



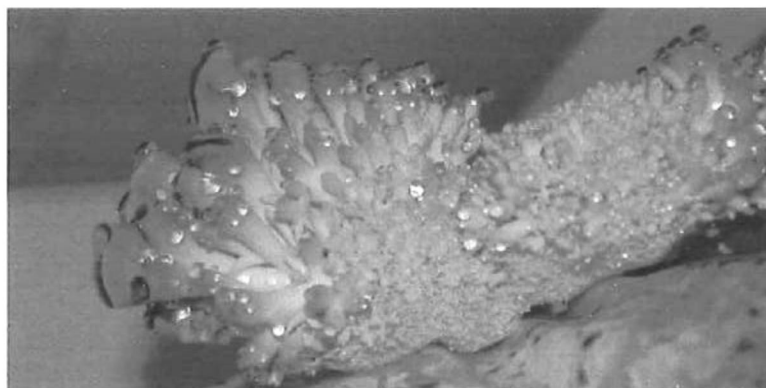
**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA
CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOLOGÍA**



**COMPORTAMIENTO DE *Pleurotus ostreatus*,
CULTIVADO EN SUSTRATO DE *Yucca
schidigera***

**TESIS PROFESIONAL PARA OBTENER EL TITULO DE
BIÓLOGO**

**PRESENTA:
JOSUÉ DÍAZ VÁZQUEZ**



ENSENADA, BAJA CALIFORNIA


NOVIEMBRE DEL 2005

**COMPORTAMIENTO DE *Pleurotus ostreatus*,
CULTIVADO EN SUSTRATO DE *Yucca schidigera***

Tesis profesional para obtener el título de biólogo

**Presenta:
JOSUÉ DÍAZ VÁZQUEZ**

APROBADO POR:


DRA. NAHARA ERNESTINA
AYALA SÁNCHEZ
CO. DIRECTORA


DR. JOSÉ DE JESÚS CASTELLÓN
OLIVARES
CO. DIRECTOR


M.C. MIGUEL HUMBERTO CARRILLO MENDÍVIL
SINODAL

Dedicatoria

A mi padre: por ser mi mayor ejemplo a seguir, por su dedicación y apoyo incondicional, por siempre estar disponible cuando lo e necesitado, gracias por todo.

A mi madre: que sin sus regaños y exigencias no seria la persona que soy ahora, por su apoyo y cariño constante, por ser una gran madre, mi madre, gracias.

A mi hermano: mi mejor amigo, con el que e compartido todo desde niño y que siempre esta dispuesto a ayudar, gracias por todo tu apoyo carnal.

A mi novia Claudia: a mi mejor amiga, mi confidente, mi compañera, que siempre estuvo para ayudarme y alentarme en los momentos de desesperación; gracias por poner una sonrisa en mi boca cuando parecía imposible hacerlo. Te amo.

A mi tía abuela cuca, a la cual considero como mi abuela, gracias por tu cariño.

En la memoria de mis abuelos los cuales fueron una gran influencia en mi vida y que siempre son recordados con mucho carifios.

Agradecimientos

A la doctora Nahara Ayala que sin conocerme me extendió la mano y puso todo su apoyo y empeño para la realización de este proyecto.

A mi amigo y mentor el doctor José de Jesús Castellón, que sin su apoyo y conocimiento no hubiera sido posible realizar este proyecto

Al maestro Miguel Carrillo por sus comentarios oportunos y atinados tanto en lo académico como en lo personal. Gracias por el amplio apoyo desinteresado para la realización de este proyecto.

Al ingeniero Romulo González por su gran participación e interés en este proyecto, que sin su ayuda hubiera tardado el doble en realizarlo.

Al ingeniero Chávez y el INIFAP por su ayuda para la realización de los análisis estadísticos.

Los siguientes agradecimientos no llevan ningún orden en particular, todos son igual de importantes para mí.

Enrique Quintero: al que todos llaman mi hermano, con el que compartí casa 6 y medio años de mi vida, compañero de películas y verdades, el único que me conoce mejor que nadie.

Alejandro Blanco y Jorge Valdez: compañeros de clases, salidas de campo y novelas, pero más importante, amigos de por vida, gracias por su apoyo constante y amistad desinteresada.

Mónica Castellanos: a la que considero una de mis mejores amigas con la que compartí muchas desveladas de trabajos finales y cafés de reconciliación sentimental, gracias por la paciencia para ayudarme a comprender temas que no entendía.

Eduardo Sierra y Jorge Noges “el chupa”, mis amigos y compañeros de casa, gracias por la aventura más grande que e tenido hasta el día de hoy “los LULU”.

Pancho Casillas “chanoc”, Enrique Sarabia “kiki”, Raúl Druck “el viejo” y Yolanda Quiroz, amigos y compañeros, gracias por compartir tantas risas y diversión en nuestros días de juego.

Ricardo Olachea “wero loco”: amigo incondicional, que siempre piensa en los demás y nunca se olvida de quienes lo apreciamos.

Daniel Vázquez “el negro”: gracias por tu amistad y enseñanzas de mecánica automotriz.

Ivan “el ñangas” Peraza y mi amigo de la niñez Andrew Mercer: por su gran apoyo en la fabricación del invernadero y por ser unos grandes amigos.

Hernán, Emma, Ángel, Maribel, Brenda, Maria, Monserrat, Tony, Tania, Dinora, Lalo Prieto, Arquimides, Alberto “ruso”, Alejandro González, Amanda panda y todos mis compañeros de clases, por tantas horas de diversión en clases, fiestas y salidas de campo.

A mis amigos de marinas Aleph, Julio, Gabriela, Lalo, Andres, Ana Paula y todos los demás, los cuales, aunque no era de su facultad, me hicieron sentir parte de ella.

A Karis y Ricardo: que en tan poco tiempo se convirtieron en unos grandes amigos.

A la doctora Meredith Gould y doctor José Luís Stephano a los que considero una de las mentes más brillantes de México y que su gran amor por la ciencia solo puede ser opacado por su gran corazón y cariño a este país y por su constante preocupación por la educación, gracias.

Al doctor Faustino Camarena, la primera persona que conocí en Ensenada y el cual fue mi mas grande influencia en la carrera, gracias por tus consejos los cuales me han echo el biólogo que soy ahora.

A todos mis profesores por su paciencia y enseñanzas.

A las laboratoristas Cecilia, Deyanira y Lucy por su paciencia y ganas de ayudar ya que sin ellas no hubiera sido posible realizar este trabajo.

A Cuquis una buena amiga, por su gran apoyo en todo lo que se refiere a el material, gracias por poner siempre una sonrisa cuando te interrumpía 20 veces diarias.

A las secretarias ejecutivas de la Facultad de Ciencias: Blanquita, Lulu, Berta y Noemí, las cuales siempre estaban dispuestas a atenderme no importaba el montón de trabajo que tenían encima y por soportarme tantas horas de espera en la dirección en busca de una respuesta.

Por ultimo pero no menos importante a mi gran amigo Salvador alias el chava, el cual siempre estuvo dispuesto a apoyarme en la realización de cualquier proyecto que se me ocurriera, gracias por las horas y horas de conocimiento y diversión en el Bioterio.

Gracias a todos los que participaron de algún modo en la realización de este proyecto por mínima que esta hubiera sido, y a todos los que gracias a una laguna mental no haya mencionado, se les quiere y aprecia.

Índice

Dedicatoria -----	i
Agradecimientos -----	ii
Índice -----	iv
Índice de figuras -----	v
Índice de cuadros -----	vii
Índice de graficas -----	vii
I.- INTRODUCCIÓN -----	1
II.- ANTECEDENTES -----	4
III.- JUSTIFICACIÓN -----	8
IV.- OBJETIVO GENERAL -----	9
V.- OBJETIVOS PARTICULARES -----	9
VI.-HIPÓTESIS -----	10
VII.- METODOLOGÍA -----	11
7.1 Obtención de micelio fase 1 -----	11
7.2 Expansión de micelio secundaria o fase 2 -----	13
7.3 Parámetros fisicoquímicos de los sustratos -----	17
7.4 Velocidad de propagación del micelio -----	18
7.5 Microscopia del micelio -----	19
7.6 Acondicionamiento cuarto de siembra -----	21
7.7 Obtención y procesamiento del sustrato. -----	23
7.8 Siembra del hongo. -----	28
7.9 Expansión del micelio -----	28
7.10 Obtención de carpóforos -----	28
7.11 Biometría -----	29
7.12 Análisis bromatológico -----	31
7.13 Análisis estadístico -----	43
VIII.- RESULTADOS -----	44
8.1 Medición de los parámetros fisicoquímicos para la elección del sustrato-----	44
8.2 Medidas de velocidad de crecimiento -----	45
8.3 Características microscópicas del micelio -----	51
8.4 Obtención del micelio fase 1 -----	52
8.5 Obtención de micelio fase 2 -----	53
8.6 Expansión micelial sobre el sustrato -----	54
8.7 Obtención de los primeros carpóforos, numero de cosechas obtenidas y días totales de producción -----	57
8.8 Eficiencia biológica -----	61
8.9 Biometría: Área del pilio -----	61
8.10 Biometría: Área del estípite -----	63
8.11 Bromatología de carpóforos: % de agua -----	63
8.12 Bromatología de carpóforos: % de proteínas -----	64
8.13 Bromatología de carpóforos: % de lípidos -----	64
8.14 Bromatología de carpóforos: % de Carbohidratos -----	65
8.15 Bromatología de carpóforos: % de fibra, lípidos y otros -----	65
IX.- DISCUSION -----	67
X.- CONCLUSIONES -----	73
XI.- BIBLIOGRAFÍA -----	74
XII.- ANEXO I -----	77

40. Tratamiento de paja sola con 16 días de incubación en total oscuridad, con una invasión del micelio del 80%. -----	55
41. Tratamiento de yucca-paja con 16 días de incubación en total oscuridad, donde se observa casi totalmente invadido por el micelio. -----	55
42. Tratamiento de yucca 2 años con 16 días de incubación en total oscuridad, donde se observa una invasión externa pero no interna con un porcentaje aparente del 70%. -----	55
43. Tratamiento de yucca reciente con 7 días de incubación. -----	56
44. Tratamiento de yucca reciente con 14 días de incubación. -----	56
45. Primeros carpóforos obtenidos en el tratamiento de yucca/paja. -----	58
46. Malformaciones del píleo y estípites por el exceso de luz. -----	58
47. Producción normal en de carpóforos en el tratamiento de yucca/paja, primera cosecha. -----	59
48. Producción normal en de carpóforos en el tratamiento de yucca, primera cosecha. -----	59
49. Producción normal en de carpóforos en el tratamiento de paja, primera cosecha. -----	59
50. Comparación de la producción de carpóforos de los diferentes tratamientos. -----	60
51. Tamaños y formas de los píleos obtenidos en todo el experimento. -----	62

I.- INTRODUCCIÓN

La creciente población humana requiere de nuevas y más eficientes fuentes de alimentación, por lo que se dice, que los hongos son el alimento del futuro. Sin duda existe algo de verdad en esto (Stamets y Chilton, 1983).

Los hongos comestibles son una excelente fuente de alimentación gracias a su gran variedad de componentes nutritivos, igual que la leche, los hongos presentan un 80% de agua, proteínas, carbohidratos, grasas, sales minerales e incluso algunas vitaminas. Pero sobre todo tienen un sabor y aroma capaces de satisfacer al gastrónomo más exigente (García, 1998).

El cultivo de algunos hongos comestibles como *Pleurotus ostreatus*, ya está sometido a una sistematización muy clara, todos los procesos ya están bien definidos y se han realizado una gran cantidad de modificaciones en los sustratos para el mejoramiento en la producción de los cuerpos fructíferos (*op. cit.*)

Las setas (*Pleurotus ostreatus*), al igual que otros hongos, se alimentan de productos vegetales elaborados o compuestos, entre los que se encuentra la lignina y la celulosa presentes en grandes cantidades en las pajas de cereales, cascarillas, bagazos, trozos de árboles, etc. (Del Carmen y Ramírez, 1997).

En los países centroeuropeos se realizaban cultivos en lugares frescos, usando como sustrato troncos y trozos de madera que se recolectaban de los bosques con el hongo. Pero los trabajos experimentales sobre el cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre madera se iniciaron en la década de los sesenta en Hungría, Alemania y Checoslovaquia. También

en esa década se comenzó a cultivar sobre otros sustratos, pero la verdadera difusión del cultivo sobre paja de cereales tuvo lugar en los años setenta (García, 1998).

Dentro de los diferentes tipos de sustratos que se han usado para el cultivo de hongos tenemos los siguientes: paja de cereales, troncos en especial de *Populus nigra* y *Populus tremula*, aserrín, salvado de trigo y arroz, virutilla mezclada con yeso (*op. cit.*), cascarilla de algodón, olote, orujo de uva (Stamets y Chilton, 1983; Lizárraga, 1993), y algunos otros esquilmos agrícolas.

Yucca schidigera se ubica entre los sustratos que pueden utilizarse en la producción de hongos. Las aplicaciones de *Y. schidigera* son variadas: mejoramiento de la alimentación animal, agente antibacteriano en alimentos conservados, reducción del nivel de colesterol en huevos de gallina, para la remoción del colesterol en productos lácteos y procesamiento de semillas (Castellón, 2003), sin embargo, una de sus aportaciones más importantes es la de presentar sustancias promotoras del enraizamiento, así como una diversa gama de hormonas de crecimiento (Carranza, 1997). Esta planta silvestre que pertenece a la familia Agavaceae es un importante recurso, del cual se explotan aproximadamente 7000 toneladas al año en la región de Baja California (SEMARNAT, 2000) y genera importantes ingresos y fuentes de trabajo; por lo que siendo rico en carbohidratos, podría tener potencial para utilizarse en la producción de hongos.

La *Y. schidigera* presentan un amplio rango de distribución que va desde el sudoeste de Nevada y Arizona en Estados Unidos, hasta el sur de Baja California en México cerca del paralelo 30° N (Hastings *et al.* 1972).

Con fines de abreviación a la *Yucca schidigera* se le nombrara yucca como nombre común.

En nuestro país el papel de las instituciones de investigación en el estudio del champiñón (*Agaricus* spp.) y las setas (*Pleurotus* spp.) ha sido escaso; esto en contraste con los países altamente desarrollados. Así mismo en la actualidad los mercados internacionales exigen productos de excelente calidad, así como suministros grandes y estables, por lo que es muy importante que se genere información técnica que contribuya al desarrollo económico regional y de la investigación en sistemas de producción agrícola (Del Carmen y Ramírez, 1997). El propósito de este proyecto es conocer si un recurso regional como la yucca, podría ser utilizado como sustrato en la producción de una fuente no convencional de alimento, como lo es *Pleurotus ostreatus*.

II.- ANTECEDENTES

En 1947 se inicia la producción de champiñones en México, uno de los hongos con mayor valor comercial en nuestro país; posteriormente en 1954 se cultiva en México una especie de hongo comestible diferente al champiñón llamada *Pleurotus ostreatus* (Del Carmen y Ramírez, 1997).

Durante 1983, se realizó un experimento con *P. ostreatus* para marcar los parámetros ambientales de humedad, aeración, temperatura, dióxido de carbono y luz, bajo los cuales se desarrolla el micelio en el grano, así mismo se muestran tablas acerca de composiciones nutricionales de diferentes sustratos particularmente desechos agrícolas, entre los que aparecen la cascarilla de algodón, olote y orujo de uva, siendo así un antecedente primordial para la estructuración de una metodología para el cultivo de hongos (Stamets y Chilton, 1983).

En los años 80s' se propone el cultivo de hongos como alternativa para el complemento nutricional de los países en desarrollo, en éste caso México (Martínez y Guzmán, 1984).

En 1988, se cultivaron cepas de *P. ostreatus* sobre tamo de maíz, olote de maíz, y bagazo de caña de azúcar, obteniendo una alta eficiencia biológica del 80%, y demostrando con esto la gran eficiencia de los hongos para la degradación de materiales de desecho agrícola (Acosta *et al.* 1988).

En 1993 se realizó un ensayo de eficiencia biológica, biometría y análisis nutricional del *P. ostreatus*, usando esquilmos agrícolas de Baja California (Lizárraga, 1993).

Una investigación del potencial de aprovechamiento de *Y. schidigera* en Baja California, fue realizada con el fin de conocer las aptitudes que tienen como recurso natural de la región (Carranza, 1997).

En el 2000, se realizaron análisis comparativos de la productividad de cepas de *P. pulmonarius*, *P. ostreatus* y diferentes cruza genéticas, cultivadas en una planta comercial (Veget y Salmones, 2000).

Un estudio de los efectos de nutrientes suplementarios sobre la eficiencia biológica en un hongo comestible llamado *Grifola frondosa*, dieron como resultado que los tratamientos utilizados tuvieron una influencia sobre el tiempo de desarrollo de los carpóforos (Shen y Royse, 2001).

En Baja California actualmente no existe producción comercial de *P. ostreatus*, lo único que se ha realizado en esta zona han sido cultivos a pequeña escala en comunidades indígenas y con el apoyo de investigadores de la Universidad Autónoma de Baja California, particularmente en lomas de San Ramón (Ayala, 2003, com. per.).

No existen antecedentes sobre el cultivo de hongos comestibles usando la *Y. schidigera* como sustrato. No obstante, en el año 2001 y de forma incidental, se logró observar en la planta de procesamiento industrial de *Y. schidigera* de El Sauzal de

Rodríguez en Baja California, el desarrollo de *Pleurotus spp*, *Volvariella spp.*, entre otras especies; estos crecieron sobre la fibra de *Yucca* en las partes no expuestas a la iluminación solar. Posteriormente en el año 2003 se volvió a observar dicho crecimiento de estos hongos los cuales se muestran en las figuras 1 y 2. Esto demuestra que *P. ostreatus* y otros hongos llegarán a tener éxito en el crecimiento utilizando desechos agrícolas de *Y. schidigera* como sustrato (Ayala, 2001, com. per.).

Crecimiento de hongos en un sustrato de *Yucca schidigera* en condiciones naturales.



Figura 1. *Pleurotus spp.* encontrado en una cama de *Yucca schidigera* en proceso de descomposición.

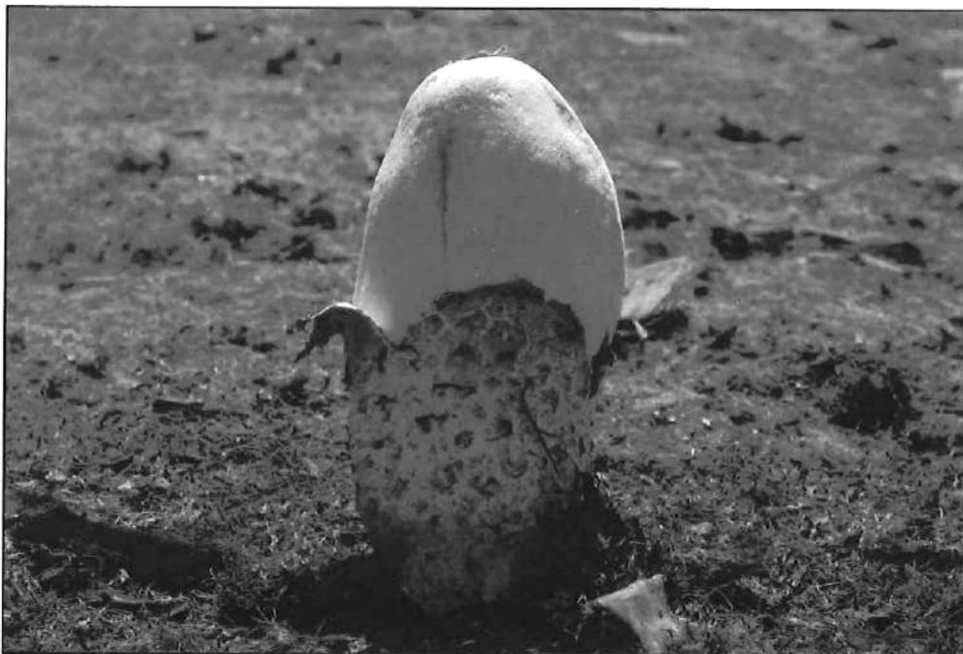


Figura 2. *Volvariella spp.* creciendo en una cama de fibra de *Yucca schidigera* en proceso de descomposición.

III.- JUSTIFICACIÓN

El realizar un ensayo donde se muestren los efectos del uso de la *Yucca schidigera* como sustrato en el cultivo de hongos, y donde los efectos esperados se vean reflejados en un mayor aporte nutritivo, un aumento en la masa de los hongos, así como un incremento en el número de cuerpos fructíferos. En este caso la mejora del producto no sólo beneficia de manera nutritiva al consumidor, sino que también puede convertirse en un producto de mejor calidad capaz de competir en los mercados internacionales, permitiendo a los productores exportar un producto con características físicas arriba de las establecidas hasta ahora.

Por otro lado esta el beneficio inicial para seis empresas yuqueras, ubicadas en Baja California, las cuales pueden dar un valor agregado a la fibra que queda después de la extracción del jugo. Esto representaría mejores ingresos y la posibilidad de otro mercado donde puedan expandir su producto.

El mayor efecto para la sociedad no es solamente el aspecto nutricional para el consumidor; si el productor se da cuenta del valor de la competencia internacional dado por las ventajas del uso de la *Yucca schidigera*, se pueden abrir nuevas líneas de producción y por consiguiente más empleos.

Así mismo los resultados serían un aporte para la ciencia, ya que no existen ensayos con el uso de la yucca para el cultivo de hongos comestibles.

IV.- OBJETIVO GENERAL

- Determinar el comportamiento biológico de *Pleurotus ostreatus* (Jacq), cultivado en sustrato de *Yucca schidigera* (Roezl ex Ortgies).

V.- OBJETIVOS PARTICULARES

- Comparación de la velocidad de crecimiento miceliar en los diferentes tratamientos.
- Analizar la eficiencia biológica de *Pleurotus ostreatus* en ambos sustratos.
- Analizar el comportamiento biométrico de los dos tipos de cultivo.
- Evaluar las diferencias entre el método tradicional de cultivo de hongos sobre paja contra el uso de sustrato de *Yucca schidigera*. Analizar el valor nutricional de los productos generados en ambos sustratos.

VI.-HIPÓTESIS

La *Yucca schidigera* tiene una gran cantidad de sustancias y hormonas relacionadas con la promoción del crecimiento, que pueden influir en la productividad y calidad de los hongos cultivados. Así mismo, los nutrientes proporcionados a los productos del cultivo con *Yucca schidigera* presentarán una variante al del cultivo convencional.

El sustrato de *Yucca schidigera* ya exprimido, mejorará la eficiencia biológica y la biometría en relación al sustrato tradicional.

VII.- METODOLOGÍA

Los experimentos y metodologías se realizaron en la Facultad de Ciencias de la UABC campus Ensenada. La obtención, inactivación parcial y molienda de los sustratos de la fase 3, se realizaron en la empresa Agroindustrias del Desierto S.A. de C.V. ubicada en El Sauzal de Rodríguez B.C.

7.1 Obtención de micelio fase 1:

La cepa utilizada fue: *Pleurotus ostreatus* de la empresa “Forest Products Laboratory, USDA Forest service, USA”.

Para la primera fase de propagación se utilizó el siguiente material:

Material	Equipo	Reactivos
30 cajas petri	Autoclave Sterilmatic (Market Forge SterilMatic)	Alcohol etílico
Piseta alcohol	Campana de flujo laminar (EACI), horizontal.	Agar papa dextrosa
Asa bacteriológica	Incubadora (Precision)	Agua destilada
Bisturí	Termoplato	
Matraz erlenmeyer de 1 L	Refrigerador 4°C Mabe	
Agitador magnético	Bascula granataria (ohaus)	
Papel aluminio		
Papel secante		

Las 30 cajas se lavaron perfectamente con jabón líquido antibacterial y se envolvieron en papel para su esterilización en una autoclave “Sterilmatic” a una temperatura de 120 °C y 15 lb de presión por 20 min. Se preparo 1 L de agar papa dextrosa (PDA) mezclando 39 g de agar en 1 L de agua destilada; el medio se calentó hasta que se logro una disolución total; se esterilizó junto con las cajas de petri. (Figuras 3 a 5). Una vez estéril el material, se vació el agar en las cajas y se dejo enfriar hasta que solidificó, todos los procedimientos anteriores se hicieron en una campana de flujo laminar en condiciones totalmente asépticas. De la caja de petri con el micelio original se tomaron

fragmentos de agar de 1 cm² de la subperiferia de la caja ya que es donde se encuentra el micelio mas joven; se inocularon las 30 cajas siguiendo todos los cuidados microbiológicos necesarios para evitar contaminación. Se sellaron las cajas y se colocaron en una incubadora “PRECISION” a 25 °C hasta que el micelio cubrió todo el agar. Una vez completado el crecimiento se seleccionaron las cajas no contaminadas y se colocaron en refrigeración a 4 °C.

Descripción grafica de la fase 1 para la obtención de micelio.



Figura 3. Esterilización de material microbiológico: cajas petri, asa bacteriológica, espátula.



Figura 4. Autoclave “Sterilmatic” marca “Market Forge”



Figura 5. Preparación del agar papa dextrosa

7.2 Expansión de micelio secundario o fase 2:

Para la fase de propagación y enriquecimiento del micelio, o producción del blanco, se utilizó el micelio de la fase 1 y grano de trigo sin limpiar (ramas, piedras, etc.) o también llamado grano de segunda clase. Todo el equipo que ya se haya mencionada anteriormente se obviará su marca y características con el fin de no ser repetitivo.

Para la segunda fase se utilizó lo siguiente:

Material	Equipo	Reactivos
30 frascos de vidrio 1 L	Autoclave	Alcohol etílico
Piseta alcohol	Campana de flujo laminar	Carbonato de calcio
Papel secante	Incubadora	Agua destilada
Bisturí		Grano de trigo
Papel aluminio		
Papel filtro		
Tijeras		
2 cubas		

El grano de trigo se usó sucio ya que todas las fibras extras del trigo van a favorecer el crecimiento y oxigenación del micelio. Los granos se colocaron en cubas de plástico y se remojaron en una solución de carbonato de calcio al 3 % por 24 horas (Figura 6). Una vez que el grano absorbió una cantidad del 25 al 30% del agua, este se extiende en papel secante y se pasa por un colador con el fin de quitarle todo el exceso de humedad (Figura 7); posteriormente se pusieron 300 g de grano húmedo en frascos de vidrio para conservas de 1 L y a las tapas de los frascos se les hicieron una serie de orificios de 1 cm de diámetro y se instaló papel filtro no. 5 en la boca del frasco, esto con el fin de proporcionarle una buena ventilación pero sin permitir contaminación. Los frascos se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 120 °C y a una presión de 15 lb, por 30 min. Ya estériles, los frascos se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta llegar a una temperatura de 25 °C y se dejaron en la campana de flujo laminar por 1 hora con

luz UV antes de inocular (Figura 8). El proceso de inoculación se realizó en condiciones totalmente asépticas en la cámara de flujo laminar (Figura 9).

Para la inoculación se cortaron fragmentos de agar de 1 cm², extraídos de las cajas petri con el micelio fase 1 (Figuras 10 y 11); el micelio utilizado no tenía más de 30 días en refrigeración y se puso a temperatura ambiente 24 horas antes de inocular el grano, esto con el fin de reactivar el metabolismo del hongo.

Ya inoculados los frascos se pusieron a incubar a una temperatura de 24 °C por aproximadamente 20 días o hasta que el micelio cubrió todo el grano (Figura 12); una vez que el micelio cubrió la mayoría del grano, se realizó una separación de los granos pegados para que se de una mayor propagación del micelio y no se compacte en fracciones. Se dejó reposar 5 días más. Ya que se terminó con la propagación, los frascos se refrigeraron para su conservación a 4 °C y su posterior inoculación en los tratamientos.

Descripción grafica de la fase 2 para la expansión del micelio y producción de blanco.

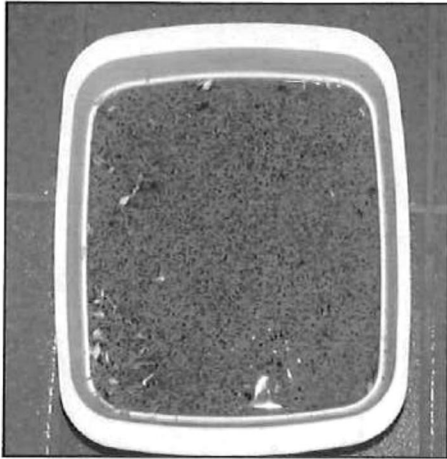


Figura 6. Humidificación de los granos de trigo en una solución de carbonato de calcio al 3% por 24 horas.

Figura 7. Se elimina el exceso de humedad y se coloca el grano en frascos de conserva de 1 litro con papel filtro en la boca del frasco, el cual permite oxigenación pero no contaminación.



Figura 8. Los frascos y el material en la campana de flujo laminar por 6 horas con luz UV para la desinfección de todo el ambiente de la campana.

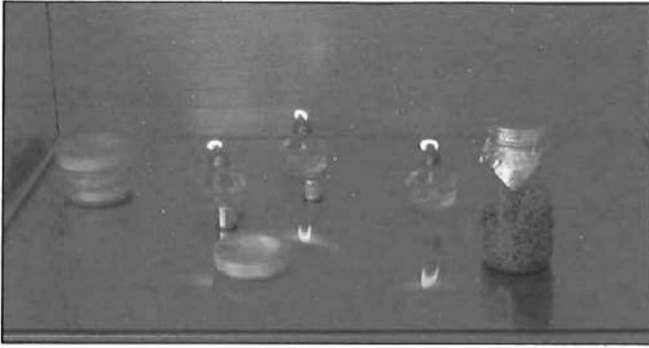


Figura 9. Condiciones asépticas para la inoculación.

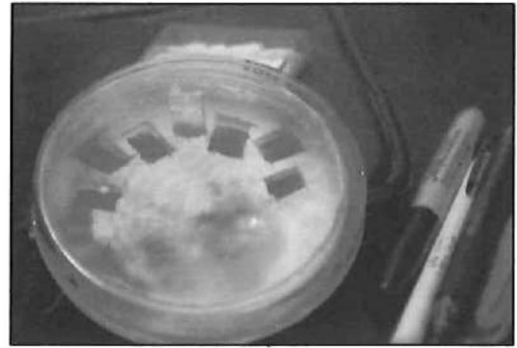


Figura 10. Cuadros de 1 cm² aprox. Utilizados para la inoculación.

Figura 11. Frascos de conserva con granos de trigo ya inoculados.

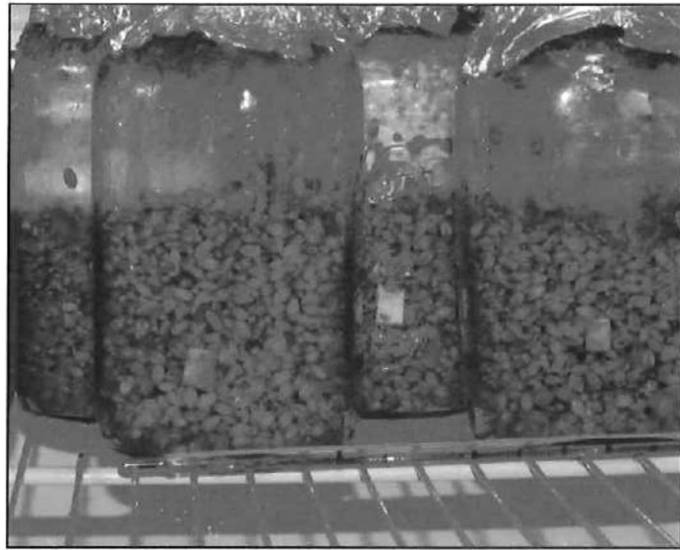


Figura 12. Incubación de los frascos a 24 °C por 20 días.

7.3 Parámetros fisicoquímicos de los sustratos:

Material	Equipo	Reactivos
5 Cubas	Bascula granataria	Carbonato de calcio (CaCO ₃)
	Termómetro convencional (0 a 110 °C).	
	Termómetro de cocina Teylor °F	
	Papel pH (ColorpHast pH 0-14) EM-Regents.	
	Medidor de humedad Instamatic Duo Light and Moisture Meter de la empresa AMI Medical Electronicos inc	

Los sustratos experimentales se seleccionaron y clasificaron en 5 tipos de tratamientos de yucca dependiendo su grado de descomposición, el cual fue aportado por medio de los años de exposición a las condiciones ambientales, dando como resultado los siguientes sustratos: 1 año, 2 años, 3 años, 2 años molida y polvo reciente. Posterior a la selección se paso a tomar los parámetros fisicoquímicos de los sustratos, para ello se realizó lo siguiente: se colocaron los diferentes sustratos en cubas de 8 L y se bañaron con una solución de carbonato de calcio al 3 % evitando el exceso de hidratación del sustrato; pasado el primer día, se mezcló bien el sustrato y se tomaron datos de temperatura con un termómetro convencional (en °C) y con un termómetro (en °F) con el fin de tener medidas de comparación. Así mismo se tomaron mediciones de acidez con papel pH. La humedad fue medida con higrómetro (Figura 13, ver pagina 20).

Una vez que se tomaron las medidas se deja reposar por 24 horas y se repite la operación por otros 3 días. Si en los parámetros obtenidos no existían cambios significativos, se procedía al cálculo de velocidad de propagación.

7.4 Velocidad de propagación del micelio.

Para el cálculo de velocidad de crecimiento se utilizó lo siguiente:

Material	Equipo	Reactivos
15 Cajas petri de 9 cm de diámetro	Autoclave	Alcohol etílico
15 Cajas petri de 14 cm de diámetro	Incubadora	Sustratos experimentales
Papel secante		Agua destilada
Bisturí		
Papel aluminio		
Papel parafina		
Tijeras		
Piseta se alcohol		
2 Mecheros de alcohol		
2 Mecheros Fisher		

La cepa (micelio en grano F2) se encontraba en refrigeración por lo que se puso a temperatura ambiente con 24 horas de anticipación. Paralelo a esto se tomaron 30 cajas petri, 3 de nueve centímetro y 3 de catorce centímetros de diámetro para cada tipo de sustrato, se lavaron con jabón líquido para evitar dejar residuos en el cristal y se colocaron 172g de sustrato en las cajas de 14cm mientras que en las de 9cm se pusieron 50g y se envolvieron en papel para su esterilización en una autoclave automática a una temperatura de 120 °C y a una presión de 15lb, por 20 min (Figura 14). Ya esterilizadas las cajas se enfriaron hasta que alcanzaron una temperatura de 28 °C.

Se inoculo aproximadamente 1 cm² de micelio por cada caja (Figura 15) en condiciones totalmente asépticas proporcionadas por 2 mecheros Fisher y dos mecheros de alcohol. Una vez inoculadas las cajas se tomaron las medidas del diámetro del inculo inicial en centímetros y se envolvieron con papel “parafilm” para su incubación a una temperatura de 25 °C. Cada 7 días se tomaban nuevamente los diámetros de crecimiento hasta que el micelio cubrió toda la caja. Los datos de velocidad de crecimiento se calcularon por medio de la siguiente formula: Velocidad = distancia / tiempo.

7.5 Microscopia del micelio.

Se tomaron 3 muestras de la región subperiférica y se colocaron en un portaobjetos cada una; se le agregó una solución clarificadora de KOH. Una vez preparada la muestra se observaron 5 campos por cada portaobjetos en donde se tomaron datos de grosor de pared celular, ancho de hifa e índice de densidad, el cual se calcula de la siguiente manera: **ID= No. de Ramificaciones / longitud de la hifa.** (Ayala, 2003, com. per.). Todas las medidas se tomaron con una reglilla micrométrica del ocular y se utilizó un microscopio óptico marca Zeiss. (Figura 16)

Aunado a lo anterior por cada campo observado, se anotó la presencia de fibula, la cual nos indica si los hongos están listos para la producción de cuerpos fructíferos. El cálculo del porcentaje de fibulas observadas es el siguiente:

$$\text{(No. Campos con fibula / No. Total de campos observados) x 100}$$

Equipos y materiales usados para la medición de los parámetros fisicoquímicos, velocidad de propagación y análisis microscópico.



Figura 13. Se observa la medición de los parámetros fisicoquímicos del sustrato por medio de dos termómetros, papel pH e higrómetro.



Figura 14. Se pesó el sustrato colocado en cada caja petri con el fin de tener la misma cantidad en todas ellas.

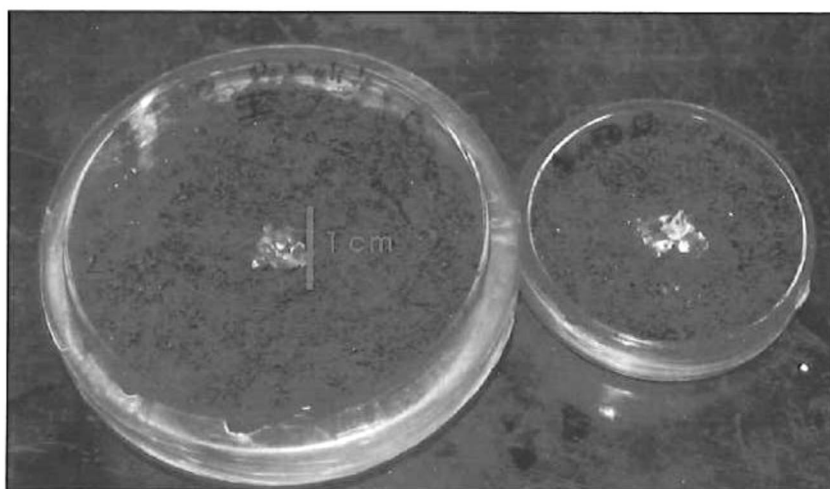


Figura 15. Inoculo de 1 cm^2 en cajas petri de 14 y 9 cm de diámetro para la medición de la velocidad de propagación.

Figura 16. Equipo y material usado para el análisis microscópico.



7.6 Acondicionamiento cuarto de siembra.

Se acondicionó un cuarto cerrado de 2x4 m el cual contaba con dos muebles de madera con cuatro niveles cada uno (Figura 17). Tanto los muebles como el cuarto mismos se lavaron perfectamente con una solución de cloro al 10%. Para la ventilación del cuarto, en la parte superior de la puerta, se colocó un ventilador de 15cm de diámetro. Así mismo contaba con dos lámparas de luz blanca en el techo y un foco de alta potencia en el suelo el cual servirá para aumentar la temperatura en el cuarto y proporcionar más luz. También se utilizó un humidificador automático para controlar la humedad del cuarto. Se tomaron medidas de temperatura y humedad por medio de dos métodos diferentes, esto con el fin de llevar un registro preciso de las condiciones ambientales y ajustarlas para iniciar el cultivo experimental. En el primer método se utilizaron dos termómetros e higrómetros electrónicos “RadioShack” con un rango de error de ± 2 °C de temperatura y $\pm 2\%$ de humedad, colocados en lugares estratégicos con el fin de conocer la temperatura de todo el cuarto (Figura 18), así mismos se tomaron medidas en la parte media baja y media alta. El segundo método para medir los parámetros ambientales fue mediante el uso de un instrumento de la empresa DICKSON, el cual registra, por medio de un sensor, la temperatura y humedad relativa durante todo el día, esto de manera automática, presentando un rango de error en temperatura de ± 1.8 °F (± 1 °C) y un rango de error en humedad de $\pm 2\%$ entre 0 y 60% y $\pm 3\%$ dentro de los rangos de medición 61 a 95% (Figura 19). Las características idóneas del ambiente deben presentar una temperatura aproximada de 15 a 26°C, y una humedad relativa de 70 a 90%.

Descripción grafica de la fase de acondicionamiento del curto.



Figura 17. Cuarto y estantes utilizados para el experimento.



Figura 18. Termómetro e higrómetro digital.



Figura 19. Higrómetro y termómetro DICKSON usados para medir los parámetros ambientales del cuarto de cultivo.

7.7 Obtención y procesamiento del sustrato.

Se prepararon los siguientes 3 tratamientos previamente elegidos por sus características en relación a la velocidad de crecimiento, información obtenida del cultivo en cajas de petri:

1) Yucca de dos años de descomposición: es la fibra que ya ha sido procesada y desechada al campo y la cual está todo el tiempo expuesta a las condiciones naturales del tiempo, provocándole una degradación y oxidación.

2) Yucca reciente: es la fibra recién procesada la cual es cortada, molida y exprimida por medio de una serie de maquinaria especializada y la cual se recolectó directamente para su posterior inoculación.

3) Paja: las pacas utilizadas para el experimento estaban compuestas de una mezcla 1:1 de alfalfa y gramíneas silvestres.

Los procesos por los que pasa la fibra de yucca en la fábrica son: 1) la trituración por medio de un molino industrial que despedaza los troncos enteros de yucca; 2) extracción de los jugos de los pedazos en unos molinos tipo prensas por medio de una alta presión; 3) la fibra restante es amontonada y colocada a la intemperie para su posterior aprovechamiento. (González 2004)

La yucca se obtuvo ya molida de la fábrica por lo que no se tuvo que someter a ningún proceso de molienda. Sin embargo, la paja si se picó en un molino industrial con una red de corte de 5cm obteniendo fragmentos de paja del mismo tamaño. (Figura 20 y 21)

El sustrato de 2 años y la paja, se colocaron en bandejas de plástico de 400 L y se dejaron en fermentación por 3 días (Figura 22). La inactivación parcial se realizó en hornos de vapor con capacidad para 200 L a una temperatura de 80 °C por aproximadamente 1 hora (Figura 23).

La yucca reciente se recolectó directamente de la prensa y no se sometió a fermentación ni a esterilización, debido a que la maquina de extracción de jugo alcanza a elevar la temperatura de la fibra a 60 °C por medio de la fricción, la cual, es una temperatura suficiente para la inactivación parcial de la fibra (García 1998). (Figura 24)

El ultimo tratamiento es una combinación de 50% paja con 50% yucca los cuales fueron mezclados posterior a la inactivación parcial.

Todo tratamiento contó con 5 repeticiones en un diseño experimental totalmente al azar, teniendo en total 20 unidades. Cada unidad experimental fue de 10Kg de fibra húmeda, pesadas con una báscula industrial de 100Kg (Figura 25); se usaron bolsas de plástico de 50x75cm y se sellaron con cinta adhesiva para el transporte de la fábrica al cuarto de cultivo, donde se inoculó.

Descripción grafica de la obtención y preparación del sustrato.



Figura 20. Molino industrial usado para la molienda de la paja.

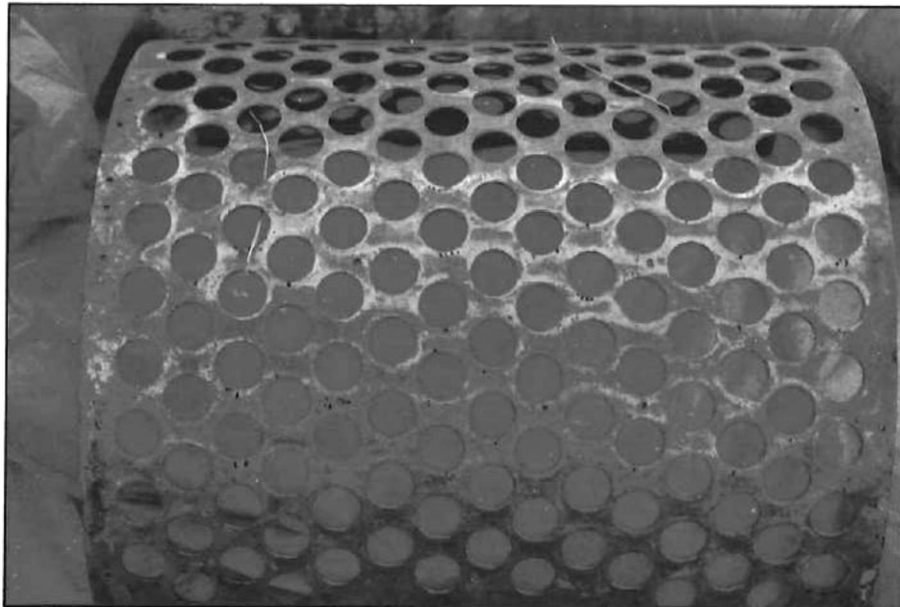


Figura 21. Red de corte del molino con orificios de 5 centímetros de diámetro.



Figura 22. Fermentación y absorción de agua de los sustratos por medio de unas tinas de fibra de vidrio.

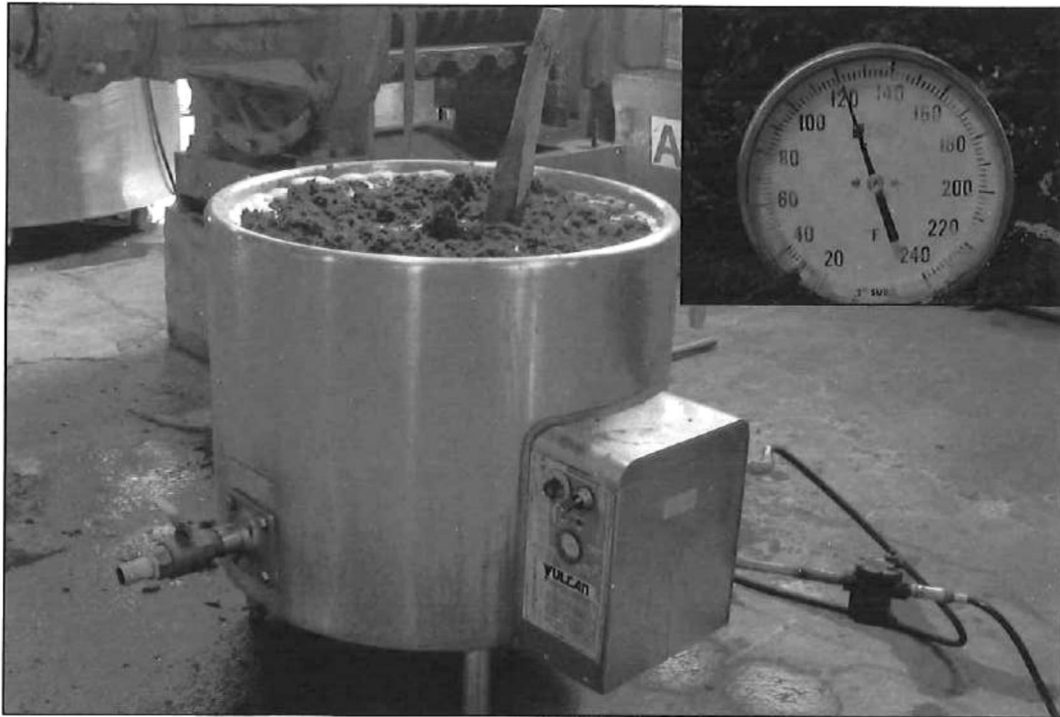


Figura 23. Horno de vapor industrial utilizado para la inactivación parcial del sustrato de yucca 2 años y la paja. La temperatura usada fue de 80°C por 1 hora.



Figura 24. Prensa para la extracción de jugo de yuca fresca de donde sale la fibra la cual se calentó a 60 °C y fue puesta en las bolsas directamente.

Figura 25. Báscula industrial usada para pesar la fibra para formar los paquetes de 10 kg.



7.8 Siembra del Hongo.

Por cada bolsa de 10Kg se utilizaron 300g de inóculo. Una vez que el sustrato alcanzó una temperatura de 19 °C posterior a la inactivación parcial, se prosiguió a inocular introduciendo el grano con el micelio en las bolsas y se mezcló todo el contenido; las bolsas se sellaron nuevamente. Este procedimiento se realizó en el cuarto de incubación.

7.9 Expansión del micelio.

Se dejaron incubar aproximadamente 30 días en total oscuridad, con revisiones periódicas para el control de parámetros ambientales, monitoreo de contaminación y toma de datos. Las condiciones ambientales usadas fueron las siguientes: temperatura de 15 a 20 °C y una humedad de 70 a 80%. La ventilación fue constante. Una vez que el micelio cubrió todo el bloque de sustrato, se prendieron las luces, se retiraron las bolsas de plástico y se encendió el humidificador.

7.10 Obtención de carpóforos.

Se mantuvo la humedad ya mencionada por medio de un humidificador automático. Así mismo se aplicó un ciclo de iluminación que consistió en 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Se realizaron cuatro cosechas en total.

7.11 Biometría

Se tomaron los siguientes parámetros en los diferentes tratamientos:

- Tiempo en que aparecen los primeros cuerpos fructíferos.
- Número total de carpóforos.
- Altura y diámetro del estípite, los cuales servirán para calcular el área por medio de la fórmula del cilindro, $A = 2 \pi (\text{Radio} \times \text{Altura})$. Ancho y largo del pileo para el cálculo del área por medio de la fórmula de la elipse. $A = (\text{Radio1} \times \text{Radio2}) \pi$. Todas las medidas se tomaron con un vernier "CienceWare" (Figura 26).
- Peso húmedo de los carpóforos: las mediadas de los pesos se tomaron con una balanza digital "Scout Pro" de la empresa OHAUS, con un rango de 0.01g a 400g (Figura 27)
- Peso seco de los carpóforos: los hongos ya pesados y medidos, para su deshidratación, se colocaron en un horno de aire caliente (PRECISION), a una temperatura de 30 °C, por 24 horas. Un vez secos los hongos se pesaron en la misma balanza digital.
- Color y sabor de los carpóforos: algunos hongos se guardaron para su degustación.

Equipo usado para la biometría.

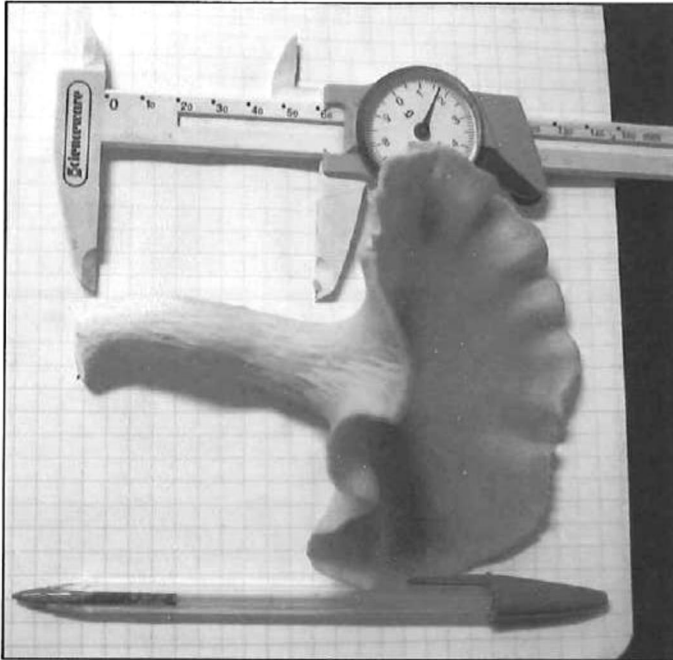


Figura 26. Vernier usado para tomar todas las medidas de diámetros de los hongos.

Figura 27. Bascula digital usada para tomar todas las medidas de peso de los hongos.



7.12 Análisis bromatológico.

7.12.1 Proteínas:

Para la determinación de proteínas se utilizó el método Micro-Kjeldahl. El método consiste en la digestión de las proteínas o materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado a elevada temperatura en presencia de un catalizador. En donde el nitrógeno proteínico es convertido en sulfato de amonio, del que puede destilarse el amoníaco por arrastre con vapor de agua después de hacer el digerido fuertemente alcalino. El amoníaco libre se recoge sobre una solución de ácido bórico el cual es un ácido débil, suficientemente fuerte como para recogerlo pero débil para que no interfiera con la titulación que se hace con otro ácido. (Facultad de Ciencias Marinas, 1990)

El método se divide en tres fases: digestión, destilación y titulación.

Digestión:

Material	Equipo	Reactivos
Matraces Kjeldahl	Hornillas de digestión	Sulfato de potasio K_2SO_4
Pipeta 5 ml.	Bascula analítica	Sulfato cobre II penta hidratado $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Espátula	Campana de extracción	Acido sulfúrico H_2SO_4 concentrado
Piseta	Refrigerador	Agua destilada
Matraz volumétrico 25 ml.		
Gradilla		
Tubos de ensayo		

En 4 matraces Kjeldahl se colocaron 0.2g de sulfato cúprico, 1g de sulfato de potasio, 6mL de ácido sulfúrico y 250mg de muestra picada en fragmentos pequeños e iguales.

En un quinto matraz se puso el blanco. Una vez realizado esto, se colocó el digestor en la campana de extracción con los 5 matraces y se dejaron calentando a la máxima temperatura. Una vez que la solución alcanzó un color verde claro y no quedaron residuos cafés, se enfrió a temperatura ambiente sin dejar que se coagule la sustancia del matraz.

En un matraz volumétrico de 25mL se colocó el digerido y se agregaron 5mL de agua destilada al matraz Kjeldahl para enjuagar los residuos y se vaciaron en el volumétrico. Esta operación se realizó 3 veces y se afora hasta la marca. (Figura 28) Este proceso se ejecutó para cada muestra, incluyendo el blanco.

Destilación:

Material	Equipo	Reactivos
Pipetas 1mL	Micro- Kjeldahl	Hidróxido de sodio NaOH 40%
Pipetas 5mL		Ácido Bórico BO_3H_3 4%
Pipeta 10 mL		Azul de metileno
Vaso de precipitado 50mL		Rojo de Metilo
Piseta agua destilada		Agua destilada
Gotero		Etanol

Para preparar la solución indicadora, se disolvieron 0.2g de azul de metilo y 0.375g de rojo de metilo en 300mL de etanol.

Se lavó perfectamente el aparato de la siguiente forma: se conecta la manguera del enfriador (H) a la salida de agua y se deja correr moderadamente; se puso un matraz con agua en la salida del condensador y se abrió la llave del aspirador (D), haciendo presión en la manguera (A); se dejó que el agua ascendiera hasta la parte superior del condensador (B). Posterior a esto se dejó de presionar y el agua descendió sola a través

de todo el aparato. Se cerro la llave del aspirador (D) y añadió 10mL de agua destilada por el embudo de adición de la muestra (E), se abrieron las llaves (F y D) haciendo presión en la manguera (A) para que se drene toda el agua. Se repitió el proceso tres veces y se cerraron todas las llaves.

Para comenzar la destilación fue necesario llenar de agua el matraz de ebullición (C) hasta la marca de LABCONCO y colocar la resistencia (G). Las llaves (D) y del agua deben estar cerradas y la manguera (A) estar abierta. Se agregaron 2mL de digerido dentro del embudo de adición de la muestra hasta que la muestra haya entrado hasta la cámara. Se agregaron 9mL de NaOH al 40% y enjuagó el conducto hacia la cámara agregando 2mL de agua destilada. Se cerró la llave (F). Una vez encendido el aparato y el condensador, se dejo a hervir el agua. Ya que estuvo en ebullición se cerró la manguera (A) con unas pinzas.

En un vaso de precipitado de 50mL, se preparó una solución de 5mL de ácido bórico al 4% y 5mL de agua destilada, se agregaron 4 gotas de la solución indicadora. En la salida del condensador se coloco el vaso cuidando que el tubo de salida se encontrara totalmente inmerso en la solución. Se destilo hasta alcanzar un volumen de 30 mL en el vaso de precipitado. Finalmente se limpio el aparato para la siguiente destilación.

(Figura 29)

Titulación:

Material	Reactivos
Bureta	Ácido clorhídrico HCl 0.01N
Soporte universal	
Pinzas para bureta	

Titular el contenido del vaso con HCL 0.01N hasta que exista un cambio de color verde a violeta. Se corrió una muestra en blanco desde la digestión y se anoto la cantidad de HCl consumido en la titulación. Si la cantidad de ácido gastado era mayor a 0.1mL, se destilaba otra alícuota del blanco, si el consumo persistía mas alto de 0.1mL era necesario digerir otro blanco. Si el consumo era menor a 0.1mL todo el procedimiento estuvo bien. (Figura 30)

Manejo de datos:

Para calcular el % de proteínas en la muestra fue necesario usar la siguiente formula:

$\%P = \%N * 6.25$ esto es, tomando en cuenta que las proteínas tienen un 16% de nitrógeno.

Para calcular el % de nitrógeno fue necesario usar la siguiente formula:

$$\%N = (\text{ml HCl} * N * 0.014 / \text{gramos de la muestra}) 100$$

ml HCl: son los mililitros que se consumieron en la titulación.

N: es la normalidad del ácido clorhídrico con que se tituló la muestra y el blanco.

Gramos de la muestra: peso de la muestra que hay en 2 mL de digerido expresado en gramos.

7.12.2 Lípidos:

La determinación de lípidos se realizó por el método Soxhlet. El principio de este aparato se basa en la apolaridad, característica única de los lípidos, los cuales solo pueden disolverse por otros solventes apolares. Por esta característica son fácilmente cuantificables ya que las proteínas y los carbohidratos son insolubles por este tipo de solventes, como lo son el éter, cloroformo, benceno, etc.

Material	Equipo	Reactivos
Soporte universal	Aparato Soxhlet	Benceno
Pinzas de tres dedos	Manto térmico	
Embudo de vidrio	Balanza granataria	
Piseta	Horno	
Papel filtro		
Mangueras		

La base para el proceso de extracción es la siguiente: el material a extraer se colocó en una papel poroso y se introdujo dentro de la cámara de extracción (B); el solvente se calienta a ebullición, los vapores que se desprenden ascienden a través de la cámara y se condensan, gracias a un enfriador (C), que se encuentra en la parte superior, el liquido condensado se almacena en la cámara hasta que el nivel del disolvente alcanza una altura superior a la del sifón (D), en ese momento, el disolvente de la cámara drena hacia el matraz de ebullición (A) y el ciclo comienza de nuevo. (Facultad de Ciencias Marinas, 1990) (Figura 31)

Se lavó perfectamente el matraz de ebullición (A) y se colocó en una estufa a 100 °C por aproximadamente 20 min, esto con el fin de evaporar todos los residuos de agua. Posterior a esto se pesó el matraz ya que tuvo una temperatura ambiente. Aunado lo anterior se pesó un papel filtro y 2 g de la muestra muy bien homogenizada, se formó un paquete bien envuelto y se colocó en la cámara de extracción. Se agregó el disolvente por la parte superior de la cámara hasta que paso por el sifón hacia el matraz de ebullición y se dejó evaporar por 5 horas en un manto térmico. Al finalizar la extracción, se desmontó el aparato y se dejó el matraz en el manto térmico para que se evapore todo el solvente. El matraz se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesa nuevamente.

Para calcular el porcentaje de lípidos en la muestra se realizó el siguiente manejo de datos.

A) Peso del matraz de ebullición:

B) Peso de la muestra:

C) Peso del matraz después de la extracción:

D) Peso del residuo: $D = C - A$

$$\% \text{ Lípidos} = (D / B) * 100$$

El solvente que se utilizó fue el benceno

7.12.3 Carbohidratos

Los carbohidratos son cuantificados por el método de antrona, esto es por que los monosacáridos en presencia de ácidos fuertes y concentrados se deshidratan produciendo derivados del furfural, los cuales pueden condensarse con compuestos aromáticos para dar productos coloreados. La reacción de antrona aparte de reaccionar con monosacáridos como la glucosa, también reacciona con polisacáridos como el glicógeno, el almidón y la quitina. (Facultad de Ciencias Marinas, 1990)

Fase 1: Curva de calibración

Para poder cuantificar los carbohidratos de una solución por espectrofotometría con la reacción de antrona, fue necesario realizar una grafica con una curva de calibración la cual sirvió para calcular el porcentaje de carbohidratos a partir de la absorbancia.

Material	Equipo	Reactivos
Tubos 18 x150	Espectrofotómetro	Antrona
Puntas para pipeta de 1000 μ L	Baño María	Acido sulfúrico
Pipeta 10 mL	Micro pipeta 1000 μ L	Agua destilada
Pipeta 2 mL	Balanza analítica	Solución estándar de glucosa
Frasco oscuro		
Probeta de 250mL		
Gradilla		
Papel milimétrico		
Regla y escuadra		

La solución de antrona se preparo mezclando 2g de antrona pura en 1L de ácido sulfúrico concentrado y se debe guardar en un lugar oscuro y en refrigeración.

Posterior a esto se dispusieron 8 tubos como se muestra en la tabla:

Reactivo (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8
Sol. Std. Glucosa	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12	0.14
Agua	2	1.98	1.96	1.94	1.92	1.9	1.88	1.86
Antrona	10	10	10	10	10	10	10	10

En el tubo 9 se coloco 2mL de la muestra problema y 10 mL de antrona preparada. Se agitaron vigorosamente los tubos y fueron colocados en un baño maría por 15 minutos a 90°C y se dejaron enfriar en un baño de agua corriente. El espectrofotómetro fue calentado y se seleccionó la longitud de onda (620 nm). Una vez hecho esto se calibró el espectrofotómetro con el blanco que es el tubo 1 y el resto de los tubos se leyeron de menor a mayor concentración (Figura 32). Finalmente se graficó en un papel milimétrico las absorbancias obtenidas contra las concentraciones.

Fase 2: extracción de carbohidratos

Para la correcta cuantificación de carbohidratos fue necesario separarlos de las proteínas y de los lípidos. Para ello se digirió el tejido con una solución caliente de KOH, continuando con la precipitación de los polisacáridos con etanol y posteriormente se hidrolizó el precipitado con ácido mineral y la determinación de glucosa del hidrolizado con el reactivo de antrona.

Material	Equipo	Reactivos
Gradilla	Centrífuga de 2500 rpm	KOH
Tubos por muestra de 18x150	Baño maría	Solución indicadora
Pipeta 2 mL	Espectrofotómetro Spectronic 20 Genesys	Ácido sulfúrico 1N
Matraz volumétrico 25mL		Etanol
Tubos de centrifugación		Agua destilada
Pipeta 1 mL		Antrona preparada
Piseta		
Pipeta 10 mL		
Tubos para espectrofotómetro		
Pipeta pasteur		

Digestión:

En los tubos de ensayo de 18 x 150, se colocó 1g del tejido problema previamente picado y se agregó 2 mL de KOH; se calentó en baño maría a 80 °C durante 15 minutos. Se enfrió la solución y añadieron 3 gotas de la solución indicadora (verde de bromocrisol al 0.1% en agua destilada). Posterior a esto se aciduló con ácido sulfúrico 1N hasta que cambió de un color café-azul oscuro a un amarillo (en este momento las proteínas precipitan, Figura 33).

Se centrifugó por 10min a 2500 rpm y se decantó el sobrenadante en un matraz de aforación de 25 mL y se afora a la marca.

Precipitación:

1 mL de la solución anterior fué colocado en un tubo de centrifugación y se agrego 2 mL de etanol y centrifugo por 8min a 2500 rpm. El sobrenadante se decanto y el residuo se disuelve con un poco de agua caliente. Se paso la solución a un matraz volumétrico de 25 mL y se afora hasta la marca.

Determinación cuantitativa:

De la solución anterior, fueron colocados 2 mL en un tubo de 18 x 150 y se agregaron 10 mL de antrona preparada. Los tubos se pusieron en un baño maría por 15min a 90 °C y enfriaron en agua corriente. Leer a 620 nm en el espectrofotómetro.

Las absorbancias obtenidas se colocaron en la curva de calibración y se calculo el porcentaje de carbohidratos que tenia la muestra problema tirando una linea recta hasta donde intersécta la curva.

Equipo utilizado para el análisis bromatológico

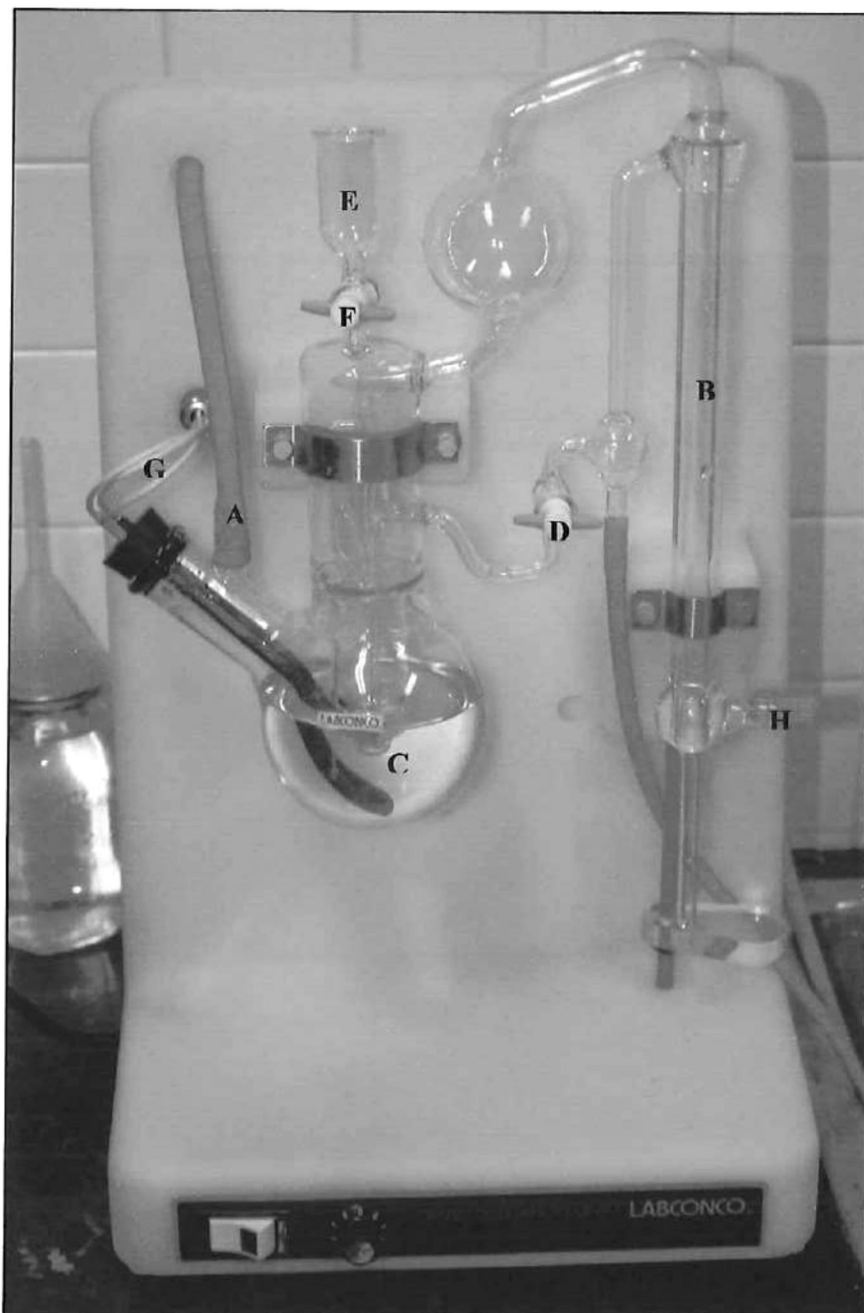


Figura 29. Destilador Micro- Kjeldahl: (A) manguera de presión, (B) condensador, (C) matraz de ebullición, (D) llave de aspiración, (E) Embudo de adición, (F) llave del embudo, (G) resistencia, (H) manguera del enfriador.

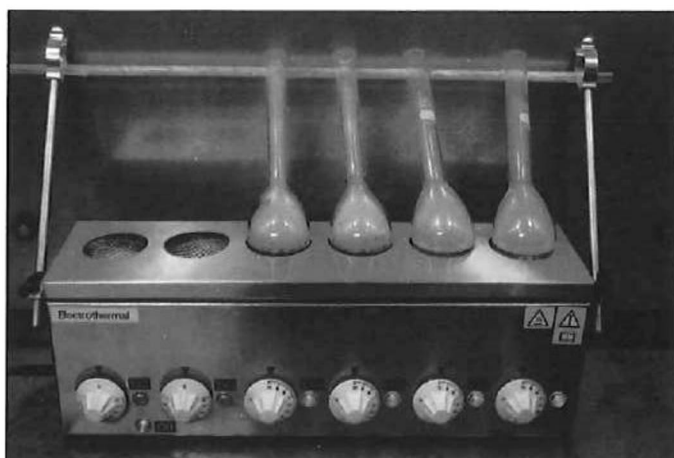


Figura 28. Matraz Kjeldahl y hornillas de ebullición usadas para la digestión. La muestra tiene que pasar de un color café oscuro (izquierda) a un color verde cristalino (derecha).

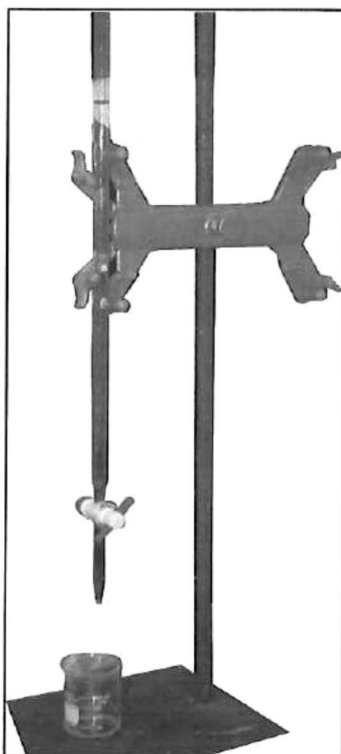


Figura 30. Bureta de destilación usada para la cuantificación de proteínas.

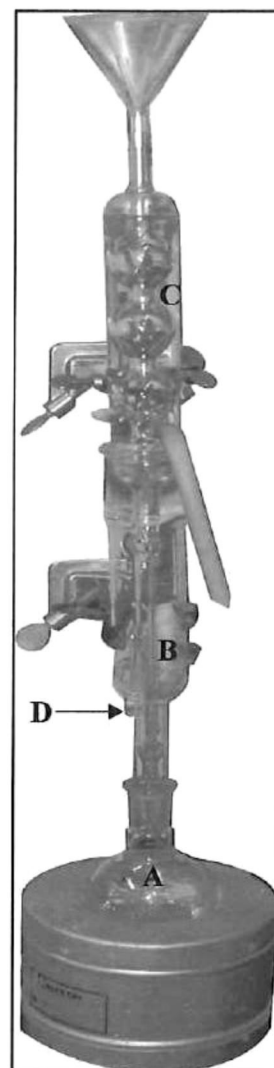


Figura 31. Aparato Soxhlet usado para la cuantificación de lípidos. (A) matraz de ebullición, (B) cámara de extracción, (C) enfriador, (D) sifón.



Figura 32. Espectrofotómetro usado para la cuantificación de carbohidratos y los tubos con diferentes concentraciones utilizados para la curva de calibración. Donde el primero a la izquierda es el blanco y va aumentando la concentración.

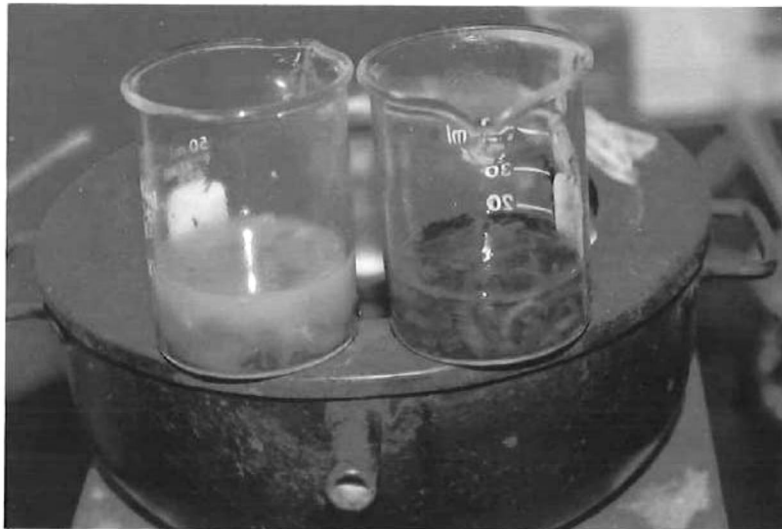


Figura 33. Cambio de coloración de un café oscuro a un amarillo más claro en la fase de la precipitación de las proteínas para la purificación de los carbohidratos.

7.13 Análisis estadístico.

Los valores obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar si existen diferencias significativas entre las diferentes unidades experimentales. Así mismo se realizó una comparación de medias por medio de la prueba de Tukey para distinguir niveles de significancia entre tratamientos. El programa utilizado para la realización de dichas pruebas fue el SAS (Statistical Analysis System 2001) proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) localizado en Ensenada Baja California.

VIII.- RESULTADOS

8.1 Medición de los parámetros fisicoquímicos para la elección del sustrato.

Para poder hacer una correcta elección del sustrato fue importante comprobar que cumplieran con las características fisicoquímicas necesarias para el desarrollo del micelio.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	23.00	3	Polvo	Temperatura	1.19	0.3789
A	22.66	3	2años			
A	22.66	3	3años			
A	22.33	3	2 años M			
A	22.33	3	1año			
A	100	3	1año	Humedad	4.24	0.0336
A	100	3	2años			
A	100	3	3años			
A	100	3	2 años M			
B	92	3	Polvo			
A	8.0	3	2 años M	pH	40.02	<.0001
A	8.0	3	2años			
A	8.0	3	3años			
A	7.8	3	1año			
B	5.3	3	Polvo			

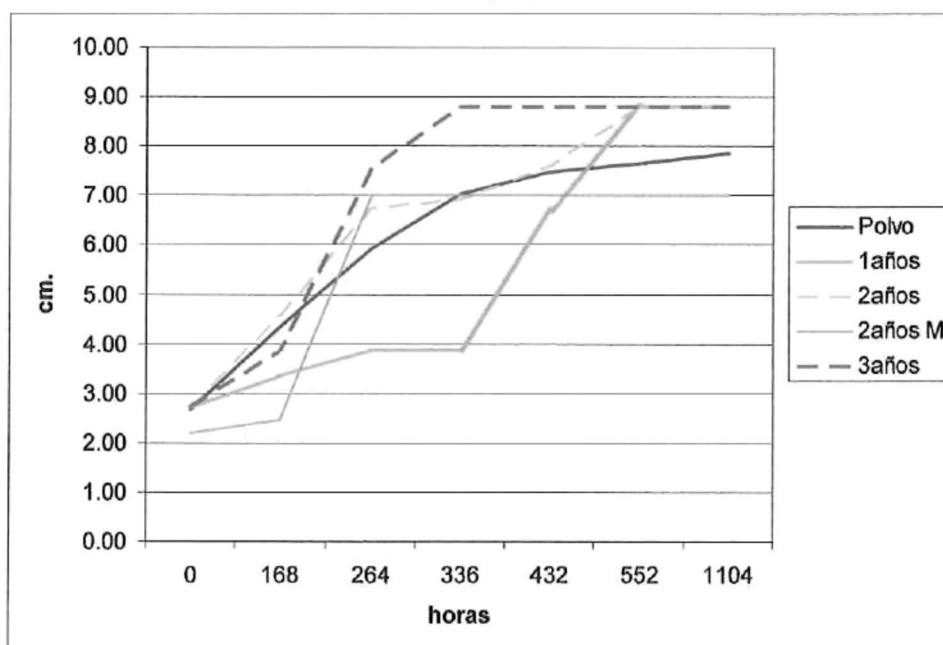
Cuadro 1: Comparación de medias obtenidas en los parámetros fisicoquímicos.

Como se observa en la tabla 1 los factores fisicoquímicos de los tratamientos de paja, 1 año, 2 años, 2 años molida y tres años no presentaron una diferencia significativa entre si, no obstante el tratamiento de Yucca en polvo si difiere de los demás tanto en el porcentaje de humedad el cual disminuyó significativamente, como en el pH el cual tendió a la acidificación mientras que el resto mostraban tendencias básicas. También podemos denotar que el cambio que se dio en la temperatura no es significativo y es un reflejo de la temperatura ambiental. A pesar de las diferencias existentes, todos los sustratos cumplen con las características necesarias para el crecimiento del micelio, por lo que se procedió a la prueba de la velocidad de crecimiento.

8.2 Medidas de velocidad de crecimiento.

La velocidad de crecimiento se calculo con el fin de obtener mas datos de los diferentes tratamientos y poder elegir los mas adecuados para ser utilizados en el análisis morfocomparativo de cuerpos fructíferos y eficiencia biológica. Se utilizaron tres cajas de 9cm de diámetro y tres de 14cm de diámetro con la finalidad de observar el comportamiento relacionado en la compactación del sustrato, ya que en las cajas chicas la compactación es mayor que en las cajas grandes.

Grafica 1 Comparación del comportamiento en el crecimiento micelial en los 5 tipos de tratamientos sembrados en cajas petri de 9cm de diámetro.

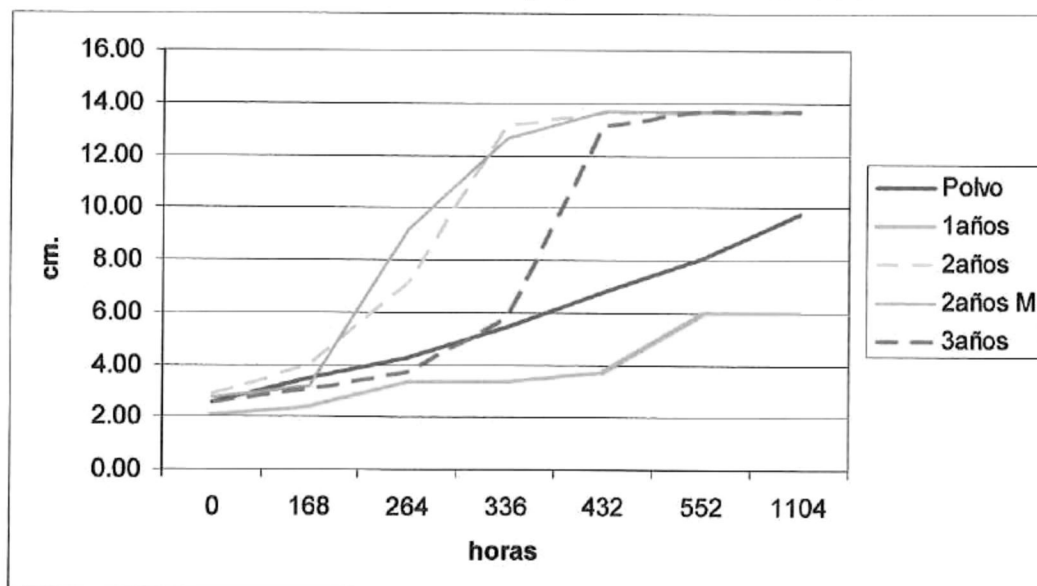


La grafica 1 muestra 5 tratamientos, comparando cm recorridos por hora, tomando en cuenta las medias de crecimiento por hora. Como se puede observar todos los tratamientos presentaron un crecimiento constante menos el sustrato de 1 año de descomposición, así mismo podemos denotar que solamente los tratamientos de 3 años, 2 años y un año lograron cubrir en su totalidad la caja petri; no obstante el tratamiento de polvo y el de 2 años molido aunque presentaron una buena velocidad de crecimiento no llegaron a su máxima capacidad.

La figura 34 muestra claramente las características físicas del micelio donde el tratamiento en polvo y el de 2 años molido, presentan una alta densidad aparente del micelio sin lograr cubrir toda la superficie del sustrato. Por otro lado tenemos al tratamiento de 1 año con una cobertura total pero sin lograr una densidad aparente, la cual no se puede observar claramente. También podemos ver a los tratamientos de dos y tres años los cuales presentaron el mejor desarrollo miceliar y la mayor densidad aparente a simple vista.

Para las cajas de 14 cm se tomo en cuenta el mismo criterio que se observa en la grafica 2. El tratamiento de 2 años, 2 años molido y 3 años presenta un crecimiento constante y los cuales alcanzaron un expansión total del sustrato. Mientras que los tratamientos de 1 año y en polvo no alcanzaron el total de la cobertura del sustrato llegando a 10 y 6 cm de longitud respectivamente.

Grafica 2 Comparación de comportamiento en el crecimiento micelial de los 5 tipos de tratamientos sembrados en cajas petri de 14 cm de diámetro.



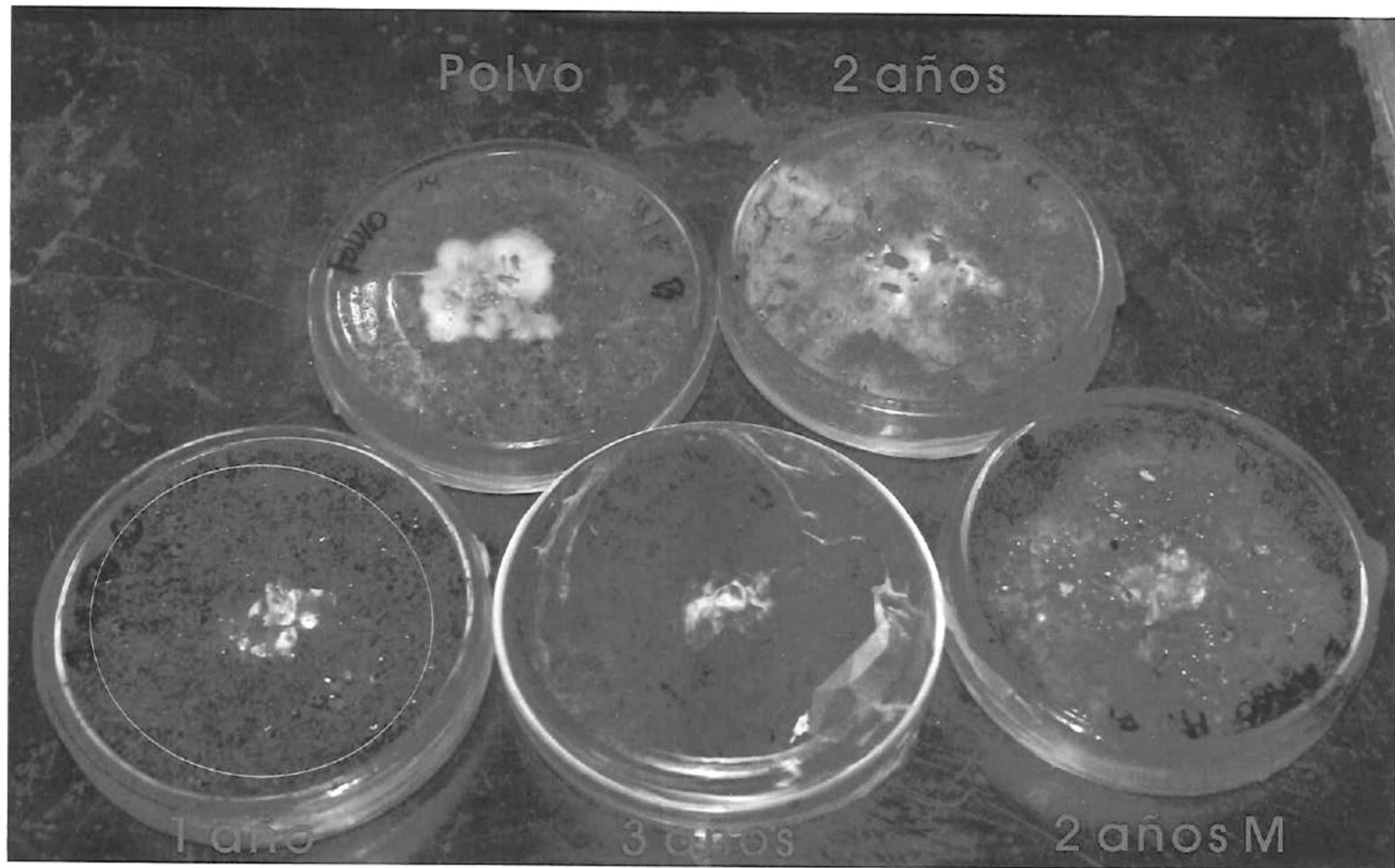


Figura 34. Se observan las características físicas del micelio como lo es cobertura, densidad aparente en los 5 tratamientos. El aro amarillo del tratamiento 1 representa el aro del micelio no visible en la fotografía.

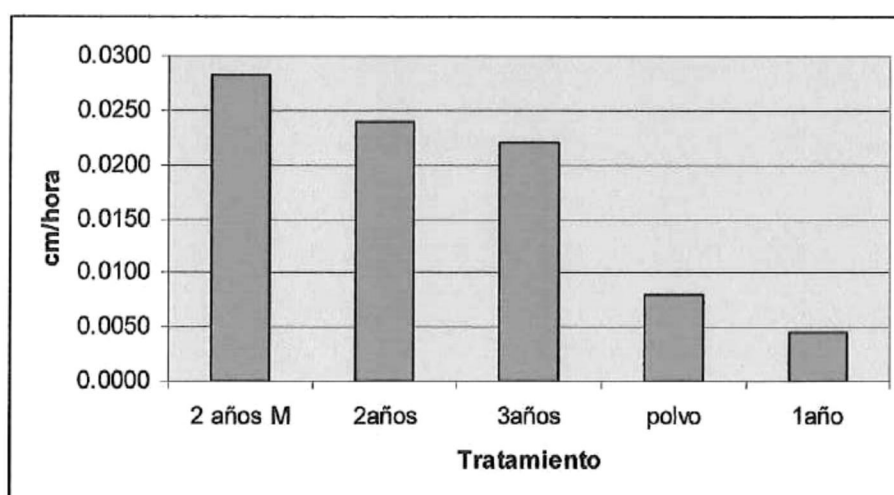
Las velocidades de crecimiento (cm/hora) se calcularon y se sometieron a una ANOVA, la cual mostró diferencias significativas formando dos grupos de medias bien definidos.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	0.0282	6	2 años M	velocidad	8.57	0.0002
A	0.0240	6	2 años			
A	0.0220	6	3 años			
B	0.0080	6	polvo			
B	0.0045	6	1 año			

Cuadro 2. Niveles estadísticos encontrados al comparar las medias de velocidad de crecimiento micelial.

En esta tabla podemos observar que los tratamientos con la mayor velocidad son el de 2 años M, 2 años y tres años respectivamente y gracias a la prueba de Tukey podemos constatar que no existe una diferencia significativa entre estos tres. Los tratamientos de polvo y 1 año presentaron la menor velocidad de crecimiento y también no exhibieron diferencias significativas entre si, sin embargo la diferencia entre los dos grupos resultantes si demostró una variación estadística significativa.

Grafica 3. Comparación de velocidades promedio (cm/hora) de los cinco tratamientos de *Yucca schidigera*.



Como se observa en la grafica 3, la velocidad de crecimiento en los tratamientos 3 años, 2 años molido y 2 años son los mas altos a diferencia de los tratamientos 1 año y polvo.

Los datos obtenidos están directamente relacionados con las características microscópicas del micelio que se presentan en el siguiente capítulo.

Los tratamientos se dejaron en refrigeración por aproximadamente 15 días, dando como resultado una sobresaturación del micelio (Figura 35). En el tratamiento de 2 años no solo se halló una saturación del micelio sino que también existió la formación de cuerpos fructíferos abortivos (Figura 36). Las cajas que presentaron una saturación se dejaron a temperatura ambiente para intentar obtener mas carpóforos pero nuevamente las únicas que produjeron fueron las del tratamiento de 2 años (Figura 37).

Descripción gráfica de la formación de carpóforos y saturación del micelio.



Figura 35. Saturación del micelio durante la refrigeración a 4 °C. en todos los sustratos y todas las repeticiones.

Figura 36. Formación de cuerpos fructíferos abortivos en las cajas de petri refrigeradas a 4 °C. en el tratamiento de 2 años.

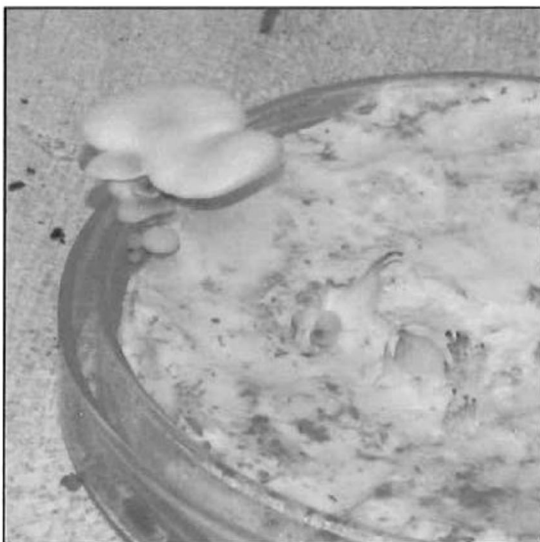
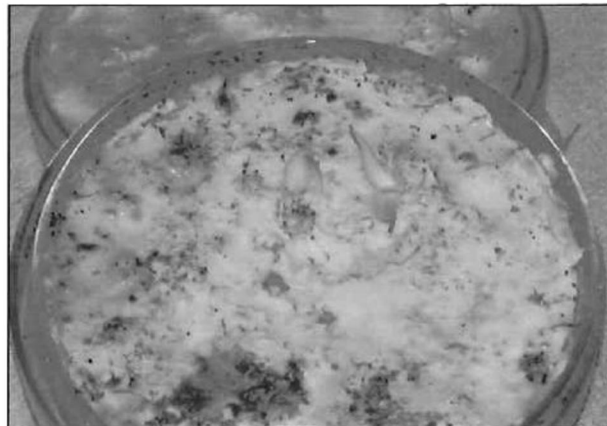


Figura 37. Formación de cuerpos fructíferos a temperatura ambiente (20 °C) posterior a la refrigeración en el tratamiento de 2 años.

8.3 Características microscópicas del micelio.

El ancho de la hifa, grosor de la pared celular, porcentaje de observación de fíbula y el índice de densidad observados se muestran en el cuadro 3.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	4.04	45	Polvo	Grosor hifa	3.85	0.0048
B	3.61	45	2años			
B	3.56	45	1año			
B	3.43	45	2añosM			
B	3.28	45	3años			
A	1.149	45	1año	Grosor pared celular	4.86	0.0009
A-B	1.089	45	2añosM			
B-C	0.989	45	2años			
B-C	0.978	45	Polvo			
C	0.844	45	3años			
A	0.0340	45	2años	Índice de densidad	1.46	0.2159
A	0.0325	45	1año			
A	0.0316	45	3años			
A	0.0301	45	polvo			
B	0.0241	45	2añosM			
A	93.33	45	3años	% de fíbula	1.26	0.3528
A	91.11	45	2años			
A	88.89	45	1año			
A	84.44	45	polvo			
A	75.56	45	2añosM			

Cuadro 3. Comparación de las características microscópicas de los 5 tratamientos junto con sus análisis de varianza y prueba de Tukey.

El grosor de la hifa presentó diferencias significativas entre tratamientos formándose así 2 grupos. En el grupos A tenemos al tratamiento de polvo el cual presento el mayor grosor de hifa con 4.04 μm promedio. En el grupo B están el resto de los tratamientos en donde el tratamiento de 2 años tuvo 3.61 μm , el de 1 año 3.56 μm , el de 2 años molido 3.43 μm y el de 3 años 3.28 μm . La diferencia de estos últimos 4 no es significativa entre ellas (grafica 8.3.1).

En el grosor de la pared celular se observaron diferencias significativas entre tratamientos, obteniendo 3 grupos combinados, por lo que se entiende que aunque si presenta diferencias significativas, existen caracteres de medias compartidos por lo

tanto el tratamiento de 1 año, 2 años y 3 años son diferentes entre sí, y el resto son similares entre estos.

En el índice de densidad no se presentó diferencia estadísticamente significativa. Por último, en el porcentaje de fibra no se encontró una diferencia significativa entre tratamientos provocando la creación de un solo grupo de datos en la comparación de medias.

8.4 Obtención del micelio fase 1.

En esta fase se realizó la primera inoculación en condiciones asépticas con 4 mecheros "Fisher", no obstante las condiciones del laboratorio no permitieron una asepsia adecuada provocando con esto la contaminación del 100 % de las cajas petri inoculadas. Debido a las condiciones anteriores se procedió a la siembra del micelio en una campana de flujo laminar con luz ultravioleta. Gracias a este procedimiento se logró obtener un 30 % de contaminación y quedando un total de 7 cajas de petri perfectamente inoculadas y libres de contaminantes.

Los contaminantes que se encontraron fueron: *Aspergillus spp.*, *Monilia spp.*, *Mucor spp.*, *Paecilomyces spp.* y *Penicillium spp.*, los cuales son los más comunes en el ambiente del laboratorio.

8.5 Obtención de micelio fase 2.

Inicialmente se probó el uso de botellas de refrescos plastificadas de 2 L con el fin de evitar contaminación y optimizar el espacio. Las botellas, al ponerse en autoclave por 20 minutos a las temperaturas y presión utilizadas para la esterilización, se comprimieron a un tamaño similar al de una botella de 600 mL (Figura 38).

Al principio si se logra un crecimiento en el micelio, pero a partir del quinto día, el crecimiento se detuvo, no obstante se logro un 0% de contaminación, sin embargo se opto por seguir con el procedimiento tradicional de frascos de conserva. En este procedimiento se logro obtener un 20% de contaminación ya que se usaron las mismas condiciones de asepsia que en la propagación del micelio fase 1, teniendo al final 30 frascos de conserva con un total de cobertura micelial (Figura 39). Los organismos contaminantes encontrados fueron principalmente *Penicillium*, *Mucor* y *Aspergillus*.

Figura 38. Frascos de plástico de refresco utilizados para las pruebas de expansión micelial fase 2.



Figura 39. Frascos de conserva con una total expansión del micelio sobre el grano.



8.6 Expansión micelial sobre el sustrato.

El tiempo de expansión del micelio esta directamente relacionado con las características fisicoquímicas de cada sustrato. El tratamiento de paja y paja con yucca de 2 años presentaron un tiempo similar de colonización total de 19 y 18 días respectivamente (Figuras 40 y 41), mientras que el tratamiento de yucca 2 años tardó 5 días más en completar la propagación (Figura 42). El tratamiento de yucca reciente tuvo un desarrollo en el micelio mínimo, en comparación a los anteriores, durante los 30 días de incubación, en donde a los primeros 7 días comienza la expansión pero a los 14 la diferencia de desarrollo no es destacable y nunca logra una total invasión el micelio (Figuras 43 y 44). Al quinto día de la fase de luz mostró una contaminación masiva de colonias amarillas, rojas y verdes de organismos no identificados, por lo que fueron retiradas todas las bolsas del cuarto para evitar la contaminación del resto de los tratamientos. El cuadro 4 muestra una relación en los tiempos de propagación de los 4 sustratos.

Sustrato	Tiempo de incubación (días)	Tiempo de colonización (días)
Yucca 2 años 100%	30	25
Yucca 2 años 50% y paja 50%	25	19
Paja 100%	25	18
Yucca reciente 100%	30	0

Cuadro 4. Tiempo en que tardo el micelio en colonizar todo el sustrato y el tiempo total de incubación.

Descripción gráfica de la expansión del micelio en los 4 tipos de tratamiento

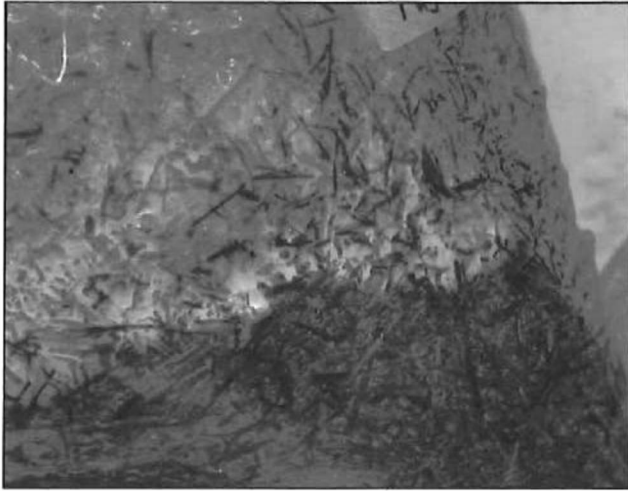


Figura 40. Tratamiento de paja sola con 16 días de incubación en total oscuridad, con una invasión del micelio del 80%.

Figura 41. Tratamiento de yucca-paja con 16 días de incubación en total oscuridad, donde se observa casi totalmente invadido por el micelio.

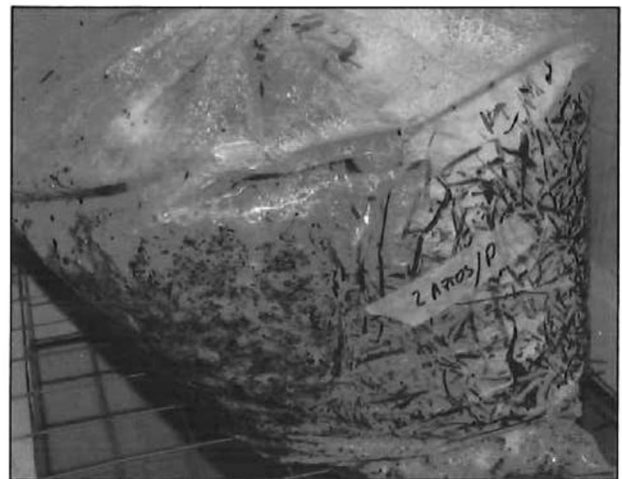


Figura 42. Tratamiento de yucca 2 años con 16 días de incubación en total oscuridad, donde se observa una invasión externa pero no interna con un porcentaje aproximado del 70%.





Figura 43. Tratamiento de yucca reciente con 7 días de incubación.



Figura 44. Tratamiento de yucca reciente con 14 días de incubación.

8.7 Obtención de los primeros carpóforos, número de cosechas obtenidas y días totales de producción.

Los primeros cuerpos fructíferos que aparecieron fueron los del tratamiento yucca- paja cinco días después de haber retirado las bolsas y comenzar con el ciclo de luz (Figura 45). El tratamiento de paja tardó 13 días en presentar los primeros carpóforos. La yucca sola presentó cuerpos fructíferos a partir del día 23 después de haber retirado las bolsas y después de la segunda cosecha de los dos primeros tratamientos. Los cuerpos fructíferos iniciales presentaron una deformación en donde el pílilo no creció y existió un alargamiento exagerado del estípito (Figura 46). Una vez que se corrigieron los parámetros ambientales que provocaban la malformación de los carpóforos, el desarrollo de estos fue de manera normal (Figuras 47 a 50).

El número de cosechas obtenidas hasta la clausura del experimento por cada sustrato, así como los días que transcurrieron a partir de los primeros carpóforos hasta la clausura, se presentan en el cuadro 5, donde se observa que en el número de cosechas del tratamiento combinado de yucca/paja presenta el mayor número de cosechas, seguido por la paja y por último la yucca sola, no obstante que la prueba de Tukey si muestra una separación de medias entre el primer tratamiento y el último, realmente no existe una diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos.

Los días de producción que se tomaron en cuenta a partir de la formación del primer carpóforo hasta la clausura del experimento, no presentaron una diferencia significativa entre tratamientos.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	4.80	5	yucca/paja	Número de cosechas	2.68	0.1126
A-B	3.8	5	paja			
B	3.4	5	yucca			
A	41.6	5	yucca/paja	Días de producción	0.88	0.4411
A	35.2	5	yucca			
A	34.2	5	paja			

Cuadro 5. Medias del número total de cosechas obtenidas y los días totales de producción por tratamiento.

Descripción grafica de la obtención de carpóforos de los tres sustratos.

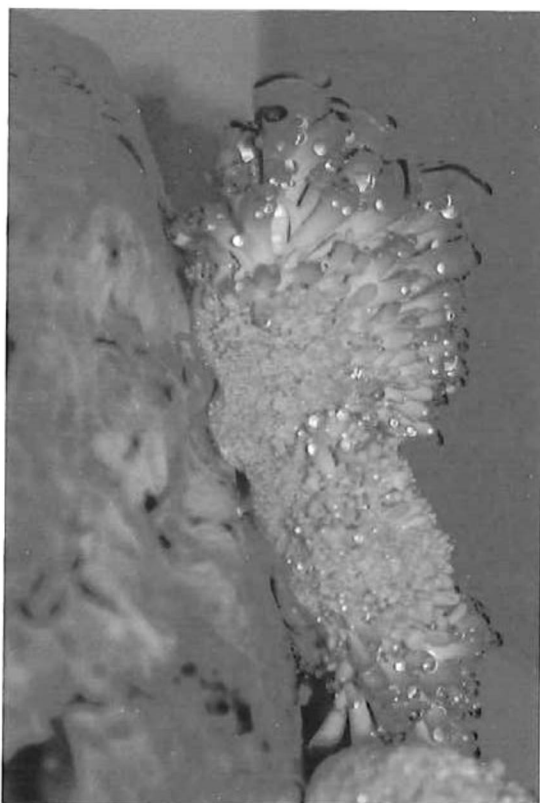


Figura 45. Primeros carpóforos obtenidos en el tratamiento de Yucca/paja.



Figura 46. Malformaciones del píleo y estípites por el exceso de luz.



Figura 47.
Producción normal
en de carpóforos
en el tratamiento
de Yucca/paja,
primera cosecha.

Figura 48.
Producción normal
en de carpóforos
en el tratamiento
de Yucca, primera
cosecha.



Figura 49.
Producción normal
en de carpóforos
en el tratamiento
de Paja, primera
cosecha.



Figura 50. Comparación de la producción de carpóforos de los diferentes tratamientos donde el de abajo es paja sola, el de en medio es yucca/paja y el de arriba es yucca. Se puede observar que el único tratamiento que no presenta producción de carpóforos es el de yucca ya que la primera cosecha de este tratamiento se dio hasta el tiempo de la segunda cosecha del resto de los tratamientos.

8.8 Eficiencia biológica

En el cuadro 6 se muestra las medias obtenidas en la eficiencia biológica donde podemos observar, por medio de la comparación de medias o prueba de Tukey los agrupamientos de los tratamientos, donde la yucca sola con 19.8% y la paja sola con 23.2% no presentan una diferencia significativa localizados en el grupo B. El tratamiento combinado de yucca/paja con 36.8% se encuentra en el grupo A ya que posee la mayor eficiencia biológica y es el único que si tiene una diferencia significativa.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	36.77	5	yucca/paja	Eficiencia Biológica	6.89	0.0115
B	23.222	5	paja			
B	19.784	5	yucca			

Cuadro 6. Comparación de medias y varianza de eficiencia biológica en los tres tratamientos.

8.9 Biometría: Área del pileo

Como se observa en el cuadro 7, el tratamiento de yucca/paja presentó una área promedio de 30.9 cm² en el sombrero, siendo esta la mas alta de los tres tratamientos seguida por la yucca sola con un área media de 26.9 cm². Finalmente se encuentra la paja con una área promedio de 25.9 cm². Estadísticamente no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos colocándose los tres en el grupo A. Las diferencias se muestran en la figura 51.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	30.94	5	yucca/paja	Área del pileo	1.73	0.2214
A	26.938	5	yucca			
A	25.961	5	paja			

Cuadro 7. Comparación de medias y varianza del área del pileo en cm² de los tres tratamientos.

Descripción grafica del los de palios obtenidos.

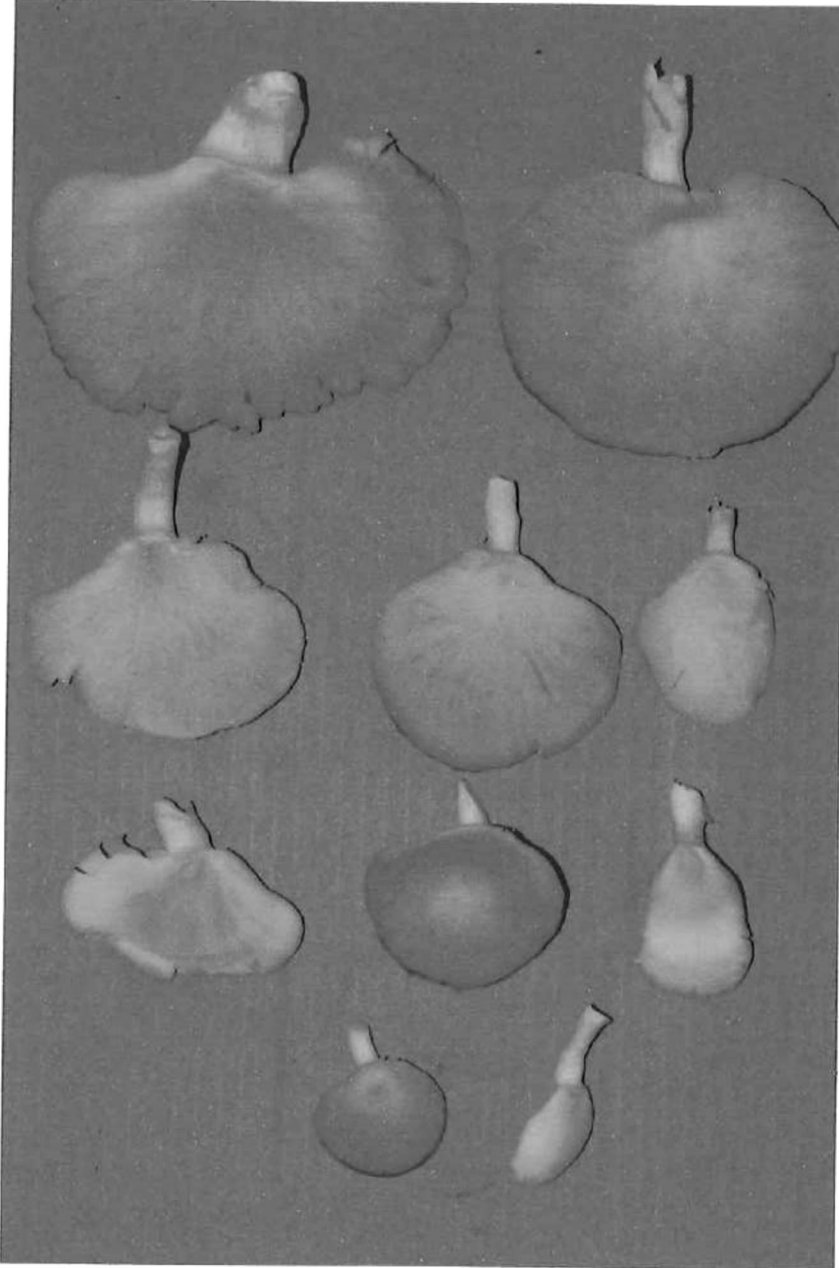


Figura 51. Tamaños y formas de los pileos obtenidos en todo el experimento.

8.10 Biometría: Área del estípite

A diferencia del pñleo, el estípite si mostró diferencias significativas entre los tres tratamientos colocándolos en tres grupos diferentes. El tratamiento de yucca sola presento un área media en el pie de 9.5 cm^2 , siendo esta la más alta de los tres tratamientos. La combinación de yucca/paja mostró una área media de 7.9 cm^2 , mientras que la paja sola tuvo 6.4 cm^2 de área. Los datos se comparan en el cuadro 8.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	9.573	5	yucca	Área del estípite	11.34	0.0021
B	7.992	5	yucca/paja			
C	6.442	5	paja			

Cuadro 8. Comparación de medias y varianza del estípite en los tres tratamientos.

8.11 Bromatología de carpóforos: % de agua

Los porcentajes obtenidos en la cantidad de agua presente en los carpóforos fueron muy similares en los tres tratamientos, ya que no se observo una diferencia significativa, con un promedio de 90% para yucca sola, 89.8% para yucca/paja y un 89.2% para paja. Todos los datos se muestran en cuadro 9.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	90.006	5	yucca	% Agua	0.28	0.7616
A	89.783	5	yucca/paja			
A	89.208	5	paja			

Cuadro 9. Comparación de medias y varianza del % de agua en los tres tratamientos.

8.12 Bromatología de carpóforos: % de proteínas

En los porcentajes de proteínas encontrados en el peso seco de los carpóforos (cuadro 10), se obtuvo una diferencia significativa entre el tratamiento de paja con un 30.8% y los tratamientos de yucca con 24.6% y yucca/paja con 22.4, colocando al primero en un grupo A y a los dos últimos en un grupo B ya que no existe una diferencia significativa en estos.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	30.800	5	paja	% Proteínas	18.89	0.0003
B	24.675	5	yucca			
B	22.400	5	yucca/paja			

Cuadro 10. Comparación de medias y varianza del % de proteínas en los tres tratamientos.

8.13 Bromatología de carpóforos: % de lípidos.

Debido a que el método Soxhlet utilizado no detecta nada en muestras que contengan menos del 1% de lípidos, podemos inferir que dicho porcentaje en los tres tratamientos es menor a los parámetros establecidos por la técnica, o simplemente no se realizó correctamente el experimento.

8.14 Bromatología de carpóforos: % de Carbohidratos

En el análisis de porcentaje de carbohidratos encontramos que el tratamiento de yucca/paja que posee 46.14% es el más alto de los tres, seguido por el tratamiento de paja con un 44.62% y finalmente con el de yucca con un 30%. Si hacemos una comparación de las tres medias por el método de Tukey podemos observar que se forman dos grupos, el primero formado por los dos tratamientos con los porcentajes más altos y el último que posee el más bajo. Así mismo podemos ver que si existe una variación significativa entre estos dos grupos mostrada en el cuadro 11.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	46.14	5	yucca/paja	% Carbohidratos	4.99	0.0287
A	44.62	5	paja			
B	30.00	5	yucca			

Cuadro 11. Comparación de medias y varianza del porcentaje de carbohidratos en los tres sustratos.

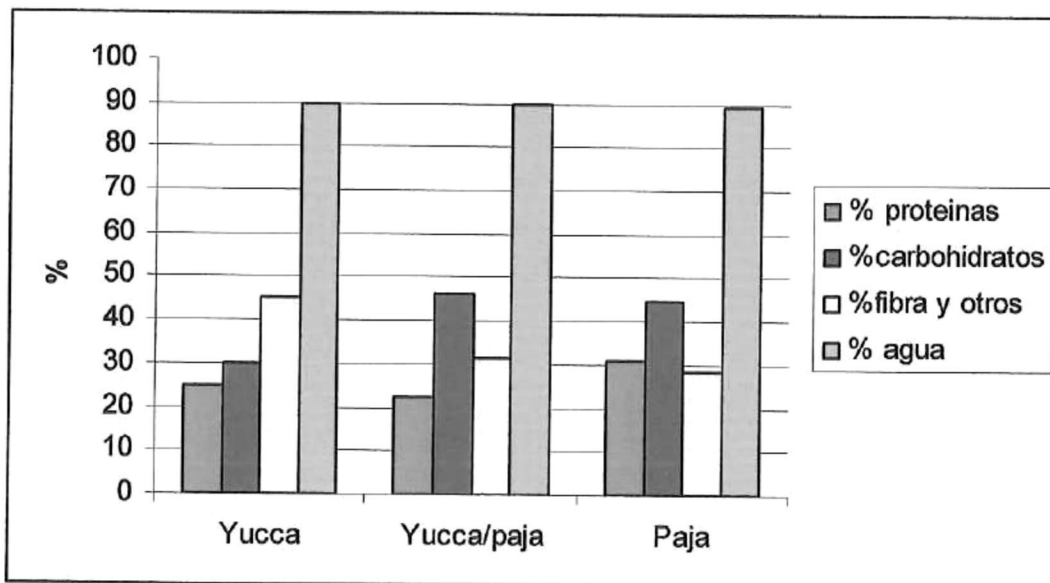
8.15 Bromatología de carpóforos: porcentaje de fibra, lípidos y otros.

En esta sección se sumaron los porcentajes de carbohidratos y proteínas de cada repetición y se le restaron a 100 para poder calcular un porcentaje restante, el cual contiene en su mayoría fibras y otros componentes como lo son lípidos en pequeñas cantidades, vitaminas, etc. En el cuadro 12 se puede apreciar como el tratamiento de yucca posee el mayor porcentaje de fibra de 45.33%, seguido por la combinación yucca/paja con un 31.46% y finalizando con la paja con un 28.24%. En la comparación de medias podemos denotar la formación de dos grupos con una diferencia significativa entre ellos.

Niveles estadísticos	Media	n	Tratamiento	Parámetro	F	P
A	45.33	5	yucca	% Fibra	5.88	0.0183
B	31.46	5	yucca/paja			
B	28.24	5	paja			

Cuadro 12. Comparación de medias y varianza del % de fibra en los tres sustratos.

Grafica 4. Comparación de los porcentajes bromatológicos obtenidos en los carpóforos en cada uno de los tratamientos.



En la grafica 4 podemos observar como la fibra es mayor en el tratamiento de yucca pero disminuye su porcentaje de proteínas y carbohidratos considerablemente. Tanto como el tratamiento combinado de yucca/paja como el de paja, produjeron carpóforos con un nivel de carbohidratos similar. En relación a las proteínas podemos ver que aunque son muy similares los porcentajes, la paja tiene carpóforos con un mayor porcentaje proteínico que el resto de los tratamientos. El porcentaje de agua contenida en los cuerpos fructíferos es casi igual en los tres tratamientos.

IX.- DISCUSION

El análisis de velocidad de crecimiento nos permitió no solo ver los efectos del sustrato sobre el crecimiento micelial, sino que también pudimos darnos una idea de si estos funcionarían a una gran escala. Como logramos observar, el desarrollo del micelio está directamente relacionado con la compactación del sustrato. Este factor se nota más en los tratamientos de polvo y 2 años molidos los cuales no alcanzaron el diámetro total de todas las cajas de petri chicas, lo cual nos indica que la compactación no funciona en ningún caso, por lo mismo autores como Stamets (1993) ó Gaitan *et. al.* (2002), entre otros mencionan que el tamaño ideal del sustrato debe ser de 5 centímetros para que permita una aireación así como espacios para favorecer el crecimiento. El polvo de yucca no presenta dichos espacios logrando una sobresaturación del micelio en el punto del inóculo. En el caso de la yucca de dos años molida paso algo similar; sin embargo, en las cajas de petri de 14cm de diámetro, la compactación fue menor y por ello si se logro un desarrollo total a lo largo de la caja.

Otro factor importante en el desarrollo del micelio fue el tiempo de degradación que tenía el sustrato y la concentración de saponinas que existía en cada uno de ellos. Como constata Castellon (2003) y Carranza (1997), las sustancias de la *Yucca schidigera* poseen la cualidad de ser un antifungico natural por lo que en altas concentraciones no permite el desarrollo del micelio, no obstante también son una fuente importante de carbohidratos los cuales son esenciales para el desarrollo de los hongos dando como resultado que los tratamientos con concentraciones medias de saponinas retardan, mas no inhiben el desarrollo, como es el caso del sustrato de 1 año, mientras que el resto presentó un desarrollo correcto. El tratamiento con una velocidad de desarrollo mayor fue el de dos años; considerando que puede deberse a la baja concentración de

saponinas provocada por la degradación natural del ambiente; sin embargo es importante denotar que este sustrato contiene más saponinas que el tratamiento de 3 años permitiendo que todas las azúcares presentes tuvieran un efecto positivo en el desarrollo.

Por ultimo, un factor esencial para un rápido desarrollo del micelio, es la baja temperatura o shock térmico donde se pasa de una temperatura de 25 °C a 4 °C, provocando una sobresaturación del sustrato, y la cual permite el desarrollo de los carpóforos observado en las cajas de petri refrigeradas y como lo menciona García (1998).

La microscopia nos arrojo datos interesantes ya que no existió variaciones en el índice de densidad así como en la presencia de la fibula, mas sin embargo el grosor de las hifa fue mayor en el tratamiento de polvo, esto esta posiblemente dado por la compactación del sustrato que no permitió que se extendiera significativamente o bien por el pH acido, dando como resultado un crecimiento en el grosor de la hifa. En relación a el grosor de la pared celular podemos observar como este parámetro, aparentemente, está directamente relacionado con la concentración de saponinas, donde el mayor tamaño de pared lo encontramos en el tratamiento de 1 año mientras que el de menor tamaño esta en el sustrato de 3 años, la única excepción es el polvo que presento hifas con pared celular delgada y aunque este presenta un alto porcentaje de saponinas, es el único sustrato que conservaba un pH ácido a diferencia del resto.

Gracias a los datos obtenidos por la velocidad de crecimiento así como al análisis microscopio, se decidió usar los sustratos de 2 años, tres años y el reciente para realizar

la comparación del comportamiento. No obstante a lo anterior el tratamiento de yucca 3 años no se pudo utilizar debido a la falta de volumen del mismo. El sustrato de yucca reciente, contrario a lo que menciona García (1998), que puede ser inactivado parcialmente a 60 °C y desarrollar micelio sin contaminación, se contaminó completamente ya que se extrajo de la máquina directamente, por lo que es necesario realizar una inactivación parcial de microorganismos a una temperatura mínima de 80-90 °C.

La expansión miceliar en los diferentes sustratos está relacionada directamente con la concentración de saponinas, donde el tratamiento de paja sola y yucca/paja, presentaron un tiempo de colonización similar ya que dicha concentración es nula o baja respectivamente. Sin embargo el desarrollo del tratamiento de yucca sola se vio retrasado por las saponinas y su efecto antifúngico, no obstante una vez que logra degradar el sustrato el desarrollo continuó de manera normal.

La eficiencia biológica es uno de los parámetros medidos más importantes ya que nos indica si es funcional o no el uso de la fibra de *Yucca schidigera* a nivel industrial. La comparación de los tres tratamientos restantes es interesante ya que la paja sola exhibió una EB de 23.2%, mayor a la de la yucca sola con 19.8%, pero la combinación de ambos sustratos nos dio el mejor resultado con un 36.77%. Aunque la diferencia si es significativa entre la combinación y los tratamientos solos, este porcentaje es bajo si lo comparamos con los resultados obtenidos por Salmones *et. al* (2005) donde confrontó el cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de café contra paja, obteniendo una eficiencia biológica de 86.5% y 54.2% respectivamente. La diferencia de los datos de Salmones con los obtenidos es significativa; sin embargo, esto está dado por las

condiciones ambientales de cada experimento y se puede afirmar que el causante de la baja eficiencia biológica está directamente relacionado con la falta de oxígeno en el ambiente según Stamets (2000). Por consiguiente la diferencia encontrada entre nuestros tratamientos si es válida y se puede corroborar que la yuca si mejora la eficiencia biológica cuando es combinada con un sustrato tradicional como lo es la paja de trigo.

Las medidas biométricas del píleo obtenidas no presentaron una diferencia significativa entre tratamientos, así mismo se lograron obtener tamaños comercialmente aceptables. Los primeros cuerpos fructíferos no desarrollaron un píleo debido al exceso de luz que Stamets (2000) asegura, es el causante de estas malformaciones. Así mismo se tomaron dos medidas del píleo para calcular el área, ya que presentan una forma más elíptica que circular por lo que no es correcto tomar el diámetro como lo hicieron Vogel y Salmons (2000), por tanto no son comparables las medidas.

Para el estípite se tomaron también dos medidas para calcular el área tomando en cuenta su forma cilíndrica. En este caso las diferencias que se obtuvieron entre tratamientos donde la yuca sola obtuvo un promedio de 9.6 cm^2 mientras que la combinación presentó 7.9 cm^2 y la paja sola 6.4 cm^2 si son significativas. Estas diferencias pueden estar dadas por dos factores principalmente; el primero es la concentración de saponinas que como se observa está directamente relacionada con el aumento del píleo. La otra razón es la luz ya que esta daba directamente en el tratamiento de yuca sola a diferencia de los otros dos tratamientos que tenían media sombra. No obstante las dimensiones del estípite no son tan importantes ya que el valor comercial radica en el tamaño y forma del píleo.

Los porcentajes de agua no mostraron diferencia significativa debido a que este porcentaje se obtiene principalmente por la humedad ambiental. Así mismo se presentó un porcentaje promedio de 89.9% el cual coincide con la cantidad especificada por Stamets *et. al.* (1983) así como Leben (2004).

Los porcentajes de proteínas obtenidos si presentaron una diferencia notable, donde la paja exhibió un 30%, siendo este el más alto de los tres tratamientos y el cual según Leben (2004) y Lizarraga (1993), es el porcentaje promedio en carpóforos obtenido por ellos, los cuales, fueron cultivados en paja, orujo de uva y otros desechos agrícolas. No obstante en el tratamiento combinado y el de yuca, se presentó una cantidad de proteínas menor. Esto es dado por la sustitución o el aumento de otro tipo de compuesto como lo son los carbohidratos; los cuales aumentan en el tratamiento de yuca/paja con un 46.1% que es un poco más alto que el de paja con 44.6% y yuca sola con 30% así como de los obtenidos por Wang *et. al.* (2001) y Lizarraga (1993) los cuales tuvieron un 40% promedio.

En el análisis de lípidos no se lograron detectar diferencias entre tratamientos, lo más probable es que el método utilizado para la extracción no fuera lo suficientemente sensible, o simplemente hizo falta una mayor cantidad de muestra para lograr cuantificarlas. Sin embargo Lizarraga (1993) observó la presencia de un 1% de grasas promedio, Wang *et. al.* (2001) obtuvo un 4% promedio de lípidos y Leben (2004) reporta de 3 a 5%, y si el método utilizado detecta hasta el 1% de lípidos en una muestra de 1 gramo, podemos inferir que la cantidad de lípidos fue menor a la estimada o simplemente no funcionó el método de extracción.

La cantidad de fibra, lípidos y otros compuestos, se calculó por una diferencia de porcentajes dando como resultado el aumento considerable de estos en el tratamiento de yucca sola con un 45.3% el cual es mucho mayor que el de yucca/paja con 31.4% y la paja sola con 28.4%, esto esta directamente relacionado con el aumento del estípite en este tratamiento, ya que al consumirlo, se halló una consistencia muy fibrosa en esta parte en específico. Las sustancias que influyeron en este factor son desconocidas, pero podrían ser las saponinas o alguna sustancia más de la *Yucca schidigera*.

X.- CONCLUSIONES

1.- La velocidad de crecimiento micelial fue afectada significativamente por el grado de descomposición del sustrato de *Yucca schidigera*.

2.- La fibra de *Yucca schidigera* combinada 1:1 con un sustrato tradicional como lo es la paja de trigo si aumentó la eficiencia biológica.

3.- El sustrato de *Yucca schidigera* no provoca un aumento considerable en el tamaño del píleo. Mas sin embargo si muestra un aumento en el área del estípite de *Pleurotus ostreatus*.

4.- Los porcentajes nutricionales de proteínas y carbohidratos de los carpóforos de *Pleurotus ostreatus*, no presentan un aumento considerable directamente relacionado por el sustrato de *Yucca schidigera*, mientras que el porcentaje de fibra dietética si exhibe un aumento provocado por dicho sustrato.

5.- Es factible el uso de la *Yucca schidigera* para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

XI.- BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, L., G. Bustos y D. Portugal 1988; Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos; *Rev. Mex. Mic.* 4:13-20.
- Anónimo, 1990; Manual de laboratorio de química orgánica; Facultad de ciencias Marinas, Universidad de Baja California; Ensenada B.C. México.
- Ayala, N. 2001; Facultad de Ciencias; Comunicación personal.
- Ayala, N. 2003; Facultad de Ciencias; Comunicación personal.
- Carranza, A. R. 1997. Características ecológicas – silvícolas de poblaciones de *Yucca schidigera* (K. E. Ortigies), con potencial de aprovechamiento en Baja California; Tesis Profesional; Facultad de Ciencias; Universidad Autónoma de Baja California; México.
- Castellón, O. J. Jesús 2003. Modelo para el Manejo Sostenido de los Recursos Forestales No Maderables: estudio de caso *Yucca schidigera* (Roetzl ex Ortigies) en Baja California. Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas; UNAM; México DF.
- Del Carmen, P. F. y G. A. Ramírez 1997. Guía para la Producción de Hongos Seta (*Pleurotus spp.*); Instituto Nacional de Solidaridad; México. pp. 1-16
- Gaitán-Hernández R., D. Salmones, R. Pérez, G. Mata 2002; Manual practico del cultivo de setas “aislamiento, siembra y producción”; Instituto de Ecología; Xalapa Veracruz México.
- García, R. 1998; *Cultivo de setas y trufas*; Ediciones Mundi – Prensa, 3er edición, España.

- González, Mora R. 2004. Agroindustrias de Desierto S.A. de C.V.; Comunicación personal.
- Hastings, J.M., R. M. Turner y D. K. Warren 1972; An atlas of some plants distribution in Sonoran Desert; University of Arizona; Institute of Atmospheric Physics; Tech. Rep. On the Meteorology and Climatology of arid Regions; N° 21; Tucson, Arizona, USA.
- Leben H.R. 2004; Propiedades medicinales y nutricionales de los hongos comestibles; www.leben.com.mx.
- Lizárraga, E. M. 1993. Eficiencia biológica y análisis nutricional de *Pleurotus ostreatus*, (Jacquin ex Fr.) Kummer, (cepa sin esporas), sobre desechos agrícolas de Baja California; Tesis Profesional; Facultad de Ciencias; Universidad Autónoma de Baja California; Ensenada, México.
- Martínez C. y G. Guzmán 1984. Investigación y prospectos sobre el cultivo de hongos comestibles en México; INIREB Xalapa Veracruz, México. Memorias del simposium sobre el cultivo de hongos, Puebla, México.
- SEMARNAT, 2000. Dirección General Forestal; Delegación Baja California; Datos de producción no maderable; 14 de agosto 2000; Mexicali, Baja California, México.
- Salmones D., G. Mata y K. Waliszewski 2005; comparative culturing of *Pleurotus spp.* on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation; *Bioresource Technology*; **96**: 537–544.
- SAS institute, Cary, N.C., 2001; SAS for Windows 8.2.
- Shen Q. y D.J. Royse 2001; Effects of nutrient supplements on biological efficiency, quality and crop cycle time of maitake (*Grifola frondosa*); *Appl Microbial Biotechnol*; **57**: 74-78.

- Stamets P. y J. S. Chilton 1983; *The mushrooms cultivator*. A practical guide to growing mushrooms at home; Agarikon Press Olympia, Washington U.S.A.
- Stamets P. 2000; *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Ten Speed Press; Hong Kong.
- Vogel F. y D. Salmones 2000; Análisis comparativo de la producción de cepas de *Pleurotus spp.* cultivadas en una planta comercial; *Rev. Iberoamericana Micol*; **17**: 138-141.
- Wang D., A. Sakoda y M. Suzuki 2001; Biological efficiency and nutritional values of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain; *Bioresource Technology*; **78**:293-300.

Anexo I: tablas de datos generales.

Parámetros fisicoquímicos

Tratamiento	Temp. °C	Temp. °F	Humedad	pH	Día
3 años	24	70	88	8	1
3 años	23	69	88	8	2
3 años	21	69	88	8	3
2 años M	24	71	100	8	1
2 años M	22	69	100	8	2
2 años M	21	69	100	8	3
2 años	24	71	100	8	1
2 años	23	69	100	8	2
2 años	21	69	100	8	3
1 año	23	70	100	8.5	1
1 año	23	69	100	8	2
1 año	21	69	100	7	3
Polvo	24	71	100	5.5	1
Polvo	23	69	88	5.5	2
Polvo	22	69	88	5	3

Velocidad de crecimiento

Horas	3años A (cm)	3años B (cm)	3años C (cm)	3años a (cm)	3años b (cm)	3años c (cm)
0	2.7	2.5	2.5	2.2	3	3
168	3.5	3.2	2.5	3.5	3.5	4.5
264	5.1	3.5	2.5	8.8	8.8	5
336	6.2	8.1	3	8.8	8.8	8.8
432	13	13.4	13	8.8	8.8	8.8
552	13.7	13.7	13.7	8.8	8.8	8.8
1104	13.7	13.7	13.7	8.8	8.8	8.8
V= DF - DI/ T	0.019927536	0.020289855	0.020289855	0.025	0.021969697	0.017261905
Horas	2años M.A (cm)	2años M.B (cm)	2años M.C (cm)	2años M.a (cm)	2años M.b (cm)	2años M.c (cm)
0	2.5	2.5	3.2	1.8	2.1	2.7
168	2.5	3	4	2.5	2.2	2.7
264	8.5	13	6	8.8	8.8	3.4
336	12.8	13.7	11.5	8.8	8.8	3.4
432	13.7	13.7	13.7	8.8	8.8	3.4
552	13.7	13.7	13.7	8.8	8.8	3.4
1104	13.7	13.7	13.7	8.8	8.8	3.4
V= DF - DI/ T	0.025925926	0.033333333	0.024305556	0.026515152	0.025378788	0.002651515
Horas	2años A (cm)	2años B (cm)	2años C (cm)	2años a (cm)	2años b (cm)	2años c (cm)
0	2.7	3.5	2.5	2.8	2.7	2.5
168	3	4	5	4.8	3.3	5.5
264	4	5.2	12	5.4	6	8.8
336	13.7	12.2	13.4	3.2	8.8	8.8
432	13.7	13.7	13.4	5.2	8.8	8.8
552	13.7	13.7	13.4	8.8	8.8	8.8
1104	13.7	13.7	13.4	8.8	8.8	8.8
V= DF - DI/ T	0.032738095	0.023611111	0.032440476	0.010869565	0.018154762	0.023863636
Horas	1años A (cm)	1años B (cm)	1años C (cm)	1años a (cm)	1años b (cm)	1años c (cm)
0	2.2	1.9	2.2	2.5	3	2.6
168	2.2	1.9	3.1	3	4	3
264	2.2	1.9	6	4.5	4.1	3
336	2.2	1.9	6	4.5	4.1	3
432	2.2	1.9	7	8	4.1	8
552	2.2	1.9	13.8	8.8	8.8	8.8
1104	2.2	1.9	13.8	8.8	8.8	8.8
V= DF - DI/ T	0	0	0.021014493	0.011413043	0.010507246	0.011231884
Horas	Polvo A (cm)	Polvo B (cm)	Polvo C (cm)	Polvo a (cm)	Polvo b (cm)	Polvo c (cm)
0	2.5	2.2	3	2.5	2.5	3
168	3.5	3	4	3.5	3.5	6
264	4.4	3	5.5	5.8	4	8
336	5.7	3.1	7.5	8	4.6	8.5
432	7.3	3.4	9.6	8.7	5	8.7
552	9.5	3.4	11.3	8.8	5.4	8.8
1104	12.2	3.4	13.8	8.8	6	8.8
V= DF - DI/ T	0.008786232	0.002777778	0.009782609	0.011413043	0.00317029	0.010507246

Cajas de (A), petri de 14cm de diámetro. Cajas de petri de 9cm de diámetro (a).

Análisis microscópico.

Trat.	Mues.	Fibula	Grosor hifa	Aum.	Grosor pared	Aum.	Longitud	Aum.	# Ramif.	ID
Polvo c	1	1	4	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
Polvo c	2	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
Polvo c	3	0	7	100x	2.5	100x	45	40x	0	0.0000
Polvo c	4	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
Polvo c	5	1	6	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo c	6	1	6	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo c	7	1	6	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
Polvo c	8	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo c	9	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo c	10	1	6	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo c	11	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
Polvo c	12	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo c	13	1	4.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo c	14	0	5	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo c	15	1	7	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	16	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
Polvo b	17	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	18	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	19	0	5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	20	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo b	21	0	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	22	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	23	1	4	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
Polvo b	24	0	3	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo b	25	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo b	26	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo b	27	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo b	28	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	29	0	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo b	30	1	4.5	100x	1.5	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo a	31	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	32	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	33	1	5.5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	34	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo a	35	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	36	0	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	37	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	38	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	39	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	0	0.0000
Polvo a	40	1	3	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
Polvo a	41	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	42	1	5	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo a	43	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
Polvo a	44	1	6	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
Polvo a	45	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
	38		4.04444444			0.97777778	2025		61	

Trat.	Mues.	Fibula	Grosor			Longitud	Aum.	# Ramif.	ID	
			hifa	Aum.	Grosor pared					
3 años b	1	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
3 años b	2	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
3 años b	3	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	4	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
3 años b	5	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
3 años b	6	1	3	100x	1	100x	45	40x	4	0.0889
3 años b	7	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	8	1	4	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
3 años b	9	1	4	100x	1	100x	45	40x	4	0.0889
3 años b	10	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	11	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	12	0	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	13	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	14	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años b	15	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	16	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	17	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	18	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	19	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
3 años c	20	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	21	0	2.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	22	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
3 años c	23	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	24	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
3 años c	25	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	26	1	3	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
3 años c	27	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
3 años c	28	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	29	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años c	30	0	3	100x	0.5	100x	45	40x	0	0.0000
3 años a	31	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
3 años a	32	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	33	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	34	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	35	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	36	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	37	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
3 años a	38	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	39	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	40	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	41	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
3 años a	42	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
3 años a	43	1	4	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
3 años a	44	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
3 años a	45	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
	42		3.2777778		0.844444444		2025		64	

Trat.	Mues.	Fibula	Grosor hifa	Aum.	Grosor pared	Aum.	Longitud	Aum.	# Ramif.	ID
2 años c	1	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años c	2	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	4	0.0889
2 años c	3	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
2 años c	4	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años c	5	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años c	6	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años c	7	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años c	8	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años c	9	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	4	0.0889
2 años c	10	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años c	11	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	2	0.0444
2 años c	12	1	4	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
2 años c	13	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años c	14	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
2 años c	15	1	5	100x	2	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	16	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
2 años b	17	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años b	18	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años b	19	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años b	20	0	4.5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	21	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	22	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
2 años b	23	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	24	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	25	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	26	1	3	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
2 años b	27	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	28	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	29	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años b	30	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	3	0.0667
2 años a	31	1	4	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
2 años a	32	0	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	33	0	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	34	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años a	35	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	36	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	37	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años a	38	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
2 años a	39	1	5.5	100x	2	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	40	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	41	1	7	100x	2	100x	45	40x	2	0.0444
2 años a	42	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	43	0	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	44	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años a	45	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
		41	3.61111111		0.98888889		2025		69	

Trat.	Mues.	Fibula	Grosor hifa	Aum.	Grosor pared	Aum.	Longitud	Aum.	# Ramif.	ID
2 años M b	1	1	3	100x	0.5	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M b	2	1	3.5	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	3	1	4	100x	0.5	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M b	4	1	2	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M b	5	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	6	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M b	7	1	4	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M b	8	0	2	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	9	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	10	0	4	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M b	11	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	12	1	3	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	13	1	3	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	14	0	5	100x	2	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M b	15	0	4	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M a	16	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	17	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	2	0.0444
2 años M a	18	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M a	19	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	20	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	21	1	4	100x	1	100x	45	40x	4	0.0889
2 años M a	22	1	2	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	23	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	24	1	3.5	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años M a	25	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	26	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
2 años M a	27	1	2.5	100x	0.5	100x	45	40x	2	0.0444
2 años M a	28	1	1	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
2 años M a	29	1	1.5	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
2 años M a	30	1	1	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M a	31	1	1	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
2 años M c	32	1	4	100x	1.5	100X	45	40x	3	0.0667
2 años M c	33	0	5	100x	1.5	100X	45	40x	2	0.0444
2 años M c	34	0	5	100x	2	100X	45	40x	2	0.0444
2 años M c	35	1	4	100x	1	100X	45	40x	2	0.0444
2 años M c	36	1	4	100x	1	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	37	1	3.5	100x	1	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	38	0	3	100x	1	100X	45	40x	2	0.0444
2 años M c	39	0	4	100x	1	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	40	0	3	100x	1	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	41	0	5	100x	2	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	42	1	3	100x	1	100X	45	40x	0	0.0000
2 años M c	43	0	5	100x	1.5	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	44	1	4	100x	1	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	45	1	4	100x	1	100X	45	40x	1	0.0222
2 años M c	46	1	3.5	100x	1	100X	45	40x	3	0.0667
		35	3.43478261		1.086956522		2070		52	

Trat.	Mues.	Fibula	Grosor		Grosor pared	Aum.	Longitud	Aum.	# Ramif.	ID
			hifa	Aum.						
1 año b	1	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	2	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año b	3	1	4	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
1 año b	4	1	3	100x	1.2	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	5	1	1.5	100x	0.5	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	6	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	2	0.0444
1 año b	7	0	4	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
1 año b	8	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	9	1	3	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
1 año b	10	1	4.5	100x	2	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	11	1	5	100x	2	100x	45	40x	2	0.0444
1 año b	12	1	4	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año b	13	0	4	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	14	0	5	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	15	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año b	16	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año a	17	1	3	100x	1	100x	45	40x	4	0.0889
1 año a	18	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año a	19	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
1 año a	20	1	3	100x	1	100x	45	40x	4	0.0889
1 año a	21	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	1	0.0222
1 año a	22	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año a	23	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año a	24	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
1 año a	25	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año a	26	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	2	0.0444
1 año a	27	1	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año a	28	1	4	100x	1	100x	45	40x	5	0.1111
1 año a	29	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
1 año a	30	1	5	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
1 año a	31	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	32	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	33	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	34	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
1 año c	35	0	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año c	36	1	3	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
1 año c	37	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
1 año c	38	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	39	0	3	100x	1	100x	45	40x	2	0.0444
1 año c	40	1	4	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	41	1	4	100x	1.5	100x	45	40x	0	0.0000
1 año c	42	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	43	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	44	1	3	100x	1	100x	45	40x	3	0.0667
1 año c	45	1	3	100x	1	100x	45	40x	1	0.0222
1 año c	46	1	3	100x	1	100x	45	40x	0	0.0000
		41	3.54		1.15		2070		66	

ID= índice de densidad.

Medidas biométricas y bromatológicas

Trat.	E.B.	A.S.	A.P.	%P	%L	%C	%A	#C	DP	F+O
Yucca A	14.618	25.574	7.740	21.875	ND	32.000	89.906	4	37	46.125
Yucca B	26.803	28.400	9.618	22.750	ND	19.900	89.878	3	37	57.350
Yucca C	15.970	22.927	9.233	27.563	ND	29.800	90.232	4	37	42.638
Yucca D	22.893	25.764	10.479	27.563	ND	29.800	91.525	4	37	42.638
Yucca E	18.635	32.024	10.796	23.625	ND	38.500	88.488	2	28	37.875
Yucca-Paja A	49.305	34.350	8.953	23.625	ND	48.800	91.028	7	60	27.575
Yucca-Paja B	46.828	27.961	7.920	21.438	ND	51.000	88.627	5	60	27.563
Yucca-Paja C	40.673	37.765	7.685	23.625	ND	52.000	88.230	3	32	24.375
Yucca-Paja D	17.860	23.674	6.632	19.688	ND	41.500	90.395	4	25	38.813
Yucca-Paja E	35.740	30.939	8.774	23.625	ND	37.400	90.635	5	31	38.975
Paja A	29.963	31.998	7.741	29.313	ND	29.400	87.605	4	43	41.288
Paja B	17.370	23.101	6.100	29.313	ND	48.000	85.595	4	27	22.688
Paja C	22.078	25.577	6.038	30.625	ND	50.000	90.815	3	27	19.375
Paja D	19.964	27.221	5.548	34.563	ND	29.400	91.923	4	42	36.038
Paja E	26.735	21.910	6.786	30.188	ND	48.000	90.105	4	32	21.813

Tratamiento (Trat.), eficiencia biológica (E.B.), área sombrero (A.S.), área pie (A.P.), porcentaje de proteínas (%P), porcentaje de lípidos (%L), porcentaje carbohidratos (%C), porcentaje de agua (%A), número de cosechas (#C), días de producción (DP), Fibra mas otros compuestos (F+O).