes de la caña: (1) los que se originan en la planta, y (2) los que se forman durante su procesamiento. En los jugos de la planta se encuentran compuestos de carácter fenólico, que pueden ser de naturaleza sencilla o compleja como los flavonoides. Estos últimos pueden existir en forma libre o como glicósidos unidos a moléculas de azúcar. Algunos fenoles son incoloros dentro de la planta, pero se oxidan o reaccionan con aminas produciendo sustancias coloreadas (Clarke *et al.*, 1986; SMRI, 1992). Los compuestos coloreados que se forman durante el procesamiento provienen de la descomposición térmica de la sacarosa y de los azúcares reductores (glucosa o fructosa), o se originan en las reacciones de estos carbohidratos con compuestos amino-nitrogenados presentes en la planta (reacciones de Maillard), produciendo polímeros coloreados denominados melanoidinas (Clarke *et al.*, 1986).

Como se mencionó antes, los flavonoides son compuestos fenólicos, considerados como los pigmentos naturales vegetales de mayor importancia en la caña de azúcar por su utilidad como marcadores bioquímicos en taxonomía vegetal (Smith y Paton, 1985) y por sus propiedades químicas en el proceso azucarero.

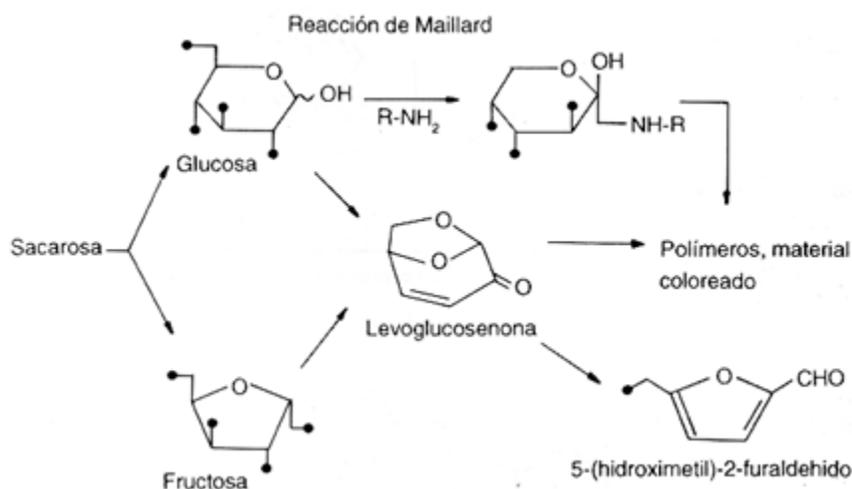


Figura 2. Posibles vías de la termolisis de la sacarosa y formación de melanoidinas durante el procesamiento de la caña de azúcar. FUENTE: Shafizadek *et al.*, (1979).

En el género *Saccharum* se conocen cinco clases de flavonoides: antocianinas, catequinas, chalconas, flavonoles y flavonas, que poseen todos una estructura común $C_6-C_3-C_6$ con dos anillos aromáticos de carácter fenólico designados A y B. Abernethy y Aitken (1986) encontraron que los niveles de precursores de color (amino-nitrógenos y fenoles) o materiales pigmentados en los jugos, se relacionan con la variedad. Asimismo, Lionnet (1986) considera que un déficit o estrés de humedad puede incrementar el contenido de cuerpos coloreados, especialmente de amino-nitrógenos.

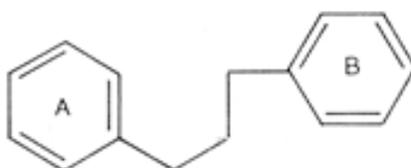


Figura 3. Anillos aromáticos de carácter fenólico comunes a los flavonoides de la caña de azúcar.

Los flavonoides tienen una alta solubilidad en agua y se extraen de los tallos durante la etapa de maceración en los molinos. El grupo de las antocianinas está constituido por pigmentos catiónicos cuyo color se torna oscuro cuando el pH disminuye, pero se descomponen fácilmente a pH 7.0 durante la clarificación y el calentamiento, originando un glicósido de coumarina incoloro.

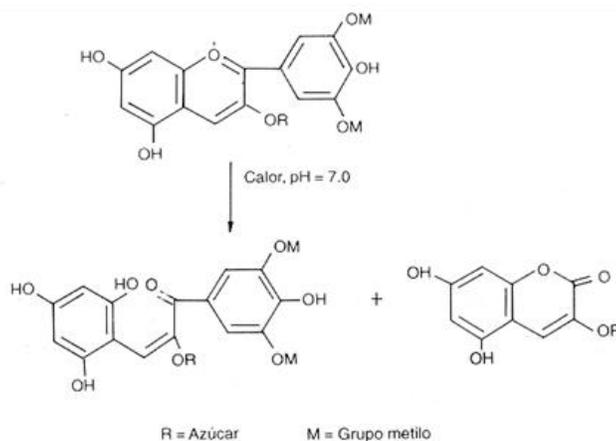


Figura 4. Descomposición térmica de las antocianinas presentes en la caña de azúcar. FUENTE: Smith y Paton, 1985.

Las flavonas derivadas del tricino, el luteolino y el apigenino, constituyen otra clase de flavonoides de importancia en la caña de azúcar. Estos compuestos son colorantes de carácter ligeramente ácido y existen en forma no ionizada a pH bajo. A diferencia de las antocianinas, las flavonas persisten durante la etapa de clarificación, siendo estables en un medio alcalino lo cual explica, al menos en un 30%, el color del azúcar crudo a pH 7.0. En general, la contribución de los flavonoides al color de los cristales de sacarosa se incrementa rápidamente entre pH 7.0 y 9.0 (Smith y Paton, 1985).

3.4 Los residuos agrícolas de la cosecha de la caña de azúcar (RAC).

3.4.1 Fases del proceso de producción del azúcar.

3.4.1.1 Fase agrícola.

La fase agrícola propiamente dicha no está caracterizada por la formación de residuos y por consiguiente no se presenta una afectación al medio ambiente, que se origine por la propia planta. Sin embargo, las labores agrícolas que son realizadas durante esta fase productiva como son la aplicación de herbicidas y plaguicidas, la fertilización química y el riego, indican afectaciones al medio ambiente; por ejemplo en el caso de la fertilización química, la mayor afectación se origina por el propio proceso de producción de los fertilizantes. El uso de los residuos agrícolas de la cosecha (RAC) como cobertura de los suelos puede permitir la disminución de las malas hierbas y por consiguiente un menor empleo de herbicidas (Valdés, 2010).

3.4.1.2 Fase agroindustrial.

En esta fase del proceso se originan impactos ecológicos por la quema de caña y por la quema de los residuos de caña integral presenta diferentes componentes, siendo sus hojas (verdes y secas) y el cogollo los denominados como los Residuos Agrícola de la Cosecha (Valdés, 2010).

3.4.1.3 Fase industrial.

Se origina la mayor parte de los residuales existiendo soluciones tecnológicas para el uso adecuado de cada uno. El bagazo aporta parte del combustible necesario, por lo que al emplear los residuos agrícolas de la cosecha (RAC) puede permitir un aumento en la energía producida. Las cenizas de la combustión del bagazo contienen minerales que pueden ser aplicados como fertilizantes de los suelos. La cachaza puede ser utilizada para la producción de cera, alimento animal, medicamentos y fertilizante. Las aguas residuales presentan una cantidad de materia orgánica que requiere de su tratamiento para evitar afectaciones si se vertiesen directamente al medio (Valdés, 2010).

3.5 Pared Celular.

3.5.1 La pared celular y sus generalidades.

Una de las características definitorias de las células vegetales es la presencia de la pared celular, que cumple funciones como mantener la forma, actuar como reserva de carbono y proteger de las agresiones externas actuando como filtro. La pared celular se extiende permitiendo el crecimiento celular en respuesta a un programa genético, lo que va a determinar la velocidad y dirección de este crecimiento. Según Carpita y Gibeaut (1993) se distinguen dos tipos de pared celular:

Pared celular primaria: Es la que se va depositando durante el crecimiento de la célula y debe proporcionarle estabilidad, aunque también debe ser extensible como para permitir la expansión de las células sin que se rompan por la turgencia. Está constituida por polisacáridos (celulosa, hemicelulosa y pectinas) y por glicoproteínas estructurales.

Pared celular secundaria: Se deposita una vez que finaliza el crecimiento y confiere mayor estabilidad. Está presente sólo en algunos tipos celulares y se caracteriza por la presencia de lignina.

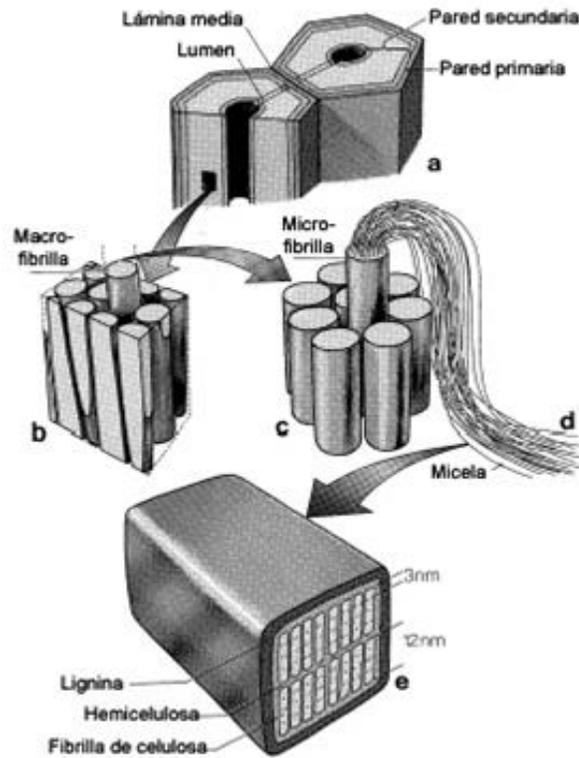


Figura 5. Representación esquemática de la pared celular vegetal a cuatro niveles, aumentando de a hacia e. a Corte transversal de una fibra de madera mostrando la lámina media y la pared celular primaria y secundaria. b Sección transversal de una porción de la pared secundaria con macrofibrillas. c Un manojo de microfibrillas. d Los filamentos micelares. e Corte transversal de una micela, mostrando la composición ultraestructural: la lignina, hemicelulosa y celulosa. El espacio entre las fibras vegetales (lámina media), macrofibrillas, microfibrillas y los filamentos micelares está ocupado por lignina (Dávila *et al.*, 2006).

3.5.1.1 Pared celular primaria.

La pared celular primaria está formada por celulosa, hemicelulosa, pectinas y proteínas.

Celulosa: La celulosa es el polisacárido más sencillo en la pared celular. Son microfibrillas con una estructura cristalina de entre 5 y 15 nm de grosor formado por cadenas de β -1,4-glucosa. Cada microfibrilla contiene 36 cadenas situadas en

paralelo y unidas por puentes de hidrógeno. Cada residuo de glucosa está rotado respecto a los contiguos, lo que permite que se mantenga una estructura plana y rígida, y a su vez permite que se establezcan los puentes de hidrógeno con las cadenas adyacentes. La celulosa representa aproximadamente el 70% del peso seco de la pared (Taiz y Zeiger, 2006).

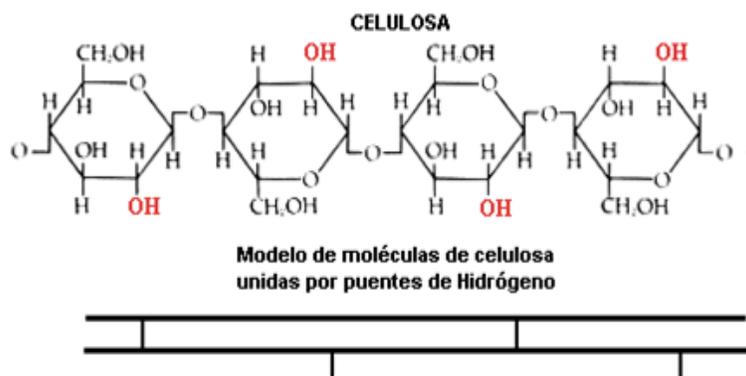


Figura 6. Estructura de la Celulosa (Taiz y Zeiger, 2006).

Hemicelulosa: Son polisacáridos relativamente lineales y neutros, que se unen entre sí o a las microfibrillas de celulosa por puentes de hidrógeno. El más abundante en dicotiledóneas es el xiloglucano (Taiz y Zeiger, 2006).

Xiloglucano: Son cadenas de $\beta(1,4)$ -glucano que tienen entre 300 y 3000 residuos de glucosa. Casi el 75% de los residuos tienen unida xilosa (β -D-xilopiranos) en el C6 mediante un enlace $\alpha(1,6)$. La unidad estructural básica es XXXG según la nomenclatura propuesta por Fry *et al.*, (1993). Los restos de xilosa a su vez unen otros residuos en el C2 que pueden ser galactosa (β -D-galactopiranos) o galactosa unida a su vez a fucosa (L-fucopiranos- $\alpha(1,2)$ -D-galactopiranos). Dependiendo de la especie que se trate, la proporción de estos residuos será diferente (Hoffman *et al.*, 2005). Para conocer la estructura del xiloglucano se puede realizar una digestión con endo- $\beta(1,4)$ -glucanasas de hongos (Fry *et al.*, 1993) que actúan en los enlaces C1 de las glucosas que no están sustituidas, por lo que generalmente se obtienen oligosacáridos con cuatro residuos de glucosa.

El xiloglucano se une a la celulosa por puentes de hidrógeno, formando una red xiloglucano-celulosa.

El xiloglucano mantiene las microfibrillas separadas, lo que provoca que aumente la elasticidad de la pared. Las cadenas laterales dotan al xiloglucano de sus principales características: la xilosa impide la formación de haces, la galactosa evita la agregación que podría provocar su precipitación y la fucosa facilita la adopción de una conformación plana. El xiloglucano se puede dividir en tres dominios según su accesibilidad, y tienen diferencias en el contenido de subunidades (Pauly *et al.*, 1999):

- El primer dominio es accesible al tratar la pared con endoglucanasas. Representa la fracción no unida a celulosa.
- El segundo dominio es el que está unido a la superficie de las microfibrillas y se extrae con tratamiento alcalino mediante KOH.
- El tercer dominio es accesible únicamente al tratar las paredes con celulasas, ya que se trata del xiloglucano que se encuentra atrapado en el interior de las microfibrillas de celulosa.

3.5.1.2 Pared celular secundaria.

No siempre existe, hay células que sólo poseen pared primaria, pero, en otras se forma en el interior una pared suplementaria de mayor grosor cuya misión es ofrecer resistencia al tejido. La pared secundaria se forma cuando, tras haber finalizado el crecimiento celular, la pared primaria no aumenta su tamaño. Su función actúa en las células de los tejidos conductores o de resistencia mecánica, en ellos las células mueren tras haber formado la pared secundaria que puede llegar a ocupar toda la luz celular. Tiene una composición similar a la de la estructura primaria, aunque ésta es más rica en celulosa (94%), tiene menos agua (25 a 35%),

hemicelulosa y carece de pectinas. Presenta una estructura laminar con 3 capas diferentes, aunque, como en las hojas de aloe este número de capas puede llegar hasta 20. Su diferencia en relación con la pared primaria estriba en la disposición en hélice y en la mayor densidad que presentan las microfibrillas de celulosa, lo que impide el crecimiento celular. Normalmente encontramos lignina, siendo su depósito continuación del iniciado en la lámina media y en la pared primaria. En las células de los tejidos conductores y de sostén, la pared secundaria no llega a extenderse sobre la totalidad de la pared primaria y se deposita en forma de anillos, tiras helicoidales, retículos o refuerzos irregulares (Taiz y Zeiger, 2006).

Lignina: La lignina es un polímero incrustado en la pared *celular* secundaria de las células de las plantas. Su estructura química es muy compleja, sus monómeros son variados y derivan principalmente del fenilpropano, siendo el producto final del metabolismo que a la muerte de la planta es degradado lentamente por hongos y bacterias (Church, 1988).

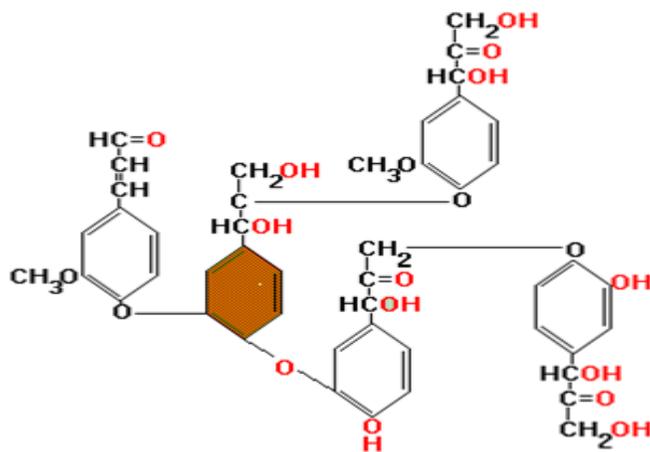


Figura 7. Estructura química de la lignina (Barceló *et al.*, 2005)

3.6 Los Residuos Fibrosos.

3.6.1 Características generales de los residuos fibrosos.

Según Martin (2004) define a los residuos de cosecha como el material que queda después que se separa el tallo de las hojas y el cogollo (puntas). Por ende, este material está constituido por estos dos componentes de la caña integral. Este mismo autor menciona que la proporción de estos residuos depende según sea el tipo de corte; ya sea manual o mecanizado. En el corte mecanizado, desde el punto de vista físico los residuos son un material heterogéneo y están compuestos principalmente por: cogollos y hojas verdes, hojas secas, vainas, trozos de caña e impurezas. Por su parte Hassoun *et al.* (2002) menciona que dichos residuos son un importante recurso forrajero para rumiantes durante la estación seca en los países tropicales. Sin embargo, Martin (2004) indica que este material se caracteriza por su alto contenido de fibra y lignina, bajo contenido de nitrógeno, minerales, vitaminas y presentar baja densidad. El autor Miléo *et al.*, (2011) menciona que cuando se evaluó la composición química de la paja de caña se encontrando los siguientes valores promedio de 38.1% de celulosa, 29.2% de hemicelulosa, 24.7% de lignina y 3.4% de cenizas.

Los promedios establecidos derivados del análisis de un rango de valores para cada uno de los componentes son representativos de diversos factores que pueden interactuar y que tienen efecto sobre la composición química de los residuos cañeros cosechados en Cuba. Factores ecológicos pueden influir como son temperaturas bajas, humedad relativa alta; sistema de corte, variedad de las cañas cultivadas. Las características del ambiente influyen en los procesos metabólicos de las plantas, así como las diferencias morfológicas e individualidad bioquímica de la planta (Martín, 2004).

Cuadro 4. Composición promedio nacional de residuos de la cosecha cañera

Composición	Residuo (%base seca)
Fibra bruta	35.80
Proteína bruta	02.57
Extracto etéreo	02.66
Extracto libre de nitrógeno	49.58
Cenizas	09.67*
Fibra neutro detergente	71.94*
Fibra ácido detergente	44.04
Celulosa	35.97
Lignina ácido detergente	08.07
Hemicelulosa	27.90*

*Diferencias significativas para $P \leq 0.05$. Se muestran diferencias significativas para $P \leq 0.05$ en el contenido de cenizas, fibra neutro detergente y hemicelulosa (Carbajal, 2005).

La utilización de residuos y residuales para la alimentación animal ha sido una práctica realizada en Cuba posiblemente desde que se comenzó el corte de caña para la fabricación de azúcar, y se alimentaban los bueyes con los residuos de la cosecha. De esta forma, a lo largo de siglos, el ganado vacuno y el porcino principalmente, pero también otras especies (ovinos, caprinos y aves), se han beneficiado con el reciclaje de estos materiales como alimentos (Martín, 2004).

A continuación se presenta información de las ramas económicas cuyos residuos y residuales son empleados en la alimentación animal en Cuba, así como los alimentos que se preparan y a qué especies animales son destinados (Carbajal, 2005).

Cuadro 5. Residuos y residuales que han sido utilizados en la alimentación animal en Cuba.

Origen	Residuo
Caña de azúcar	Caña de demolición
“	Residuos de cosecha
“	Melazas
“	Bagazo
“	Bagacillo
“	Cachaza
Destilerías	Mostos
“	Fondajes
Arroz	Paja
“	Cabecilla
“	Polvo
Cítricos	Hollejos
“	Residuos de poda
Café	Pulpa
Molinería	Afrecho
“	Salvado
Mataderos	Sangre
“	Contenido ruminal
Industria pecuaria	Pastas proteicas
“	Excretas
Pesca	Descartes
“	Fauna acompañante
“	Residuos del procesamiento
Industria alimentaria	Residuos de cervecería
“	Barquillos
Casas, comedores y restaurantes	Restos de alimentación humana
Agricultura	Residuos de raíces y tubérculos
“	Residuos de hortalizas

Por otra parte, la agricultura cañera y la industria azucareras producen grandes volúmenes de residuos y residuales. En Cuba son los de mayor volumen y distribución. Con excepción de las melazas y los residuales de la destilería asociada a los ingenios, los demás residuos son de carácter fibroso. Todos ellos han sido utilizados en su forma original, o procesados para la alimentación animal (Martín, 2004).

Se han desarrollado varios alimentos a partir de la caña residual o para demolición por bajos rendimientos, los residuos de la cosecha y los residuales fibrosos de la industria azucarera. La caña ha sido utilizada en forma fresca, ensilada, deshidratada y enriquecida a través de procesos biotecnológicos (Martín, 2004; Serrano *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2006; Monroy *et al.*, 2006; Elías *et al.*, 1990).

En Cuba, los mayores aportes a la alimentación animal con residuos de la agricultura no cañera, los han realizado los cultivos de cítricos, arroz, café, raíces, tubérculos y hortalizas. Para la ganadería vacuna, los residuos del cítrico y del café son de gran importancia (Borroto *et al.*, 2007; Ortiz *et al.*, 2006), particularmente en la época seca del año. Sin embargo, su inclusión en raciones de rumiantes y monogástricos permite abaratar costos de producción y reducir el impacto ambiental negativo que su vertimiento al medio representa.

Cuadro 6. Uso de residuos y residuales de la industria azucarera en la alimentación animal en Cuba.

Subproducto	Alimento	Uso en	T producidas/año
Bagazo	Bagacillo predigerido	Rumiantes	260, 000
"	Bagacillo/melaza/urea	Rumiantes	500, 000
"	Mezclas balanceadas	Rumiantes	70, 000
Cachaza	Fresca	Rumiantes	900, 000
"	GICABU	Rumiantes	40, 000
"	GARANVER	Rumiantes	8, 000
Melazas	Como suplementos	Rumiantes y cerdos	70, 000
"	Alimentos balanceados	Rumiantes y monogástricos	100, 000
"	2% urea	Rumiantes	600, 000
"	3% urea	Rumiantes	200, 000
"	10% urea	Rumiantes	1, 000
"	Con levadura torula	Monogástricos	30, 000
"	Fermentada	Rumiantes y monogástricos	1, 500
"	Bloques multinutricionales	Rumiantes	2, 000
Residuos de cosecha	Cogollo, residuos de centros de limpieza de la caña	Rumiantes	100, 000

3.7 Los Hongos de pudrición blanca y su biotecnología.

Los hongos son organismos con núcleo, los cuales se reproducen por esporas, carecen de clorofila por lo que son fotosintéticos, se reproducen sexual o asexualmente y tienen estructuras ramificadas rodeadas por una pared celular hecha de celulosa, quitina o ambas (Téllez *et al.*, 2009).

En el campo, especialmente durante la época de lluvias, se puede ver hongos que crecen en el suelo o sobre los árboles. Un error muy común es creer que son plantas; si bien es cierto que todavía en el Siglo XX los hongos estaban incluidos en

el reino vegetal por su incapacidad de movimiento. Una de las formas actuales de clasificar los seres vivos alude a tres reinos: animal, vegetal y fungí, este último agrupa los hongos en función de sus características especiales.

3.7.1 Hongos lignocelulosicos.

La madera está formada, principalmente, de tres polímeros: celulosa y hemicelulosa que se componen de azúcares y la lignina, sustancia química difícil de degradar, cuya función es dar rigidez y brindar protección contra el ataque de los microorganismos (Téllez et al., 2009). La madera establece una simbiosis con los hongos lignocelulosicos y, dependiendo de cómo la afectan, son clasificados en tres grandes grupos: Hongos de podredumbre parda, que se alimentan de celulosa y hemicelulosa, dejando la lignina casi intacta. Son los causantes del color pardo; de ahí su nombre. Los Hongos de podredumbre blanda, capaces de modificar la lignina y provocar un ablandamiento de la madera y finalmente los hongos de podredumbre blanca, denominados también hongos ligninolíticos, los cuales se alimentan de la lignina que deja la madera con un tono blanquecino; es decir, del color de la celulosa (Téllez et al., 2009).

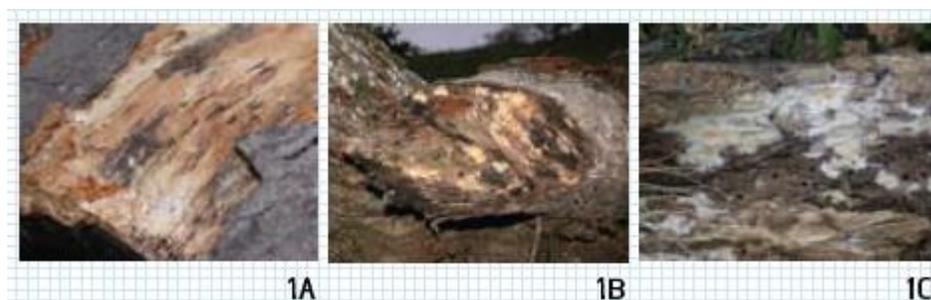


Figura 8. Hongos Lignolíticos de: 1A. Pudrición Parda, 1B. Pudrición Parda, 1C. Pudrición Blanca (Téllez et al., 2009)

3.8 El género *Pleurotus* spp.

Crece con forma de estante sobre los troncos podridos en racimos. El píleo carnoso tiene 8 a 13 cm de diámetro y es de color pardo -oliva que se oscurece

con el tiempo. Las laminillas y los esporos son blancos. Las laminillas bajan por el pie (decurrentes), el que es lateral u excéntrico (Arora, 1987). *P. eryngii* y *P. laciniato-crenatus* son otras especies comestibles, esta última es nativa (Singer & Digilio 1951).



Figura 9. Ejemplo de hongo del género *Pleurotus* (Carrillo, 2012)

3.8.1 Hongos Basidiomicéticos.

Las setas, bejines y otros basidiomas están constituidos por hifas dicarióticas que suelen presentar fíbulas. Este micelio puede crecer durante años en el suelo o la madera hasta que bajo la influencia de diversas condiciones ambientales forma los basidiomas (Carrillo, 2012).

3.9 Generalidades del hongo seta (*Pleurotus ostreatus*).

3.9.1 Ubicación taxonómica.

Reino: Fungi

División: Eumycota

Subdivisión: Basidiomycotina

Clase: Holobasidimycetes

Subclase: Hymenomycetidae

Orden: Agaricales

Familia: Tricholomataceae

Género: *Pleurotus*

Especie: *ostreatus*

Fuente: Guzmán, 1980; Herrera y Ulloa, 1990.

3.9.2 Ciclo de vida.

El ciclo de vida de *Pleurotus* empieza cuando las basidiosporas (a), liberadas por el hongo germinan, iniciando el desarrollo de un micelio homocariótico haploide (b) de contenido genético-nuclear idéntico y capaz de propagación independiente e indefinida. El micelio puede seguir la vida asexual o sexual. El micelio homocariótico también llamado primario o monocarión haploide, al encontrarse con otro micelio compatible ocurre la plasmogamia o fusión de dos micelios homocarióticos (c), dando origen a un micelio secundario o dicarión (d). Los dos núcleos sexualmente compatibles siguen como núcleos haploides, formando hifas con dos núcleos; un par por célula por todo el micelio, en cada septo usualmente se forma una conexión hifal a manera de puente llamado fíbula a través de uno de los dos núcleos pasa al otro extremo de la célula, mientras que el otro núcleo se divide para pasar por el poro o tabique; (e) bajo condiciones ambientales apropiadas, el micelio dicariótico forma agrupaciones, las cuales darán origen a los cuerpos fructíferos que tienen formas especializadas. (f) Los cuerpos fructíferos

presentan tres estructuras, el píleo, el estípite y el himenio, el cual está formado por láminas y es una estructura donde lleva a cabo la formación de basidios y basidiosporas. (g) Los basidios son estructuras especializadas en donde ocurren la fusión de los núcleos haploides a través de un proceso llamado cariogamia, formando así un núcleo diploide en la célula. (h) Posteriormente dicho núcleo diploide sufre el proceso de meiosis, en el cual el material genético parental se recombinará y segregará, originando cuatro células haploides, las cuales viajarán hasta los esterigmas del basidio donde formarán las basidiosporas que son típicamente cuatro esporas uninucleadas en cada basidio. (i) Las esporas son liberadas; y después de la germinación de estas, continúa una división mitótica del núcleo por el cual el ciclo de vida es reiniciado (Sánchez y Royse, 2001).

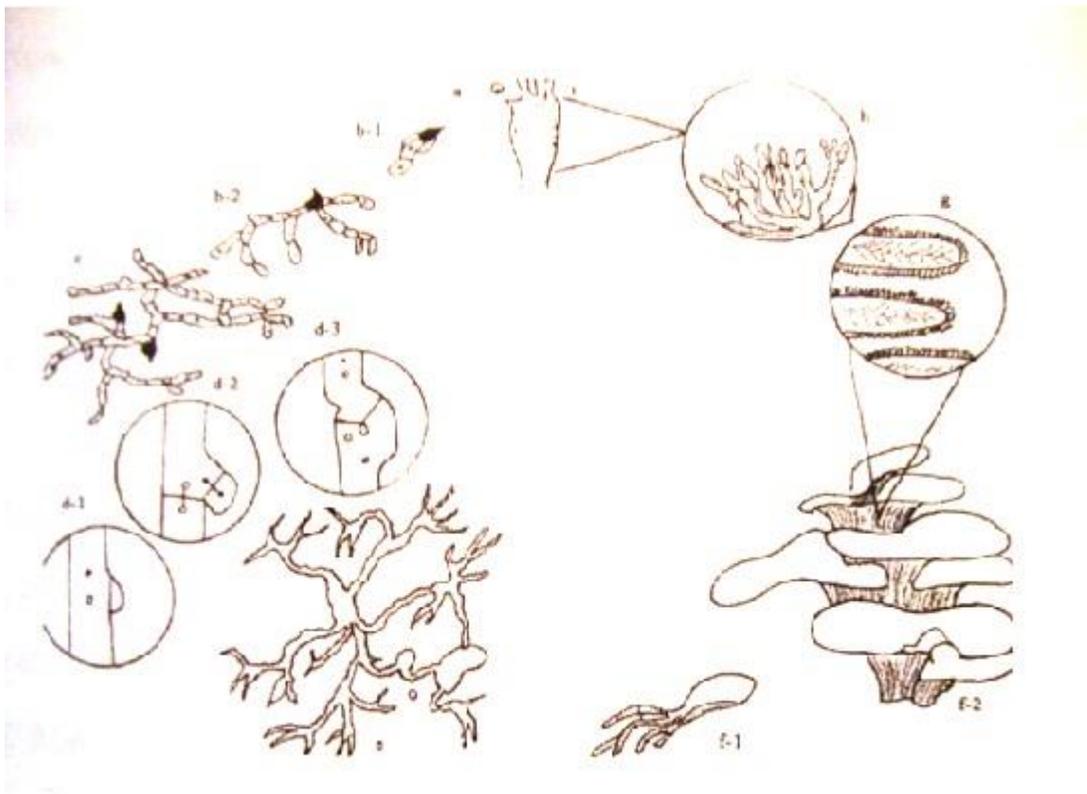


Figura 10. Ciclo de vida de *Pleurotus* spp. a) Basidiospora; b) Germinación y formación del micelio homocarión; c) Fusión de dos micelios homocarióticos compatibles; d) Formación del micelio dicarión; e) Formación de primordios; f) Desarrollo del carpóforo; g) Himenio; h) Formación de los basidios; i) Basidio diferenciado y basidiosporas (Sánchez y Royse, 2001).

3.9.3 Requerimientos nutricionales de los hongos.

Los hongos del genero *Pleurotus* son organismos saprófitos, los cuales tienen hifas con la capacidad de penetración tal que les permite degradar incluso materias primas estructuralmente complejas como madera y cutícula de insectos. Estos hongos producen enzimas que intervienen en la degradación de celulosa y lignina, obteniendo así su fuente de carbono y los nutrientes minerales necesarios para su *desarrollo* (Fazenda, 2008). El carbono es necesario para los hongos por ser la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de las células, este elemento es lo que se requiere en mayores cantidades, el carbono puede ser utilizado por el hongo a partir de diferentes fuentes como polímeros (celulosa y lignina), carbohidratos, lípidos, etc. (Fazenda, 2008). Los carbohidratos como la glucosa, la manosa y la galactosa se encuentran entre las fuentes de carbono preferidas por las especies de *Pleurotus* (Sánchez- Vázquez y Royse, 2001). La peptona es la fuente de nitrógeno que da un rápido crecimiento micelial y formación de cuerpos fructíferos, mientras que los aminoácidos como la alanina, ácido aspártico, glicina y serina proporcionan rendimientos pobres (Sánchez-Vázquez y Royse, 2001), por lo que se deduce, que para inducir la formación de cuerpos fructíferos es importante mantener un balance entre las fuentes de carbono y nitrógeno (relación C/N).

3.10 Fermentación en estado sólido (FES).

3.10.1 Definición.

Hesseltine, (1972) empleó el término de fermentación en estado sólido a todas las fermentaciones donde el sustrato no es líquido. Posteriormente, Raimbault, (1980) propuso un término más preciso: “Las fermentaciones en las cuales el sustrato no está ni disuelto ni en suspensión en un gran volumen de agua”. No obstante, Moo-Young *et al.*, (1983), propusieron un término a todos los procesos que

utilizan materiales insolubles en agua para el crecimiento de microorganismos en ausencia de agua libre; autores como Mudgett, (1986) y Durand *et al.*, (1988), han planteado una definición más general: “Es un método de cultivo de microorganismos sobre y/o dentro de partículas sólidas”. El líquido ligado a las partículas sólidas debe estar en una cantidad que asegure la actividad del agua adecuada para el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos, pero sin exceder el máximo poder de retención de este líquido en la matriz sólida. La definición más general y reciente fue formulada por Viniegra-González, (1997), donde se plantea que “es un proceso microbiológico que ocurre comúnmente en la superficie de materiales sólidos que tienen la propiedad de absorber y contener agua, con o sin nutrientes solubles”.

3.10.2 Influencia de factores ambientales en la FES.

3.10.2.1 La Humedad y la actividad del agua.

El por ciento de humedad en la fermentación sólida puede variar entre 30 y 80% (Oriol *et al.*, 1988), en dependencia del sólido utilizado, el microorganismo y el objetivo del proceso (formación de producto, crecimiento de la biomasa). Aunque el por ciento de humedad es una de las variables que comúnmente se optimiza en los sistemas de fermentación sólida, (Kim *et al.*, 1985, Rodríguez, 1986), hoy se reconoce que no es solo la cantidad de agua presente en el sistema la que ejerce su influencia sobre la eficiencia del proceso, sino el carácter de las interacciones entre el agua y el medio sólido. La actividad del agua (H_2O) es el parámetro que se ha utilizado para caracterizar cuantitativamente esas interacciones físicas y/o químicas del agua en el sistema. Se demostró que la actividad del agua no sólo ejerce influencia sobre el crecimiento, sino también sobre la formación de productos y, en muchos casos, el valor mínimo requerido de H_2O para la formación del producto difiere del necesario para el crecimiento (Troller, 1980; Gervais *et al.*, 1988).

3.10.2.2 El pH

En el cultivo de hongos comestibles, uno de los parámetros a considerar es el nivel de pH del sustrato a utilizar, se ha observado que *P. ostreatus* se desarrolla con un pH de 5.5, valores inferiores a 3 y superiores 6 afectaron su crecimiento (García, 2007). Así mismo, Kashangura *et al.*, (2006), obtuvieron que *Pleurotus sajor-caju* creció bien a un pH de 6-10 y observaron un incremento gradual del pH a lo largo del crecimiento del hongo justificando que esta variación se debe a los metabolitos producidos por el hongo durante su crecimiento.

3.10.2.3 La temperatura.

El crecimiento y la formación de productos son resultados de complejas reacciones químicas, y al igual que cualquier otra reacción, están afectados por la temperatura, la que ejerce una acción determinante en el conjunto de actividades celulares. La temperatura es la variable cuyo control, en una fermentación sólida, se considera el más crítico debido a la alta concentración de sustrato por unidad de volumen y a la baja conductividad térmica del sistema sólido - líquido - gas, lo que favorece la acumulación del calor metabólico en el sistema y un aumento de la temperatura del cultivo (Bernard *et al.*, 1992).

El aumento de la temperatura favorece tres aspectos negativos:

- ✓ La actividad microbiana se desacelera o se detiene.
- ✓ Se deshidrata el medio sólido.
- ✓ El metabolismo se desvía como un mecanismo de defensa ante el calor o ante la deshidratación (Gutiérrez, 1995).

3.10.2.4 La aireación.

En la mayoría de los procesos de fermentación en estado sólido participan microorganismos aerobios, y resulta la aireación un factor fundamental para el desarrollo del proceso. La aireación se utiliza para suministrar el oxígeno necesario, para extraer el CO₂ formado, así como para extraer el calor metabólico evolucionado, de manera que el flujo óptimo de aire debe tomar en consideración la naturaleza del microorganismo utilizado, los requerimientos de oxígeno para el crecimiento y/o la formación del producto deseado, la velocidad de generación de calor metabólico, la concentración crítica del dióxido de carbono y otros metabolitos volátiles, el espesor de la masa de sólido, entre otros. La aireación en las FES es más fácil que las fermentaciones sumergidas, porque la superficie de contacto es mayor entre el aire y el líquido que está absorbido en las partículas (Viniegra *et al.*, 2003).

3.10.2.5 El tamaño de partícula.

El tamaño de partícula está muy ligado a la transferencia de masa en el sistema de fermentación en estado sólido, en el primer caso, influye más el tamaño y la forma del poro de la partícula. En el segundo caso, el espacio entre partícula es lo más importante y es afectado por el tamaño de la partícula, su forma y la humedad (Bernard *et al.*, 1992). Otro aspecto que influye en la transferencia de masa durante el proceso, es el cambio de estructura de las partículas de sustrato resultado de la acción de los microorganismos (Moo-Young *et al.*, 1983).

3.10.2.6 El medio de cultivo.

Para el desarrollo del micelio de hongos en laboratorio, se emplean medios de cultivo sólidos que le proporcionan al hongo los nutrimentos necesarios para su desarrollo (García, 2007; Gaitán-Hernández, 2006). Además la utilización de cultivo líquido de micelio para la generación de “semilla” de hongos del genero *Pleurotus*,

permitió reducir en un 20% el tiempo de producción de semilla, comparado con el cultivo sólido del micelio obtenido en caja Petri (Aguilar, 2007).

3.10.2.7 Aislamiento por medio de tejido.

Este tipo de aislamiento es una de las formas más simples de obtener una cepa y el resultado es una copia idéntica del hongo del cual se ha obtenido el tejido. El hongo se corta longitudinalmente con una navaja y finalmente con la ayuda de unas pinzas estériles y frías, se toman fragmentos del micelio y se colocan en cajas de Petri con medio de cultivo para incubar por dos o tres días (Gaitán-Hernández, 2006).

3.10.2.8 La elaboración de inóculo.

Esta fase se realiza en dos etapas:

- Inóculo primario: Es la propagación del micelio en semillas a partir de una cepa crecida en medio de cultivo.
- Inóculo secundario: Es la propagación del micelio en semillas a partir del inóculo primario, es decir, es la multiplicación del micelio para disponer de una mayor cantidad para su siembra en el sustrato elegido para la producción de hongos (García, 2007; Gaitán-Hernández, 2006).

3.11 Aplicaciones de tratamiento en el sustrato.

3.11.1 Esterilización.

Con este tipo de procedimientos se obtiene lo que se llama una "desinfección total" ya que los sustratos de cultivo se someten a temperaturas cercanas a los 120°C durante 90 a 150 minutos para el caso del Shiitake (*Lentinula edodes*) y 40 a 60 minutos en el caso del Hongo Ostra por ejemplo: (*Pleurotus* spp.). Para lograr

esto, los sustratos son sometidos a presiones de vapor de 15 Lbs/cm² al interior de autoclaves. A todas estas dificultades hay que sumar que el manejo de tales maquinarias requiere de personal entrenado y permisos o certificados especiales que pueden variar de un país a otro. La gran ventaja de este sistema de tratamiento térmico es que se eliminan casi por completo todos los microorganismos que pueda tener el sustrato de cultivo, disminuyendo considerablemente los riesgos de contaminación y las pérdidas de sustrato durante la etapa de Incubación. Para el cultivo del Hongo Ostra se puede conseguir una esterilización, también, hirviendo las pajas de cereales en agua durante 8 a 15 minutos, sin embargo, estos procedimientos, aparte de ser muy engorrosos, barren con gran cantidad de nutrientes que quedan disueltos en el agua hervida dejando las pajas con muy poco valor nutritivo, produciéndose una considerable merma en la productividad final (Cisterna, 2004).

3.11.2 Pasteurización.

La pasteurización es un proceso que tiene por función disminuir la cantidad de organismos nocivos que pueden competir con el hongo en la utilización del espacio y de los nutrientes. Éste proceso, prepara al sustrato para una eficaz colonización por el hongo (García, 2007; Gaitán-Hernández, 2006; Ficior, 2006).

Pasteurización con agua caliente: Este método consiste en sumergir el sustrato en agua a 85°C durante un mínimo de 40 minutos (Guzmán et al., 1995) y es el más utilizado en las zonas rurales, por su bajo costo de inversión. Al pasteurizar por inmersión en agua se debe sumergir el sustrato únicamente cuando el agua haya alcanzado la temperatura de pasteurización para provocar un choque térmico que difícilmente soportarán los organismos que se encuentren en el sustrato (Ficior, 2006). Se ha indicado que existe un efecto de lavado de nutrientes durante la inmersión que puede resultar negativo en rastros viejos por pérdida de nutrientes para *Pleurotus* spp., pero puede resultar benéfico en rastros recientes porque al disminuir el contenido de azúcares solubles previene el antagonismo de otros

hongos y da mejores rendimientos. Sin embargo, tiene sus limitaciones porque es ineficiente desde el punto de vista energético, lo que la hace operable sólo cuando se trabaja a muy pequeña escala (García *et al.*, 2007; Gaitán-Hernández, 2006).

3.11.3 El sembrado.

La siembra se refiere a la mezcla homogénea del inóculo con el sustrato en condiciones de esteriles. Para una siembra eficiente debe tomarse en cuenta, además de la cepa y del sustrato, el estado fisiológico del organismo, la tasa de inoculación y una higiene rigurosa (García *et al.*, 2007; Gaitán-Hernández, 2006; Fazenda, 2008). La tasa de inoculación es la cantidad de inóculo (semilla) que se usa en función de la cantidad de sustrato que se pretende inocular, aunque su concentración afecta su biomasa micelial (Fazenda, 2008). En el caso de especies de *Pleurotus* se usan tasas de inoculación que varían 3 al 5% del peso húmedo del sustrato. La definición de este valor depende de las características tanto de la cepa y del inóculo, como del sustrato donde se siembra. Mientras más baja sea la tasa de inoculación, menor será el costo por compra de inóculo, pero mayor el tiempo requerido para que el hongo colonice el sustrato. Además, a mayor tiempo de colonización mayor será el riesgo de contaminación (García *et al.*, 2007). Las dimensiones de las bolsas usualmente don 40x60 cm o de 60x90 cm y con una resistencia de hasta 15 kg. Generalmente al usar bolsas de polietileno, se perforan de tal manera que solo el 2% de la superficie de la bolsa quede expuesta al aire y así para mantener la humedad del sustrato. Esto evita la deshidratación del sustrato y estimula la formación de carpóforos grandes (Guzmán *et al.*, 1995).

3.11.4 La incubación del hongo.

La incubación es la etapa que permite la colonización del sustrato por el hongo, de preferencia a temperatura y humedad óptimas. Durante esta etapa, se debe proporcionar al hongo una temperatura constante acorde con sus

requerimientos, para que la colonización se lleve a cabo con la tasa de crecimiento más alta posible (García *et al.*, 2007).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del trabajo de estudio.

El presente trabajo se realizó en 2 etapas:

4.1.1 Primera etapa: Colegio de Postgraduados Campus Puebla.

La primera etapa se realizó en el Laboratorio de Hongos Comestibles donde las actividades a realizar fueron:

- a) Selección de la sepa a utilizar
- b) Reproducción del hongo por semilla
- c) La implementación experimental.

El Colegio de Postgraduados Campus Puebla, se encuentra localizado en 19°04'27.40" latitud Norte y 98°15'38.94" latitud Oeste; sobre el Km 125.5, Bulevar Forjadores de Puebla en la colonia Santiago Momoxpan, Municipio de San Pedro Cholula, estado de Puebla.



Figura 11. Colegio de Postgraduados Campus Puebla (Google Earth, 2014)

El clima que predomina en la Ciudad de Puebla es templado subhúmedo. La temperatura media anual del estado es de 17.5°C, la temperatura máxima promedio es de 28.5°C y se presenta en los meses de abril y mayo, la temperatura mínima promedio es de 6.5°C durante el mes de enero (INEGI, 2013).

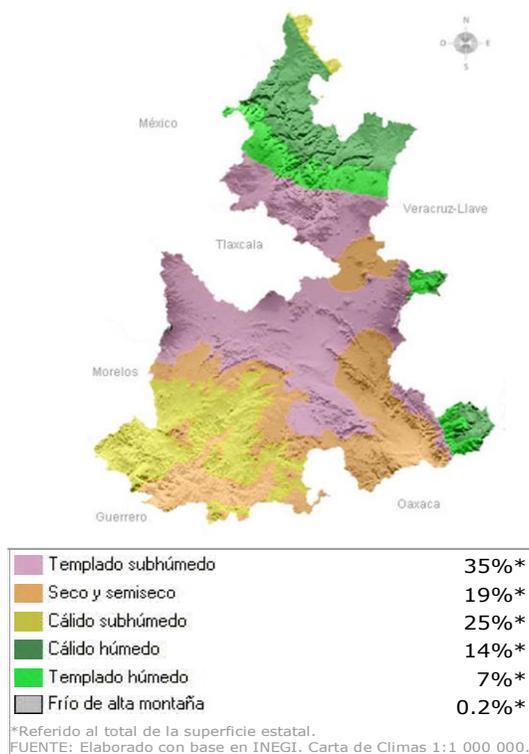


Figura 12. Climas del Puebla (INEGI, 2013)

4.1.2 Segunda etapa: Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

La segunda etapa llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencia Animal del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, donde las actividades que se realizaron fue:

- a) Medición de materia seca (MS)
- b) Medición de la pH
- c) Medición de la proteína cruda (PC)
- d) Medición de la fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA)

- e) Medición del contenido celular (CC)
- f) Medición de la hemicelulosa (HMC)
- g) Medición de la celulosa (CEL) y lignina (LIG)
- h) Prueba de Degradación en *In Situ* de la materia seca (DIMS)

El Colegio de Postgraduados Campus Tabasco se encuentra localizado a 17°58'34.46" latitud Norte y 93°23'10.59" latitud Oeste sobre el Km 3.5 Periférico Carlos A. Molina s/n, Carretera Cárdenas - Huimanguillo en el municipio de Cárdenas, estado de Tabasco.



Figura 13. Colegio de Postgraduados Campus Tabasco (Google Earht, 2014).

El clima en el municipio de Cárdenas es cálido húmedo, la temperatura media anual en la entidad es de 27°C, la temperatura máxima promedio es de 36°C y se presenta en el mes de mayo, la temperatura mínima promedio es de 18.5°C durante el mes de enero (INEGI, 2013).

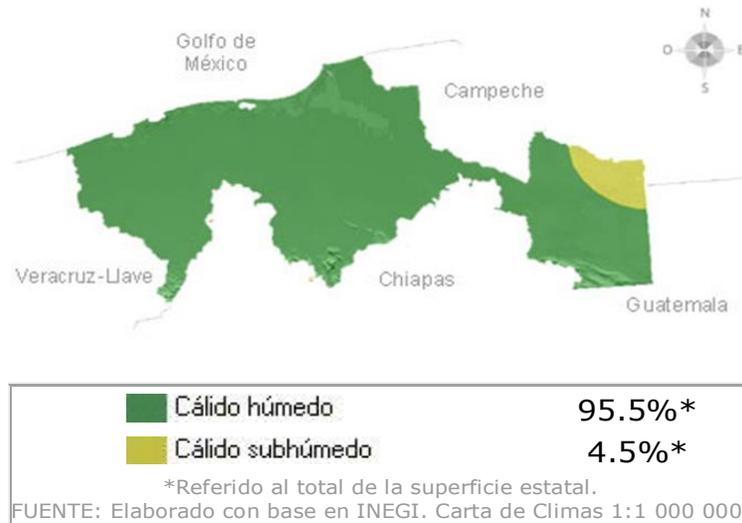


Figura 14. Climas de Tabasco (INEGI, 2013).

4.2 Obtención de la materia prima.

Para la obtención de la materia prima, se tuvo que ir al lugar donde se cosecha la caña, en este caso la variedad MEX69290 y se eligió el campo experimental Km. 21 de la carretera Cárdenas - Coatzacoalcos del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco. El proceso consiste en el que el tractor con la cosechadora pasara a través del cultivo al mismo tiempo que otro tractor con contenedor lo recibe para su traslado. Después de que la cosechadora pasa por el cultivo, este deja a su paso residuos como: cogollos, hojas secas, vainas, trozos de caña e impurezas. Estos residuos es el resultado de la cosecha mecanizada que quedará durante horas en el campo para que el sol haga un proceso de secado. Después de un tiempo en el sol, el tractor con maquinaria de empaquetado se encargará de hacer las pacas hecha con los residuos que quedaron en el campo y se transportará a la zona conocida como “la loma”, donde se mantendrá por varios días. Para el transporte se procedió a desagrupar las pacas de residuos de cosecha mecanizada en un sitio amplio para la mezcla, donde se obtuvo una muestra representativa. Los residuos mezclados se procesaron con maquinaria para picar forrajes y reducirlas en partículas más pequeñas. Luego se introdujo en bolsas negras para basura de 90 x 150 cm del No. 14, estas bolsas se transportaron en una

camioneta y se dejó en el Campus Tabasco y otras bolsas se transportaron hasta el Campus Puebla donde se utilizó para la fase experimental.

4.3 Material biológico utilizado.

De acuerdo a las necesidades del hongo para su crecimiento en el sustrato, se tomó de una lista de candidatos posibles y con reunión de profesores especializados en el tema, se decidió usar la sepa de hongo comercial de pudrición blanca para consumo humano *Pleurotus ostreatus* (CP-50).

4.4 Preparación del medio de cultivo.

Para el cultivo del micelio se puede hacer en Agar Papa Dextrosa (PDA) o en Extracto de Levadura. Para la preparación del PDA se utilizó la siguiente metodología: se pesó 39 g de polvo en un litro de agua purificada (puede ser de garrafón o agua destilada), después se mezcló perfectamente hasta quedar homogéneo y se procede a hervir durante 1 minuto hasta que quede una disolución completa. Se distribuyó en cajas Petri, según sea el tamaño (caja Petri de 10 ml o caja Petri de 15 ml de medio de cultivo), se selló con cinta parafina y se esterilizó en autoclave a 121 °C con 15 lb de presión durante 15 minutos, después se retiró del autoclave y se dejó enfriar. Para siembra del micelio se utilizó una campana de flujo laminar donde se utilizó popotes recortados estériles con diámetro de aproximadamente 5 mm, en la cual se tomó una caja Petri de la variedad de la sepa *Pleurotus ostreatus* (CP - 50) ya sembrada en otras cajas Petri, se recortó en disquitos pequeños y se depositó en las nuevas cajas Petri de las que se dejaron enfriar, se tapó y se volvió a colocar cinta parafina para depositarlos en la incubadora a 28 °C para su crecimiento.

4.5 Producción de Semilla.

4.5.1 Preparación del Sustrato.

Para la producción de semilla del hongo *Pleurotus ostreatus*, se utilizó grano de trigo entero, para ello se utilizó un contenedor de gran volumen, se depositó de 70 a 80 Kg de grano de trigo entero, se le retiró toda la basura posible y se puso a pesar. Se colocó el trigo pesado en ollas vaporeras con agua (relación de 15 Kg de trigo por cada 20 litros de agua). Se puso a cocción 20 minutos, después se dejó enfriar por otros 20 minutos, luego se colocó en la canasta para que se drenara y se dejó enfriar lapso de 15 minutos. El contenido de la canasta se depositó en el mismo contenedor; se agregó cal (relación de 5 g de cal por cada kilo de trigo en seco) y yeso (20 g de yeso por cada kilo de trigo en seco), se mezcló hasta quedar homogéneo. Se pesó 400 g para frascos master o 3 Kg para bolsas F1, se colocaron en bolsas de policarbonato con filtro. Para el sellado: se utilizó las mismas tapas para los frascos master y las pinzas para gafete para las bolsas F1. Se introdujo en autoclave y se puso a esterilizar a 121 °C con 15 lb de presión durante 90 minutos, después se apagó y se dejó enfriar las bolsas.

4.5.2 Siembra del hongo.

Con el trigo esterilizado ya sea en frascos master o bolsas F1, se procedió a sembrar utilizando otra bolsa que contenía semilla de trigo con micelio de hongo *Pleurotus ostreatus* en la campana de flujo laminar. Se tomó la bolsa F1 o frasco esterilizado, luego se preparó una espátula desinfectada para extraer un poco de semilla con hongo de la otra bolsa; esto con el fin de depositarla a los lados de la bolsa y después agitarlo para que la semilla invada todo el sustrato de trigo. Luego se depositó en anaqueles para que el trigo con micelio de hongo crezca y cubra el sustrato completamente.

4.6 Fase Experimental.

4.6.1 Diseño Experimental.

El diseño realizado fue un completamente al azar con arreglo factorial (2 x 3 x 4) El factor A: sin inóculo (NI) y con inóculo (INO), el factor B fue: esterilización (Est), pasteurización sin cal (Psc) y pasteurización con cal (Pcc); el factor C el tiempo de colonización del hongo (0, 7, 15 y 25 días) cada unidad experimental tuvo 4 repeticiones. El experimento tuvo un total de 24 tratamiento, con cuatro repeticiones hicieron un total de 96 unidades experimentales.

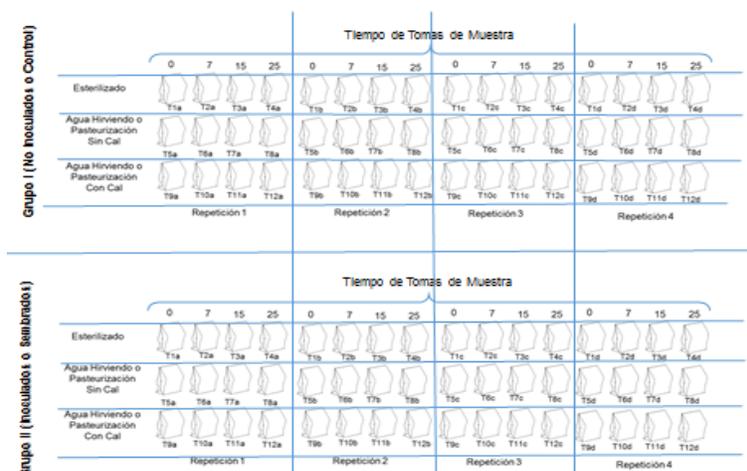


Figura 15. Diseño del experimento en base al modelo estadístico.

4.6.2 Modelo Estadístico.

El modelo estadístico quedó de la siguiente manera:

$$Y_{ijkl} = \mu + I_i + A_j + T_k + I_i * A_j + I_i * T_k + A_j * T_k + I_i * A_j * T_k + e_{ijkl}$$

Donde:

$\mu =$ Media General

$li =$	Efecto del Inoculo (Inoculado y No Inoculado)
$Aj =$	Efecto de Aplicación en el sustrato (Esterilizado, Pasteurización sin cal y Pasteurización con cal)
$Tk =$	Efecto del Tiempo de crecimiento del hongo (0, 7, 15 y 25 días)
$li*Aj =$	Efecto de la interacción del inoculo por la aplicación en el sustrato
$li*Tk =$	Efecto de la interacción del inoculo por el tiempo de crecimiento del hongo
$Aj*Tk =$	Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el tiempo de crecimiento del hongo
$li*Aj*Tk =$	Triple interacción de inóculo por aplicación en el sustrato por el tiempo de crecimiento del hongo
$eijkl =$	Error experimental

4.6.3 Método de aleatorización para las unidades experimentales.

Para que el experimento cumpliera con los factores involucrados, se procedió aleatorizar las unidades experimentales para saber en qué grupo de inoculo, aplicación en el sustrato y el tiempo de crecimiento permanecerían. Se prepararon tres bolsas con papelitos: uno con cuatro papelitos que pertenecían a los tiempos 0, 7, 15 y 25, otro con tres papelitos que son las aplicaciones del sustrato: esterilizado, pasteurización sin cal y pasteurización con cal y por ultimo otra bolsa que fue el grupo a la cual se destinaría: al grupo inoculado o al grupo no inoculado, como son 24 unidades experimentales se le aplicaría 4 repeticiones. Por lo tanto al final quedaría: 2 grupos de 48 bolsas; donde cada grupo contaría con una línea de aplicación de 16 bolsas y como son cuatro tiempos se agrupo por columna de tres bolsitas. Después a cada combinación se le asignó una identificación de tratamiento (T), un número (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11 y 12), una letra para la repetición (a,b,c,d) y para el grupo ya sea inoculado se le identifico como INO o para el grupo no inoculado se le escribió NI.

4.6.4 Preparación del Sustrato a Inocular.

De acuerdo a lo anterior, se elaboraron 96 bolsas polipapel tratadas, a una se le añadió semilla con micelio de hongo *Pleurotus ostreatus* y a otro no.

4.6.5 Aplicaciones de Tratamiento para el Sustrato.

4.6.5.1 Esterilizado.

Para esterilizar el sustrato de residuo de caña, se tuvo que humedecer el medio. Para saber la cantidad de mililitros de agua que llevará el sustrato se hizo una prueba preliminar, se pesó 130 g de sustrato seco de ese residuo y se colocó en una tina, después con una probeta se vertió 50 ml de agua destilada o de garrafón, se agregó el agua al sustrato y se mezcló para quedar homogéneo, con el tacto de la mano se tomó a criterio si quedó húmedo o no; en caso de que no quedará humedecido se agregó otros 50 ml hasta que el sustrato quede completamente húmedo. Una vez calculado los mililitros totales de agua, se pesó el volumen total de residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar; se colocó en el contenedor, se le agregó los mililitros de agua calculados anteriormente y se mezcló hasta quedar homogéneo. Una vez que se humedeció totalmente el sustrato, se preparó la bolsa de polipapel, se empezó a pesar los 130 g de residuo más los mililitros de agua que se había agregado para humedecerlo y para sellarlo se utilizó el plastinado. Después se colocó en el autoclave a 15 lb de presión durante 60 minutos, después se dejó enfriar en el autoclave, se retiró y se puso la bolsa polipapel esterilizada en la mesa para después sembrarla con la semilla de inóculo de hongo en la campana de flujo laminar.

4.6.5.2 Siembra del Hongo *Pleurotus ostreatus*.

Para sembrar el hongo *Pleurotus ostreatus*, primero se tomó en cuenta que el sustrato estará en base húmedo y de acuerdo a su peso se le agregara en relación

al 10 % de semilla con inóculo de hongo por lo que fue de 43 g por bolsa. Para pesar los gramos de inóculo de semilla de hongo, se utilizó pequeñas charolas de aluminio esterilizadas. Las bolsas polipapel estériles enfriadas y las charolas pequeñas de aluminio con semilla de inóculo de hongo se colocaron en la campana con flujo laminar. La técnica de sembrado consistió primero en retirar el plastinado de la bolsa polipapel; luego se abrió la bolsa y con la charolita de aluminio se introdujo un poco de semilla con hongo, se empezó a agitar la bolsa para que la semilla resbalara y quedara a los lados de la bolsa, después de que se había introducido a los lados, el poco de semilla con hongo se introdujo en la bolsa, de modo de que este quedara encima del sustrato estéril. Después se le colocó un nuevo plastinado a la bolsa polipapel para que se sellara. Las bolsas ya selladas se colocaron en anaqueles para que se dejara crecer al hongo y empezara a cubrir todo el sustrato.

4.6.5.3 Pasteurización Sin Adición de Cal.

Se pesó el volumen total de residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar (este dato se obtuvo mediante el cálculo de los 130 g de sustrato seco por las 32 bolsas polipapel, contando que por cada grupo saldrán 16 bolsas por aplicación para el sustrato). Se utilizó ollas vaporeras con capacidad de 20 litros de agua, se vertió 15 litros de agua como base y se les añadió temperatura para que empezaran a hervir. El sustrato pesado se colocó en bolsas hechas de tela mosquitero cocido a mano con hilo cordel para pescar, cada bolsa tenía la capacidad de estar completamente sumergido en la olla vaporera. Se colocó la bolsa de tela mosquitero dentro de la olla vaporera con agua hirviendo y se cuidó de que el material sumergido no derramara agua fuera de la olla. Cuando estuvo completamente sumergida la bolsa de tela mosquitero con sustrato dentro de la olla, encima se dejó un contrapeso para que se mantuviera en ese estado durante 60 minutos. Después de haber hervido, se retiró el contrapeso y la bolsa de tela mosquitero con el sustrato se dejó en un lugar donde se enfriara y escurriera. Luego se extendió en una mesa desinfectada con alcohol al 97%, donde quedo listo para ser pesado e inoculado al instante.

4.6.5.4 Siembra del Hongo *Pleurotus ostreatus*.

Para siembra del hongo *Pleurotus ostreatus*, se utilizó el mismo peso calculado en el tratamiento anterior. Se pesó el grano de trigo inoculado en las charolas pequeñas de aluminio y se colocó en la mesa junto al sustrato que se dejó enfriar. La técnica de sembrado consistió en tarar una bolsa polipapel en la báscula y encima de ella se pesó los 430 g de residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar base húmeda (130 g RCM + 300 ml de agua destilada). Luego con la charolita de aluminio se introdujo un poco de semilla con hongo, se empezó agitar la bolsa para que la semilla resbalara y quedara a los lados de la bolsa. Después de haber introducido a los lados, el poco de semilla de hongo se depositó en la bolsa, de modo de que este quedara encima del sustrato pasteurizado. Después se le colocó plastinado a la bolsa polipapel para que se sellara. Las bolsas ya selladas se colocaron en anaqueles para que se dejara crecer al hongo y empezara a cubrir todo el sustrato.

4.6.5.5 Pasteurización Con Adición de Cal.

Se pesó el volumen total de residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar (este dato se obtendrá mediante el cálculo de los 130 g de sustrato seco por las 32 bolsas polipapel, contando que por cada grupo saldrán 16 bolsas por aplicación de sustrato). Se utilizaron ollas vaporeras con capacidad de 20 litros de agua, se vertió 15 litros de agua como base y se les añadió temperatura para que empezaran a hervir. Para la adición de gramos de cal se calculó por medio de una regla de 3, la relación es que un tambo de 170 litros de agua lleva 800 gramos de cal, se tomó como base los 15 litros de agua vertidos en la olla vaporera. El sustrato pesado se colocó en bolsas hechas de tela mosquitero cocido a mano con hilo cordel para pescar, cada bolsa tenía la capacidad de estar completamente sumergido en la olla vaporera. Se colocó la bolsa de tela mosquitero dentro de la olla vaporera con agua hirviendo y se cuidó de que el material sumergido no derramara agua fuera de la olla. Cuando estuvo completamente sumergida la bolsa de tela mosquitero con

sustrato dentro de la olla, encima se dejó un contrapeso para que se mantuviera en ese estado durante 60 minutos. Al hervir con cal, ayuda al sustrato a eliminar microorganismos que producen moho, por lo que afecta en su pH para evitar su reproducción. Después de haber hervido, se retiró el contrapeso y la bolsa de tela mosquitero con el sustrato se dejó en un lugar donde se enfriara y escurriera, para luego ser extendida en una mesa desinfectada con alcohol al 97%, donde quedo listo para ser pesado e inoculado al instante.

4.6.5.6 Siembra del Hongo *Pleurotus ostreatus*.

Para siembra del hongo *Pleurotus ostreatus*, se utilizó el mismo peso calculado en el tratamiento anterior. Se pesó el grano de trigo inoculado en las charolas pequeñas de aluminio y se colocó en la mesa junto al sustrato que se dejó enfriar. La técnica de sembrado consistió en tarar una bolsa polipapel en la báscula y encima de ella se pesó los 430 g de residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar base húmeda (130 g RCM + 300 ml de agua destilada). Luego con la charolita de aluminio se introdujo un poco de semilla con hongo, se empezó agitar la bolsa para que la semilla resbalara y quedara a los lados de la bolsa. Después de haber introducido a los lados, el poco de semilla de hongo se depositó en la bolsa, de modo de que este quedara encima del sustrato pasteurizado. Después se le colocó plastinado a la bolsa polipapel para que se sellara. Las bolsas ya selladas se colocaron en anaqueles para que se dejara crecer al hongo y empezara a cubrir todo el sustrato.

4.6.5.7 Cosecha del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Se tomó en cuenta los tiempos de colonización del hongo *Pleurotus ostreatus* en el grupo inoculado (INO). Cuando llegaba el tiempo de colonización, en ese día se cosechaba el hongo para pasarlos a las bolsas de papel estraza. Los tiempos utilizados fueron a los 0, 7, 15 y 25 días respectivamente. Para el no inoculado (NI) solo se igualaría en los mismos tiempos que los del otro grupo.

4.6.5.8 Secado y Empaquetado.

Para secar las muestras por tiempo de colonización, primero se pesó las bolsas de estraza y se anotó en la bitácora. Después se tomó bolsa con la muestra del tiempo de colonización correspondiente y se pesó la muestra fresca, cuidadosamente se abrió la bolsa polipapel y el contenido se depositó en charola para extenderla y dejarla en un lugar cerrado para que se deshidratara. Después, al siguiente día, se recogió la muestra y se introdujo dentro de la bolsa de estraza correspondiente, para después llevarla al horno y se dejara secar a una temperatura de 60 a 70 °C respectivamente durante 48 horas. Las muestras secas se volvían a pesar nuevamente y se depositaban en hielera forrada con estraza para mantenerlo en ambiente seco o bien en costales lavados y desinfectados para después sellarlos con plastinado y reforzarlo con cinta canela para soportaran el transporte hacia Tabasco.

4.7 Parámetros bromatológicos a evaluar.

4.7.1 Determinación de la Materia Seca (% MS).

Para determinar esta variable se pesaron 130 g de la muestra de residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar y se colocaron en una estufa de desecación de aire forzado entre 60 – 70 °C durante 48 horas de acuerdo a la AOAC (2005).

4.7.2. Determinación de pH en los sustratos.

Para la determinación de pH de los sustratos, se utilizó un potenciómetro (Conductronic) antes calibrado con una solución buferante de pH 7 y otra a pH de 4. En la medición de pH en sustrato, se pesaron 20 g de sustrato en un vaso de precipitado de 250 ml (Kimax) y se agregaron 100 ml de agua destilada, se homogenizaron y se colocaron con un electrodo de dicho potenciómetro. De cada

sustrato se tomaron 2 mediciones (original y repetición) tanto en los inoculados y los testigos.

4.7.3 Determinación de Proteína Cruda (% PC).

Los 130 g de residuos de cosecha de caña, posteriormente se molieron en un molino de martillo marca Thomas Willey adaptada a una criba de 2 mm, conservando el material en bolsas de polipapel, previamente identificados. Para determinar esta variable se utilizó la metodología propuesta por la AOAC (2005).

4.7.4 Determinación de la Fibra Detergente Neutro (% FDN) y Fibra Detergente Acido (% FDA).

Para determinar estas variables se utilizó la metodología propuesta por Van Soest *et al.*, (1991) y AOAC (2005).

4.7.5 Determinación del Contenido Celular (% CC).

Se calculó por diferencia $100 - \text{FDN}$.

4.7.6 Determinación de la Hemicelulosa (% HMC).

Se calculó por diferencia $\text{FDN} - \text{FDA}$.

4.7.7 Determinación de celulosa – lignina.

Se utilizó la metodología de lignina detergente ácido descrito por la AOAC (2005).

4.7.8 Determinación de la degradación in situ de la materia seca (% DIMS).

Para determinar la degradación *in situ* de la materia seca (DIMS), se pesaron 5 g de muestra molidas en criba de 2 mm y se colocaron en bolsas de poliseda (10 x 20 cm) según tratamientos de acuerdo a la metodología de Orskov *et al.*, (1980). Se incubaron en 6 toros con fistula en el rumen, se consideró que las edades y la condición corporal son homogéneas no obstante por el peso de los animales que variaba. Las bolsitas de poliseda se introducen en morralitos hechos de tela de mosquitero y cosidos con hilo de cordel de pescar, una cosa es importante considerar el tamaño del morralito y del hilo que se va a introducir en el rumen. Se introdujeron los morralitos por tiempo de degradación: 96, 72, 48, 24, 12 y 6 h. Cada uno de estos horarios se les creó 4 repeticiones de 24 unidades experimentales. Pasado los tiempos de degradación, las bolsitas son removidos del rumen se lavan con agua corriente en cubetas (20 a 40 litros), agitando manual y continuamente; el agua se cambia hasta que en el último enjuague se vea clara (aproximadamente de 10 a 15 lavados). Este mismo manejo se hace con bolsas al tiempo cero y no son introducidas en el rumen para reducir el efecto del error por el lavado de bolsas. Posteriormente, fueron colocadas en una estufa de desecación de aire forzado a temperatura de entre 60 – 70 °C. Una vez secas, se pesaron y se determinó la DIMS, mediante la siguiente fórmula:

$$(PBCMS - PBSM / PMN) * 100$$

Dónde:

PBMF = Peso de la bolsa con muestra seca en gramos.

PBMS = Peso de la bolsa sin muestra en gramos.

PMN= Peso de la muestra neta en gramos.

4.8 Análisis estadístico.

La información que se obtuvo, se procesó con el software estadístico S.A.S Institute Versión 9.0, (SAS, 2002) por el cual los datos obtenidos se sometieron a ajustes de comparaciones múltiples Tukey (1975).

4.9 Ajuste de los datos en base seca.

Un problema cuando se pesa es que el ambiente húmedo altera los pesajes y queda el material parcialmente seca. Por lo que se procedió un ajuste, donde se pesó 1 g de muestra (según tratamientos) y se colocó en una estufa de aire forzado a 105 °C durante 24 h para determinar la materia seca total. Todos los pesos de las muestras utilizados en los análisis bromatológicos y de degradación in situ fueron ajustados a 100% base seca.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Descripción del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* en las muestras de residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar

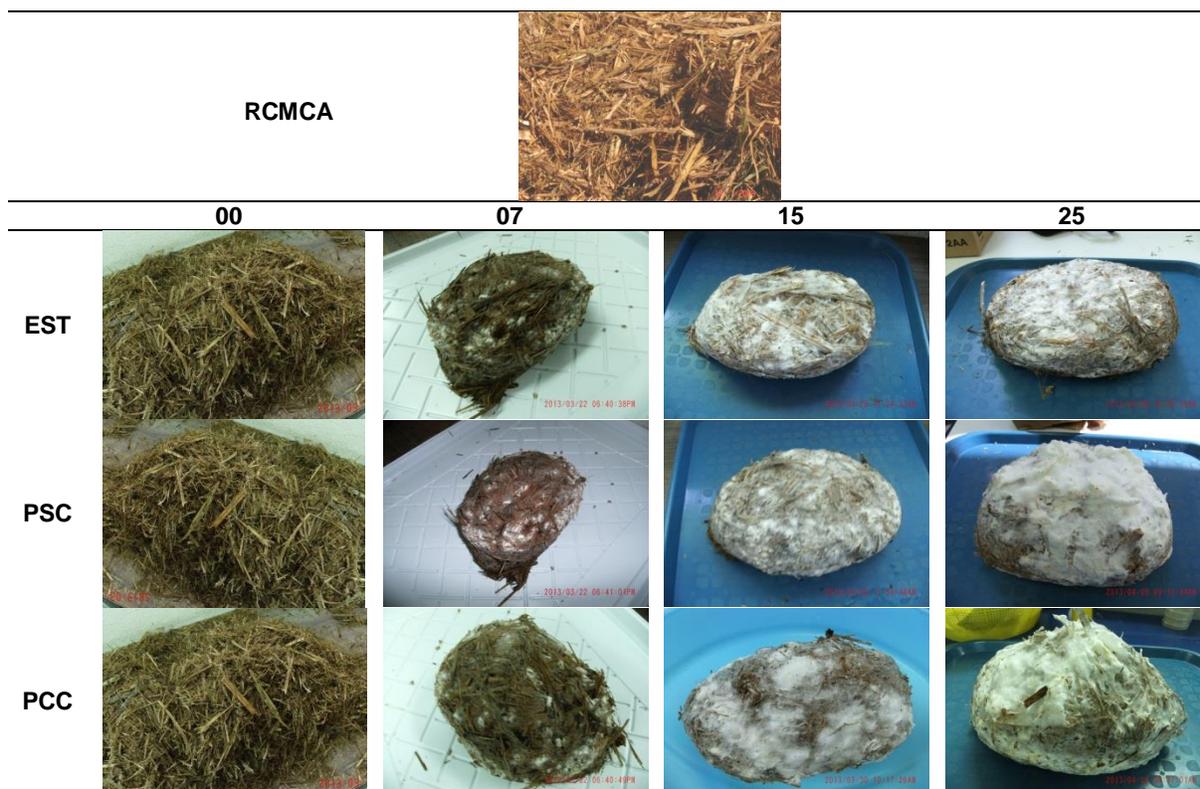


Figura 16. Representación fotográfica de las muestras inoculadas con hongo *Pleurotus ostreatus* obtenidas con los tratamientos esterilizado (EST), pasteurización sin cal (PSC) y pasteurización con cal (PCC) durante los días de crecimiento en el Laboratorio de Hongos Comestibles del Colegio de Postgraduados Campus Puebla comparado con los residuos de cosecha mecanizada de caña de azúcar natural obtenidas en el campo.

En las muestras inoculadas se observa que en el tratamiento esterilizado a los 0 días de crecimiento no hay presencia del hongo *Pleurotus ostreatus*, sin embargo los puntos blancos que se aprecian son los granos de trigo donde esta adherido el hongo. A los 7 días de crecimiento; el micelio va cubriendo en varias partes del material residual de caña. A los 15 días de crecimiento, se observa que el hongo *Pleurotus ostreatus* va cubriendo arriba del 75% aproximadamente del sustrato de residuo de caña. A los 25 días de crecimiento, el hongo cubre arriba del 90% del residuo tratado y empieza a observarse la aparición de primordios (Figura 16) que

son etapas tempranas de desarrollo de los cuerpos fructíferos de la fase reproductiva, los cuales están envueltos por una membrana universal que cubre totalmente el cuerpo fructífero, protegiéndolo. (Martínez *et al*, 2006; Sánchez y Royse, 2001). Este mismo patrón se mostró para los tratamientos de pasteurización sin y con adición de cal.



Figura 17. Primordio en fase inicial durante el ciclo de vida del hongo *Pleurotus ostreatus* (Sánchez y Royse, 2001)

5.2. Parámetros Fermentativos.

5.2.1 El pH.

Para la variable pH, existe una triple interacción donde los factores involucrados son: el factor tiempo de crecimiento del hongo (0, 7, 15 y 25 días), el factor aplicación de tratamiento en el sustrato (esterilización, pasteurización sin cal y pasteurización con adición de cal) y el factor inóculo (RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus* y RCMCA sin inocular). Debido a la triple interacción, el factor inóculo se dividió en el grupo de RCMCA con inóculo y RCMCA sin el inóculo de hongo *Pleurotus ostreatus*.

En el grupo de RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus*; el tratamiento esterilizado, a los 0 días se obtuvo un pH inicial de 6.6, a los 7 días subió a 5.7 de pH, a los 15 días bajó a 5.5 de pH y a los 25 días de crecimiento del hongo bajó nuevamente su pH a 5.3. Para el tratamiento de pasteurización sin cal a los 0 días, se obtuvo un pH inicial de 6.6, a los 7 días bajó a 5.6 de pH, a los 15 días subió a 6.0 de pH y a los 25 días de crecimiento del hongo conservo el valor de pH de 6.0. El tratamiento de pasteurización con adición de cal, a los 0 días se obtuvo un pH

inicial de 7.5, a los 7 días disminuyó a 7.1 de pH, a los 15 días volvió a disminuir a 5.9 de pH y a los 25 días de crecimiento del hongo conservo el valor de pH de 5.9 (Figura 18).

Los tratamientos esterilizado, pasteurizado sin y con adición de cal aplicados a los RCMCA presentaron diferencias ($P \leq 0.01$). Estos tratamientos tuvieron el objetivo de eliminar microorganismos naturales del sustrato, para que el hongo tuviera mayor eficiencia de crecimiento. El pH del material esterilizado, a los 25 días de crecimiento del hongo fue de 5.3 y de los tratamientos alternativos de pasteurización sin y con adición cal fue de 6.02 y 5.9 de pH. Por lo que se puede considerar que la esterilización y pasteurización con cal fueron las más eficientes para el crecimiento y desarrollo micelar del hongo. Trabajo similar fue reportado por Sihuana, (2011) donde al inocular el hongo *Pleurotus ostreatus* (CP-50) en residuos de paja de caña pasteurizada a los 12 días de crecimiento del hongo obtuvo un pH de 6.8. Por otro lado Cerrilla *et al.*, (1986) al inocular en paja de cebada pasteurizada con hongo *Pleurotus ostreatus ssp.* con crecimiento de 60 días obtuvo un pH promedio de 6.7. Los pH obtenidos en estos trabajos con tratamiento de pasteurización sin cal en comparación con el pH obtenido en nuestro trabajo con tratamiento de pasteurización con cal, se puede considerar que este tratamiento es el mejor para el crecimiento y reproducción del hongo en la fase micelar para su futura fructificación.

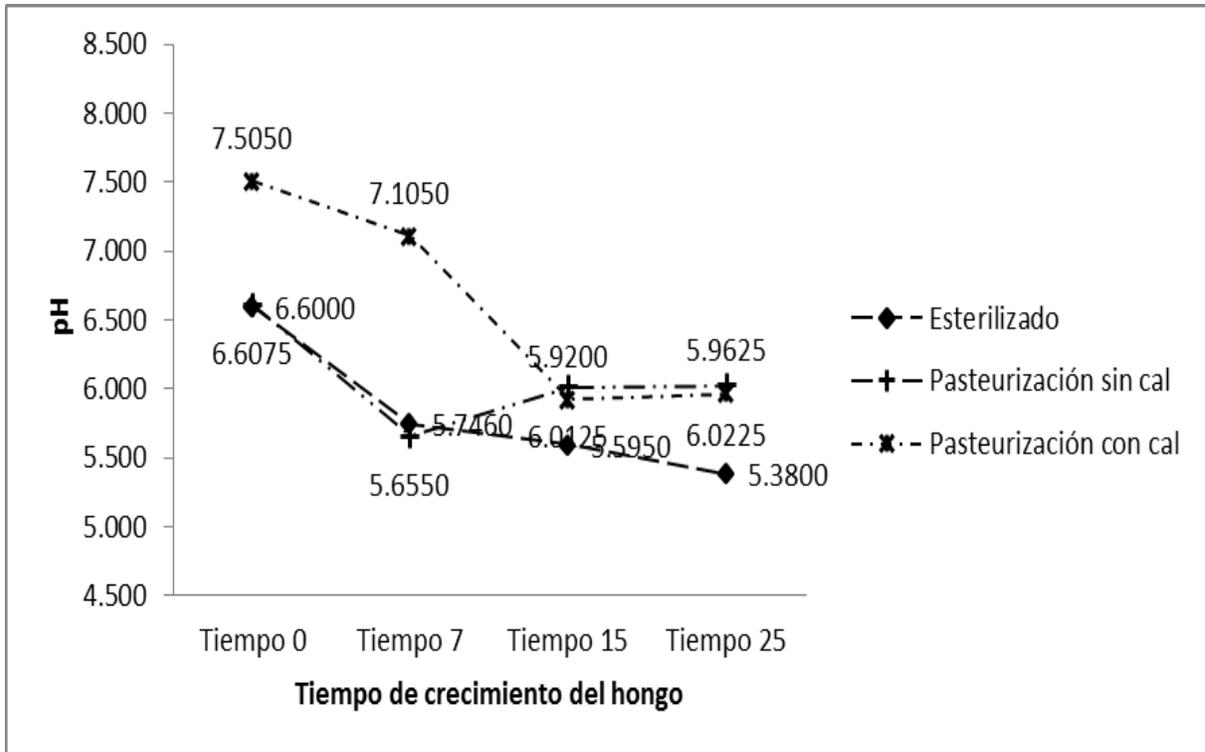


Figura 18. Efecto del pH sobre los tratamientos esterilizado, pasteurización sin cal y pasteurización con adición de cal a través del tiempo en los RCMCA inoculadas con el hongo *Pleurotus ostreatus*.

Para el grupo de RCMCA sin inóculo de hongo *Pleurotus ostreatus*; el tratamiento esterilizado, a los 0 días se obtuvo un pH inicial de 6.5, a los 7 días bajó a 6.4 de pH, a los 15 días subió a 6.6 pH y a los 25 días de crecimiento del hongo bajo su pH a 6.4. Para el tratamiento de pasteurización sin cal a los 0 días, se obtuvo un pH inicial de 6.9, a los 7 días conservó el valor de pH de 6.9, a los 15 días aumentó a 7.0 de pH y a los 25 días de crecimiento del hongo disminuyó a 6.9 de pH. El tratamiento de pasteurización con adición de cal, a los 0 días se obtuvo un pH inicial de 7.9, a los 7 días disminuyó a 7.5 de pH, a los 15 días subió a 7.6 de pH y a los 25 días de crecimiento del hongo aumento el valor de pH a 8.0 (Figura 19).

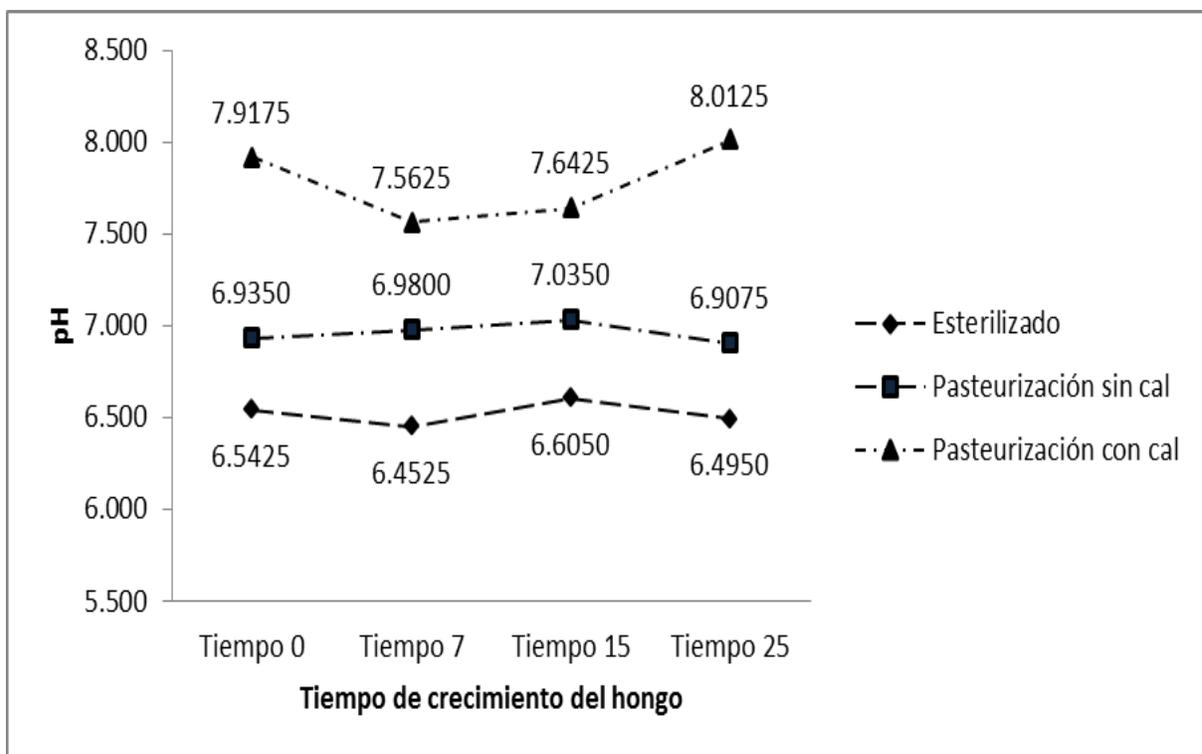


Figura 19. Efecto del pH sobre los tratamientos: esterilizado, pasteurización sin cal y pasteurización con adición de cal a través del tiempo en los RCMCA no inoculadas.

En los RCMCA no inoculados en los tratamientos de esterilización y, pasteurización sin cal mostraron niveles de pH altos entre 6.9 y 7.9, mientras que la pasteurización con adición de cal, mostró valores de pH menores de 6.6, lo indica que estos residuos no están en condiciones óptimas para que el hongo crezca de forma natural en el sustrato. Por lo tanto Cerilla *et al.*, (1986) reporta que no encontró diferencias en su testigo de paja de cebada pasteurizada sin inóculo de hongo *Pleurotus ostreatus ssp.* con crecimiento de 60 días, después de realizar varias mediciones de pH a su muestra.

5.3 Variables Bromatológicas.

5.3.1 Materia Seca (MS).

En la variable materia seca presentó doble interacción entre los factores aplicación de tratamiento en el sustrato (esterilizado, pasteurización sin y con adición

de cal) por el inóculo (con inóculo y sin inocular). Al aplicar el tratamiento de esterilización a los RCMCA y añadiéndolo inóculo de hongo *Pleurotus ostreatus* se obtuvo una MS de 28.7% comparado con los RCMCA sin inocular que obtuvo una MS de 26.4%, por lo que hay diferencia ($P \leq 0.01$). Sin embargo, el tratamiento de pasteurización sin adición de cal en los RCMCA inocular con hongo *Pleurotus ostreatus*; obtuvo una MS de 25.3% en comparación los RCMCA sin inocular que presentó una MS del 21.5% MS por lo que hay diferencia ($P \leq 0.01$). Por último, el tratamiento de pasteurización con adición de cal inocular con hongo *Pleurotus ostreatus* obtuvo una MS de 23.9% comparado con los RCMCA sin inocular que presentó una MS del 22.7% indicando una diferencia significativa ($P \leq 0.01$) (Figura 20).

Por lo tanto, los RCMCA inocular con *Pleurotus ostreatus* mantuvo una MS inicial del 28.7% reduciéndose hasta 23.9% comparado a los RCMCA no inocular que poseen valores menores de MS, lo cual se deba probablemente a la actividad metabólica del hongo en la MS, ya que necesita los nutrientes de la pared celular para colonizarse en el sustrato durante su tiempo de crecimiento. Dato similar obtuvo Torres *et al.*, (2004), durante la inoculación del hongo *Trichoderma viride* en bagazo de caña de azúcar con el tratamiento de pasteurización, en la cual obtuvo un contenido de MS del 22% comparado con su testigo y la causa probable sería el consumo de los nutrientes del residuo a través de la acción metabólica producida por el hongo.

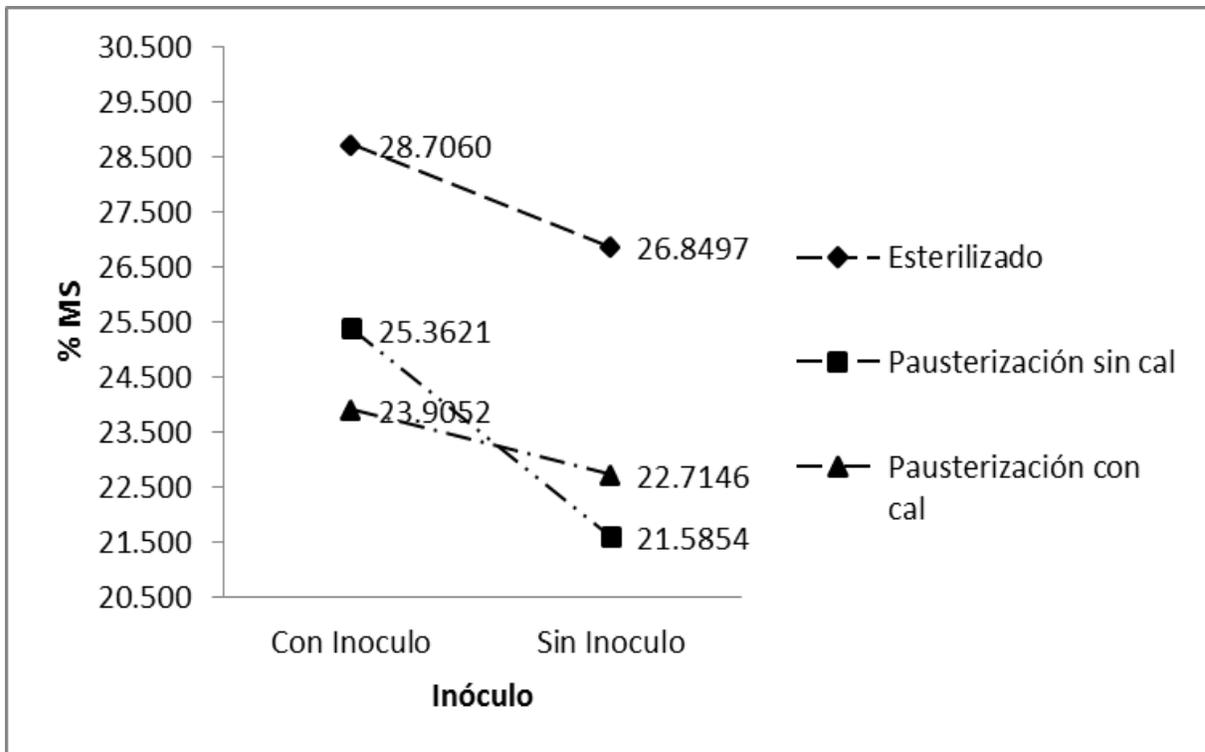


Figura 20. Efecto del tratamiento esterilizado, pasteurizado sin cal y pasteurización con cal sobre el porcentaje de MS de los RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus*.

5.3.2 Fibra detergente neutro (FDN).

Para la variable FDN sus contenidos en RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus* y RCMCA sin inocular fueron de 68.54% y 80.12%, el cual presentaron diferencias ($P \leq 0.01$). Los tratamientos de esterilización, pasteurización sin y con adición de cal presentaron diferentes valores de FDN de 73.53%, 76.76% y 72.68% respectivamente ($P \leq 0.01$). El factor de tiempo de crecimiento del hongo en los días 0, 7, 15 y 25 días no presentó diferencias ($P \geq 0.05$) (Cuadro 7). Los RCMCA inoculados presentaron 12 unidades porcentuales de FDN menor a los no inoculados, indicando la actividad del hongo sobre las estructuras del material fibroso de los residuos, aunque (Din *et al.*, 1991) indica que la actividad dependerá de la superficie que tenga y la acción del hongo sobre el sustrato. Por su parte Garzón *et al.*, (2008), al inocular el hongo *Pleurotus ostreatus* en los residuos de bagazo, café y maíz; también obtuvo una disminución en su contenido de FDN del 67% en

comparación a su testigo que obtuvo una FDN del 80%. Lo cual lo atribuye a la acción del hongo sobre la pared celular del residuo.

El contenido de FDN de los RCMCA con los tratamientos esterilizado y pasteurizado con adición de cal, fueron menores al de pasteurizado sin adición de cal, indicando una mayor actividad en la eficiencia de la capacidad metabólica-lignocelulósica del hongo sobre el sustrato. El autor Martínez *et al.*, (2006) reporta que el efecto de estos tratamientos son favorables para que el hongo se desarrolle de manera natural en el sustrato. Por su parte, Rodríguez, (2007) señala que el inocular *Pleurotus ostreatus* cepa IE8 en rastrojo de cebada pasteurizado con cal y dejarlo en crecimiento a los 8, 16 y 30 días, obtuvo una FDN de 77.38%, 78.34% y 72.74% respectivamente y que el valor de a los 3 días fue menor a los de 8 y 16 días debido al tratamiento de pasteurización con cal. Por lo tanto, se sabe que el tratamiento de esterilización permite un buen crecimiento del hongo al eliminar los microorganismos que se encuentra en el sustrato de una manera natural; aunque este es eficiente en su uso a nivel de laboratorio. Pero a nivel de campo, su uso es imposible debido a que los RCMCA se encuentran en enormes volúmenes y genera un alto costo, por lo que se vuelve inoperante. Por tanto el tratamiento de pasterización con cal surge como un tratamiento alternativo viable para utilizarlo a nivel de campo y poder aplicarlo en los residuos de la cosecha de cualquier cultivo.

En el tiempo de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* en los RCMCA a diferentes días evaluados no presentaron diferencias en su contenido de FDN, posiblemente por la tecnología de fermentación en estado sólido, donde el control de los factores involucrados es más difícil de estimar como lo señala Valiño *et al.*, (2003) al inocular *Trichoderma viride* 137 en bagazo de caña. Por lo tanto, aunque los RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus* evaluados a los días 0, 7, 15 y 25 días no presentaron diferencias, existe una FDN promedio de 74.2% que comparado a los RCMCA sin inocular con FDN de 80.1%, hay una degradación de 5.9 unidades porcentuales de FDN.

Cuadro 7. Valores de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, celulosa y lignina en los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar como factores principales.

Factores	% FDN	% FDA	% CEL	% LIG
Inóculo				
Con inóculo	68.540^b	40.165^b	18.413^b	13.881^b
Sin inóculo	80.122^a	48.551^a	24.447^a	15.569^a
E.E.±	0.784	0.624	0.335	0.730
Aplicación en el sustrato				
Esterilizado	73.539^b	43.787^a	20.091^a	14.199^a
Pasteurización Sin Cal	76.764^a	45.088^a	19.789^a	15.988^a
Pasteurización Con Cal	72.689^b	44.200^a	19.376^a	15.495^a
E.E.±	0.480	0.382	0.223	1.050
Tiempo de crecimiento del hongo				
0 Días	74.832^a	43.458^a	19.874^a	14.566^a
7 Días	74.668^a	44.422^a	19.178^a	14.679^a
15 Días	73.937^a	44.440^a	20.501^a	15.014^a
25 Días	73.887^a	45.113^a	18.943^a	15.302^a
E.E.+	0.042	0.033	0.167	1.109

Prueba de comparación de medias por Tukey o DHS ($P \leq 0.05$). Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

5.3.3 Fibra detergente ácido (FDA).

Para la variable FDA, en el factor principal inóculo (RCMCA con y sin inóculo de *Pleurotus ostreatus*) su contenido de FDA para los RCMCA con inóculo fue de 40.1% y los RCMCA sin inocular fue de 48.5%, lo cual presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$). En el factor principal de aplicación; los tratamientos de esterilización, pasteurización sin y con adición de cal en los RCMCA no presentaron diferencias ($P \geq 0.05$), de igual forma para el factor principal de tiempo de crecimiento del hongo en los días 0, 7, 15 y 25 días donde no hubo significancia ($P \geq 0.05$) (Cuadro 7).

Los RCMCA inoculado con hongo *Pleurotus ostreatus* presentó diferencias de FDA en relación a los RCMCA no inoculados ($P \leq 0.01$), por lo que la causa probable es la acción degradativa y metabólica del hongo en las paredes celulares de los RCMCA durante su crecimiento y colonización. Dato similar fue reportado por Montañez *et al.*, (2008) donde indica que a los 60 días de haber sido inoculado con hongo *Pleurotus pulmonarius* en residuos de paja pasteurizada obtuvo una FDA de 45.81% comparada a su testigo de 68.43% de FDA y que esto se debía a la acción

del hongo en degradar la fibra durante la colonización del sustrato, así mismo Rodríguez *et al.*, (2007) indica que en el día 8, obtuvo una FDA de 53.8% en residuos de rastrojo de cebada, pasteurizado e inoculado con *Pleurotus ostreatus* cepa EI8, y esta fue menor en comparación a los 16 y 30 días de crecimiento donde sus contenidos de FDA fueron de 57.9% y 56.7%, lo cual indicaba que la actividad de degradación de la fibra era producida por el hongo.

En las aplicaciones de los tratamientos de esterilizado, pasteurización sin cal y con adición de cal, no presentaron diferencias. Sin embargo, a pesar que no hay diferencias entre los tratamientos, existe un valor promedio de 44.3% de FDA que en comparación con el resultado de los RCMCA sin inocular de 48.5%, hay una diferencia de 4.2% de FDA, lo que significa que hay una degradación de estos componentes químicos. En el tiempo de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* sus contenidos de FDA en los RCMCA a diferentes días evaluados (0, 7, 15 y 25) no presentaron diferencia, a pesar de ello existe una FDA promedio de 44.3% que comparado a los RCMCA sin inocular con FDA de 48.5%, hay una degradación de 4.2 unidades porcentuales de FDA. A pesar de se muestra una disminución de FDA de los RCMCA inoculados con *Pleurotus ostreatus* en comparación con los RCMCA sin inocular en ambos factores principales, los datos obtenidos en este trabajo no permiten ver esa diferencia, posiblemente se deba a la tecnología de fermentación en estado sólido, donde el control de los factores involucrados es más difícil de estimar como lo señala Valiño *et al.*, (2003) al inocular *Trichoderma viride* 137 en bagazo de caña.

5.3.4 Hemicelulosa (HMC).

En la variable de hemicelulosa, existe una doble interacción donde los factores involucrados son: el factor tiempo de crecimiento del hongo (0, 7, 15 y 25 días), y el factor inóculo (RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus* y RCMCA sin inocular).

Para los RCMCA con inoculo de hongo *Pleurotus ostreatus* se obtuvieron valores diferentes de hemicelulosa de 31.7%, 28.6%, 27.0% y 25.7% para los tiempos 0, 7, 15 y 25 días respectivamente ($P \leq 0.01$). Para los RCMCA sin inocular, los valores de hemicelulosa fueron de 30.9%, 31.6%, 31.9 y 31.7 para los días 0, 7, 15 y 25; el cual no presentaron diferencias ($P \geq 0.05$) (Figura 21).

Las cantidades de hemicelulosa presentes en los RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus* va de forma decreciente a través del tiempo, sin embargo enfocándonos al tiempo 25, la cantidad de hemicelulosa de 25.78 % es menor a comparación con los RCMCA no inoculados con 31.76%. Por lo tanto esta disminución del porcentaje de hemicelulosa de los RCMCA en los inoculados se deba a que probablemente el hongo metaboliza parte de la hemicelulosa contenida en la materia orgánica para su crecimiento, por lo que es desfavorable, ya que la cantidad de hemicelulosa presente en los componentes fibrosos de los RCMCA deben ser utilizados como subproducto e incluirlo en dietas para la alimentación animal (Aranda *et al.*, 2004). El autor Adamovi *et al.*, (1998) reportó que en el análisis bromatológico en paja de trigo a los 120 días después de haber sido inoculado con hongo *Pleurotus ostreatus* presentó una disminución en su contenido de hemicelulosa debido a su acción metabólica. Además el autor Zadrazil (1984; citado por Montañez, 1999) indica que los efectos más notables de *Pleurotus ostreatus* en los componentes de la membrana celular es metabolizar la hemicelulosa simultáneamente. Sin embargo, Samsuri *et al.*, (2007); Sun *et al.*, (2004) señala que en bagazo de caña al ser inoculados por cualquier género de hongo, sus contenidos de hemicelulosa son reducidas por el mismo metabolismo que desarrolla. Por otra parte los trabajos de Cerrilla *et al.*, (1986); Montañez *et al.*, (2008), indican que cuando inocularon las pajas de cebada y paja de trigo a los 60 días con *Pleurotus ostreatus spp.* y *Pleurotus pulmonarius* obtuvieron valores de hemicelulosa de 16.74% y 21.44% respectivamente y que fueron menores a sus testigos, por lo tanto señalan que estos hongos tienen capacidad metabólica para reducir parte de los componentes de las paredes celulares principalmente hemicelulosa. Otro trabajo similar fue reportado por Rodríguez, (2007) menciona que a los 30 días de haber

sido inoculado por el hongo *Pleurotus ostreatus* cepa IE8 en rastrojo de cebada pasteurizada obtuvo una hemicelulosa del 16.74% que comparado a su testigo fue menor y esto fue debido a los procesos metabólicos que produce el hongo.

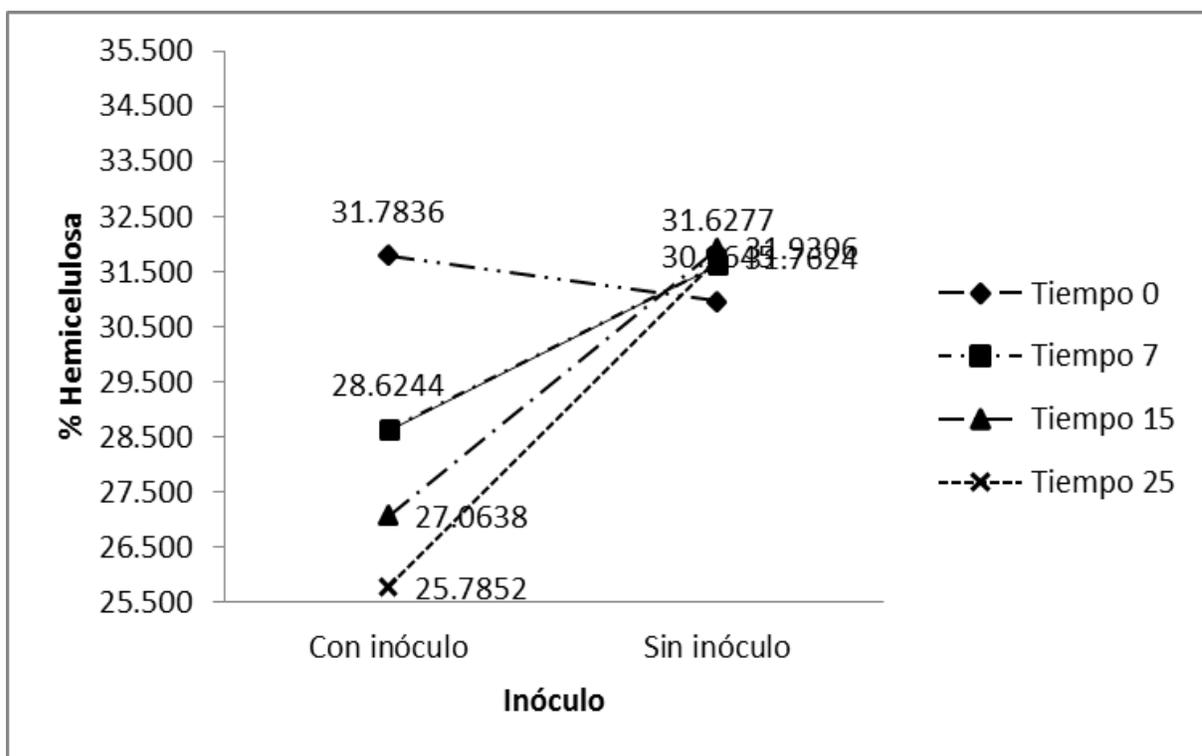


Figura 21. Efecto del crecimiento del hongo a los 0, 7, 15 y 25 días sobre el porcentaje de HMC de los RCMCA con y sin inóculo de hongo *Pleurotus ostreatus*.

5.3.5 Celulosa (CEL).

En la variable celulosa, en el factor principal inóculo (RCMCA con y sin inóculo de *Pleurotus ostreatus*) presenta un contenido de CEL para los RCMCA con inóculo de 18.41% y sin inóculo de 24.44%, indicando diferencia ($P \leq 0.01$). En el factor principal de aplicación; los tratamientos de esterilización, pasteurización sin y con adición de cal en los RCMCA no presentaron diferencias ($P \geq 0.05$), de igual forma para el factor principal de tiempo de crecimiento del hongo en los días 0, 7, 15 y 25 días, no hubo diferencia ($P \geq 0.05$) (Cuadro 7).

El contenido de CEL presente en los RCMCA inoculado con hongo *Pleurotus ostreatus* fue menor a los RCMCA sin inocular. Por lo tanto, la causa probable es que el hongo metaboliza las paredes fibrosas de los RCMCA por la acción de las enzimas que produce el hongo durante el desarrollo de su crecimiento en el sustrato; aunque en este trabajo no se realizó la medición enzimática. Dato similar reportó Adamovi *et al.*, (1998) donde señala que al realizar el análisis bromatológico en paja de trigo a los 120 días después de haber sido inoculado con hongo *Pleurotus ostreatus* presentó en su contenido de CEL menor cantidad e indica que probablemente se deba a la acción enzimática y reproductiva del hongo. Además, Zadrazil (1984; citado por Montañez, 1999) indica que los efectos del hongo *Pleurotus ostreatus* más notables en los componentes de la pared celular es metabolizar la celulosa. Sin embargo, Samsuri *et al.*, (2007); Sun *et al.*, (2004) señalan que en los residuos de bagazo de caña al ser inoculados por cualquier género de hongo, sus contenidos de celulosa son menores por el efecto del metabolismo. Por otra parte Cerrilla *et al.*, indicó que en la paja de cebada a los 60 días, pasteurizado e inoculado con *Pleurotus ostreatus spp.*, obtuvo un valor menor de celulosa a 32.24% comparado a su testigo y por lo tanto deduce que este hongo tiene la capacidad de metabolizar los componentes de las paredes celulares.

En las aplicaciones de los tratamientos de esterilizado, pasteurización sin cal y con adición de cal, no presentaron diferencias. Sin embargo, a pesar que no hay diferencias entre los tratamientos, existe un valor promedio de 19.6% de CEL que comparado con el resultado de los RCMCA sin inocular de 24.4%, hay una diferencia de 4.8% de CEL, lo que significa que hay una degradación de estos componentes celulares. En el tiempo de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* sus contenidos de CEL en los RCMCA a diferentes días evaluados (0, 7, 15 y 25) no presentaron diferencia, a pesar de ello existe una CEL promedio de 19.5% que comparado a los RCMCA sin inocular con CEL de 24.4%, hay una degradación de 4.9 unidades porcentuales de CEL. A pesar de se muestra una disminución de CEL de los RCMCA inoculados con *Pleurotus ostreatus* en comparación con los RCMCA sin inocular en ambos factores principales, los datos obtenidos en este trabajo no

permiten ver esa diferencia, posiblemente se deba a la tecnología de fermentación en estado sólido, donde el control de los factores involucrados es más difícil de estimar como lo señala Valiño *et al.*, (2003) al inocular *Trichoderma viride* 137 en bagazo de caña.

5.3.6 Lignina (LIG).

En la variable LIG, donde el factor principal inóculo (RCMCA con y sin inóculo de *Pleurotus ostreatus*) presenta un contenido de LIG de los RCMCA con inóculo de 13.88% y sin inocular de 15.56% ($P \leq 0.01$). En el factor principal de aplicación; los tratamientos de esterilización, pasteurización sin y con adición de cal en los RCMCA no presentaron diferencias ($P \geq 0.05$), de igual forma para el factor principal de tiempo de crecimiento del hongo en los días 0, 7, 15 y 25 días no presentaron diferencia ($P \geq 0.05$) (Cuadro 7).

La cantidad de LIG de los RCMCA inoculada con *Pleurotus ostreatus* presenta valores menores a los RCMCA sin inocular, este valor menor se obtuvo probablemente a la actividad enzimática desdoblado primero a la lignina para liberar hemicelulosa y celulosa, lo cual esto pudiera ser debido a que la degradación que se da en función al material expuesto y a la actividad enzimática presente (Rodríguez, 2007). Autores como Adamovi *et al.*, (1998); Zadrazil (1984; citado por Montañez, 1999) reportan que los efectos de *Pleurotus ostreatus* en los componentes de la membrana celular es metabolizar la lignina al igual que los otros constituyentes de la pared celular como hemicelulosa y celulosa. Por otra parte los trabajos de Cerrila *et al.*, 1986; Montañez *et al.*, 2008, señalaron que en las pajas de cebada y paja de trigo a los 60 días, pasteurizados e inoculados con *Pleurotus ostreatus* spp. y *Pleurotus pulmonarius* se obtuvieron valores de LIG de 9.10% y 8.50% respectivamente y que estos hongos tienen capacidad lignocelulósica para reducir parte de los componentes de las paredes de fibra. Otro trabajo similar reportado por Rodríguez, (2007) menciona que a los 30 días de haber sido inoculado por el hongo *Pleurotus ostreatus* cepa IE8 en rastrojo de cebada pasteurizada obtuvo una LIG de

17.36% que es menor en comparación a su testigo que fue de 23.5% y que esto es debido a los procesos metabólicos y enzimáticos que produce el hongo.

En las aplicaciones de los tratamientos de esterilizado, pasteurización sin cal y con adición de cal, no presentaron diferencias. Sin embargo, a pesar que no hay diferencias entre los tratamientos, existe un valor promedio de 15.1% de LIG que comparado con el resultado de los RCMCA sin inocular de 15.5%, hay una diferencia de 0.4% de LIG, lo que significa que hay una ligera degradación de estos componentes químicos de las paredes celulares. En el tiempo de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* sus contenidos de LIG en los RCMCA a diferentes días evaluados (0, 7, 15 y 25) no presentaron diferencia, a pesar de ello existe una LIG promedio de 14.8% que comparado a los RCMCA sin inocular con LIG de 15.5%, hay una ligera degradación de 0.7 unidades porcentuales de LIG. A pesar de se muestra una disminución de LIG de los RCMCA inoculados con *Pleurotus ostreatus* en comparación con los RCMCA sin inocular en ambos factores principales, los datos obtenidos en este trabajo no permiten ver esa diferencia, posiblemente se deba a la tecnología de fermentación en estado sólido, donde el control de los factores involucrados es más difícil de estimar como lo señala Valiño *et al.*, (2003) al inocular *Trichoderma viride* 137 en bagazo de caña.

5.3.7 Proteína cruda (PC).

El contenido de PC en los RCMCA inoculado con *Pleurotus ostreatus* fue de 4.6% comparado a los RCMCA sin inocular que obtuvo una PC fue de 1.8%, mostrando diferencia significativa ($P > 0.01$). En los tratamientos de esterilización y pasteurización sin y con adición de cal no hubo diferencias ($P > 0.05$), tampoco hubo diferencias con respecto al tiempo de crecimiento del hongo a los 0, 7, 15 y 25 días ($P > 0.05$) (Cuadro 8).

En los valores de PC encontrados, a pesar de que hay un incremento por efecto de la inoculación del hongo y además de que aporta proteína microbiana al

sustrato, como alimento no cubren los requerimiento de los animales, por lo que cuando se utilicen RCMCA se tienen que utilizar suplementos nitrogenados (Ramos *et al.*, 2006). Dato similar reporta Peláez *et al.*, (2008) donde a consecuencia de la actividad microbiana del hongo sobre el sustrato y a la asimilación de los carbohidratos solubles de fácil digestión, concentró más proteína, la cual fue de 7.43%. El autor Montañez, (2008) reportó que la paja de trigo después de haber sido pasteurizado e inoculado con *Pleurotus pulmonarius* a los 60 días obtuvo una PC del 4.78% y la causa posible es el efecto del hongo como aporte de proteína en el sustrato. Por su parte Rodríguez, (2007) reporta que en el rastrojo de cebada pasteurizado a los 8, 16 y 30 días después de haber sido inoculada con el hongo comestible *Pleurotus ostreatus* cepa IE8 obtuvo porcentajes de PC del 3.43%, 3.31% y 3.95% respectivamente y deduce que el hongo al momento de colonizar el sustrato ayudo a incrementar el aporte de PC

Sin embargo, a pesar de que no hay diferencias en los datos obtenidos de PC de los tratamientos y de los días en crecimiento, se puede decir que cualquier tratamiento a cualquier periodo de tiempo inoculado con *Pleurotus ostreatus* se obtiene un valor promedio de PC de 3.1%

5.3.8 Contenido celular (CC).

En la variable CC se encontró diferencias en el factor principal inóculo (RCMCA con y sin inóculo de *Pleurotus ostreatus*) donde el CC de los RCMCA con inóculo fue de 31.70% y sin inóculo de 19.87% ($P \leq 0.01$). En el factor principal de aplicación, los tratamientos de esterilización, pasteurización sin y con adición de cal no presentaron diferencias ($P \geq 0.05$). El factor principal de tiempo de crecimiento del hongo a los días 0, 7, 15 y 25 días no presentó diferencia en su valor de CC ($P \geq 0.05$) (Cuadro 8).

El contenido celular en el grupo de los inoculados es de 31.70 %, lo cual probablemente es generado por la acción del crecimiento del micelio de hongo

Pleurotus ostreatus y producción de enzimas como parte de su ciclo de vida (Sánchez y Royse, 2001) en los RCMCA. Trabajo similar fue reportado por Valiño *et al.*, 2003 donde la cantidad de CC a través del estudio enzimático y bromatológico del bagazo de caña inoculado con hongo *Trichoderma viride* cepa 137 es de 37.32% indicando un efecto de las enzimas en relación a su contenido celular.

Sin embargo, a pesar de que no hay diferencias en los datos obtenidos de CC de los tratamientos y de los días en crecimiento, se puede decir que cualquier tratamiento a cualquier periodo de tiempo inoculado con *Pleurotus ostreatus* se obtiene un valor promedio de CC de 26.3%

Cuadro 8. Valores de la proteína y contenido celular de los RCMCA como factores principales.

Factores	% PC	% CC
Inóculo		
Con inóculo	4.616 ^a	31.701 ^a
Sin inóculo	1.803 ^b	19.877 ^b
E.E.±	0.099	0.776
Aplicación en el sustrato		
Esterilizado	3.196 ^a	26.960 ^a
Pasteurización Sin Cal	3.246 ^a	27.596 ^a
Pasteurización Con Cal	3.190 ^a	27.310 ^a
E.E.±	0.061	0.475
Tiempo de crecimiento del hongo		
0 Días	3.194 ^a	25.167 ^a
7 Días	3.230 ^a	25.814 ^a
15 Días	3.147 ^a	26.063 ^a
25 Días	3.271 ^a	26.113 ^a
E.E.±	0.005	0.041

Prueba de comparación de medias por Tukey o DHS ($P \leq 0.05$). Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes

5.4 Degradación *in situ* de la materia seca (DIMS).

En la variable de DIMS, los RCMCA inoculados con hongo *Pleurotus ostreatus* y sin inocular incubados en el rumen de 6 a 96 h hay un efecto en el incremento en la degradación. Por su parte, los RCMCA inoculados presentaron los mayores porcentajes de degradación. La degradación independientemente del tratamiento esterilizado, pasteurizado sin y con adición de cal, a los 25 días de crecimiento del hongo a 96 h de incubación en el rumen, para los RCMCA no inoculados obtuvieron

un promedio de degradación de 55.19% y para los inoculados de 61.94%. El autor Olivera *et al.*, (2014) al inocular hongo *Fomix EUM1* a los RCMCA y someterlos a degradación ruminal *in situ* a 96 h, se obtuvo un incremento en la degradación similar al encontrado en este trabajo. De esto podemos deducir, que los sistemas enzimáticos de los hongos tiene la capacidad de degradar estructuras químicas que los microorganismos ruminales no lo pueden realizar. Por su parte Cerrilla *et al.*, (1986) reporta que con la paja de cebada inoculada con *Pleurotus ostreatus spp* durante 60 días, incubado *in vitro* por 24 h obtuvo un valor de degradación de 53.06%. Por otro lado Rodríguez, (2007) indica que al inocular *Pleurotus ostreatus* cepa IE8 en rastrojo de cebada por un periodo de 8, 16 y 30 días, incubado *in vitro* a las 24 h obtuvo degradaciones de 42.88%, 40.08% y 42.36% respectivamente. Por lo tanto, en nuestro trabajo como los de estos autores es evidencia del efecto de los hongos sobre la degradación de los componentes fibrosos de los residuos de cosecha, por lo que nos permite deducir que hay rompimientos de enlaces químicos lignocelulósicas por efecto del hongo y se pueda obtener una mayor eficiencia de utilización cuando sean consumidos por los animales rumiantes.

Cuadro 9. Promedios de la degradación *in situ* de la materia seca con base al inculo, a la aplicación en el sustrato y el tiempo de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Tiempo (Horas)	Con Inculo											
	Esterilizado				Pasteurización sin cal				Pasteurización con cal			
	0	7	15	25	0	7	15	25	0	7	15	25
0	3.09	2.39	3.37	1.52	2.51	2.17	1.70	2.09	2.00	2.94	2.72	2.05
6	13.07	12.46	12.01	13.31	10.64	12.83	13.43	11.48	10.59	10.04	11.46	9.13
12	18.30	20.45	24.35	21.48	22.55	23.26	25.19	22.21	21.82	25.19	21.89	22.04
24	32.20	33.05	34.30	32.90	28.73	32.55	31.57	30.88	33.81	31.28	31.43	28.07
48	39.79	42.11	42.04	40.99	41.67	41.41	40.83	41.39	43.11	40.58	41.80	43.81
72	55.08	54.37	52.21	51.71	58.02	54.17	52.15	51.59	55.19	52.90	50.84	58.60
96	63.65	60.68	61.88	61.76	62.23	62.57	61.79	61.68	60.84	64.21	62.39	62.40
Tiempo (Horas)	Sin Inculo											
	Esterilizado				Pasteurización sin cal				Pasteurización con cal			
	0	7	15	25	0	7	15	25	0	7	15	25
0	2.16	2.24	2.73	2.00	1.50	2.82	2.41	3.44	3.05	3.94	2.88	2.71
6	10.46	7.97	7.58	6.81	6.39	6.43	6.10	7.68	9.03	7.33	6.79	7.61
12	16.04	16.93	20.56	18.98	17.55	16.35	17.90	17.76	15.16	17.27	16.39	18.51
24	27.34	27.37	28.09	25.41	28.46	25.54	25.60	26.56	25.91	26.26	29.36	27.71
48	39.33	37.80	39.37	39.13	42.83	39.24	39.81	40.20	39.70	39.23	40.86	40.79
72	47.98	49.34	49.36	46.85	49.48	47.62	45.46	46.88	47.60	45.03	45.02	47.24
96	55.88	54.78	55.30	56.47	56.32	56.29	56.73	54.72	57.41	56.30	55.45	54.39

VI. CONCLUSIONES

Se concluye que los residuos de cosecha mecanizada de la caña de azúcar (RCMCA) inoculados con *Pleurotus ostreatus*, mejoró su valor nutritivo por su incremento en el contenido de proteína cruda; disminución en las fracciones de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido y lignina e incremento en la degradación de la materia seca.

El tratamiento de pasterizado con cal es un tratamiento alternativo a la esterilización de RCMCA para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Los RCMCA presentan una alternativa viable para la alimentación de rumiantes en la producción carne en el trópico.

Recomendaciones: Evaluar el uso de estos residuos en la producción de carne con animales bovinos y ovinos. Investigar el uso de estos residuos directamente con: a) animales de mantenimiento adicionando el 60% de residuos fibrosos, b) animales con tasa de ganancia de 200 g animal⁻¹ adicionando el 50% de los residuos fibrosos, c) animales con tasa de ganancia de 500 g animal⁻¹ adicionando el 40% de residuos fibrosos y d) animales con tasa de ganancia de 1000 g animal⁻¹ adicionando el 30% o 20% de residuos fibrosos.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Adamovi, M., G. Grubi , I Milenkovi , R. Jovanovi , R. Proti , L Sretenovi and L. Stoi evi . 1998. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Animal Feed Science and Technology*. 7(3-4): 357-362.
- Abernethy, P. E. y Aitken, A. T. 1986. Factors affecting the levels of colour entering a sugar mill. *Proc. Aust. Soc. Sugar Cane Technol.* 1-7.
- Aguilar, D. L., 2007. Producción de inóculo líquido para el cultivo de *Pleurotus spp.* Tesis maestría. Instituto Politécnico Nacional, México. D.F.
- Aguirre, O. J. 2001. Consumo voluntario y valor nutricional de *Cynodon plectostachyus* fertilizado o abonado, con suplementación proteica a corderos Pelibuey. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nayarit, p. 89.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. 19th Ed. Off. Agric.Chem. Washington, D.C., U.S.A.
- Aranda, I. E. M. 2000. Utilización de la caña de azúcar en la alimentación de rumiantes. Tesis de doctorado en ciencias veterinaria. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. p. 90.
- Aranda, I.E.M., Ruiz, P., Mendoza, G.D., Marcoff, C.F., Ramos, J.A. y Elias, A. 2004. Cambios en la digestión de tres variedades de caña de azúcar y sus fracciones de fibra. *Rev. Cubana Cienc. Agric.* 38:137
- Arora D. 1987. *Mushrooms Demystified*. Ten Speed Press, Berkeley.

- Barceló, Nicolás, Sabater y Sánchez-Tamés. 2005. Fisiología Vegetal. Pirámide. Madrid. España.
- Bernard A. P., Janes C., Du P. (1992). Environmental Parameters. In Solid Substrate Cultivation. Doelle H. W. y otros. Elsevier Applied Science, London, N. York, Chapter 5: 65-85,
- Borroto, A.; Mazorra, C. A.; Pérez, D.; Borroto, M.; Cubillas, N. y Gutiérrez, I. 2007. La potencialidad alimentaria y los sistemas de producción ovina para una finca cítrica en Cuba. Rev. Cubana Cienc. Agric. 41:3.
- Carrillo, L. 2012. LOS HONGOS DE LOS ALIMENTOS Y FORRAJES. Los Macromicetos. Pp. 119-125
- Carpita NC, Gibeaut DM. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. Plant J 3: 1–30.
- Cerilla, O. M. E.; Can, A. B.; Herrera, P. F. y Pérez, G. R. F. 1986. Efecto de la inoculación del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en la composición química y digestibilidad de la paja de cebada. Congreso Latinoamericano de Nutrición, 7, Brasilia, 26-29 nov.
- Cisterna, L. C. 2004. Esterilización vs. Pasteurización de Sustratos de Cultivo. 2004. MICOTEC. [Http:www.micotec.cl](http://www.micotec.cl)
- Clarke, M. A.; Blanco, R. S.; y Godshall, M. A. 1986a. Colorant in raw sugars. Proceedings. Intern. Soc. Sugar Cane Technol. (ISSCT) 2:670-682.

- Clarke, M. A.; Roberts, E. J.; y Godshall, M. A. 1986b. Non-starch, soluble polysaccharides of sugar cane. Proc. South. Afr. Sug. Technol. Assoc. (SASTA) 60:58-61.
- Chen, W. 1968. A study of the role of starch in the growth of sugar cane and the manufacturing of cane sugar. Proc. Intern. Soc. Sugar Cane Technol. (ISSCT) 13:351-356.
- Church, D.C. 1988. The ruminant animal digestive physiology and nutrition. PrenticeHall, Englewood Cliffs, New Jersey USA. 564 p.
- Dávila, G. Vázquez, D. R. 2006. ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS FÚNGICAS PARA FINES AMBIENTALES. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 2001. Cuernavaca, Morelos
- Din, N., Gilkes, N. R., Tekant, B., Miller, R. C. Jr, Warren, R. A. J., and Kilburn, D. G. 1991. Non-hydrolytic disruption of cellulose fibres by the binding domain of a bacterial cellulose. Bio Technology. 9:1096-1099.
- Durand, A.; de la Broise, D. y Blachere, H. 1988. Laboratory scale bioreactor for solid stated processes. J. Biotechnology 8: 59-66.
- Elías, A., Lezcano, P., Lezcano, O., Cordero, J. y Quintana, L. 1 990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico en estado sólido (Saccharina). Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 24: 1-12.
- FAO. 2010<<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>> /Consultado: 23 de Abril de 2013.

- Fazenda, M. L., R. Seviour, B. Mcneil y L. Harvey, 2008. Submerged culture fermentation of "Higher Fungi": The Macrofungi. *Advances in Applied Microbiology* 63: 33-103.
- Ficior, D., S. Apahidean, M. Apahidean, Z. Moldovan, N. MăniuŃiu, R. Ganea y I. Paven, 2006. Importance of substrate disinfection on oyster mushroom (*Pleurotus* sp.)
- Fry, S., York, W. & Albersheim, P. 1993. An unambiguous nomenclature for xyloglucan-derived oligosaccharides. *Physiol Plant* 89: 1–3.
- Gaitán-Hernández, R., D. Salmenes, M. Pérez y Mata, G., 2006. Manual práctico del cultivo de setas. Instituto de Ecología A.C. Xalapa, Ver. México. Pp. 37.
- García, R. M., 2007. Cultivo de setas y trufas, Quinta edición, Editorial Mundi prensa. España. Pp. 255.
- Garzón, G. J. P. Cuervo, A. J. L. 2008. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicas de diferente procedencia. NOVA. Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. Vol.6.
- Gervais, P., Molin P., Grajek W., Bensoussan M. 1988. Influence of the Water Activity of a Solid Substrate on the Growth rate and sporogenesis of filamentous fungi. *Biotechn. Bioeng.* 70, 351-354.
- Google Earth. 2014. Software Atlas Multimedia. Google Inc. U.S.A.
- Gutiérrez M. 1995. Escalamiento de Procesos con Fermentación Sólida. En curso avanzado sobre procesos Biotecnológicos. Itto. de Biotecnología UNAM, Cuernavaca, México, Octubre, 1995.

- Guzmán, G., 1980. Identificación de hongos. Ed. Limusa, México. D.F. Pp. 452.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmenes, C. Soto–Velazco, L. Guzmán–Dávalos, 1993. El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro–industriales. I. P. N. México, D. F., 245 p.
- Hassoun, P., Fulcheri, C. y Nabeneza, S. 2002. Feeding dairy heifers untreated or urea-treated fibrous sugarcane residues: effect on dry matter intake, growth, and metabolic parameters. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 100, 31-41.
- Herrera, T. y M. Ulloa, 1990. El reino de los hongos. Ed. Fondo de Cultura Económica, México, D.F. Pp. 552.
- Hesseltine C.W. 1972. Solid State Fermentations. *Biotechnol. and Bioeng.* 14: 517 – 532.
- Hoffman M, Jia Z, Peña MJ, Cash M, Harper A, et al. 2005. Structural analysis of xyloglucans in the primary cell walls of plants in the subclass Asteridae. *Carbohydr Res* 340: 1826–40.
- Kim J. H., Hosobuchi M., Ryu D. D. Y. 1985. Cellulase Production by a Solid State Culture System. *Biotechn. Bioeng.*, 27, 1445-1450.
- INEGI 2013 <<http://www.inegi.gob.mx>> /Consultado: 19 de Mayo del 2013.
- Imrice, F. K. y Tilbury, R. H. 1972. Polysaccharides in sugar cane and its products. *Sugar Technol. Rev.* 1:291-361.
- Kashangura, C, J. E. Hallsworth y A. Mswaka, 2006. Phenotypic diversity amongst strains of *Pleurotus sajor-caju*: implications for cultivation in arid environments. *Mycological Research* 110: 312-317.

- Lionnet, G. R. 1986. An analytical approach for the determination of colour and other impurities in cane. Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc. (SASTA) 60:62-65.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales., M. Sobal., M. Bonilla., W. Martínez. 2006. México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. In: El cultivo de Pleurotus en México. ECOSUR-IE-UNAM-COLPOS, México, D. F.
- Martín, P.C. 2005. El uso de la caña de azúcar para la producción de carne y leche. Rev. Cubana Cienc. Agric. Tomo 39, Numero especial.
- Martín, P.C. 2004. La alimentación del Ganado con Caña de Azúcar y sus Subproductos. Editorial EDICA, La Habana.
- Meléndez, N. F., González, J. A. y Pérez P. J. 1980. El pasto estrella africana. Boletín No. 7. Rama de ciencia animal. Colegio Superior de Agricultura Tropical. SARH. H. Cárdenas, Tabasco. p. 99.
- Miléo, P.C., Mulinari, D.R., Baptista, C.A., Rocha, G.J. y Goncalves, A.R. 2011. Mechanical Behaviour of Polyurethane from Castor oil Reinforced Sugarcane Straw cellulose composites. Procedia Engineering. 10, 2068-2073.
- Monroy, J. M.; Aranda, E.; Mendoza, G.; Ramos, J. A.; Cobos, M. Izquierdo, F. 2006. Elaboración y conservación de sacharina a partir de caña de azúcar integral con la adición de melaza y pulidora de arroz. Rev.Cubana Cienc. Agric. 40:167.
- Monroy, O., Torres, F. y Vinegra, G. 1980. Perspectives on the integration of livestock production and the small scale sugar industry. Tropical Animal Prod. 5: 96

- Montañez, C. O. 1999. Efecto de la alimentación de ovinos con paja de trigo tratada con *Pleurotus florida* en la flora ruminal. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados montecillos. México.
- Montañez, V. O. D.; García, F. E. O.; Martínez, G. J. A.; Sabina, C. J.; Rojo, R. R. & Peralta, O. J. G. 2008. USE OF *Pleurotus pulmonarius* TO CHANGE THE NUTRITIONAL QUALITY OF WHEAT STRAW. I. EFFECT ON CHEMICAL COMPOSITION. Interciencia. JUN 2008, VOL. 33 N° 6.
- Moo-Young M.; Moreira A. R. Tengerdy R. P. 1983. Principles of the Solid Substrate Fermentation. In Filamentous Fungi. 4. Ed. J. E. Smith, D. R. Berry and B. Kristianse, Edward Arnold, 117 – 144.
- Mudgett, R. E. 1986. Solid State Fermentation. En: Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. Ed: Demain. Mo Graw Hill, New York, Londres, Paris. 7: 66-83.
- Muñoz, E. y González R. 1998. Caña de azúcar integral para estimular el consumo a voluntad de alimentos voluminosos en vacas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 31: 33-40.
- Muñoz, R. J. 2005. La interacción *Gluconacetobacter diazotrophicus* - caña de azúcar como modelo para el estudio de la transmisión de bacterias beneficiosas. Elementos 57: 57-62.
- Namer, I. 1991. Incremento de la digestibilidad de los residuos fibrosos de la caña de azúcar. 2. Residuos de centro de acopio. Revista ACPA 1/91, p.8.

- Naseeven, M. R. 1986. Sugarcane tops as animal feed. En Sugarcane as feed. (Ed. R. Sanscuey, G. Aarts, T.R. Preston). FAO Animal production and health paper. Roma, Italia p. 106.
- Olivera A.D, Emilio Aranda I.E, Ramos J.J., Vargas V.L., Zaldivar C.J, Mendoza M. G. 2014. Evaluation of the nutritive value of sugarcane residues inoculated with fungus *Fomes* sp Rev.MVZ Córdoba 19(2):4047-4058
- Oriol E., Raimbault M., Roussos S., Viniegra G. 1988. Water and water activity in the solid state fermentation of cassava starch by *Aspergillus niger*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 27: 498-503.
- Orskov, E.R., F.D. DeB. Hovell and F. Mould. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Trop. Anim. Prod. 5:195-213.
- Ortiz, A.; Elías, A.; Valdivia, M. y González, R. 2006. Camas avícolas, una forma de incrementar el valor nutritivo de materiales muy fibrosos. Rev. Cubana Cienc. Agric. 40:59.
- Pauly, M., Albersheim, P., Darvill, A. & York, W.S. 1999. Molecular domains of the cellulose/xyloglucan network in the cell walls of higher plants. Plant J 20: 629–639.
- Pérez, P., Rojo, R., Álvarez, A., García, J. 2003. Necesidades de investigación y transferencia de la cadena de bovino de doble propósito en el estado de Veracruz. Fundación Produce Veracruz. Colegio de Postgraduado. 170 p.
- Pessôa, A. 2006. Caña de Azúcar [En línea]. Disponible en <http://www.mre.gov.br/cdbrasil/itamaraty/web/espanhol/economia/agric/producao/cana/apresent.htm> (Revisado el 04 de marzo del 2012).

- Raimbault M. 1980. Fermentation en Milieu Solide. Croissance des Champignons Filamenteux sur Sustrat Amilacé. Tesis Doctoral, U. Paul Sabatier, Francia.
- Ramos, J.A., Elias, A., and Herrera, F. 2006. Processes for production of energy-protein feed for animals. Effect of four energy sources on solid state fermentation of sugarcane. Cuban Journal of Agricultural Science (40) 1
- Reid, I.D. 1998. Biodegradation of lignin. Journal Botanical. p. 73.
- Rodríguez, B. Y. 2005. Obtención de un alimento energético proteico a través de la FES de la caña de azúcar y el tubérculo de yuca Tesis en Opción al Grado Científico de Master en Ciencias Veterinarias Especialidad: Producción con Rumiantes. Universidad Agraria de la Habana Instituto de Ciencia Animal.
- Rodríguez, G. P. M. 2008. Sistema de cosecha de la caña de azúcar. Departamento de Ingeniería Agrícola, Decanato de Agronomía, Universidad Centro occidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto. Venezuela. Pp. 1 - 7.
- Rodríguez J. A. 1986. Optimization of Solid State Fermentation of Citrus Dried Peel by *Aspergillus niger* in a Packed Bed Column. Acta Biotechn., 6, 3, 253-258.
- Rodríguez, L. L. 2007. ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD LIGNOCELULÓSICA DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* SOBRE EL RASTROJO DE CEBADA. MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO. 2007.
- Samsuri, M. Gozan, M. Mardias, R. Baiquni M. Hermansyah, H. Wijanrko A. 2007. Utilization of cellulose from sugarcane bagasse to produce ethanol via simultaneous saccharification and fermentation using xylanase (in Bahasa Indonesia). Makara Teknologi. 11: 11-24.

- Shafizadek, F.; Furneaux, R. H.; y Stevenson, J. T. 1979. Some reactions of levoglucogenone. Carboh. Res. 17:169.
- SAGARPA. 2005. Diagnóstico de la Ganadería en Nayarit. Estudio Informativo. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Pesqueros y Alimentación (SAGARPA). Tepic, Nayarit, p 45.
- Salgado, G.S., Aranda, I.E., Castelán, E.M., Ortiz, L.H., Palma, L.D., Gómez, M.A. y Córdova, S.S. 2011. Rendimiento de paja en la cosecha mecanizada de caña de azúcar en Tabasco, México. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 10 p. (en prensa).
- Sierra, P. J. O. 2005. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros. 2da. Edición. Editorial Universidad de Antioquía. Pp. 196 - 201.
- Sánchez-Vázquez, J. E. y Royse, D. J. 2001. Crecimiento y fructificación. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ecosur. El Colegio de la Frontera Sur. San Cristóbal de las Casas, Chiapas. México.
- SAS. 2002. Statistical Analysis System. S. A. S. User's Guide: statistics. Version 9° Ed. SAS Institute.
- Serrano, P.; Brizuela, M.; Delgado, G.; López, P.; Cabello, A.; Costales, R.; Padilla, J.; Rodríguez, R.; Inc. Legrá, S.; Armenteros, S. y Zuasnabar, Z. 2008. *Diversificación 2008*. Congreso Internacional sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, La Habana, septiembre.
- Sihuanca, M. D. 2011. Desarrollo De Un Proceso Biotecnológico Para La Producción De Variedades Especiales De Hongos Comestibles (*Pleurotus*, *Lentinula*, *Hypsizygus*), Empleando Bagazo De Caña De Azúcar Y Otros Subproductos Agrícolas Y Forestales Como Sustrato De Cultivo.

- Smith, P. y Paton, N. H. 1985. Sugar cane flavonoids. Sugar Technol. Rev. 12:117-142.
- SMRI (Sugar Milling Research Institute). 1992. Annual Report 1991-1992. Durban
- Singer R, Digilio APL. 1951. Pródromo de la Flora Agaricina Argentina. Lilloa 25: 5 – 461.
- Sistema Integral de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2010
<<http://www.siap.gob.mx/>>/ Consultado: 27 de Abril de 2013
- Stuart, J. R. 1990. Crianza de bovinos con residuos de centro de limpieza de la caña de azúcar como dieta básica. En producción de carne en el trópico. Ed. EDICA. La Habana, Cuba p.190.
- Stuart, J. R. y Fundora, O. 1994. Utilización de residuos de la cosecha de caña de azúcar en la alimentación de los rumiantes. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 28: 1-12.
- Sun, J. Sun, X. Zhao, H. Sun. R. 2004. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. Polym Degrad Stabil. 84: 331-549.
- Taiz, L. Zeiger, E. 2006. Fisiología Vegetal. Vol. II. Publicaciones de la Universidad Jaume. I. D.L. Pag. 589.
- Téllez, J.A. 2009. Hongos de podredumbre blanca y biotecnología. Revista Ciencia y Desarrollo, Marzo 2009, Vol. 35, no. 229, p. 8-13.
- Torres, V. Valiño, E. C. Arabel, E. Carrasco, T. Albelo, N. 2004. Mejoramiento de la composición del bagazo de caña de azúcar por la cepa *Trichoderma viride* M5-2 en un biorreactor de fermentación en estado sólido. Revista Cubana de

Ciencia Agrícola, vol. 38, núm. 2, 2004, pp. 145-153. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.

Troller, J. A. 1980. Influence of water activity on microorganisms in foods. Food Techn., 34, 76-82.

Valdés, D. A. 2010. Los residuos agrícolas de la cosecha cañera (RAC) [En línea]. Centro Gerencia Programas y Proyectos Priorizados Ministerio Ciencia Tecnología y Medio Ambiente: Cuba. Presentación en Power Point. Disponible en [http://www.nest.unifei.edu.br/portugues/pags/novidades/curso_cyted/files/pdf/Tema 1- Residuos Agricolas da Cana-de-Acucar/ExperienciasInternacionais.pdf](http://www.nest.unifei.edu.br/portugues/pags/novidades/curso_cyted/files/pdf/Tema%201-ResiduosAgricolasdaCana-deAcucar/ExperienciasInternacionais.pdf) (Revisado el 4 de abril del 2012)

Valiño, E.; Elías, A.; Carrasco T. y Albelo, N. 2003. Efecto de inoculación de la cepa *Trichoderma viride* 137 en el bagazo de caña de azúcar autofermentado. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 37, núm. 1, 2003, pp. 43-49. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193018072007>

Van Soest P.J, Robertson JP, Lewis BA. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. J. Dairy Sci.:(74):3583-3597

Viniegra-González G. 1997. Solid State Fermentation: Definition, Characteristics, limitations and monitoring. In Roussos, S.; Lonsane B. K.; Raimbault M. and Viniegra-González, G. Eds. Advances in Solid State Fermentation, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, Chapter 2: pp. 5-22.

Viniegra-González, G.; Favela-Torrez, E.; Aguilar, C.; Romero-Gómez, S.; Díaz-Godinez, G. y Augur, C. (2003). Advantages of fungal enzyme production in

solid-state over liquid fermentation systems. *Biochemical Engineering Journal* 13, 157-167, 2003.

Zadrazil, F. 1992. *Iter solid Substratc cultivation*. H. W. Doelle, D. A. Mitchell and C. E. Rolz elsevier *Aplied science london and New York*, pp321.

VIII. ANEXO

Anexo 1. Resultados de las variables medidas en relación a las fuentes de variación.

F.V.	G.L.	P > F						
		% MS	pH	% FDN	% FDA	% HMC	% PC	% CC
Aplicación	2	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.2451	0.0185	0.8842	*0.0002
Inoculo	1	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0004	< 0.0001	< 0.0001
Tiempo	3	0.0099	< 0.0001	0.6972	0.3433	0.2004	0.8489	0.7773
Tiempo*Aplicación	6	0.5777	0.0746	0.5705	0.9919	0.8957	0.1706	0.5224
Tiempo*Inoculo	3	0.0745	< 0.0001	0.2557	0.1056	*0.0408	0.7303	0.3993
Aplicación*Inoculo	2	< 0.0001	0.0495	0.1218	0.2737	0.8272	0.4022	0.0877
Tiempo*Aplicación*Inoculo	6	0.3607	*0.0167	0.6418	0.8601	0.9821	0.7850	0.7343

*P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01, ***P ≤ 0.0001. El número de asterisco se agrega al comparar las variables con el valor de alfa. Abreviaciones: MS = Materia Seca, pH = Potencial hidrógeno, FDN = Fibra detergente neutro, FDA = Fibra detergente ácido, HMC = Hemicelulosa, PC = Proteína cruda, CC = Contenido celular.

Anexo 2. Análisis de varianza de la materia seca.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: MS

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	602.1406569	26.1800286	21.14	<.0001
Error	72	89.1820385	1.2386394		
Total correcto	95	691.3226954			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	MS Media
0.870998	4.477941	1.112942	24.85387

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	15.1291971	5.0430657	4.07	0.0099
Apli	2	410.8485570	205.4242785	165.85	<.0001
Inoc	1	124.1738259	124.1738259	100.25	<.0001
Tmp*Apli	6	5.9007959	0.9834660	0.79	0.5777
Tmp*Inoc	3	8.9322319	2.9774106	2.40	0.0745
Apli*Inoc	2	28.8488843	14.4244421	11.65	<.0001
Tmp*Apli*Inoc	6	8.3071649	1.3845275	1.12	0.3607

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	15.1291971	5.0430657	4.07	0.0099
Apli	2	410.8485570	205.4242785	165.85	<.0001
Inoc	1	124.1738259	124.1738259	100.25	<.0001
Tmp*Apli	6	5.9007959	0.9834660	0.79	0.5777
Tmp*Inoc	3	8.9322319	2.9774106	2.40	0.0745
Apli*Inoc	2	28.8488843	14.4244421	11.65	<.0001
Tmp*Apli*Inoc	6	8.3071649	1.3845275	1.12	0.3607

Anexo 3. Análisis de la varianza del pH.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: pH

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	52.14587196	2.26721182	16.15	<.0001
Error	72	10.10609700	0.14036246		
Total correcto	95	62.25196896			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	pH Media
0.837658	5.648040	0.374650	6.633271

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	4.95630446	1.65210149	11.77	<.0001
Apli	2	17.47985158	8.73992579	62.27	<.0001
Inoc	1	20.08059204	20.08059204	143.06	<.0001
Tmp*Apli	6	1.69700642	0.28283440	2.02	0.0746
Tmp*Inoc	3	4.69504279	1.56501426	11.15	<.0001
Apli*Inoc	2	0.88014908	0.44007454	3.14	0.0495
Tmp*Apli*Inoc	6	2.35692558	0.39282093	2.80	0.0167

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	4.95630446	1.65210149	11.77	<.0001
Apli	2	17.47985158	8.73992579	62.27	<.0001
Inoc	1	20.08059204	20.08059204	143.06	<.0001
Tmp*Apli	6	1.69700642	0.28283440	2.02	0.0746
Tmp*Inoc	3	4.69504279	1.56501426	11.15	<.0001
Apli*Inoc	2	0.88014908	0.44007454	3.14	0.0495
Tmp*Apli*Inoc	6	2.35692558	0.39282093	2.80	0.0167

Anexo 4. Análisis de la varianza de la fibra detergente neutro.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: FDN

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	3742.944563	162.736720	13.61	<.0001
Error	72	861.066898	11.959262		
Total correcto	95	4604.011461			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	FDN Media
0.812975	4.652428	3.458217	74.33144

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	17.220896	5.740299	0.48	0.6972
Apli	2	295.769768	147.884884	12.37	<.0001
Inoc	1	3219.914155	3219.914155	269.24	<.0001
Tmp*Apli	6	57.651023	9.608504	0.80	0.5705
Tmp*Inoc	3	49.520370	16.506790	1.38	0.2557
Apli*Inoc	2	51.852155	25.926078	2.17	0.1218
Tmp*Apli*Inoc	6	51.016196	8.502699	0.71	0.6418

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	17.220896	5.740299	0.48	0.6972
Apli	2	295.769768	147.884884	12.37	<.0001
Inoc	1	3219.914155	3219.914155	269.24	<.0001
Tmp*Apli	6	57.651023	9.608504	0.80	0.5705
Tmp*Inoc	3	49.520370	16.506790	1.38	0.2557
Apli*Inoc	2	51.852155	25.926078	2.17	0.1218
Tmp*Apli*Inoc	6	51.016196	8.502699	0.71	0.6418

Anexo 5. Análisis de la varianza de la fibra detergente ácido.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: FDA

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	1870.751779	81.337034	8.25	<.0001
Error	72	709.566416	9.855089		
Total correcto	95	2580.318195			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	FDA Media
0.725008	7.077031	3.139282	44.35874

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	33.370074	11.123358	1.13	0.3433
Apli	2	28.263622	14.131811	1.43	0.2451
Inoc	1	1687.647282	1687.647282	171.25	<.0001
Tmp*Apli	6	7.760110	1.293352	0.13	0.9919
Tmp*Inoc	3	62.586177	20.862059	2.12	0.1056
Apli*Inoc	2	26.004608	13.002304	1.32	0.2737
Tmp*Apli*Inoc	6	25.119906	4.186651	0.42	0.8601

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	33.370074	11.123358	1.13	0.3433
Apli	2	28.263622	14.131811	1.43	0.2451
Inoc	1	1687.647282	1687.647282	171.25	<.0001
Tmp*Apli	6	7.760110	1.293352	0.13	0.9919
Tmp*Inoc	3	62.586177	20.862059	2.12	0.1056
Apli*Inoc	2	26.004608	13.002304	1.32	0.2737
Tmp*Apli*Inoc	6	25.119906	4.186651	0.42	0.8601

Anexo 6. Análisis de la varianza de la hemicelulosa.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: HMC

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	724.855669	31.515464	1.71	0.0441
Error	72	1325.152751	18.404899		
Total correcto	95	2050.008419			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	HMC Media
0.353587	14.32762	4.290093	29.94282

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	87.5314880	29.1771627	1.59	0.2004
Apli	2	155.2230801	77.6115400	4.22	0.0185
Inoc	1	254.5977358	254.5977358	13.83	0.0004
Tmp*Apli	6	40.8521734	6.8086956	0.37	0.8957
Tmp*Inoc	3	160.0236105	53.3412035	2.90	0.0408
Apli*Inoc	2	7.0001619	3.5000810	0.19	0.8272
Tmp*Apli*Inoc	6	19.6274188	3.2712365	0.18	0.9821

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	87.5314880	29.1771627	1.59	0.2004
Apli	2	155.2230801	77.6115400	4.22	0.0185
Inoc	1	254.5977358	254.5977358	13.83	0.0004
Tmp*Apli	6	40.8521734	6.8086956	0.37	0.8957
Tmp*Inoc	3	160.0236105	53.3412035	2.90	0.0408
Apli*Inoc	2	7.0001619	3.5000810	0.19	0.8272
Tmp*Apli*Inoc	6	19.6274188	3.2712365	0.18	0.9821

Anexo 7. Análisis de la varianza de la proteína cruda.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PC

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	194.3008501	8.4478630	34.05	<.0001
Error	72	17.8615921	0.2480777		
Total correcto	95	212.1624422			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PC Media
0.915812	15.51151	0.498074	3.210997

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	0.1987903	0.0662634	0.27	0.8489
Apli	2	0.0611653	0.0305826	0.12	0.8842
Inoc	1	190.1490289	190.1490289	766.49	<.0001
Tmp*Apli	6	2.3258205	0.3876367	1.56	0.1706
Tmp*Inoc	3	0.3219205	0.1073068	0.43	0.7303
Apli*Inoc	2	0.4577082	0.2288541	0.92	0.4022
Tmp*Apli*Inoc	6	0.7864164	0.1310694	0.53	0.7850

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	0.1987903	0.0662634	0.27	0.8489
Apli	2	0.0611653	0.0305826	0.12	0.8842
Inoc	1	190.1490289	190.1490289	766.49	<.0001
Tmp*Apli	6	2.3258205	0.3876367	1.56	0.1706
Tmp*Inoc	3	0.3219205	0.1073068	0.43	0.7303
Apli*Inoc	2	0.4577082	0.2288541	0.92	0.4022
Tmp*Apli*Inoc	6	0.7864164	0.1310694	0.53	0.7850

Anexo 8. Análisis de la varianza del contenido celular.

Procedimiento GLM

Variable dependiente: CC

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	23	3819.063974	166.046260	13.42	<.0001
Error	72	890.823717	12.372552		
Total correcto	95	4709.887691			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	CC Media
0.810861	13.63934	3.517464	25.78910

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	13.608069	4.536023	0.37	0.7773
Apli	2	242.243578	121.121789	9.79	0.0002
Inoc	1	3355.346141	3355.346141	271.19	<.0001
Tmp*Apli	6	64.474067	10.745678	0.87	0.5224
Tmp*Inoc	3	37.005590	12.335197	1.00	0.3993
Apli*Inoc	2	62.308084	31.154042	2.52	0.0877
Tmp*Apli*Inoc	6	44.078444	7.346407	0.59	0.7343

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tmp	3	13.608069	4.536023	0.37	0.7773
Apli	2	242.243578	121.121789	9.79	0.0002
Inoc	1	3355.346141	3355.346141	271.19	<.0001
Tmp*Apli	6	64.474067	10.745678	0.87	0.5224
Tmp*Inoc	3	37.005590	12.335197	1.00	0.3993
Apli*Inoc	2	62.308084	31.154042	2.52	0.0877
Tmp*Apli*Inoc	6	44.078444	7.346407	0.59	0.7343

Anexo 9. Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el inóculo sobre la materia seca de los residuos fibrosos de la caña de azúcar.

Inóculo	Aplicación en el sustrato			E.E.±
	Esterilización	Pasteurización sin cal	Pasteurización con cal	
Con inóculo	28.700^a	25.360^a	23.90520^a	0.130
Sin inóculo	26.840^b	21.580^b	22.71460^b	0.160

Ajuste de comparaciones múltiples Tukey (SAS, 1976). Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

Anexo 10. Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el tiempo de crecimiento del hongo sobre el nivel de pH en los residuos de cosecha de la caña de azúcar con inóculo de *Pleurotus ostreatus*.

Aplicación en el sustrato	Con inóculo				E.E.±
	Tiempo de crecimiento del hongo				
	0	07	15	25	
Esterilización	6.600^b	5.740^b	5.590^b	5.380^b	0.120
Pasteurización sin cal	6.600^b	5.650^b	6.010^a	6.020^a	0.110
Pasteurización con cal	7.500^a	7.100^a	5.920^b	5.960^b	0.140

Ajuste de comparaciones múltiples Tukey (SAS, 1976) Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

Anexo 11. Efecto de la interacción de la aplicación en el sustrato por el tiempo de crecimiento del hongo sobre el nivel de pH en los residuos de cosecha de la caña de azúcar sin inóculo de *Pleurotus ostreatus*.

Aplicación en el sustrato	Sin inóculo				E.E.±
	Tiempo de crecimiento del hongo				
	0	07	15	25	
Esterilización	6.540^b	6.450^b	6.600^b	6.490^b	0.030
Pasteurización sin cal	6.930^b	6.980^b	7.030^a	6.900^b	0.020
Pasteurización con cal	7.910^a	7.560^a	7.640^a	8.010^a	0.070

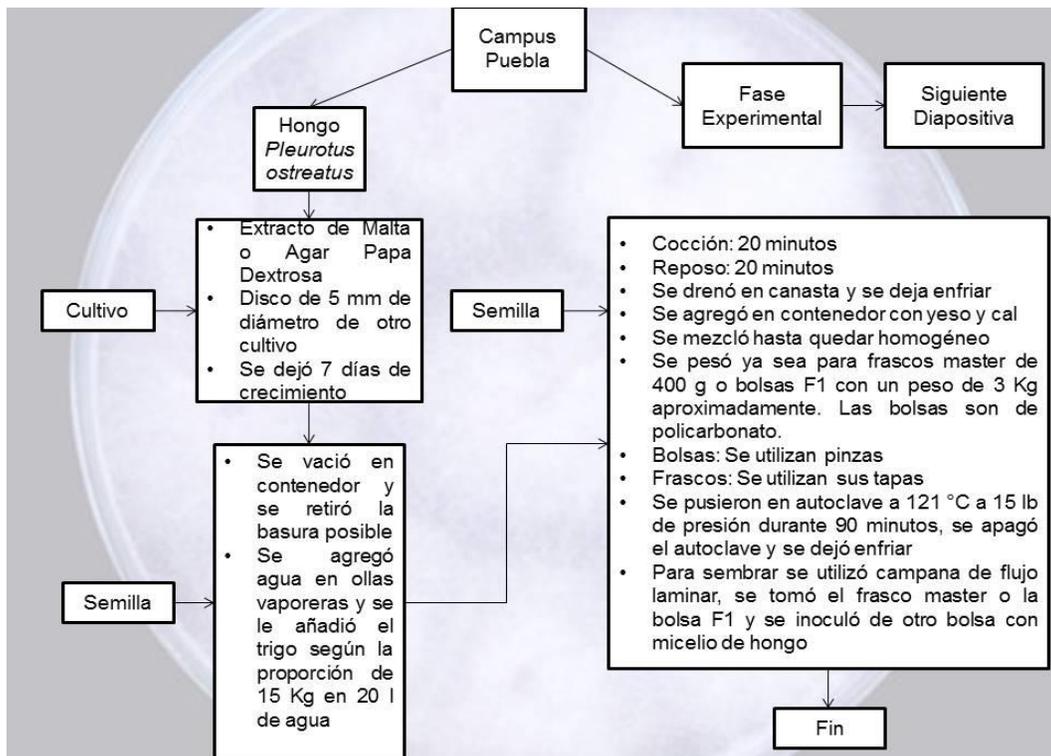
Ajuste de comparaciones múltiples Tukey (SAS, 1976) Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes

Anexo 12. Efecto de la interacción del tiempo de crecimiento del hongo por el inóculo sobre la hemicelulosa de los residuos fibrosos de la caña de azúcar.

Inóculo	Tiempo de crecimiento del hongo				EE±
	0	7	15	25	
Con inóculo	31.783^a	28.624^b	27.063^b	25.785^b	1.660
Sin inóculo	30.964^b	31.627^a	31.930^a	31.762^a	0.690

Ajuste de comparaciones múltiples Tukey (SAS, 1976) Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes

Anexo 13. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para hacer el experimento (Parte1).



Anexo 14. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para hacer el experimento (Parte 2).

