

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO



DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Cinética enzimática del hongo *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustrato residuos de forraje de maíz, sorgo y avena.

Por:

DIANA SARAHÍ REYES GAYTÁN

TESIS

Presentada como requisito parcial

para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México

Marzo del 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Cinética enzimática del hongo *Pleurotus Ostreatus* utilizando como sustrato residuos de forraje de maíz, sorgo y avena, realizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

TESIS

Presentado por:
DIANA SARAHÍ REYES GAYTÁN

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

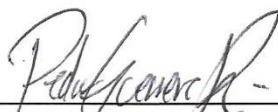
APROBADA POR:



Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
Director



Dr. Armando Robledo Olivo
Co-Director



M.C. Pedro Guerrero Rodríguez
Asesor



Dr. José Dueñez Alanís

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; Marzo del 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Cinética enzimática del hongo *Pleurotus Ostreatus* utilizando como sustrato residuos de forraje de maíz, sorgo y avena, realizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

TESIS

Presentado por:

DIANA SARAHÍ REYES GAYTÁN

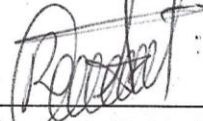
Evaluada por el comité y aprobado como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

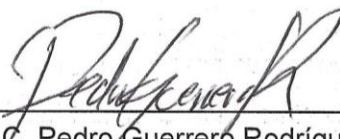
Comité evaluador conformado como sigue:



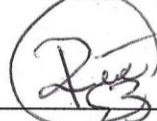
Dr. Mario Alberto Cruz Hernández
Presidente



Dr. Armando Robledo Olivo
Vocal



M.C. Pedro Guerrero Rodríguez
Vocal



Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda
Vocal Suplente

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; Marzo del 2016

AGRADECIMIENTOS

A mi ALMA MATER por acogerme y haberme formado como profesionalista.

A mis asesores el Dr. Mario, Dr. Armando y al M.C. Pedro, por apoyarme a la realización de esta tesis, gracias por su confianza, paciencia, tiempo y dedicación. Gracias por sus pláticas tan enriquecedoras y por tener siempre una palabra de aliento que me motivo a seguir adelante.

A todos mis maestros por transmitirme sus conocimientos formándome como profesionalista.

A todos mis compañeros y amigos por haber compartido conmigo momentos de alegría, de estudio y diversión.

A mis padres por todo su esfuerzo que hoy se ve reflejado en la culminación de este proyecto. GRACIAS.

DEDICATORIAS

A Dios por haberme dado el don de la vida, porque siempre estuvo a mi lado y me dio la sabiduría e inteligencia para culminar mis estudios, por bendecirme en cada momento de mi vida.

A mi Padre.

El Sr. Eliseo Reyes Ramírez por ser el sostén de nuestro hogar, porque todos esos desvelos, todo tu trabajo y cansancio rinden hoy frutos, por darme siempre tu apoyo incondicional y amarme tanto. TE AMO PAPI.

A mi Madre.

La Sra. Sara Gaytán Iracheta, por ser el pilar de nuestro hogar y una luchadora incansable, por siempre tener un consejo para mí aunque no siempre los seguía, porque sé que mi esfuerzo también era el tuyo, por amarme tanto y apoyarme incondicionalmente. TE AMO MA.

A mis hermanos.

Rosa, por ser siempre mi ejemplo y enseñarme el valor de la perseverancia; Mayra, por ser mi confidente y apoyarme en las buenas y en las malas; a mi cuata Nancy por acompañarme siempre en mi vida por tus risas y todos esos momentos locos que vivimos; Eliseo por ser mi hermanito consentido esperando sea esto una motivación para ti; a todos ustedes los amo con mi vida.

A mis cuñados.

Adrián y Fátima por su apoyo incondicional y moral, los aprecio mucho.

A mis sobrinos.

Sarita y Adriancito por ser esas lucecitas siempre encendidas regalándome momentos muy felices, lo quiero chiquitos.

A mis tíos.

El M.C. Antonio Hernández y la Lic. Patricia Ocón, por apoyarme durante toda mi carrera y en mi vida moralmente; son los consentidos los quiero mucho.

A mi Esposo.

El Ing. Rudi Alberto Pérez Hernández por ser siempre mi impulso, por tu confianza y tus regaños, por compartir conmigo momentos increíbles pero también de tristeza, por ser parte importante de este logro, por tu amor y comprensión, TE AMO MI CIELO.

Índice

1	RESUMEN.....	1
2	INTRODUCCIÓN.....	2
3	OBJETIVOS.....	4
3.1	General	4
3.2	Específicos.....	4
4	JUSTIFICACIÓN.....	4
5	HIPÓTESIS.....	5
6	REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
6.1	Generalidades de hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	6
6.1.1	Clasificación taxonómica del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	7
6.1.2	Características morfológicas del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> ...	7
6.1.3	Características fisiológicas del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	8
6.1.4	<i>Pleurotus ostreatus</i> : usos y utilización del hongo y compost. ..	9
6.2	Sustratos	10
6.2.1	Residuos de Forraje.	10
6.2.2	Forraje de sorgo	11
6.2.3	Forraje de Avena	11
6.2.4	Forraje de maíz.....	13
6.3	Enzimas responsables de la degradación del material vegetal .	14
6.3.1	Importancia de las enzimas	14
6.3.2	Celulasas.....	15
6.3.3	Xilanasas	16
7	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18

7.1	Preparación del sustrato y FES del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i> ...	18
7.2	Extracto enzimático	18
7.3	Contenido de azúcares reductores en extracto enzimático.	19
7.3.1	Determinación de actividad Xilanasa en extracto enzimático.	19
7.3.2	Determinación de actividad Celulasa en extracto enzimático.	20
7.4	Contenido de proteína por el método de Microkjeldahl.	22
7.4.1	Preparación de la muestra (materia seca parcial).	22
7.4.2	Fundamento del método de Microkjeldahl.	23
7.5	Determinación de producción de biomasa.	23
7.5.1	Preparación de la muestra.....	23
7.5.2	Determinación de biomasa.	23
7.6	Diseño del experimento para la determinación de proteína.	24
8	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	25
8.1	Actividad enzimática del hongo <i>P. Ostreatus</i>	25
8.2	Contenido de proteína.....	37
8.3	Producción de biomasa.....	40
9	CONCLUSIÓN	43
10	REFERENCIAS	44

Índice de figuras

<i>Figura 1. Cinética de la actividad enzimática de endo-glucanasa en sustrato de avena. (Endo-glucanasa U/ml-cuadrado).</i>	25
<i>Figura 2. Cinética de la actividad enzimática de endo-glucanasa en sustrato de sorgo. (Endo-glucanasa U/ml-cuadrado).</i>	26
<i>Figura 3. Cinética de la actividad enzimática de endo-glucanasa en sustrato de maíz. (Endo-glucanasa U/ml-cuadrado).</i>	27
<i>Figura 4. Cinética de la actividad enzimática de Exo-glucanasa en sustrato de avena. (Exo-glucanasa U/ml-triángulo).</i>	28
<i>Figura 5. Cinética de la actividad enzimática de Exo-glucanasa en sustrato de sorgo. (Exo-glucanasa U/ml-triángulo).</i>	29
<i>Figura 6. Cinética de la actividad enzimática de Exo-glucanasa en sustrato de maíz. (Exo-glucanasa U/ml-triángulo).</i>	30
<i>Figura 7. Cinética de la actividad enzimática de β-glucosidasa en sustrato de avena. (β-glucosidasa U/ml-círculo).</i>	31
<i>Figura 8. Cinética de la actividad enzimática de β-glucosidasa en sustrato de sorgo. (β-glucosidasa U/ml-círculo).</i>	32
<i>Figura 9. Cinética de la actividad enzimática de β-glucosidasa en sustrato de maíz. (β-glucosidasa U/ml-círculo).</i>	33
<i>Figura 10. Cinética de la actividad enzimática de Xilanasa en sustrato de avena. (Xilanasa U/ml-rombo).</i>	34

<i>Figura 11. Cinética de la actividad enzimática de Xilanasa en sustrato de sorgo. (Xilanasa U/ml-rombo).....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 12. Cinética de la actividad enzimática de Xilanasa durante en sustrato de maíz. (Xilanasa U/ml-rombo).</i>	<i>36</i>
<i>Figura 13: Porcentaje de proteína en el sustrato de residuos de avena.</i>	<i>37</i>
<i>Figura 14: Porcentaje de proteína en el sustrato de residuos de maíz.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 15: Porcentaje de proteína en el sustrato de residuos de sorgo.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 16. Crecimiento de biomasa en residuos de avena.</i>	<i>40</i>
<i>Figura 17. Crecimiento de biomasa en residuos de sorgo.....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 18. Crecimiento de biomasa en residuos de maíz.</i>	<i>42</i>

1 RESUMEN.

Los residuos de forraje de sorgo, maíz y avena son susceptibles de emplearse en la producción de enzimas lingnocelulósicas y, en consecuencia, pueden ser útiles para su uso como alimentación para ganado. En este proyecto se presenta el estudio de la cinética enzimática del hongo *P. Ostreatus* en fermentación en estado sólido.

En este trabajo se presenta el estudio de la cinética enzimática de *P. Ostreatus* en fermentación en medio sólido, como respuesta del efecto del mismo en el sustrato.

Se utilizo los residuos de forraje para la siembra del hongo *P. Ostreatus*; se determino la actividad enzimática por medio del extracto enzimático por el método propuesto por Miller, siendo el forraje de avena el de mayor producción de enzimas con 841 U/ml para la actividad Xilanasa. Se determino también el contenido de proteína del forraje y la producción de biomasa en el mismo, siendo el forraje de sorgo el medio óptimo para estos dos últimos parámetros obteniendo un contenido de proteína del 4.6 % y un aumento de biomasa de 57.84 g.

Palabras claves: *P. Ostreatus*, residuos de forraje, actividad enzimática.

Correo electrónico: Diana Sarahi Reyes Gaytán dina_sarahirg@hotmail.com

2 INTRODUCCIÓN

Los hongos se distribuyen ampliamente por todo el mundo, existen aproximadamente 10,000 especies de las cuales solo el 10% son comestibles, *Pleurotus* es una de ellas. Dentro de este género se distingue la especie *P. ostreatus* de origen húngaro, también llamada Seta, Orellana, gírgola, seta de ostra, seta de chopo, entre otros.

En México, el cultivo de hongos comestibles inició en el año de 1933. Esto convirtió al país en el tercer lugar de América, donde se emprendía dicho cultivo. Actualmente, la producción comercial de hongos comestibles en México ofrece notables ventajas sociales, económicas y ecológicas. Se estima que la producción comercial en fresco es de aproximadamente 47,468 toneladas anuales. (Martínez-Carrera, 2002; Martínez-Carrera et al., 2006).

Pleurotus Ostreatus es un hongo degradador de materia orgánica que se alimenta principalmente de lignina y celulosa, azúcares que se encuentran disponibles en la materia muerta, por ejemplo la paja de maíz, caña, trigo, cebada, etc.

Por lo tanto tiene la capacidad de secretar enzimas celulolíticas y lignolíticas las cuales son proteínas especializadas capaces de acelerar la velocidad de una reacción química, promoviendo así la transformación de diferentes moléculas en productos específicos.

Rodríguez, G. (2007), menciona que el micelio debe tener a su disposición la fuente de carbono que constituye la base nutricional. Todos los hongos necesitan este tipo de fuente dado que están desprovistos de clorofila, y no pueden realizar la fotosíntesis. Por ese motivo pueden vivir y prosperar sobre materia orgánica muerta.

La biomasa lignocelulósica comprende un amplio grupo de materiales, generalmente asociados a los residuos de procesos productivos de los sectores agrícola, forestal e industrial (Rangel, 2012); pudiendo ser estos utilizados para el cultivo de *P. Ostreatus* con doble propósito alimentación humana y animal.

3 OBJETIVOS

3.1 General

Evaluar la cinéticamente la producción enzimática del hongo *Pleurotus Ostreatus* cultivado en tres sustratos diferentes (residuos de forraje de sorgo, maíz y avena).

3.2 Específicos

- Evaluación cinética de la producción de biomasa.
- Determinar la cantidad de proteína producida por el hongo pleurotus a diferentes tiempos.
- Evaluar la eficiencia de los sustratos (residuos de forraje de sorgo, maíz y avena) para el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

4 JUSTIFICACIÓN

En los últimos años la cría de animales se ha visto afectada por los costos de los alimentos concentrados, principalmente en aquellas unidades de producción que emplean pastos como fuente principal de alimento para sus rebaños. Esta situación está asociada fundamentalmente a la irregular distribución de las lluvias a lo largo del año. (Ferrer y col., 1994). Es por esto la necesidad de buscar alternativas para mejorar la calidad del forraje.

El sistema enzimático lignolítico y celulolítico del hongo *Pleurotus Ostreatus* se involucra de manera significativa en la degradación de diversas

estructuras químicas (carbohidratos) presentes en el forraje haciendo posible el aprovechamiento del mismo como alimento de ganado.

El presente proyecto se realizó con el interés de evaluar la cinética enzimática del hongo *Pleurotus Ostreatus* en diferentes residuos forrajes (avena, sorgo y maíz); con la finalidad de conocer el comportamiento del hongo sobre el sustrato y conocer la disponibilidad de nutrientes en el mismo.

5 HIPÓTESIS

Es posible determinar la actividad enzimática del hongo *Pleurotus Ostreatus* debido a sus propiedades lignocelulolíticas en al menos uno de los tres sustratos por medio de fermentación en estado sólido.

6 REVISIÓN DE LITERATURA

6.1 Generalidades de hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Los hongos se distribuyen ampliamente por todo el mundo, existen aproximadamente 10,000 especies de las cuales solo el 10% son comestibles, *Pleurotus* es una de ellas. Dentro de este género se distingue la especie *P. ostreatus* de origen húngaro, también llamada Seta, Orellana, gírgola, seta de ostra, seta de chopo, entre otros.

Gaitán, R., y otros autores. (2006), Mencionan que en México muchas especies de hongos han sido reportadas como comestibles y algunas de ellas se consumen desde tiempos prehispánicos, conocidos entre los aztecas como NANACATL, vocablo que significa «carne». Por su parte México es pionero en el cultivo de setas en América Latina ya que dicha actividad inició en los años 70, desde entonces el interés por su propagación y consumo ha ido en aumento.

Según López, E. (2002), manifiesta que *Pleurotus ostreatus* se encuentra en la lista de 37 especies de hongos descritas, utilizadas en la medicina tradicional de Mesoamérica y México. Existen reportes antiguos donde se reporta a los *Pleurotus* como hongos cuyas propiedades pueden utilizarse para disipar los enfriamientos, relajar los tendones y las venas, su parte útil son los cuerpos fructíferos, los cuales tienen un sabor dulzón y suave textura.

En los comienzos de la década de los 80's, el champiñón representaba más del 70% de la oferta mundial. Solamente el 2,8% de dicha producción correspondía a *Pleurotus ostreatus* (setas) y el 14,3% a *Shiitake*. En tanto, las proyecciones actuales sitúan a la producción de setas en segundo lugar, representando el 20% de la producción mundial de hongos comestibles. Rodríguez, G. (2007).

6.1.1 Clasificación taxonómica del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Reino: *Fungi*

Filo: *Basidiomycota*

Clase: *Homobasidiomycetes*

Orden: *Agaricales*

Familia: *Pleurotaceae*

Género: *Pleurotus*

Especie: *P. ostreatus*

Nombre binomial: *Pleurotus ostreatus*

Champ. Jura. Vosg. 1: 112, 1872

6.1.2 Características morfológicas del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Sombrero: Entre 5 y 15 cm., aunque en ocasiones alcanza dimensiones mucho mayores dependiendo de la edad del hongo, con forma de ostra. De color muy variable, desde gris claro hasta marrón oscuro, pasando por todas tonalidades intermedias, a veces con reflejos azulados, tomando una coloración más amarillenta con el tiempo. Margen delgado y enrollado del mismo color que el sombrero.

El sombrerillo de esta seta es redondeado, con la superficie lisa, abombada y convexa cuando es joven, aplanándose luego poco a poco.

Laminas: Laminas blancas a cremas cuando los ejemplares son maduros. Apretadas y desiguales, con lamélulas. Muy decurrentes.

Las laminillas están dispuestas radialmente como las varillas de un paraguas, que van desde el pie o tallo que lo sostiene, hasta el borde. Son anchas, espaciadas unas de otras, blancas o crema.

Pie: Muy corto, a veces ausente, insertándose entonces el sombrero directamente en el sustrato.

El pie suele ser corto, algo lateral u oblicuo, ligeramente duro, blanco, con el principio de las laminillas en la parte de arriba y algo peloso en la base. Pueden crecer de forma aislada sobre una superficie horizontal o en grupo formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles. La carne de la seta es blanca, de olor algo fuerte, tierna al principio y después correosa.

Carne: Blanca. Olor y sabor fúngicos y agradables. Correosa en el pie, y en el sombrero cuando los ejemplares son viejos.

Esporada: Blanca cremosa.

Esporas: De blancas a cremosas, cilíndricas de 8-11 x 3-4/ μm ., hialinas y lisas.

Basidios: Tetraspóricos, claviformes y largos.

6.1.3 Características fisiológicas del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Pleurotus ostreatus es un hongo degradador de materia orgánica que se alimenta principalmente de lignina y celulosa. La lignina y la celulosa son azúcares que se encuentran disponibles en la materia muerta, por ejemplo la paja, rastrojo de maíz, caña, trigo, cebada, etc.

En cambio Rodríguez, G. (2007), menciona que el micelio debe tener a su disposición la fuente de carbono que constituye la base nutricional. Todos los hongos necesitan este tipo de fuente dado que están desprovistos de clorofila, y no pueden realizar la fotosíntesis. Por ese motivo pueden vivir y prosperar sobre materia orgánica muerta.

6.1.4 *Pleurotus ostreatus*: usos y utilización del hongo y compost.

Sánchez, J. y Royse, D. (2001), indican que un gran número de hongos comestibles tiene la habilidad de colonizar el rastrojo, degradar y utiliza la lignina, además de la hemicelulosa y la celulosa. Estos tipos de hongos son capaces de utilizar el desecho de las planas en su forma original sin que hayan sido sujetas a algún proceso de degradación bioquímica o microbiológica. Entre los agentes de descomposición primaria más efectivos existen hongos comestibles como las especies *Pleurotus*. Después de cultivar y cosechar los hongos, la relación carbono-nitrógeno del sustrato es disminuida y puede ser utilizado como abono para el suelo.

Por su parte Sañudo, B. y otros autores, (2003), mencionan que al final de la producción comercial, el compost no está totalmente degradado, por lo que es interesante la posibilidad de reciclarlo, como enriquecimiento de nutrientes principalmente nitrogenados, una fermentación corta y nueva pasteurización; antes de emplearlo como abono orgánico para plantas cultivadas.

El cultivo de los hongos del género *Pleurotus spp.*, tiene un gran atractivo debido principalmente a que producen proteínas de alta calidad sobre un sustrato que consiste en materiales de desecho de carácter lignocelulósico, materiales producidos en gran cantidad en la actividad agrícola. A pesar de que la calidad de las proteínas de los hongos no es tan alta como la proteína animal, se considera que la producción de ésta es más eficiente en términos de costos, espacio y tiempo.

El sustrato que queda después de la cosecha del hongo llamado compost agotado, puede ser usado como sustrato para hongos de otros géneros, o como forraje para ganado.

En cuanto al potencial como forraje que pueda tener un sustrato usado en cultivos de hongos del género *Pleurotus spp.*, se ha encontrado que el mejoramiento de la digestibilidad depende de la especie del hongo, del sustrato utilizado y de las condiciones del cultivo (12,13).

Con respecto a los efectos benéficos medicinales de *P. ostreatus* es conocida su actividad anticancerígena, efectos inmunomodulatorios, antivirales, antibióticos, antiinflamatorios y disminución en los niveles de colesterol.

6.2 Sustratos

6.2.1 Residuos de Forraje.

Los principales cultivos, especialmente los cereales, producen grandes cantidades de tallos y de hojas, además del producto principal, que por lo general es el grano. La paja constituye casi siempre la mitad de la vegetación que se puede cosechar de un cultivo. Tales materiales ordinarios no pueden ser consumidos por el ser humano, pero el ganado los puede transformar en productos con valor económico. (J.M. Suttie., 2003)

Los cereales son el alimento humano más importante y, como grupo, constituyen las especies más difundidas. Muchos cereales son además cultivados como forrajes o, por lo menos, usados como tales cuando las condiciones del mercado los favorecen. La paja y los tallos gruesos son importantes fuentes de alimento para el ganado, sobre todo para los rumiantes mayores, y los restos de la cosecha a menudo son pastoreados. (J.M. Suttie., 2003).

6.2.2 Forraje de sorgo

El sorgo es una planta originaria de la India y uno de los principales cultivos de México. La producción se utiliza prácticamente en su totalidad para el consumo animal. Las denominaciones “sorgo forrajero” y “sorgo grano” provocan algunas confusiones, debido a que se trata de la misma planta y el sorgo grano está también considerado como un producto forrajero. La diferencia es que cuando se habla de sorgo forrajero, se refiere a la utilización de toda la planta, ya sea verde o seca, y no sólo del grano. El sorgo forrajero puede achicalarse, ensilarse o henificarse; siempre para consumo animal. (SAGARPA, 2014).

El sorgo pertenece a la familia de las gramíneas. Tiene cañas de dos a tres metros de altura, llenas de un tejido blanco y algo dulce, vellosas en los nudos. Tiene hojas lampiñas, ásperas en los bordes. Las flores aparecen en una panoja floja, grande y derecha; o bien espesa, arracimada y colgante. La planta se adapta bien en zonas áridas o semiáridas con calor. (SAGARPA, 2014).

Su valor nutritivo varía con la época de corte, fertilidad del suelo y la variedad; al igual que todas las forrajeras, sus tallos y hojas pierden valor nutritivo con la edad, siendo su contenido de proteína relativamente alto cuando son jóvenes. (FONAIAP, 1983).

El rastrojo de sorgo constituye una excelente fuente de fibra (8 a 10 toneladas de forraje por hectárea), disponible en un momento “clave” en el manejo de pasturas y animales. (Mieres et al. 2011).

6.2.3 Forraje de Avena

Las avenas cultivadas tienen su origen en Asia Central, la historia de su cultivo es más bien desconocida, aunque parece confirmarse que este

cereal no llegó a tener importancia en épocas tan tempranas como el trigo o la cebada, ya que antes de ser cultivada la avena fue una mala hierba de estos cereales. Los primeros restos arqueológicos se hallaron en Egipto, y se supone que eran semillas de malas hierbas, ya que no existen evidencias de que la avena fuese cultivada por los antiguos egipcios. Los restos más antiguos encontrados de cultivos de avena se localizan en Europa Central, y están datadas de la Edad del Bronce. (inforagro.com).

La avena es una planta herbácea anual, perteneciente a la familia de las gramíneas. Tiene raíces más abundantes y profundas que las de otros cereales, lo que le permite absorber mejor los nutrientes del suelo y por ello requiere menos fertilizantes. Sus tallos son gruesos y rectos. Pueden medir medio metro y hasta un metro. Están formados de varios entrenudos que terminan en gruesos nudos, la parte donde nacen las hojas. Éstas son planas y alargadas. Su borde libre es dentado, el limbo es estrecho y largo, de color verde oscuro, áspero al tacto y en la base lleva numerosos pelos. Los nervios de la hoja son paralelos y muy marcados. La avena es una planta de climas fríos, muy sensible a las altas temperaturas sobre todo durante la floración y la formación del grano. Exige mucha agua para su desarrollo porque presenta gran transpiración. De todos los cereales de invierno, es de los que más agua necesita, por eso se adapta mejor a los climas frescos y húmedos. Es poco exigente en suelos, pues se adapta a terrenos muy diversos. Prefiere los profundos y arcillo-arenosos, ricos en cal pero sin exceso, y que retengan la humedad. La avena está más adaptada que los demás cereales a los suelos ácidos, por tanto suele sembrarse en tierras ricas en materias orgánicas. (SIAP, 2014).

Se emplea principalmente en la alimentación del ganado, como planta forrajera, en pastoreo, como heno o ensilado; la avena forrajera se usa sola o en combinación con leguminosas forrajeras. La paja de avena está considerada como un muy buen alimento para el ganado. Este grano es un

magnífico forraje en particular para caballos y mulas, así como para el ganado vacuno y ovino. (SIAP, 2014).

6.2.4 Forraje de maíz

El maíz es el cultivo más importante de México. Además de su presencia diaria en la mesa de las familias mexicanas, la planta es también un excelente forraje para el ganado, especialmente para las vacas lecheras y los animales de tiro. Se aprovecha como alimento ganadero en varias etapas del crecimiento de la planta, principalmente a partir del momento en que aparece la panoja.

La planta del maíz es de aspecto robusto. Recuerda al de una caña. Tiene un solo tallo de gran longitud, sin ramificaciones, que puede alcanzar hasta cuatro metros de altura, es decir, poco más de la altura de dos hombres. Al hacerle un corte presenta una médula esponjosa. La planta tiene flores tanto masculinas como femeninas. La inflorescencia masculina es un espigón o penacho amarillo que puede almacenar de veinte a 25 millones de granos de polen. La femenina tiene menos granos de polen, mil como máximo, y se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices. Las hojas son largas y extensas, con terminación en forma de lanza, o lanceoladas, de extremos cortantes y con vellosidades en la parte superior. Sus raíces son fasciculadas; es decir, todas presentan más o menos el mismo grosor, y su misión es aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos pueden verse los nudos de las raíces a nivel del suelo.

Como se destinará para consumo animal, la cosecha del maíz forrajero incluye toda la planta. Se utiliza el tallo, las hojas y las otras partes. Puede cosecharse verde o deshidratarse para venderse seco y en pacas; también puede ensilarse, que significa guardar en silos para que se fermente. El ensilaje, que puede efectuarse aproximadamente tres meses

después de la siembra, aumenta su nivel nutritivo en cuanto a valor energético, proteínas y sales minerales. Finalmente, también se hace maíz molido al que se agregan nutrientes para la alimentación integral de los animales. (SAGARPA, 2014).

6.3 Enzimas responsables de la degradación del material vegetal

6.3.1 Importancia de las enzimas

Las enzimas son proteínas especializadas capaces de acelerar la velocidad de una reacción química, promoviendo así la transformación de diferentes moléculas en productos específicos. La alta especificidad con la que se llevan a cabo dichas transformaciones, el volumen reducido de desechos que generan dichos procesos y las condiciones poco agresivas en las que se operan, han permitido que estos biocatalizadores se posicionen como elementos preponderantes en diversos sectores industriales. En efecto, se considera que en aquellos sectores industriales en donde está involucrada al menos una reacción química, existe la posibilidad de integrar una enzima al proceso de transformación

En la actualidad, el uso de enzimas a escala industrial es una realidad, y considerando la velocidad del avance científico y tecnológico en el área de la biotecnología, es de esperarse que el número de procesos biocatalíticos se incremente de manera acelerada en las próximas décadas. (Castillo y Rodríguez, 2014).

La degradación de los componentes de las paredes vegetales es un proceso complejo que involucra la acción sinérgica de un gran número de enzimas extracelulares. En los hongos filamentosos, estas proteínas son indispensables para la obtención de energía y nutrientes por estos microorganismos. Muchas de estas enzimas han recibido una atención especial debido a su uso potencial en diferentes procesos industriales. A

continuación se presenta información relativa a las principales enzimas lignocelulolíticas producidas por hongos.

6.3.2 Celulasas

La hidrólisis completa de la celulosa nativa requiere la acción conjunta de múltiples enzimas con distintas especificidades de sustrato. Las tres enzimas más importantes son: endocelulasas, exo-Celulasas y β -Glucosidasas. En el caso de hongos, éstos producen los tres tipos de enzimas (Harris y Smith, 2006).

6.3.2.1 Las endocelulasas

Son las celulasas más ampliamente encontradas, hidrolizan la celulosa amorfa (celulosa pretratada con ácido fosfórico concentrado) o derivados solubles tales como la carboximetilcelulosa (CMC) (Coughlan y Ljungdahl, 1998). Las endocelulasas también reciben el nombre de endo- β 1,4-glucanasas, 1,4 β -D glucan 4-glucanohidrolasas y CM-celulasas. Se inhiben fuertemente por la presencia de celobiosa (Massadeh y col., 2001). Las endoglucanasas también juegan un papel importante en el incremento de rendimiento de jugo de frutas, filtración de cerveza, extracciones con aceite, en la mejora de la calidad nutricional de productos de panadería y alimento para ganado (Kaur y col., 2007).

6.3.2.2 Las exoglucanasas

Son componentes cruciales de la degradación de celulosa cristalina. Estas enzimas son inactivas en CMC, pero hidrolizan la celulosa amorfa al atacar los residuos de celobiosa, con inversión de la configuración anomérica de las terminaciones no reductoras de la cadena de celulosa (Kaur y col., 2007). La acción de estas enzimas en celulosa cristalina es significativamente amplificada (sinergismo) por la presencia de

endoglucanasas. Las exoglucanasas son también conocidas como exocelulasas, 1,4- β -glucanasas, celobiohidrolasas y exocelobiohidrolasas. La actividad exoglucanasa no es fácilmente cuantificada, pero su presencia en una mezcla de enzimas celulolíticas es a menudo correlacionada con el poder de sacarificación de celulosa más o menos cristalina como el avicel (actividad de avicelasa) o de papel filtro (actividad con papel filtro) (Massadeh y col., 2001).

6.3.2.3 Las β -Glucosidasas

Son consideradas elementos que componen los sistemas celulolíticos, hidrolizan la celobiosa a glucosa (Massadeh y col., 2001). Estas enzimas son detectadas empleando como sustrato al p-nitrofenol-glucósido y esta actividad es denominada aril- β -Glucosidasa. Las β -Glucosidasas son poco específicas y algunas pueden ser activas contra varios β -glucósido (Woodward y Wiseman, 1982).

En general, las celulasas son proteínas bimodulares con un dominio grande catalítico y uno pequeño de unión al sustrato ligado por una secuencia proteica altamente glicosilada rica en prolina y serina.

6.3.3 Xilanasas

La hemicelulosa se encuentra asociada a la celulosa y lignina y llega a representar hasta el 35% del peso seco de las plantas superiores. La diversidad de azúcares en las hemicelulosas depende de la planta de procedencia. Por lo regular, las hemicelulosas se clasifican de acuerdo al azúcar residual principal en el esqueleto del polímero. El xilano es la hemicelulosa más abundante, está presente en los cereales y maderas blandas y duras (Aro y col., 2005).

No obstante su complejidad, la degradación enzimática del xilano está bien descrita y su biodegradación es efectuada por un conjunto complejo de enzimas llamadas genéricamente xilanasas, las cuales son producidas por hongos y bacterias.

Por otro lado, junto con otras enzimas hemicelulasas, las xilanasas permiten la obtención de oligosacáridos de xilano provenientes de desechos agrícolas (sacarificación de biomasa lignocelulósica) para su uso como aditivos alimenticios y edulcorantes. Además, empleadas junto con celulasas, son útiles para la modificación de masas en panadería y para el mejoramiento de las dietas de aves y rumiantes, puesto que la hidrólisis enzimática de los arabinoxilanos (en forrajes y cereales) aumenta la digestibilidad de las materias primas de la dieta (Topakas y col., 2003).

Los hongos filamentosos son productores interesantes de estas enzimas desde un punto de vista industrial, debido al hecho de que pueden excretar xilanasas al medio. A escala industrial, las xilanasas se producen por *Aspergillus* y *Trichoderma spp.* en fermentación sólida (Solórzano y Pereira, 2002).

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Preparación del sustrato y FES del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Se trabajo con pellets (semilla de sorgo) inoculado con micelio del hongo *Pleurotus Ostreatus* conservados en refrigeración a 4 °C hasta su uso, proporcionados por el departamento de fitomejoramiento de la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Se empleo como sustrato sólido residuos de forraje de sorgo maíz y avena, se trabajó con 100 g colocados en mallas tubulares de polietileno identificadas por colores amarilla(avena), blanca(sorgo) y azul(maíz) para su posterior esterilización en un recipiente de aluminio a punto de ebullición por 30 min.

Una vez esterilizado el sustrato se procedió a realizar la siembra e iniciar con la fermentación en estado sólido. Se realizó por triplicado en bolsas de polietileno transparentes para evitar la contaminación del medio, se coloco el sustrato dentro de la bolsa y se le agregaron los pellets del hongo *Pleurotus Ostreatus*, se cerraron las bolsas y se identificaron; después se procedió a colocarlas en un cuarto colgadas hasta su muestreo. La siembra se realizo bajo condiciones ambientales no controladas (temperatura ambiente).El muestreo se realizó cada 5 días durante 40 días.

7.2 Extracto enzimático

Se extrajo el extracto enzimático en 500 ml de solución buffer de acetatos al 0.1M a un pH de 5.6 por medio de agitación manual, para posteriormente filtrarla con tela muselina. Se congelo a -20°C en un congelador marca TORREY a hasta su análisis.

7.3 Contenido de azúcares reductores en extracto enzimático.

El contenido de azúcares reductores contenidas en los extractos por el método colorimétrico de DNS propuesto por Miller, se basa en la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), por la glucosa u otro azúcar reductor, al ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (Chapilín, 1986), cuya presencia puede detectarse por lectura de la absorbancia en la zona de 540-570 nm, esto se llevó a cabo mediante mezclas de reacción teniendo en cuenta las cantidades adecuadas por tubos de ensaye que siendo después de las mezclas de reacción se les añade las cantidades de DNS y se somete a un punto de ebullición posteriormente a baño de hielo, los intervalos de tiempo son de 5 min para después leer a 540 nm en espectrofotómetro (UV/VIS Velab).

Esta técnica se aplicó para la determinación de la actividad de las enzimas Xilanasas y Celulasas (endo-glucanasa, exo-glucanasa y β -glucosidasa).

7.3.1 Determinación de actividad Xilanasas en extracto enzimático.

La actividad xilanasas es la responsable de la degradación de los xilanos contenidos en la molécula de hemicelulosa (Ghose and Bisaria 1987).

En un tubo de ensaye colocar 700 μ L de Xilano de abedul al 1% como sustrato más 300 μ L de extracto enzimático; cada tubo se coloca en baño maría a 50°C durante 5 minutos y se detiene la reacción mediante baño de hielo durante 5 minutos. A cada tubo se le miden azúcares reductores. Cada una de las determinaciones debe hacerse por triplicado o de acuerdo a las muestras que se tengan. Los tubos pueden ser incubados simultáneamente.

Se preparó un blanco de sustrato en un tubo de ensaye con 300 μ L de buffer de acetatos 0.05 M a pH 5.6 más 700 μ L de sustrato; y en blanco de

enzima con 700 μL de buffer de acetatos 0.5 M pH 5.6 más 300 μL de extracto enzimático, se trataron de la misma manera que la mezcla de reacción; estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia total.

7.3.2 Determinación de actividad Celulasa en extracto enzimático.

Para realizar la detección de la acción responsable de la depolimerización de la celulosa es necesario determinar tres actividades enzimáticas, las cuales son: endo-glucanasa, exo-glucanasa y β -glucosidasa.

Determinación de la actividad endo-glucanasa

En este caso se detecta la actividad de las enzimas responsables de la hidrólisis de los enlaces β -1,4 localizados en las regiones internas de la molécula de celulosa, contribuyendo a la disminución del grado de polimerización.

En un tubo de ensaye colocar 200 μL de corboximetil celulosa a 1000 ppm como sustrato más 100 μL de extracto enzimático; cada tubo se coloca en baño maría a 50°C durante 10 minutos y se detiene la reacción mediante ebullición en baño maría durante 5 minutos. A cada tubo se le miden azúcares reductores. Cada determinación se debe realizar por triplicado o de acuerdo a las muestras que se tengan. Los tubos pueden ser incubados simultáneamente.

Se preparo un blanco de sustrato en un tubo de ensaye con 100 μL de buffer de acetatos 0.1 M a pH 4.8 más 200 μL de sustrato; y en blanco de enzima con 200 μL de buffer de acetatos a pH 4.8 más 100 μL de extracto enzimático, se trataron de la misma manera que la mezcla de reacción; estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia total.

7.3.2.1 Determinación de la actividad Exo-glucanasa.

En este caso se detecta la actividad de las enzimas responsables de la hidrólisis de los enlaces β -1,4 localizados en las regiones externas de la molécula de celulosa, contribuyendo a la disminución del grado de polimerización.

En un tubo de ensaye se coloca 1000 μ L de buffer de Citratos 0.1 M a pH 4.8 y se coloca una tira de papel filtro Whatman #1 de 1 x 6 cm como sustrato, se adicionan 100 μ L de extracto enzimático. Cada tubo se coloca en baño maría a 50°C durante 60 minutos y se detiene la reacción mediante ebullición en baño maría durante 5 minutos. A cada tubo se le miden azúcares reductores. Cada determinación se debe realizar por triplicado o de acuerdo a las muestras que se tengan. Los tubos pueden ser incubados simultáneamente.

Se preparo un blanco de sustrato en un tubo de ensaye con 1000 μ L de buffer de citratos 0.1 M a pH 4.8 más una tira de papel filtro como sustrato; y en blanco de enzima con 1000 μ L de buffer de citratos 0.1 M a pH 4.8 más 100 μ L de extracto enzimático, se trataron de la misma manera que la mezcla de reacción; estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia total.

7.3.2.2 Determinación de la actividad β -glucosidasa.

En este caso se detecta la actividad de las enzimas responsables de la hidrólisis de los enlaces β -1,4 localizados en la celobiosa liberada por efecto de la acción de la exoglucanasa. La hidrólisis de la celobiosa libera glucosa como producto para finalizar la hidrólisis de la celulosa.

En un tubo de ensaye se colocan 800 μ L de buffer de acetatos 0.2 M se agrega 100 μ L de p-NPG (4-nitrofenil- β -D-ácido glucurónico) 9.0 mM

como sustrato, a la mezcla se adicionan 100 μL de extracto enzimático. Cada tubo se coloca a baño maría a 50°C durante 10 minutos y se detiene la reacción agregando Na_2CO_3 0.1 M. A cada tubo se le miden azúcares reductores. Cada determinación se debe realizar por triplicado o de acuerdo a las muestras que se tengan. Los tubos pueden ser incubados simultáneamente.

Se preparo un blanco de sustrato en un tubo de ensaye con 900 μL de buffer de acetatos 0.2 M a pH 4.8 más 100 μL de sustrato; y en blanco de enzima con 900 μL de buffer de acetatos 0.2 M a pH 4.8 más 100 μL de extracto enzimático, se trataron de la misma manera que la mezcla de reacción; estos datos se utilizaron para calcular la absorbancia total.

7.4 Contenido de proteína por el método de Microkjeldahl.

Las proteínas poseen una estructura química central que consiste en una cadena lineal de aminoácidos plegada de forma que muestra una estructura tridimensional, esto les permite a las proteínas realizar sus funciones.

La composición de las proteínas consta de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno además de otros elementos como azufre, hierro, fósforo y cinc. (proteínas.org.es).

7.4.1 Preparación de la muestra (materia seca parcial).

Una de las bolsas de la siembra se asigno para esta determinación después de su muestreo se seco en una estufa FELISA a 70°C por 48 hrs, para posteriormente moler en un molino Thomas Modelo 4 Wiley® con maya 1 mm; después se tamizó en maya 0.707 mm se almacenó en bolsas de plástico identificadas hasta su determinación.

7.4.2 Fundamento del método de Microkjeldahl.

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo. Cada determinación se realizó por duplicado por muestreo en intervalos de 5 días hasta los 40 días de crecimiento micelial del hongo *P. Ostreatus*.

7.5 Determinación de producción de biomasa.

La determinación de la biomasa es una de las variables más importantes de un bioproceso, ya que su determinación nos lleva a la comprensión de la eficiencia del mismo. Se trata de una variable clave para establecer las tasas de producción, de consumo de nutrientes y el cálculo de los balances de masa de cualquier proceso biológico. (Arnaíz y col., 2000).

7.5.1 Preparación de la muestra.

Una de las bolsas de la siembra se asignó para esta determinación después de su muestreo se secó en una estufa FELISA a 70°C por 48 hrs, para posteriormente moler en un molino Thomas Modelo 4 Wiley® con maya 1 mm; después se tamizó en maya 0.707 mm se almacenó en bolsas de plástico identificadas hasta su determinación.

7.5.2 Determinación de biomasa.

La determinación se llevó a cabo por diferencia de peso en base al peso inicial de la muestra con diferencia del peso de la muestra seca después del crecimiento micelial del hongo *P. Ostreatus* considerando el porcentaje de materia seca del sustrato y la materia seca de la semilla del hongo. Cada

determinación se realizó por duplicado por muestreo en intervalos de 5 días hasta los 40 días de crecimiento micelial del hongo *P. Ostreatus*.

7.6 Diseño del experimento para la determinación de proteína.

Las variables de proteína fueron evaluadas mediante un diseño completamente al azar mediante el modelo ANOVA-diseño lineal utilizando el paquete estadístico MiniTab versión 17.3.

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

8.1 Actividad enzimática del hongo *P. Ostreatus*.

Actividad endo-glucanasa de *P. Ostreatus* en sustrato de avena.

En la figura 1 se muestra la actividad enzimática de endo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de avena durante 40 días. Se puede observar que los valores máximos de actividad enzimática son de 52 U/ml a los 20 días, y su valor mínimo fue de 11 U/ml a los 30 días

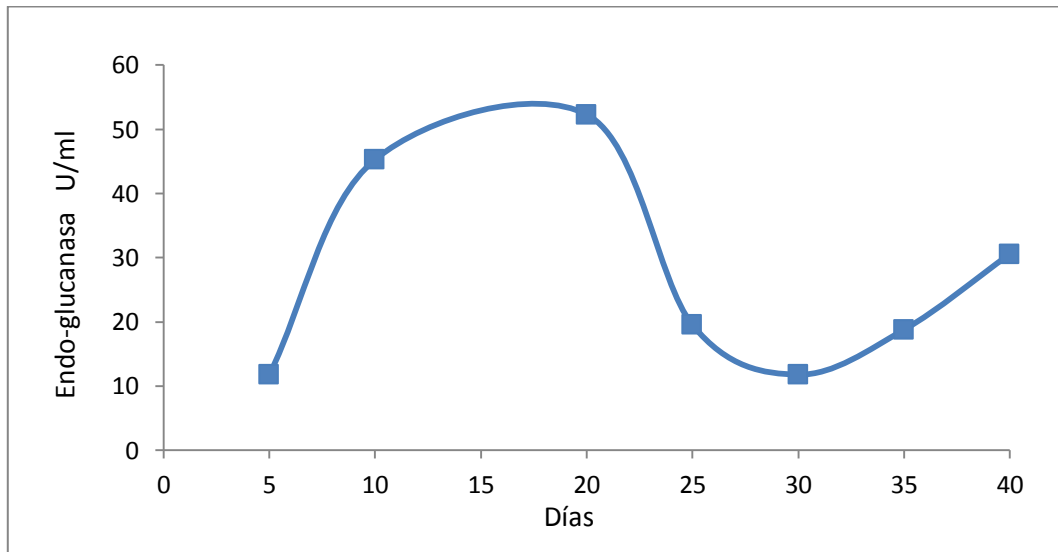


Figura 1. Cinética de la actividad enzimática de endo-glucanasa en sustrato de avena. (Endo-glucanasa U/ml-cuadrado).

Actividad endo-glucanasa de *P. Ostreatus* en sustrato de sorgo.

En la figura 2 se muestra la actividad enzimática de endo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de sorgo durante 40 días. Se puede observar que los valores máximos de actividad enzimática son de 61 U/ml a los 20 días, y su valor mínimo fue de 23 U/ml a los 40 días.

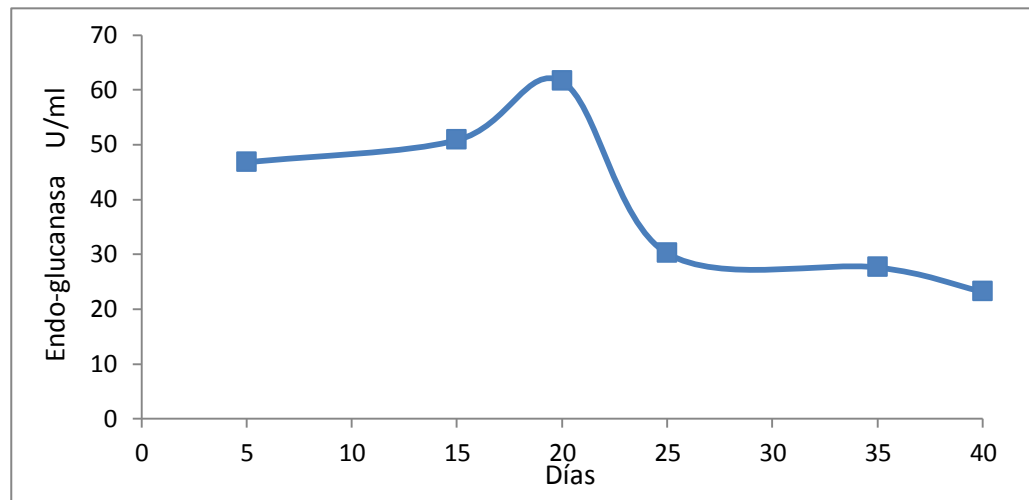


Figura 2. Cinética de la actividad enzimática de endo-glucanasa en sustrato de sorgo (Endo-glucanasa U/ml-cuadrado).

Actividad endo-glucanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de maíz.

En la figura 3 se muestra la actividad enzimática de endo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de maíz durante 40 días. Se puede observar que los valores máximos de actividad enzimática son de 24 U/ml a los 30 días, y su valor mínimo fue de 1 U/ml a los 40 días. Cabe destacar que de los 15 días no se mostro actividad enzimática.

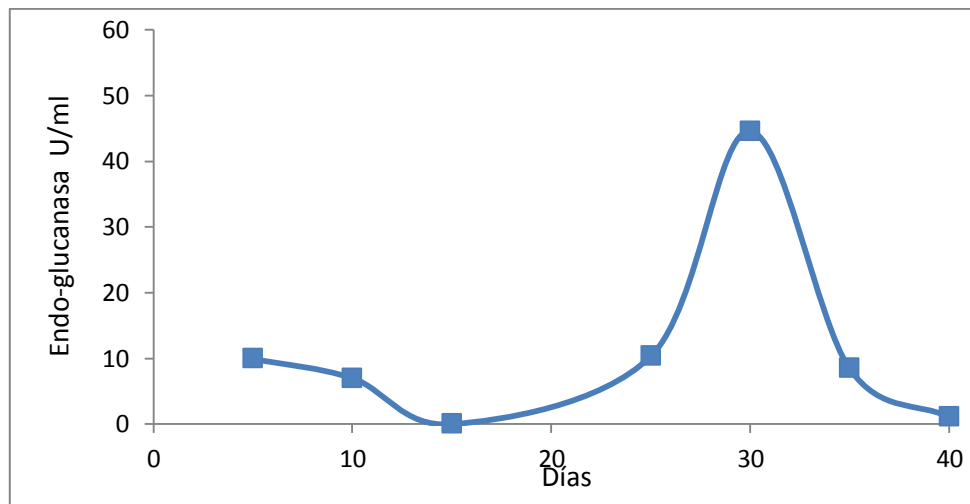


Figura 3. Cinética de la actividad enzimática de endo-glucanasa en sustrato de maíz. (Endo-glucanasa U/ml-cuadrado).

Actividad exo-glucanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de avena.

En la figura 4 se muestra la actividad enzimática de exo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de avena durante 40 días. Inicialmente se presentó una actividad mínima de 229 U/ml a los 5 días, posteriormente se incrementó la actividad a 635 U/ml a los 35 días.

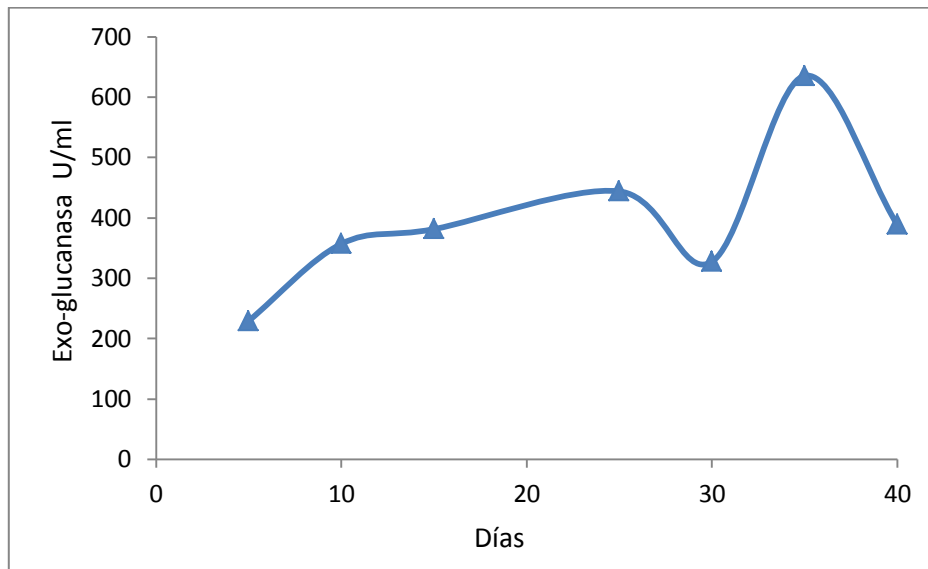


Figura 4. Cinética de la actividad enzimática de Exo-glucanasa en sustrato de avena. (Exo-glucanasa U/ml-triángulo).

Actividad exo-glucanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de sorgo.

En la figura 5 se muestra la actividad enzimática de exo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de sorgo durante 40 días. La exo-glucanasa obtuvo su máximo valor a los 10 días con 343 U/ml, y decreció a los 15 días con 154 U/ml.

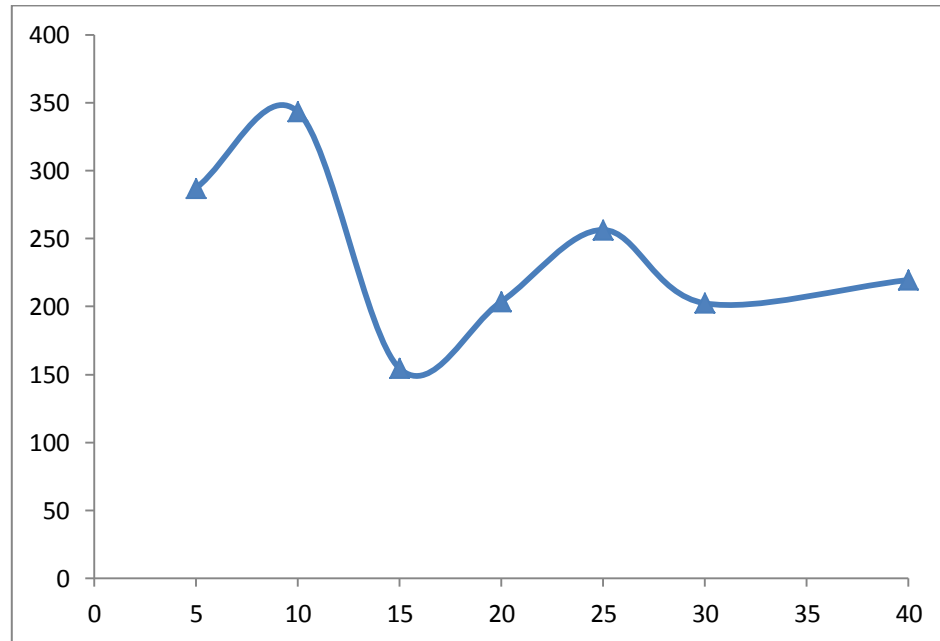


Figura 5. Cinética de la actividad enzimática de Exo-glucanasa en sustrato de sorgo. (Exo-glucanasa U/ml-triángulo).

Actividad exo-glucanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de maíz.

En la figura 6 se muestra la actividad enzimática de endo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de maíz durante 40 días. Se observó la máxima actividad enzimática a los 40 días con 390 U/ml, mientras que la mínima actividad fue de 154 U/ml a los 15 días.

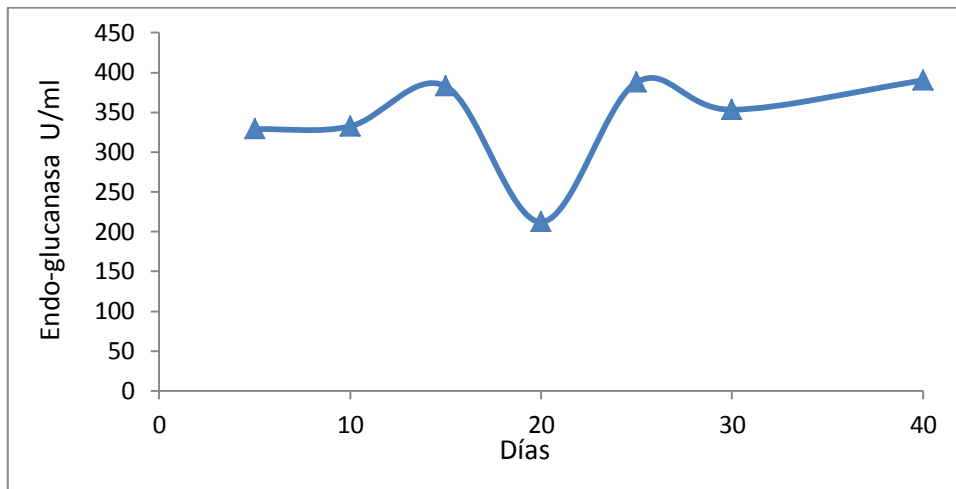


Figura 6. Cinética de la actividad enzimática de Exo-glucanasa en sustrato de maíz. (Exo-glucanasa U/ml-triángulo).

Actividad β -glucosidasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de avena.

En la figura 7 se muestra la actividad enzimática de endo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de avena durante 40 días. La β -glucosidasa presentó su mínima actividad a los 5 días con 10 U/ml, tras lo cual se observa una actividad máxima de 105 U/ml a los 10 días. Cabe destacar que se presentó una actividad nula a los 40 días.

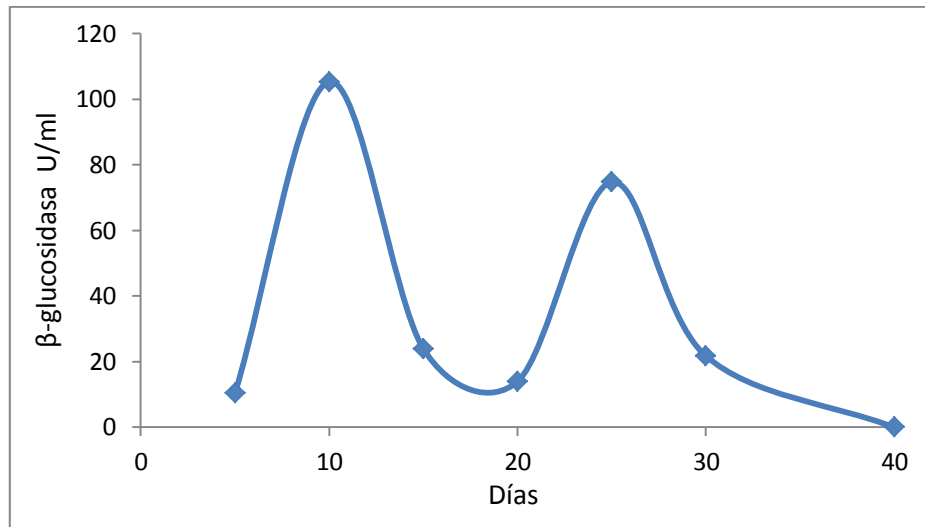


Figura 7. Cinética de la actividad enzimática de β -glucosidasa en sustrato de avena. (β -glucosidasa U/ml-circulo).

Actividad β -glucosidasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de sorgo.

En la figura 8 se muestra la actividad enzimática de endo-glucanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de sorgo durante 40 días. Se observó la máxima actividad enzimática a los 40 días con 44 U/ml, mientras que la mínima actividad fue de 21 U/ml a los 25 días. Cabe destacar que se presentó una actividad nula a los 15 días.

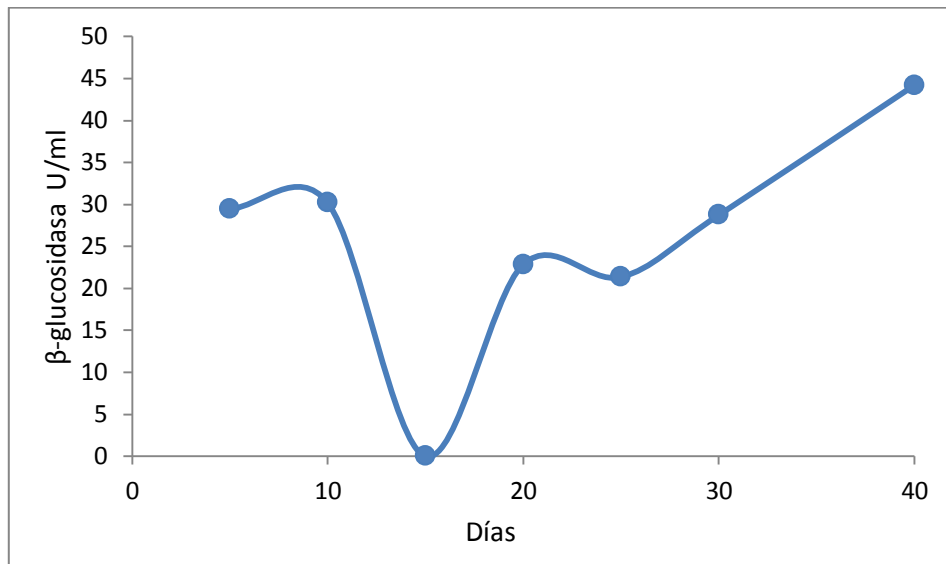


Figura 8. Cinética de la actividad enzimática de β -glucosidasa en sustrato de sorgo. (β -glucosidasa U/ml-circulo).

Actividad β -glucosidasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de maíz.

En la figura 9 se muestra la actividad enzimática de endo-gluconasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de maíz durante 40 días. Se observó la máxima actividad enzimática a los 35 días con 49 U/ml, mientras que la mínima actividad fue de 15 U/ml a los 20 días.

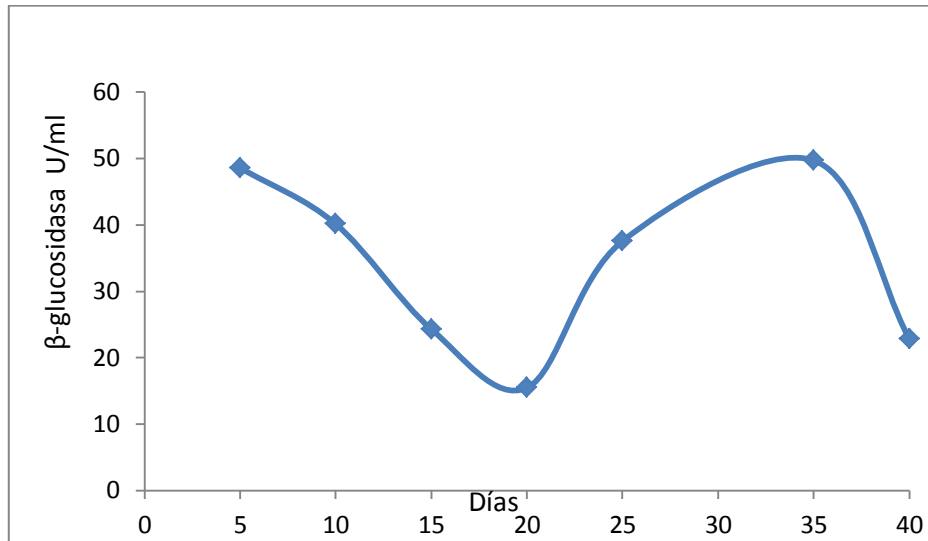


Figura 9. Cinética de la actividad enzimática de β -glucosidasa en sustrato de maíz. (β -glucosidasa U/ml-circulo).

Actividad xilanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de avena.

En la figura 10 se muestra la actividad enzimática de xilanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de avena durante 40 días. Se puede observar que inicialmente obtuvo su menor actividad con 537 U/ml a los 5 días y obtuvo su máximo valor a los 40 días con una actividad de 841 U/ml.

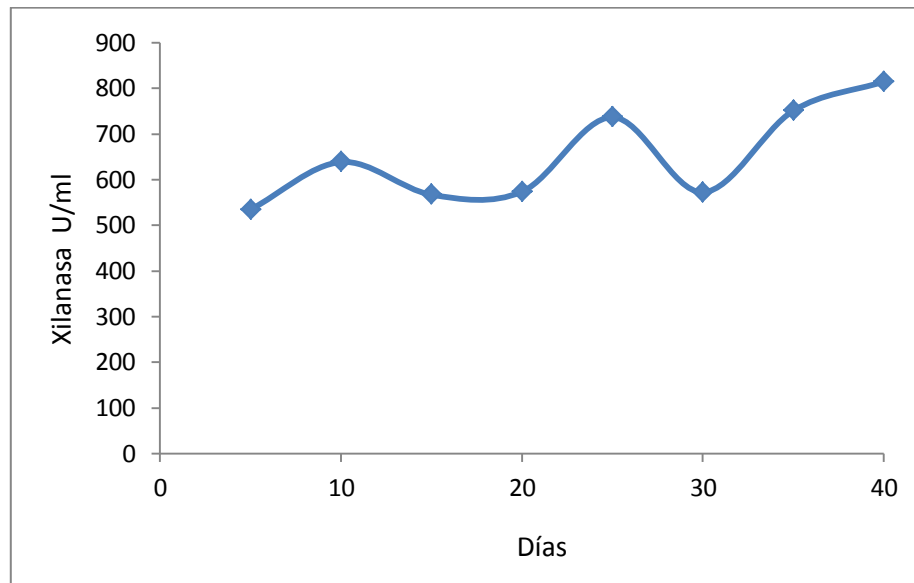


Figura 10. Cinética de la actividad enzimática de Xilanasa en sustrato de avena. (Xilanasa U/ml-rombo).

Actividad xilanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de sorgo.

En la figura 11 se muestra la actividad enzimática de xilanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de sorgo durante 40 días. Se puede observar que la Xilanasa obtuvo su máximo valor a los 35 días con una actividad de 734 U/ml, y decreció a los 40 días con una actividad de 624 U/ml.

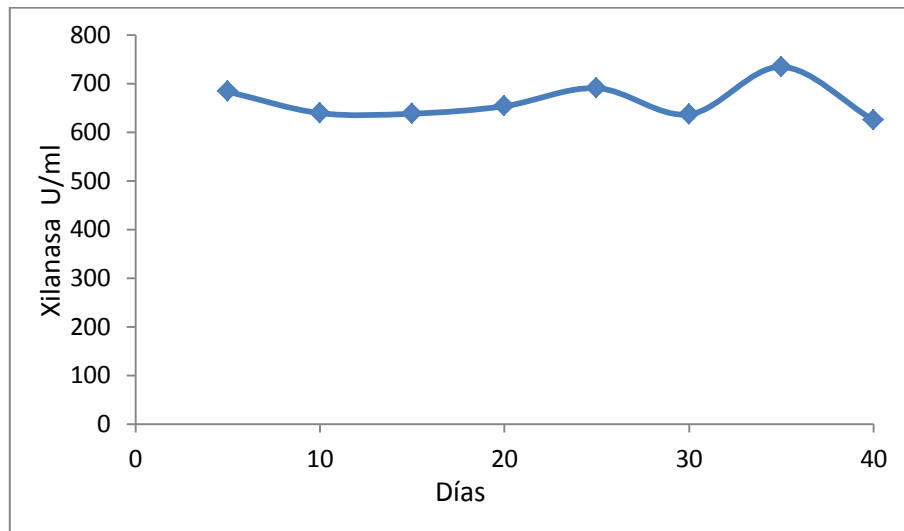


Figura 11. Cinética de la actividad enzimática de Xilanasa en sustrato de sorgo. (Xilanasa U/ml-rombo).

Actividad xilanasa del hongo *P. Ostreatus* en sustrato de maíz.

En la figura 12 se muestra la actividad enzimática de xilanasa producida durante el crecimiento del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de maíz durante 40 días. La xilanasa presentó su mínima actividad a los 15 días con 515 U/ml, mientras que su máxima actividad se observó a los 30 días con 638 U/ml.

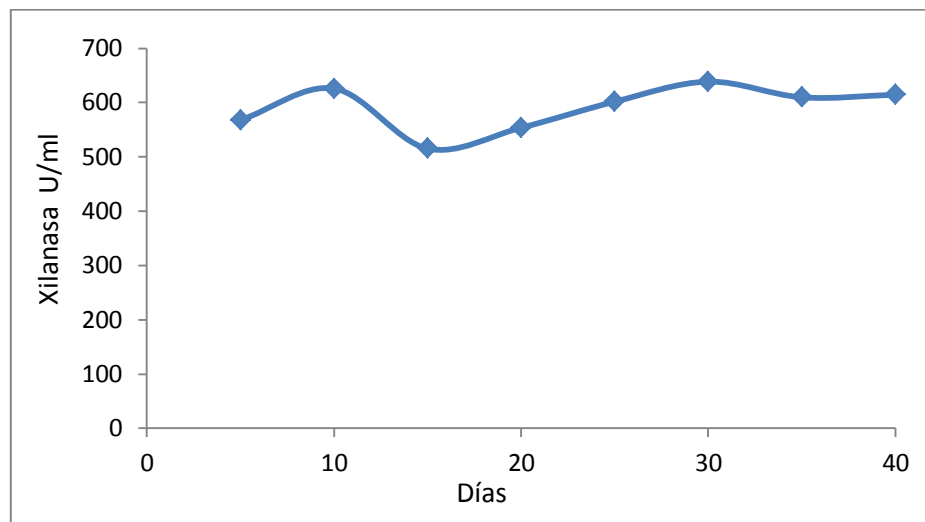


Figura 12. Cinética de la actividad enzimática de Xilanasa durante en sustrato de maíz. (Xilanasa U/ml-rombo).

Realizando la comparación actividad enzimática-tiempo que se muestran en las figuras anteriores tenemos que los mayores niveles de actividad enzimática en promedio se presentaron en los 30 a 40 días de crecimiento lo cual nos muestra una significativa degradación de los carbohidratos complejos (celulosa y hemicelulosa) del sustrato por medio de la acción enzimática de *P. Ostreatus* conforme el tiempo según lo observado durante los muestreos realizados.

Como se puede observar en la fig. 10 la mayor actividad enzimática fue la de la enzima xilanasa con 841 U/ml para *P. Ostreatus*; Aro y col., 2005, mencionan que el xilano es el principal polisacárido de la hemicelulosa;

compuesto presente en la estructura química de los sustratos utilizados para el cultivo del hongo y la capacidad celulolítica del mismo, podrían ser el principal motivo de los resultados obtenidos.

En cuanto al sustrato los residuos de forraje de avena fue el mejor medio para la actividad enzimática de *P. Ostreatus* ya que produjo mayores niveles de enzimas lignocelulolíticas, en comparación con los sustratos de sorgo y maíz. Fabela y Col., 2007; mencionan que los residuos de material vegetal (paja de avena) utilizado como sustrato para el crecimiento de *P. Ostreatus* presentan excelentes niveles de producción de enzimas lignocelulolíticas. Por lo tanto coincidimos que los residuos de material vegetal en sinergia con *P. Ostreatus* presentan una actividad enzimática favorable.

8.2 Contenido de proteína.

Contenido de proteína en residuos de Avena.

En la fig 13 se muestra el comportamiento del contenido de proteína en el sustrato de residuos de forraje de avena inoculado con micelio del hongo *P. Ostreatus*; el cual tuvo un porcentaje máximo de 5.26% a los 25 días y un mínimo de 3.34% a los 10 días.

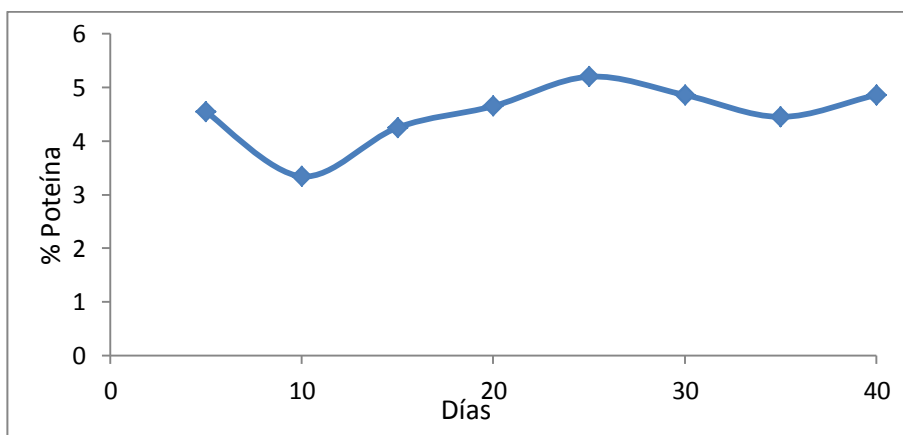


Figura 13: Porcentaje de proteína en el sustrato de residuos de avena.

Contenido de proteína en residuos de Maíz.

En la fig 14 se muestra el comportamiento del contenido de proteína en el sustrato de residuos de forraje de maíz inoculado con micelio del hongo *P. Ostreatus*; el cual tuvo un porcentaje máximo de 4.52% a los 30 días y un mínimo de 2.95% a los 35 días.

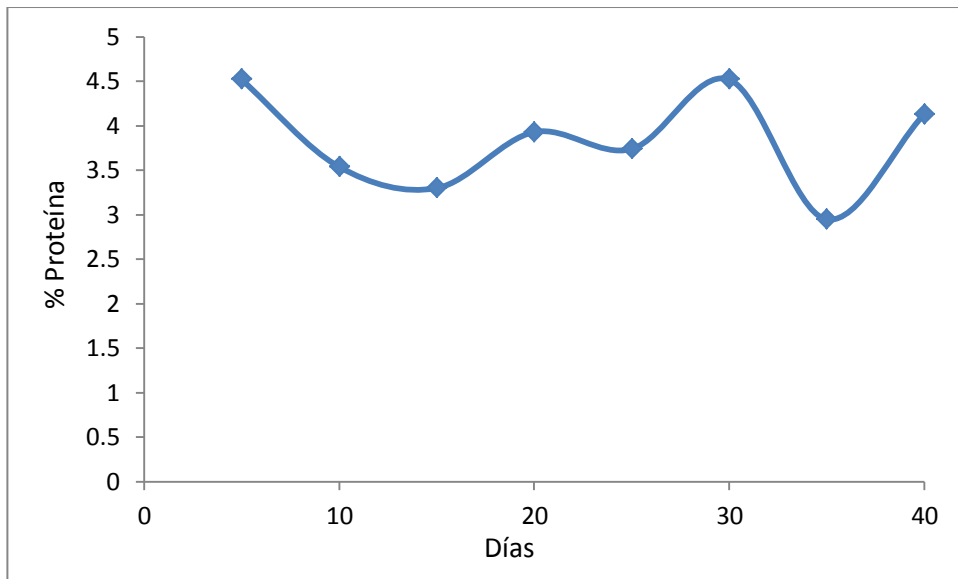


Figura 14: Porcentaje de proteína en el sustrato de residuos de maíz.

Contenido de proteína en residuos de Sorgo.

En la fig 15 se muestra el comportamiento del contenido de proteína en el sustrato de residuos de forraje de sorgo inoculado con micelio del hongo *P. Ostreatus*; el cual tuvo un porcentaje máximo de 5.85% a los 35 días y un mínimo de 4.03% a los 10 días.

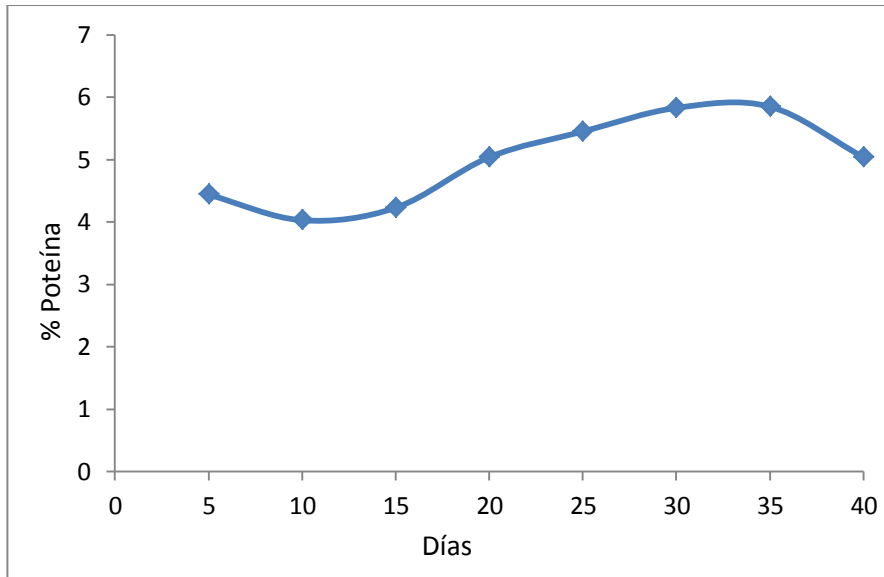


Figura 15: Porcentaje de proteína en el sustrato de residuos de sorgo.

El contenido máximo de proteína en la comparación de los tres sustratos fue de 5.85% siendo en el sustrato de residuos de sorgo a los 35 días, esto quiere decir que aunque hubo diferencias en los diferentes tiempos tuvimos un aumento significativo al final del muestro, esto podría atribuirse al microorganismo utilizado para la fermentación del medio ya que *P. Ostreatus* es un hongo con alto contenido proteico (Romero y col., 2000) teniendo también en cuenta que la determinación proteica del sustrato se realizó con residuos del hongo.

Por otra parte Ferrer y col., 1994; analizaron el contenido de proteína en bagazo de caña de azúcar utilizando *Trichoderma Reesei* obteniendo niveles de proteína de 8.1% siendo este medio óptimo para la alimentación

de rumiantes mencionan. Por lo tanto tenemos que en cuanto a contenido de proteína en residuos de materia vegetal la utilización de bagazo de caña de azúcar es mejor que los residuos de forraje.

8.3 Producción de biomasa.

En la fig. 16 se muestra la cinética del crecimiento de biomasa de *P. Ostreatus* en residuos de forraje de avena un comportamiento muy irregular comparado con los sustratos de sorgo y maíz; siendo su máximo aumento a los 5 días con 42.05 g mientras su mínimo fue de 30.33 g a los 40 días.

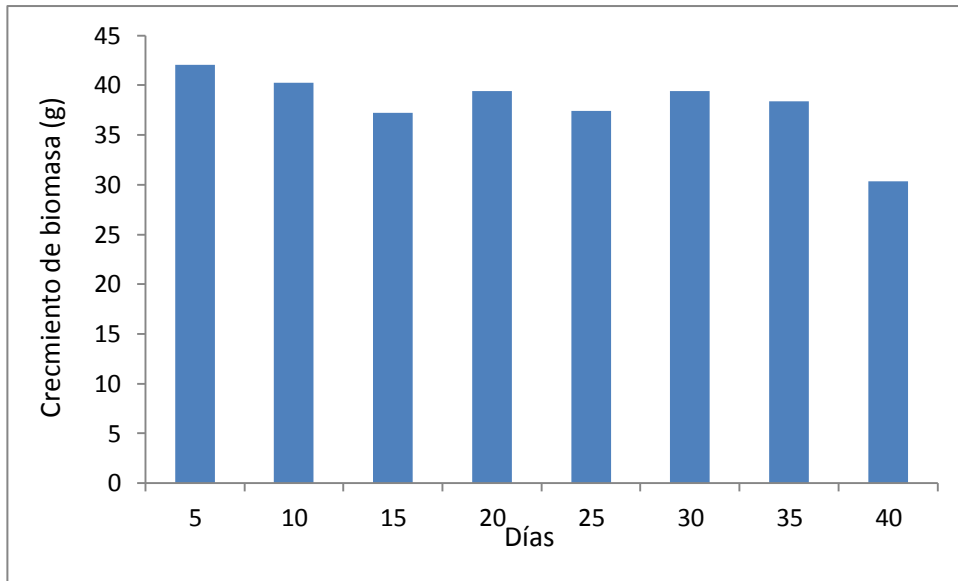


Figura 16. Crecimiento de biomasa en residuos de avena.

En la fig. 17 se muestra el aumento de biomasa de *P. Ostreatus* en el residuo de sorgo obteniendo su máximo crecimiento a los 40 días con 57.84 g, y su mínimo de 34.92 g a los 5 días. Siendo este sustrato el más eficiente para el crecimiento de *P. Ostreatus*.

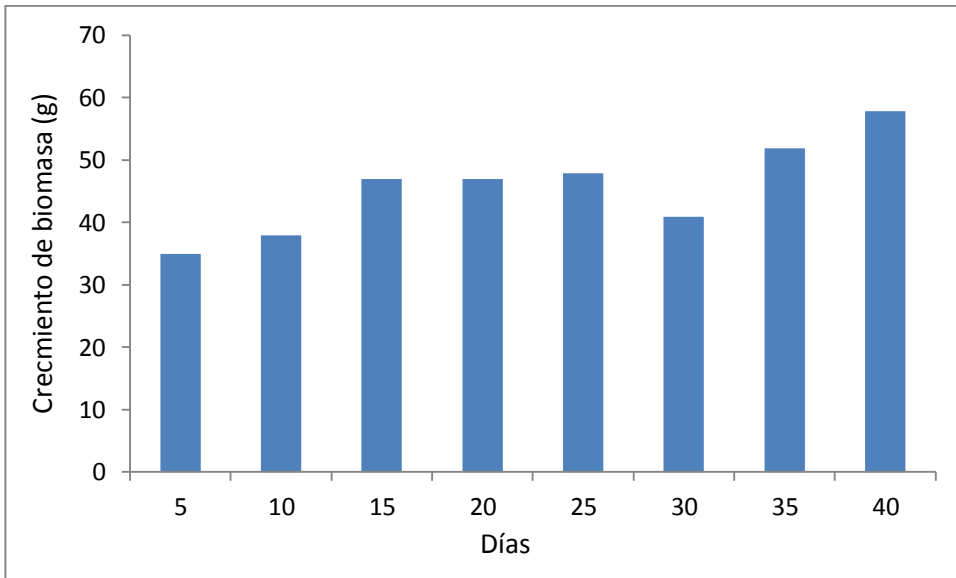


Figura 17. Crecimiento de biomasa en residuos de sorgo.

En la fig. 18 se muestra el aumento de biomasa de *P. Ostreatus* en residuos de forraje de maíz siendo este el de menor producción con un valor máximo de 43.04 g a los 30 días, observándose una disminución a los 40 días con 21.04 g.

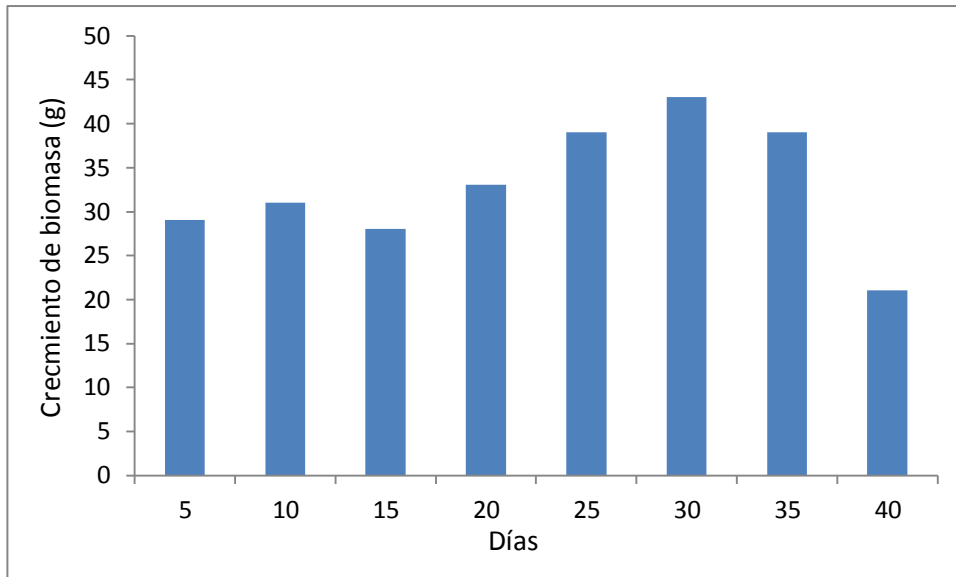


Figura 18. Crecimiento de biomasa en residuos de maíz.

En las figuras 16, 17 y 18 se muestra el crecimiento de biomasa de residuos de avena, sorgo y maíz respectivamente; siendo el sustrato de sorgo el de mayor producción a los 40 días con un aumento de biomasa de 57.84 g lo cual nos muestra que es el mejor sustrato para el crecimiento del hongo ya que conserva su fase exponencial hasta el último muestreo.

En todos los casos *P. Ostreatus* tiene materia orgánica dispuesta; sin embargo Villegas y col, (2009) trabajo con *Pleurotus sapidus* y *Trametes sp.* menciona que los hongos evaluados son capaces de adaptarse al sustrato y modificar su composición nutricional; por lo que se puede suponer que *P. Ostreatus* pudiera ser capaz de adaptarse con mayor facilidad al sustrato de sorgo y crecer con mayor facilidad.

9 CONCLUSIÓN

Se pudo mostrar que los sustratos para la cinética enzimática mostraron valores significativos, siendo el sustrato de residuos de forraje de avena en primer orden el más eficiente seguido de los residuos de forraje de sorgo. La Xilanasa fue la enzima con mayor presencia en todos los sustratos entre los 30 y 40 días de crecimiento micelial de *P. Ostreatus*.

El contenido de proteína fue mayor a los 40 días siendo el sustrato de residuos de forraje sorgo el más eficiente.

En cuanto a la cinética de producción de biomasa es el residuo de forraje de sorgo el que presenta un aumento gradual significativo, siendo este sustrato el medio más apropiado para el crecimiento de *P. Ostreatus*.

10 REFERENCIAS

Aro, N., Pakula, T., (2005). Transcriptional regulation of plant cell degradation by filamentous fungi. *Microbiology Reviews*.

Fabela, O., Membrillo, I., Loera, O., Muñoz, C., Villaseñor, F., (2007). *Pleurotus Ostreatus* como modelo para la producción de enzimas lignocelulolíticas a partir de paja de trigo. Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, México. Disponible en PDF.

Ferrer, A., Ledesma, A., Zabala, I., Dávila, M., (1994). Utilización de residuos de cosecha y subproductos agrícolas en la producción de alimetnos para animales rumiantes. *Revista de Agronomía (LUZ)*; Vol. 11, No. 2.

Gaitán, R, Salmenes, D., Pérez, R y Mata, G. (2006), Manual práctico del cultivo de Setas. Aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología, A.C. Veracruz, México. Disponible en PDF.

Harris, P., Smith, B.G. (2006). Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products. *Journal of Food Science and Technology*. Disponible en: www.conricyt.com

J.M. Suttie (2003). Conservación de Heno y paja para pequeños productores y en condiciones pastoriles. Roma 2003. PDF disponible en: www.fao.org.

Karunanandaa K, Varga GA, Akin DE, Rigsby LL, Royse DJ. Botanical fractions of rice straw colonized by white-rot fungi: changes in chemical composition and structure. *Animal Feed. Journal of Science and Technology*. 1995.

Kaur, J, Chadha, B.S., Kumar, BA., Saini, AHs. (2007). Purification of two endoglucanasas from *Melanocarpues* sp. *Journal Bioresource Technology*. Disponible en: www.conricyt.com.

López, E. (2002). Hongos comestibles. Orellanas: deliciosa medicina. *Visión Chamánica Bogotá, Colombia*. Disponible en: www.vsonchamanica.com.

Martinez-Carrera, (2007). Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México. *Cologio de Postgraduados, Puebla, México*. Disponible en PDF.

Massadeh, M.I., Yosoff W.M.W., Omar O., Kader J. (2001). Synergism of cellulose enzymes in mixed solid substrate fermentation. *Journal Biotechnology Letters*. Disponible en: www.conricyt.com

Membrillo, I.L., (2008). Efecto de la tipificación de bagazo de caña sobre el perfil de producción de enzimas lignocelulolíticas de *Pleurotus Ostreatus*. Tesis Doctoral de la Universidad Autónoma Metropolitana, México, DF.

Mieres, J; Bancharo, G; Tieri, M; La Mana, A. 2011. En tiempos de la agricultura: ¿Cómo mejorar la utilización del rastrojo de sorgo para la alimentación de ganado bovino?. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pastoreo%20sistemas/55es_conveniente_el_encierre_nocturno.pdf

Rangel, S. (2012). Estudio del efecto de enzimas lignolíticas y celulolíticas obtenidas del hongo *Pleurotus Ostreatus* sobre gramínea forrajera tropical. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C, Colombia.

Rodríguez, G. (2007). Cultivo de hongos comestibles. Fruticultura y diversificación. N° 52. Disponible en PDF.

Rodríguez., M.E., Castillo, E. (2014). Enzimas aplicadas en proceso industriales. Instituto de biotecnología UNAM. Disponible en: www.revistaunam.mx.

Romero, J., Rodríguez, M., Pérez, R. (2000). *Pleurotus Ostreatus*. Importancia y tecnología de cultivo. Universidad de Cienfuegos “Carlos Rafael Rodríguez”. Ciudad Cienfuegos.

Sanchez, J., Royse. D. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. III crecimiento y fructificación. El colegio del la Frontera Sur, Chiapas México. Disponible en PDF.

Sañudo, S.B., Arteaga, O.M, Vallejo., C.W., Arévalo, F.R., Burbano, R.E., (2003). Fundamentos de micología agrícola. San Juan de Pasto Colombia. 201 p.

Solórzano, J. L., Pereira, J.N. (2002). Influence of some sugars on xylanase production by *Aspergillus Awamori* in solid state fermentation. Brazilian Archives of Biology and Technology.

Topakas, E., Katapodis, P., Kekos, ., Macris, B.J., (2003). Production and partial Characterization of xylnase by *Sporotrichum Thermophile* under solid-state fermentation.. Journal Microbiology and Biotechnology. Disponible en www.conricyt.com

Villegas, M., Meneses, M., Loera, O. (2009). Estudio de la composición nutrimental de paja de sorgo tratada con *Trametes Sp.* Y *Pleurotus sapidus*. Colegio de Postgraduados de Ganadería. Edo. De México. Disponible en PDF.

Páginas web

Taxonomía y morfología del hongo *Pleurotus Ostreatus*. Disponible en:
http://www.bedri.es/Libreta_de_apuntes/P/PL/Pleurotus_ostreatus.htm

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, www.sagarpa.gob.mx

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx

Organización de las naciones unidas para la Alimentación y la Agricultura.
www.fao.org.