UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

"BIODEGRADACIÓN DE COLILLAS DE CIGARRO POR EL DESARROLLO DE *Pleurotus ostreatus*"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

JOSE MANUEL DIONISIO PINEDO

MIGUEL ANGEL HUAMAN VALLE

RENZO RAUL MEDINA YUPANQUI

Blgo. Carlos Odorico Torre Ramos

Callao, 2021

PERÚ

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

(Resolución N° 019-2021-CU del 20 de enero de 2021)
ANEXO 2

ACTA N° 006-2021-JST-FIARN-UNAC DE SUSTENTACIÓN DE TESIS SIN CICLO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

A los 26 días del mes de agosto del año 2021, siendo las 16:00 horas, se reunió en la sala Google Meet. La Ms.C. María Teresa Valderrama Rojas, Lic. Sergio Leyva Haro e Ing. María Antonieta Gutiérrez Díaz, JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS, según la resolución Nº 119-2021-D-FIARN, para la obtención del título profesional de Ingeniero Ambiental y de Recursos Naturales de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales conformado por los siguientes docentes ordinarios de la Universidad Nacional del Callao:

Ms.C.	María Teresa Valderrama Rojas	Presidenta
Lic.	Sergio Leyva Haro	Secretario
Ing.	María Antonieta Gutiérrez Díaz	Vocal
Blgo.	Carlos Odorico Tome Ramos	Asesor

Se dio inicio al acto de sustentación de la tesis de los señores Bachilleres José Manuel Dionisio Pinedo, Miguel Ángel Huamán Valle y Renzo Raúl Medina Yupanqui, quienes habiendo cumplido con los requisitos para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental y de Recursos Naturales, sustentan la tesis titulada “BIODEGRADACIÓN DE COLILLAS DE CIGARRO POR EL DESARROLLO DE *Pleurotus ostreatus*”, cumpliendo con la sustentación en acto público, de manera no presencial a través de la Plataforma Virtual, en cumplimiento de la declaración de emergencia adoptada por el Poder Ejecutivo para afrontar la pandemia del Covid-19, a través del D.S. N° 044-2020-PCM y lo dispuesto en el DU N° 026-2020 y en concordancia con la Resolución del Consejo Directivo N°039-2020-SUNEDU-CD y la Resolución Viceministerial N° 085-2020-MINEDU, que aprueba las "Orientaciones para la continuidad del servicio educativo superior universitario".

Con el quórum de ley, se dio inicio a la sustentación de conformidad con lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos vigente. Luego de la exposición, y la absolución de las preguntas formuladas por el Jurado y efectuadas las deliberaciones pertinentes, acordó: Dar por **APROBADO** con la escala de calificación cualitativa MUY BUENO y calificación cuantitativa 17, la presente tesis, conforme a lo dispuesto en el Art. 27 del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAC, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 245-2018- CU del 30 de octubre del 2018.

Se dio por cerrada la Sesión a las 17:35 horas del día jueves 26 de agosto del 2021.

Ms.C. María Teresa Valderrama Rojas
Presidenta

Lic. Sergio Leyva Haro
Secretario

Ing. María Antonieta Gutiérrez Díaz
Vocal

Blgo. Carlos Odorico Tome Ramos
Asesor

DEDICATORIA

A nuestros padres, por su amor, trabajo y sacrificio todos estos años; por convertirnos en lo que somos.

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a la Universidad Nacional del Callao y a nuestros profesores, en especial al profesor Carlos Tome Ramos, cuya orientación, dirección, conocimiento, enseñanza y colaboración permitieron el desarrollo de este trabajo.

ÍNDICE

DEDICATORIA....2
AGRADECIMIENTO....3
ÍNDICE....1
LISTA DE FIGURAS....4
LISTA DE TABLAS....5
RESUMEN....7
ABSTRACT....8
INTRODUCCIÓN....9
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA....10
1.1. Descripción de la realidad problemática....10
1.2. Formulación del problema....12
1.2.1. Problema general....12
1.2.2. Problemas específicos....12
1.3. Objetivos de la investigación....13
1.3.1. Objetivo general....13
1.3.2. Objetivos específicos....13
1.4. Limitantes de la investigación....14
1.4.1. Teórico....14
1.4.2. Temporal....14
1.4.3. Espacial....14
1.5. Justificación legal de la investigación....15
II. MARCO TEÓRICO....16
2.1. Antecedentes de la investigación....16
2.2. Bases teóricas....20
2.2.1. Biorremediación....20
2.2.2. Micorremediación....24
2.3. Conceptual....25
2.3.1. Colillas de cigarro (CC).....25
2.3.2. Organismos degradadores de celulosa....30
2.3.3. Pleurotus ostreatus....32
2.4. Definición de términos básicos....36
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES....39
3.1. Hipótesis....39

3.1.1. Hipótesis general 39
3.1.2. Hipótesis especificas 39
3.2. Definición conceptual de variables 40
3.2.1. Operacionalización de variables 40
IV. DISEÑO METODOLÓGICO 41
4.1. Tipo y diseño de la investigación 41
4.1.1. Tipo de investigación 41
4.1.2. Diseño de la investigación 41
4.2. Método de investigación 45
4.2.1. Etapa 1*: Adaptación del Pleurotus ostreatus* 46
4.2.2. Etapa 2*: Implementación de tratamientos* 49
4.2.3. Etapa 3: Evaluación del desarrollo 55
4.2.4. Etapa 4: Evaluación de los pesos 55
4.3. Población y muestra 56
4.3.1. Población 56
4.3.2. Muestra 56
4.4. Lugar de estudio y periodo de desarrollo 56
4.4.1. Lugar de estudio 56
4.4.2. Periodo de desarrollo 56
4.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos 56
4.5.1. Técnicas de recolección de datos 56
4.5.2. Instrumentos de recolección de datos 57
4.6. Análisis y procesamiento de datos 57
V. RESULTADOS 59
5.1. Resultados descriptivos 59
5.1.1. Resultados mediciones de la cantidad de cuerpos fructíferos 59
5.1.2. Resultados descriptivos de la cantidad de cuerpos fructíferos 60
5.1.3. Resultados mediciones de los pesos de cuerpos fructíferos . 62
5.1.4. Resultados descriptivos de los pesos de cuerpos fructíferos 63
5.2. Resultados inferenciales 65
5.2.1. Comprobación de supuestos de muestras independientes (intersujetos) para los datos de cantidad de cuerpos fructíferos producidos 65
5.2.2. Comprobación de supuestos de muestras relacionadas (intrasujetos) para los datos de cantidad de cuerpos fructíferos producidos. 67

5.2.3. Resultado de la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos. 67

5.2.4. Resultado de la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos..... 68

5.2.5. Resultado de la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos. 70

5.2.6. Comprobación de supuestos de muestras independientes (intersujetos) para los datos de pesos de cuerpos fructíferos producidos. 71

5.2.7. Comprobación de supuestos de muestras relacionadas (intrasujetos) para los datos de pesos de cuerpos fructíferos producidos. 73

5.2.8. Resultado de la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos. 73

5.2.9. Resultado de la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos..... 74

5.2.10. Resultado de la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos. 76

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS 77

6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados.....77

6.1.1. Contrastación de la primera hipótesis específica. 77

6.1.2. Contrastación de la segunda hipótesis específica. 77

6.1.3. Contrastación de la tercera hipótesis específica. 79

6.1.4. Contrastación de la cuarta hipótesis específica. 78

6.1.5. Contrastación de la quinta hipótesis específica. 78

6.1.6. Contrastación de la sexta hipótesis específica. 79

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares 80

6.3. Responsabilidad ética 80

CONCLUSIONES 82

RECOMENDACIONES 84

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....85

ANEXOS 93

ANEXO N.° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA 94

ANEXO N.° 2: MAPA DE IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS DE INTERÉS.....96

ANEXO N.° 3: PANEL FOTOGRÁFICO.....98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Uso de microorganismos en la biorremediación 22

Figura 2: Estructura del cigarrillo y sus componentes 26

Figura 3: Estructura molecular del acetato de celulosa, que se utiliza en los filtros de una colilla de cigarro 28

Figura 4: Vista del hongo *Pleurotus ostreatus* 32

Figura 5: Esquema del carpófago tipico con sus principales componentes 34

Figura 6: Modelo analítico factorial mixto 42

Figura 7: Flujograma de etapas y actividades 45

Figura 8: Medio de cultivo 48

Figura 9: Preparación de inóculo-grano 49

Figura 10: Sustrano no convencional 50

Figura 11: Esterilización del sustrato 51

Figura 12: Inoculación del sustrato 52

Figura 13: Incubación de hongos en condiciones oscuras 53

Figura 14: Incubación de hongos en condiciones oscuras, primera y segunda semana de observación 53

Figura 15: Inicio de proliferación 54

Figura 16: Cambio de contenedor 54

Figura 17: Evaluación del crecimiento 55

Figura 18: Promedio de cantidades de cuerpos fructíferos generados en cada semana y según tratamiento (% inóculo/sustrato) 61

Figura 19: Pesos promedio de cuerpos fructíferos generados en cada semana y según tratamiento (% de inóculo/sustrato) 64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Cuadro de operacionalización de variables..... 40

Tabla 2: Arreglo experimental para la variable de respuesta cantidad de cuerpos fructíferos producidos por *Pleurotus ostreatus*..... 43

Tabla 3: Arreglo experimental para la variable de respuesta peso de cuerpos fructíferos producidos por *Pleurotus ostreatus*..... 44

Tabla 4: Correcciones para el análisis del ANOVA mixto 58

Tabla 5: Cantidad de cuerpos fructíferos 59

Tabla 6: Descriptivos sobre los datos generados para la cantidad de cuerpos fructíferos 60

Tabla 7: Pesos de cuerpos fructíferos..... 59

Tabla 8: Descriptivos sobre los datos generados para los pesos de cuerpos fructíferos. 63

Tabla 9: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk..... 65

Tabla 10: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene..... 66

Tabla 11: Prueba de esfericidad de Mauchly 67

Tabla 12: Prueba de efectos intersujetos para la dosificación de inóculos 68

Tabla 13: Prueba de efectos intrasujetos para la influencia del tiempo 68

Tabla 14: Comparaciones por parejas 69

Tabla 15: Prueba de efectos intrasujetos de la interacción..... 71

Tabla 16: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk..... 71

Tabla 17: Prueba de homogeneidad de varianza de Levene..... 72

Tabla 18: Prueba de esfericidad de Mauchly 73

Tabla 19: Pruebas de efectos intersujetos 73

Tabla 20: Comparaciones múltiples 74

Tabla 21: Prueba de efectos intrasujetos 75

Tabla 22: Comparaciones por parejas 75

Tabla 23: Prueba de efectos intrasujetos 76

RESUMEN

La investigación denominada “Biodegradación de colillas de cigarro por el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*” tiene como objetivo determinar el efecto del desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro. Para ello se recolectó colillas de cigarro de los espacios públicos de las urbanizaciones El Retablo y San Agustín en el distrito de Comas; de estas, se usó 3,125 kg como sustrato para el desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus*. Para determinar el efecto de la dosificación del inóculo-grano/sustrato (5, 10, 15 y 20%) y el tiempo de desarrollo del tratamiento (13 semanas) sobre la producción de cuerpos fructíferos del *Pleurotus ostreatus*, se estableció un diseño factorial mixto (intersujetos e intrasujetos). Los resultados evidenciaron que en la quinta, sexta y séptima semana se produjo la mayor cantidad de cuerpos fructíferos (esto coincide con el inicio del desarrollo de esporomas del hongo) con diferencias significativas con el resto de las semanas ($F=24,414$ y $p<0.05$); también se determinó que la quinta semana fue la que obtuvo los pesos más altos de cuerpos fructíferos (esporomas) ($F=38,8$ y $p<0.05$). Además, se determinó que a una dosificación del 20 % inóculo-grano/sustrato se tiene efecto sobre los pesos de cuerpos fructíferos ($F=36,4$ y $p<0.05$). Se concluyó que el hongo *Pleurotus ostreatus* biodegrada las colillas de cigarrillo a través de su desarrollo.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, biodegradación, colillas de cigarro.

ABSTRACT

The research called "Biodegradation of cigarette butts by the development of *Pleurotus ostreatus*" aimed to determine the effect of the development of *Pleurotus ostreatus* on the biodegradation of cigarette butts. For this, cigarette butts were collected from the public spaces of the El Retablo urbanization and San Agustín urbanization in the Comas district, of which 3.125 kg was used as substrate for the development of the *Pleurotus ostreatus* fungus. To determine the effect of the inoculum-grain / substrate dosage (5, 10, 15 and 20 %) and the treatment development time (13 weeks) on the production of fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*, a mixed factorial design was established (intersubjects and intrasubjects). The results show that in the fifth, sixth and seventh weeks the highest number of fruiting bodies are produced (this coincides with the beginning of the development of sporomas of the fungus) with significant differences with the rest of the weeks ($F = 24.414$ and $p < 0.05$). It was also determined that the fifth week was the one that obtained the highest weights of fruiting bodies (sporomes) ($F = 38.8$ and $p < 0.05$). In addition, it was determined that at a dosage of 20% inoculum-grain / substrate there is an effect on the weights of fruiting bodies ($F = 36.4$ and $p < 0.05$). It is concluded that the fungus *Pleurotus ostreatus* biodegrades cigarette butts through its development.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, biodegradation, cigarette butts.

INTRODUCCIÓN

El impacto que generan las colillas de cigarrillo al ser desechadas sin tratamiento alguno es preocupante para la gestión de residuos sólidos de las municipalidades y urbanizaciones en todo el mundo. Buscar alternativas de tratamiento sostenibles y viables es uno de los desafíos de nuestra época.

En esta investigación, se evaluó el efecto del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarrillo. Para ello, en el primer capítulo enfocamos la problemática actual y su contexto con la población de estudio; en el segundo capítulo describimos las teorías y conceptos que dan soporte científico a esta investigación.

En el tercer capítulo se presentan las hipótesis a contrastar y se definen las variables que son operacionalizadas para poder ser medidas. En el cuarto capítulo se presentan los métodos usados para la presente investigación, así como los diseños experimentales que ayudarán a explicar los efectos que produce el *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarrillo. En el quinto capítulo se presentan los resultados que nos ayudarán a establecer la inferencia estadística. En el sexto capítulo se presenta la discusión de resultados a través de la contrastación de las hipótesis con los resultados generados. Finalmente, establecemos las conclusiones que obtuvimos y las recomendaciones para continuar con la línea de investigación respectivamente.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Se estima que la producción actual de cigarrillos es de 6 billones de unidades y se proyecta que para el año 2025 la producción aumente a 9 billones (Zafeiridou et al. 2018); de esta producción actual, aproximadamente 5,8 billones de cigarrillos se consumen cada año alrededor del mundo (Mohajerani et al. 2016).

Aproximadamente el 99 % de los cigarrillos consumidos contienen colilla de cigarro (CC) a base de acetato de celulosa de plástico (Novotny et al. 2009). Debido a esto, se generan grandes cantidades de residuos de CC; de ellas, solo el 25 % recibe tratamiento y el resto (aproximadamente 4,5 billones de colillas de cigarrillos) se desecha, lo que ocasiona un impacto al medio ambiente (Novotny & Slaughter, 2014).

El Perú no es ajeno al problema presentado: en el año 2019 un grupo de voluntarios de la ONG HAZla recolectaron 22,606 colillas de cigarrillos en las diferentes playas del territorio peruano, lo que nos revela la necesidad de tomar acción frente a esta situación (Hazla, 2019).

Las colillas de cigarrillos generan graves daños al medio ambiente (Kurmus & Mohajerani, 2020) ya que contienen más de 4000 sustancias tóxicas como acetato de celulosa, alquitrán, nicotina, tabaco, entre otros; estos representan serios riesgos para la salud de los seres vivos. Los químicos que se encuentran en la colilla de cigarro (acetato de celulosa) contaminan el suelo, las plantas, los animales y los cuerpos de agua hasta causar mortalidad y disminución de la actividad de estos organismos (Rahman & Mohajerani, 2020). Además, la

cremación de colillas de cigarrillos de desecho genera vapores peligrosos que llegan a ser perjudiciales para la salud pública.

Uno de las características más perjudiciales de la colilla de cigarrillo (acetato de celulosa) es que es un tipo de plástico que no se degrada fácilmente (toma 10 años); además puede romperse en pedazos más pequeños y persistir como microplásticos y nano plásticos por muchos años (Chevalier et al. 2018).

El tratamiento de los desechos de las colillas de cigarrillos suele ser muy costoso: recientemente un estudio de auditoría de basura de San Francisco encontró que el costo es de más de $7 millones anuales para mitigar el impacto (Rahman & Mohajerani, 2020). Además se sabe que los métodos convencionales como la incineración y la extracción con solventes, si bien ayudan al tratamiento de las colillas del cigarrillo, generan problemas ambientales (Peña González, 2017). Por ello es necesario buscar alternativas de tratamiento viables como tratamientos biológicos que pueden ayudar a degradar este tipo de residuos (colillas de cigarro).

La micorremediación, como tratamiento biológico, es una técnica sustentable que utiliza hongos para remover hidrocarburos aromáticos policíclicos nocivos, hidrocarburos de petróleo, compuestos orgánicos halogenados, colorantes, pesticidas y compuestos inorgánicos como metales pesados (Mathur & Gehlot, 2020).

Se sabe que el hongo *Pleurotus ostreatus* sirve para degradar plásticos oxo-biodegradables a través de su desarrollo y crecimiento, es por ello que podría ser una alternativa de solución eficaz para la biodegradación de las colillas de cigarrillo (Mallak, Lakzian, Khodaverdi, Haghnia, & Mahmoudi, 2020), ya que

tiene la capacidad de transformar, a través de mineralización y biotransformación, una amplia gama de contaminantes orgánicos que están presentes en las colillas de cigarrillo (Peña González, 2017).

Debido a todo lo mencionado se propone realizar el estudio de "Biodegradación de colillas de cigarro recolectadas en el distrito de Comas, Lima, Perú 2021, mediante el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*".

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el efecto del desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro?

1.2.2. Problemas específicos

P1: ¿Cuál es la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos?

P2: ¿Cuál es la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos?

P3: ¿Cuál es la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos?

P4: ¿Cuál es la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos?

P5: ¿Cuál es la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos?

P6: ¿Cuál es la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro.

1.3.2. Objetivos específicos

O1: Determinar la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

O2: Determinar la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

O3: Determinar la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

O4: Determinar la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

O5: Determinar la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

O6: Determinar la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

1.4. Limitantes de la Investigación

1.4.1. Teórico

Esta investigación se enmarca en la teoría de biorremediación, específicamente en el uso de conceptos que explican los mecanismos que usan los hongos para la biorremediación (micorremediación). Es importante recalcar que, para poder realizar la contrastación de los resultados con investigaciones similares, se realizó una búsqueda de información científica, gracias a la cual comprobamos que la línea de investigación (biodegradación de colillas de cigarrillo) abordada con la micorremediación (*Pleurotus ostreatus*) ha sido poco estudiada, lo que trajo como resultado una escasa producción científica que se presenta en los antecedentes y que, en su totalidad, son internacionales.

1.4.2. Temporal

El periodo de recolección fue durante los meses de marzo a octubre del 2019, debido a que en su mayoría las colillas de cigarrillo se encuentran esparcidas en los espacios públicos. Por otro lado, el tiempo de implementación del tratamiento con el hongo *Pleurotus ostreatus* duró aproximadamente 6 meses entre noviembre del 2019 hasta marzo del 2020.

1.4.3. Espacial

La investigación se realizó en la ciudad de Lima, distrito de Comas, en los espacios públicos de las urbanizaciones El Retablo y San Agustín; el distrito no cuenta con contenedores específicos para las colillas de cigarrillos.

1.5. Justificación de la investigación

1.5.1. Justificación legal

Esta investigación se justifica legalmente con base en la nueva ley de residuos sólidos, Nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos, D.L. N°1278, que considera al residuo sólido como un insumo para otras industrias.

1.5.2. Justificación ambiental

La investigación demostró que la aplicación adecuada del hongo *Pleurotus ostreatus* aplicada en la biodegradación de colillas de cigarrillo, permitiría mitigar el impacto que ocasionan las colillas de cigarrillos como residuos en los suelos del distrito de Comas, entonces esta investigación se justifica por el aporte a la conservación del medio ambiente y la viabilidad en su aplicación.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Korobushkin et al. (2020), en su estudio titulado “La especie de lombriz de tierra *Eisenia fetida* acelera la tasa de descomposición de las colillas de cigarrillos (CC) en la superficie del suelo” tuvieron como objetivo evaluar el efecto de la lombriz de tierra *Eisenia fetida* sobre la tasa de biodegradación de las colillas de cigarro. Para ello, el experimento tiene un diseño factorial completo con tres predictores categóricos: número CC (0, 1 y 3 por microcosmos); condición de fumador (colillas de cigarrillos fumados y no fumados) y dos niveles de enmienda de lombrices de tierra (0 y 4 por microcosmos). El experimento duró 70 días y no se observó ninguna mortalidad de lombrices de tierra inducida por la colilla de los cigarrillos. Como resultado se demostró que las lombrices de tierra pueden degradar de manera eficaz las colillas de cigarrillos fumadas y no fumadas independientemente de su potencial tóxico y simultáneamente reducir la actividad microbiana asociada.

Ruiz Ramos (2019) en su estudio titulado “Degradación de filtros de cigarro por medio de *Pleurotus ostreatus* var. crema BPR-1” tuvo como objetivo documentar la actividad de crecimiento de *Pleurotus ostreatus* var. crema BPR-1 sobre filtros de cigarro comúnmente conocidos como “colillas” para evaluar su biodegradación. El experimento consistió en realizar cinco cultivos con diferentes proporciones con respecto al sustrato, empleando viruta de pino y colillas recolectadas. Los cultivos se conformaban de 100 % viruta (control), 75 % de viruta – 25 % de colillas; 50 % de viruta – 50 % de colillas; 25 % de viruta – 75 % de colillas y por último 100 % de colillas. El método se basó en las prácticas

tradicionales de la biotecnología de macromicetos y se estableció un periodo de evaluación mensual por un cuatrimestre. Como resultados, se observó y determinó crecimiento micelial sobre el sustrato en cada una de las concentraciones, así como la degradación de los filtros y el crecimiento y desarrollo de esporomas.

Peña González (2017), en su tesis de posgrado titulada *Procesos de biorremediación en el tratamiento de residuos sólidos de cigarrillo*, tuvo como objetivo documentar el estado del arte de los procesos de biorremediación; para ello realizó una extensa revisión bibliográfica en términos generales sobre residuos sólidos, para posteriormente enfocarse en las colillas de cigarrillo (CC) y en su tratamiento empleando micorremediación. Se determinó, a través de un ensayo preliminar *in vitro* a escala de laboratorio, que las colillas de cigarro pueden ser utilizadas como sustrato para el crecimiento de una cepa comercial de *Pleurotus ostreatus*, y es preciso el empleo de carboximetilcelulosa en la fase de activación, pues favorece la adaptación del hongo a las colillas de cigarro.

Fournier, A., et al. (2016) Cada año, miles de filtros de cigarrillos se tiran al medio ambiente. Esta acumulación de basura puede viajar a entornos naturales. Las colillas de cigarrillos atrapan más de 400 toxinas no degradables, después de ser fumadas, y representan una amenaza para el medio ambiente y su ecosistema [1]. Los filtros de la mayoría de los cigarrillos están hechos de acetato de celulosa. La investigación ha encontrado que los filtros de cigarrillos que se dejan en el suelo y al sol solo se degradarán en 18 meses a 10 años (Wilson, 2010). El objetivo de este proyecto es encontrar una solución innovadora para descomponer estos filtros de cigarrillos. Nuestro equipo ha diseñado un sistema

de recolección de filtros de cigarrillos junto con un biorreactor de degradación de cigarrillos que es capaz de degradar anaeróbicamente el acetato de celulosa. Nuestra operación se enfocará en la implementación a pequeña escala con la ayuda de los jardineros en el campus Macdonald de la Universidad McGill. El biorreactor acelerará el proceso de degradación a 1 mes y producirá un biogás que podría usarse como combustible. Se construyó un prototipo para probar a pequeña escala utilizando frascos de vidrio y tuberías. Será necesario realizar más pruebas de toxicidad y calidad del gas para el análisis de nuestro sistema.

Updyke, R. (2014) en su tesis titulada “Biodegradación y viabilidad de tres especies de Pleurotus en filtros de cigarrillos” tuvo como objetivo evaluar la biodegradación y la viabilidad del cultivo de tres especies de hongos ostra (Pleurotus ostreatus, Pleurotus citrinopileatus y Pleurotus djamor) en tres sustratos de desechos de filtros de cigarrillos diferentes: filtros de cigarrillos intactos, filtros de cigarrillos mezclados y filtros de cigarrillos ahumados e intactos. Los filtros de cigarrillos son un residuo común y están hechos principalmente de acetato de celulosa. Hongos ostra (Pleurotus spp.) han demostrado degradar polímeros sintéticos similares al acetato de celulosa. En el experimento, los sustratos se inocularon con semilla de hongos y se colocaron en una cámara de crecimiento mantenida a 24ºC. Después de un período de seis semanas, se calculó la colonización del área superficial del micelio, la calidad observada y la biodegradación en peso. Todas las especies tenían una biodegradación acelerada en comparación con una biodegradación natural estimada del 25% durante seis semanas. P. djamor tuvo los hongos de mayor calidad y el sustrato de filtro de cigarrillos mezclado tenía el porcentaje de

colonización más alto. Los costos asociados con la adquisición de filtros de cigarrillos pueden aumentar rápidamente las métricas de equilibrio y pueden hacer que una empresa no sea comercialmente viable. Se necesitarían inversiones directas o subvenciones gubernamentales para la sostenibilidad para mantener con éxito una pequeña operación en crecimiento. Los países con un IDH (índice de desarrollo humano) bajo se beneficiarían enormemente de estos métodos. La seguridad de los hongos para el consumo debe investigarse en estudios adicionales. En general, P. djamor debe investigarse más a fondo como un hongo con un posible valor económico para degradar los desechos del filtro de cigarrillos.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Biorremediación

El concepto de biorremediación se utilizó por primera vez a gran escala en 1972 para la limpieza del derrame del oleoducto Sun Oil en Ambler, Pensilvania (Kumar et al., 2015). La biorremediación se define como un fenómeno colectivo que involucra procesos en donde se utilizan sistemas biológicos para restaurar o limpiar sitios contaminados (Vishwakarma et al. 2020).

A. Tipos de biorremediación

Según el sitio de aplicación, los principios, las ventajas, las limitaciones y las posibles soluciones, la biorremediación se puede clasificar en los siguientes tipos:

i. Técnicas de biorremediación ex situ

Estas técnicas implican básicamente la excavación de las muestras y el tratamiento se realiza lejos de los sitios contaminados, lo que resulta en el alto costo y la alteración de los sitios naturales (Ying, 2018). El ejemplo más común de biorremediación *ex situ* es el compostaje, que es la degradación de productos de desecho orgánicos en presencia de microorganismos, típicamente a temperaturas elevadas que oscilan entre 55 ° C y 65 ° C (Das & Dash, 2014).

ii. Técnicas de biorremediación in situ

La biorremediación *in situ* es la aplicación de un tratamiento biológico *in situ* para eliminar los compuestos letales presentes en el medio ambiente. Algunas de las prácticas de biorremediación in situ se han analizado a continuación:

- *Bioparging***:** esta estrategia aumenta las concentraciones de oxígeno en las aguas subterráneas para mejorar la tasa de degradación biológica y

volatilización de contaminantes con la ayuda de bacterias naturales mediante la inyección de aire a presión por debajo del nivel freático (Artiola et al. 2004).

- *Bioventing*: promueve la biodegradación *in situ* natural de cualquier compuesto aeróbicamente degradable al suministrar oxígeno a los microorganismos del suelo existentes con una tasa de flujo de aire baja, con lo que asegura suficiente oxígeno para mantener la actividad microbiana. El oxígeno se inyecta directamente en la contaminación residual del suelo mediante pozos. En adelante, los residuos de combustible absorbidos junto con otros contaminantes se biodegradan y los compuestos volátiles también se biodegradan a medida que los vapores se mueven lentamente a través del suelo biológicamente activo (Das & Dash, 2014)
- Bioaumentación: es una técnica de biorremediación que involucra un grupo de cepas microbianas naturales o una cepa modificada genéticamente para el tratamiento de suelo o agua contaminados. Generalmente, se aplica en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales para reactivar biorreactores de lodos activados. Los sitios que tienen suelo y agua subterránea contaminados con etanos clorados, como tetracloroetileno y tricloroetileno, se aplican con bioaumentación para asegurarse de que los microorganismos *in situ* puedan descomponer absolutamente estos contaminantes en etileno y cloruro, que son de naturaleza no tóxica (Das & Dash, 2014).
- Bioapilamiento: es una tecnología a gran escala en la que los suelos excavados se amontonan en pilas y se biorremedian aún más en condiciones de aireación robusta (Germaine et al. 2015). Los contaminantes se degradan aún más a CO2 y agua. Un sistema de biopilas elemental consta de una cama de

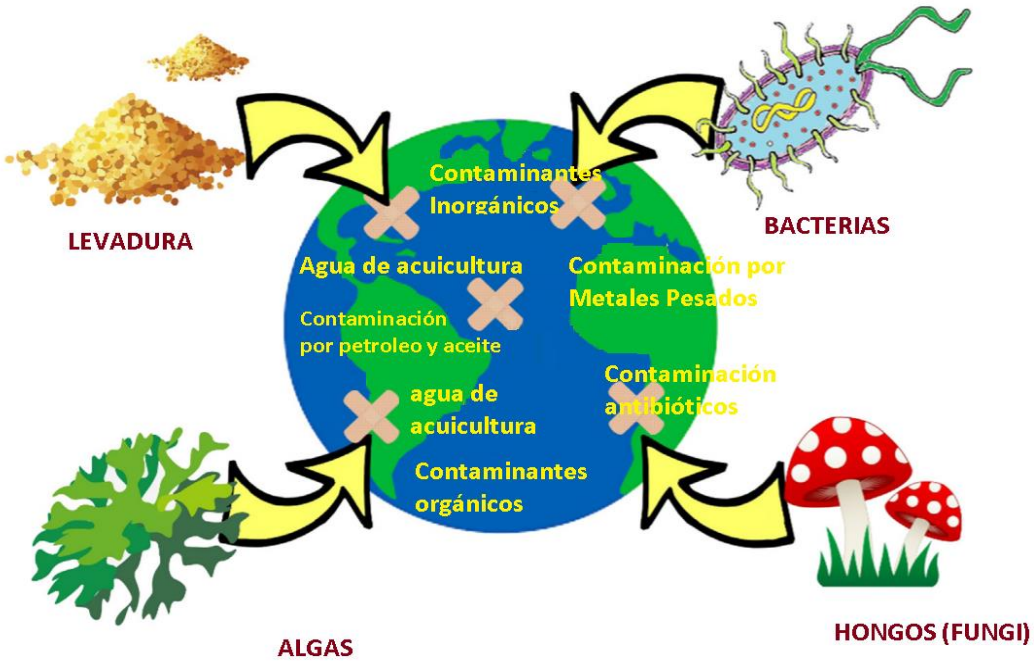
tratamiento, un sistema de aireación, un sistema de riego y un sistema de recolección de lixiviados (Das & Dash, 2014). Los factores ambientales como la humedad, el calor, los nutrientes, el oxígeno y el pH que pueden afectar el proceso de biorremediación también se monitorean y controlan para aumentar la biodegradación. El sistema de riego / nutrientes se fija de manera que se cubra bajo el suelo para que pase el aire circulante y los nutrientes por vacío o presión positiva.

B. Tipos de microorganismos utilizados en la biorremediación

Los microorganismos juegan un papel importante en la biorremediación como biosorbentes, biocatalizadores y bioacumuladores como se muestra en la figura 1. Algunas de las categorías se discuten brevemente a continuación.

Figura 1

Uso de microorganismos en la biorremediación



Nota: Adaptado de Pal et al. (2020)

Bacterias: las bacterias son muy útiles para la biorremediación. Son biosorbentes cruciales para el tratamiento de ecosistemas contaminados con metales pesados, ya que tienen la capacidad de propagarse en condiciones controladas y también pueden soportar condiciones ambientales extremas (Srivastava & Dwivedi, 2015). En las bacterias Gram positivas, la pared celular está conformada por capas de peptidoglicano que contienen alanina, ácido glutámico y ácido teicoico, mientras que las paredes celulares de las bacterias Gram negativas contienen enzimas, glicoproteínas, lipopolisacáridos, lipoproteínas y fosfolípidos (Ayangbenro & Babalola, 2017), las que sirven como sitios activos para la unión de iones de metales pesados que, en consecuencia, dan como resultado la remediación de metales pesados del medio ambiente contaminado (Gupta & Premapuri, 2015).

Hongos (micorremediación): el uso de hongos para la biorremediación de sitios contaminados tiene ventajas al absorber contaminantes en su micelio, además de actuar como biocatalizadores.

Algas (cianorremediación): se ha demostrado que las algas son muy eficaces para la bioacumulación de metales pesados y la degradación de xenobióticos (Suresh & Ravishankar, 2004). El proceso de biorremediación de algas atrajo la atención de los investigadores a lo largo de los años, ya que juega un papel vital en la fijación de dióxido de carbono y también es una biomasa muy ventajosa para la producción de biocombustible (Huang et al. 2010).

Levaduras: las levaduras pueden ser la alternativa más ubicua para la biorremediación de metales pesados del ambiente contaminado, ya que tienen

la capacidad de soportar una amplia gama de condiciones ambientales (Abbas & Badr, 2015). Sus paredes tienen una carga negativa y son capaces de unirse con cationes de metales pesados probablemente debido a interacciones electrostáticas (Fukudome et al., 2002).

2.2.2. Micorremediación

La micorremediación es el uso de hongos para la remediación de ambientes contaminados. Como los hongos tienen la capacidad de absorber metales pesados en su micelio y esporas, actúan como biocatalizadores robustos para la biorremediación de metales pesados. Su *modus operandi* para la biorremediación de iones metálicos es la acumulación, precipitación intracelular y extracelular y transformación de valencia. Ciertamente, los hongos son los únicos organismos de la Tierra que son capaces de descomponer la madera. El micelio de los hongos emana poderosas enzimas extracelulares y ácidos capaces de descomponer la lignina y la celulosa (S. Gupta, Wali, Gupta, & Annepu, 2017).

Un ejemplo de micorremediación es la cepa de *Rhizopus oryzae* CDBB-H-1877 que tiene la capacidad de biosorción del pentaclorofenol a través del proceso de metilación y decloración (León-Santiesteban, Wrobel, Revah, & Tomasini, 2016). La mayoría de los hongos de la clase zygomycetes y Aspergillus sp. han sido validados por transmitir la propiedad de decolorar y desintoxicar las aguas residuales textiles. Varios hongos notables como *Penicillium chrysogenum, Scedosporium apiospermum, Penicillium digitatum y Fusarium solani* son descritos por sus capacidades de degradación de bifenilos policlorados (PCB) (Tigini et al. 2009).

2.3. Conceptual

2.3.1. Colillas de cigarro (CC).

A. Historia de las colillas de cigarrillo

El tabaco se consumió por primera vez en forma de puros o masticando tabaco a finales del siglo XIX y principios del XX. Sin embargo, a finales del siglo XX, los cigarrillos se convirtieron en el método preferido para fumar tabaco debido al bajo costo y la eficiencia en la absorción de nicotina (Wallace et al. 2007). Ahora, el tabaco es una de las sustancias adictivas más utilizadas en el mundo: crece en al menos 124 países y ocupa más de 4,3 millones de hectáreas de tierra, lo que equivale a toda la huella de tierra de Suiza (Eriksen, Mackay, Schluger, Gomeshtapeh, & Drope, 2015). En 1950, comenzaron a aumentar las preocupaciones sobre los efectos del tabaquismo en la salud. Los investigadores encontraron una conexión estadística entre el tabaquismo y el cáncer de pulmón, y se publicó un número significativo de artículos en revistas médicas y académicas que abordaban sus efectos negativos en la salud. Tras estos hallazgos, la industria tabacalera respondió fabricando cigarrillos con filtro y con bajo contenido de alquitrán (Hoffmann Ilse, 1997). El alquitrán es una de las partículas químicas tóxicas que quedan después de quemar tabaco y constituye el principal riesgo para la salud asociado con el tabaquismo, incluido el cáncer, mientras que la nicotina es la sustancia química que causa la adicción. El filtro proporciona una boquilla para los fumadores y evita la liberación de copos de tabaco en la boca del fumador (Kurmus & Mohajerani, 2020).

Después de las modificaciones realizadas a los cigarrillos, el rendimiento de nicotina por cigarrillo fumado disminuyó de 2,7 a 0,85 mg, y el rendimiento de

alquitrán disminuyó de 38 a 12 mg durante el período de 1953 a 1996. La cuota de mercado de los cigarrillos con filtro pasó del 5 % en 1953 al 20 % en 1955 y, en 1975, el 90 % de los cigarrillos fabricados contenían filtros (Giovino, 2002).

B. Composición de las colillas de cigarro

La composición moderna de un cigarrillo consiste en un filtro, papel de fumar, tabaco, papel de boquilla y aditivos, según se muestra en la siguiente figura:

Figura 2

Estructura del cigarrillo y sus componentes

Nota: Adaptado de Kurmus & Mohajerani, (2020)

i. Papel

El papel de boquilla, que estabiliza la boquilla de la saliva, se envuelve alrededor del filtro y contiene pequeños orificios de ventilación que permiten que el aire fresco se mezcle con el humo, diluyendo así la mezcla tóxica de sustancias químicas inhaladas. El papel de fumar está debajo del papel de boquilla y contiene la mezcla de tabaco, como se muestra en la figura 2. Sin

embargo, una vez que el CB se desecha en el medio ambiente, todavía quedarán cigarrillos y papel de boquilla. El papel puede tardar entre 3 y 5 meses en biodegradarse en condiciones ambientales (Kurmus & Mohajerani, 2020).

ii. Tabaco y aditivos

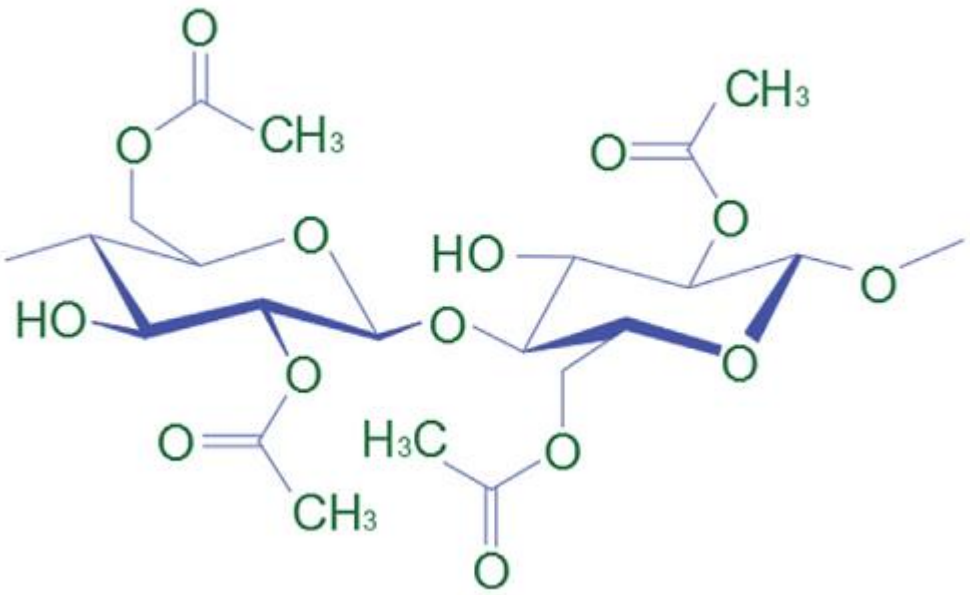
Los dos principales subgéneros del género botánico *Nicotiana* son *N. Rustica* y *N. Tabacum*, que son los principales tabacos comerciales (Hoffmann, Hoffmann, & El-Bayoumy, 2001). El *N. Tabacum* se cultiva como el principal cultivo de tabaco, que viene como tabaco curado al humo (tabaco de Virginia), curado al aire (tabaco burley), curado al aire ligero, curado al aire oscuro y curado al sol (tabaco oriental) (Tso, 1990). La composición de la mezcla de tabaco varía según las preferencias del país (Hoffmann et al., 2001). El proceso de fabricación del tabaco consta de muchas etapas, que incluyen el cultivo del tabaco, la recolección del tabaco, el curado de la hoja, el humedecimiento, el decapado, la clasificación, el acondicionamiento, el envejecimiento y, finalmente, la mezcla de las hojas. El procesamiento de las hojas produce varios subproductos, que se procesan por separado y luego se vuelven a agregar a la mezcla de cigarrillos. Además, se incorporan aditivos a la mezcla de tabaco, incluidos humectantes y aditivos aromatizantes. Los humectantes principales del tabaco para cigarrillos son glicerol y propilenglicol; su función es preservar la plasticidad y la humedad del cigarrillo y prevenir o retrasar el secado del tabaco. Si bien los aditivos de sabor comunes incluyen regaliz, sólidos de cacao y varios azúcares, estos aditivos actúan para enmascarar los ásperos sabores del humo (Hoffmann et al., 2001). Cuando un cigarrillo se desecha en el medio ambiente, pueden quedar residuos de tabaco sin quemar en la colilla.

iii. Filtros de acetato de celulosa

La celulosa es un polímero natural de glucosa ($C_6H_7O_6$) que se deriva principalmente de pulpa de madera y borras de algodón. Cada unidad de glucosa consta de tres grupos hidroxilo (OH), que pueden unirse por enlaces de hidrógeno a cadenas adyacentes; el resultado es un material resistente (Gilbert, 2017). Debido a las cadenas extendidas de celulosa, es casi imposible que los disolventes penetren. La única forma de procesar la celulosa es bloquear los grupos OH (enlace de hidrógeno) con grupos acetato. Por tanto, al esterificar la celulosa natural con ácido acético, se produce acetato de celulosa (figura 3) (Salama, Mohamed, Aboamera, Osman, & Khattab, 2018).

Figura 3

Estructura molecular del acetato de celulosa, que se utiliza en el filtro de una colilla de cigarro



Fuente: (Kurmus & Mohajerani, 2020)

El acetato de celulosa es el componente principal del filtro de colilla de cigarro. Por lo tanto, el alto grado de sustitución de acetato evita que la celulosa en los

CB ensuciados acceda a los microorganismos (bacterias, hongos, etc.) en el ambiente para la descomposición biológica (Robertson et al. 2012). La radiación ultravioleta (UV) también promueve la degradación del acetato de celulosa, sin embargo, el papel de boquilla restante en la CC inhibe la radiación UV de la luz solar que llega a las fibras de acetato de celulosa (Robertson et al., 2012). En última instancia, el papel se biodegrada y aumenta la exposición de la radiación UV al acetato de celulosa. Sin embargo, la composición del acetato de celulosa restringe la exposición de la luz solar a la superficie de las fibras. Además, los microorganismos del ambiente no aceptan el acetato de celulosa como fuente de alimento (Carollo & Grospietro, 2004). Por lo tanto, la desacetilación procede a través de la hidrólisis; sin embargo, la hidrólisis del acetato de celulosa es un curso lento en condiciones ambientales. Por lo tanto, en condiciones anaeróbicas, los CC pueden tardar entre 1 y 2 meses en el suelo, entre 6 y 9 meses en agua dulce y 12 meses o más en malas condiciones para que se degraden (Kurmus & Mohajerani, 2020).

C. Impacto ambiental de los residuos de colillas de cigarrillo:

Entre los residuos de colillas generados en el mundo, se estima que solo la tercera parte van a los tachos de residuos sólidos y los otros dos tercios son arrojados a la calle (National Geographic, 2019), por lo mismo que las personas de los países más desarrollados, o en vías de desarrollo, se han acostumbrado a botar estos residuos en la calle (Yañez, 2012). Incluso, haciendo un contraste, en varias ciudades del mundo la gente desde hace años recicla sus residuos domiciliarios. Sin embargo, extrañamente las colillas de cigarros son arrojadas

en cualquier parte: es cosa de ver cómo están esparcidas en las playas, veredas, bosques o cualquier lugar donde transita el público (Yañez, 2012).

Estas colillas de los cigarros, diseñadas para absorber la acumulación de vapores y partículas de humo, no son biodegradables ya que tardan muchos años en ser degradadas en el medio ambiente. Durante todo ese tiempo van liberando las sustancias que han retenido durante la combustión del cigarro (Pardo, 2013), y se sabe que una sola colilla de cigarro puede contaminar hasta 50 litros de agua.

2.3.2. Organismos degradadores de celulosa

El material celulósico es particularmente atractivo como fuente de carbono y energía debido a su bajo costo y su gran abundancia. Sin embargo, debido a su carácter recalcitrante solamente ciertos organismos (como bacterias y hongos) producen las enzimas necesarias para utilizarlo (Béguin & Aubert, 1994). Se han identificado dos importantes grupos con capacidades celulolíticas. El primero de ellos es el grupo anaeróbico, que comprende especies bacterianas y fúngicas habitantes de aguas residuales y el rumen y tracto intestinal de los animales herbívoros y algunos insectos como escarabajos y termitas (Cazemier et al., 2003). El segundo grupo incluye especies aeróbicas habitantes de los suelos, especialmente los boscosos, tales como las bacterias *Cellulomonas* (Elberson et al., 2000) y *Streptomyces* (Alani, Anderson, & Moo-Young, 2008), y los hongos basidiomicetos responsables de la pudrición de la madera (Baldrian & Valášková, 2008).

Sistemas celulolíticos

Los microorganismos encargados de la degradación de sustratos celulósicos producen múltiples enzimas que actúan en sinergismo directamente sobre la celulosa (Murashima, Kosugi, & Doi, 2003). Un tipo de enzimas de bacterias anaeróbicas actúan a través de un complejo multimérico asociado a la célula, en el que una proteína no catalítica sirve de andamio a las varias subunidades enzimáticas mediante interacciones proteína-proteína de tipo cohesina-dockerina. A este complejo se le conoce como celulosota (Bayer, Belaich, Shoham, & Lamed, 2004).

La hidrólisis enzimática de la celulosa implica la acción secuencial de un grupo de enzimas, conocidas como celulasas, que pertenecen a la superfamilia de las glicosilhidrolasas, llamadas así porque catalizan la hidrólisis del enlace glucosídico entre dos o más hidratos de carbono o entre estos y una fracción que no sea un hidrato de carbono.

Por otra parte, las celulasas de muchas otras bacterias aeróbicas y las fúngicas son solubles y actúan de forma independiente (Ng, 2004).

Pleurotus ssp.

Es un hongo comestible que está siendo estudiado ampliamente a nivel mundial desde diversos puntos de vista; actualmente su cultivo industrial y semi industrial recibe mucha atención debido a su habilidad para crecer en residuos lignocelulósicos en una variedad de desechos agrícolas.

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* iniciado en Europa, se ha ido extendiendo a Asia y E.U.A. y hace apenas unos años en América Latina. En México, en 1974

se inició su cultivo comercial, con cepas y tecnología europea, bajo el nombre comercial de "seta" *Pleurotus spp.;* por su fácil adaptación, manejo y bajos costos en el cultivo, es el hongo actualmente más explotado comercialmente y paulatinamente está desplazando en mercados internacionales a otras especies competitivas, como el champiñón, el shitake y otros (Guzmán, 2002).

2.3.3. Pleurotus ostreatus

A. *Generalidades**:* es un hongo saprofítico o parásito débil, descomponedor del grupo de la podredumbre blanca que crece de forma natural en árboles como alisos, balsos y arces, principalmente en los valles ribereños. La palabra *Pleurotus* viene del griego *pleuro*, que significa “formado lateralmente” o “en posición lateral”, lo que se refiere a la posición del estípite respecto al píleo. La palabra *ostreatus* en latín quiere decir “en forma de ostra” y, en este caso, se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructífero (Stamets, 2011).

Figura 4

Vista del hongo Pleurotus ostreatus

Nota: Google Chrome.

B. *Clasificación*: la taxonomía del *Pleurotus ostreatus* se muestra a continuación:

- Reino: Fungi
- Subreino: Fungi Superior
- División: Basidiomycota
- Subdivisión: Basidiomycota
- Clase: Himenomycetes
- Orden: Agaricales
- Familia: Trichoomataceas
- Género: Pleurotus
- Especie: Ostreatus

Pleurotus ostreatus es un típico hongo agarical, que a menudo se encuentra recubierto de una capa micelial en la base y presenta carne delgada y blanca.

C. ***Morfología:*** los miembros de esta especie se caracterizan por formar un cuerpo fructífero (basidioma, carpóforo o seta). A continuación, mencionaremos las principales partes que lo conforman.

Píleo***:*** es la sección del carpóforo en forma de sombrero que lleva y protege el himenóforo en formación. Su morfología varía durante el desarrollo de la fructificación y en algunas especies su forma es característica. Es necesario observar la forma del píleo en los estados jóvenes y adultos.

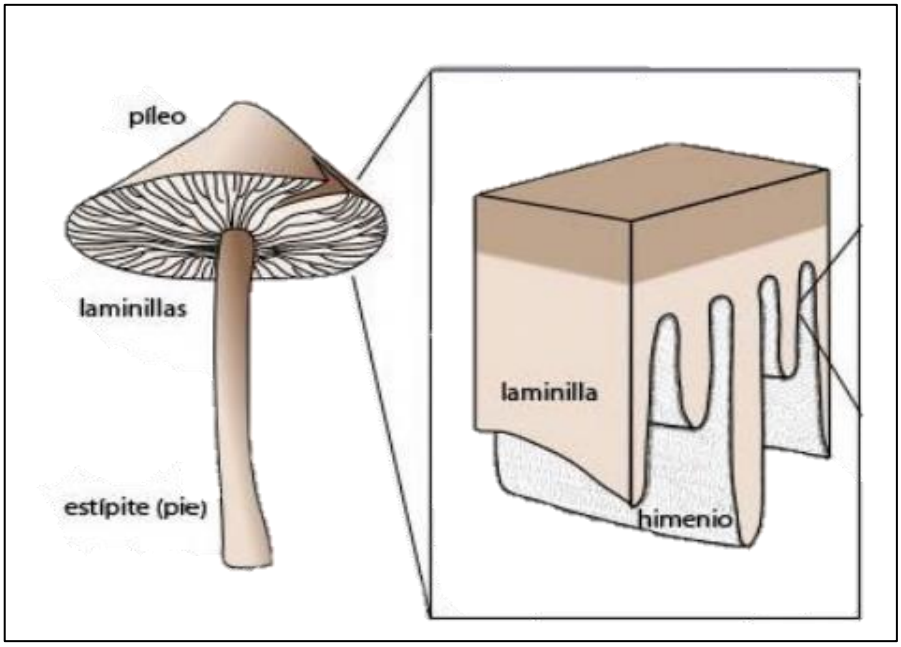
La superficie del sombrero está formada por una fina capa de células que conforman la cutícula. Puede ser lisa, brillante o mate, dependiendo de la humedad del carpóforo.

Estípite: es la fracción del cuerpo fructífero que sostiene al píleo. Su tamaño varía.

Al igual que el píleo, el estípite nos indica el tipo de crecimiento del cuerpo fructífero a través de restos de velo que quedan en él. La superficie puede variar y los colores se deben registrar antes y después de manipularlo (Stamets, 2011).

Figura 5

Esquema de un carpóforo típico con sus principales componentes.



Nota: Google Chrome

D. *Propiedades nutricional del Pleurotus ostreatus*:

El contenido nutricional de *Pleurotus ostreatus* presenta un alto valor nutritivo pues contiene minerales, vitaminas y proteínas. Igualmente presenta un sabor agradable que hace que sea apetecible en muchas regiones del mundo. Por su alto contenido proteínico, a este hongo se le llama “bistec vegetal”. Su proteína es asimilable y además presenta buenas características organolépticas (Fennema, 2000).

Este hongo posee bajo contenido de grasa y sodio, unido al relativamente alto contenido de potasio, lo cual hace que tenga también importancia para

padecimientos cardiovasculares y estados de hipertensión, así como para combatir la obesidad (Navarro, 2005). En él están presentes todos los aminoácidos esenciales; es una rica fuente de vitaminas y se han reportado contenidos de ácido ascórbico (vitamina C) en diferentes etapas de su desarrollo. Es rico en ergosterol y vitamina D, así como en minerales como fósforo, sodio, magnesio, calcio, hierro, manganeso, zinc y cobre (Potter & Hotchkiss, 1973).

2.4. Definición de términos básicos

Acetato de celulosa: es un monómero con la siguiente formula: $(CH_3CO)_2^o$. Se crea a partir de la celulosa de la pulpa de madera que se hace reaccionar con anhídrido acético en presencia de ácido sulfúrico, seguido de la hidrólisis parcial controlada en la que se eliminan el ácido sulfúrico y algunos grupos de ácido acético para lograr el grado de acetilación requerido (G. Wypych, 2016).

Biodegradación: la capacidad que tienen los microorganismos para degradar y/o desintoxicar los diversos contaminantes que existen en el medio ambiente (Vishwakarma et al., 2020).

Biorremediación: la biorremediación es el proceso en el que se utilizan microorganismos para degradar y eliminar contaminantes del medio ambiente. En otras palabras, la biorremediación es un procedimiento para la erradicación de los contaminantes ambientales del ecosistema mediante la aplicación de microbios para restaurar el ecosistema a su forma original (Pal et al., 2020).

Colillas de cigarrillo: están compuestas de filtros de acetato de celulosa, que están diseñados para retener total o parcialmente los componentes del humo del cigarro, incluidos el alquitrán y las sustancias químicas tóxicas (Vishwakarma et al., 2020).

Filtros de acetato de celulosa: los filtros de acetato de celulosa suponen el 99 % de la producción de cigarros y están compuestos de acetato de celulosa. Tienen poca biodegradabilidad y pueden tardar hasta 18 meses en descomponerse en condiciones ambientales normales, por lo que plantean un

serio dilema en términos de eliminación de desechos tóxicos y basura (Novotny et al., 2009).

Inóculo: término colectivo para referirse a los microorganismos o sus partes (esporas, fragmentos miceliales, etc.) capaces de provocar infección o simbiosis cuando se transfieren a un huésped. El término también se usa para referirse a los organismos simbióticos o patógenos transferidos por cultivo (Villalobos & Thorpe, 1991).

Inóculo-grano: También conocidos como “semillas”, son granos de gramíneas (arroz, cebada, maíz, trigo, etc.) invadidos por micelios de alguna especie de hongo libre de contaminantes. Este inóculo se aplica al sustrato (siembra) en el cual se desarrollan posteriormente los hongos (fructificación) (Villalobos & Thorpe, 1991).

***Pleurotus ostreatus*:** es un hongo saprofítico o parásito débil, descomponedor del grupo de la podredumbre blanca que crece de forma natural en árboles como alisos, balsos y arces, principalmente en los valles de los ríos. La palabra *Pleurotus* viene del griego *pleuro,* que significa “formado lateralmente” o “en posición lateral”, refiriéndose a la posición del estípite respecto al píleo. La palabra *ostreatus* en latín quiere decir “en forma de ostra” y en este caso se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructífero (Zhang, Dai, Kong, & Chen, 2012).

Setas: son una pequeña parte de un ser vivo más grande, el hongo. La relación hongo-seta sería la misma que árbol-fruto, con la diferencia de que veríamos las

cerezas a ras de suelo (salvo en hongos hipogeos, como la trufa) y el cerezo estaría bajo la superficie (Villalobos & Thorpe, 1991).

Sustrato: se aplica a todo material sólido distinto del suelo cuyo origen puede ser natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico y que, colocado en un contenedor, en forma pura o de mezcla, permite el anclaje del sistema radical, desempeñando, por lo tanto, un papel de soporte a la planta (Villalobos & Thorpe, 1991).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis general

Existe efecto significativo del desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro

3.1.2. Hipótesis específicas

H1. Existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

H2. Existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

H3. Existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

H4. Existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

H5. Existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

H6. Existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

3.2. Definición conceptual de variables

Variable independiente: desarrollo del *Pleurotus ostreatus*

Definida como la adaptación del hongo sobre un sustrato, esta adaptación se establece a través de diversos mecanismos que regulan la toxicidad de los contaminantes presentes en los sustratos.

Variable dependiente: biodegradación de colillas de cigarro

Definida como la descomposición o transformación de compuestos presentes en las colillas de cigarro que da como resultado un sustrato que puede ser usado en distintas aplicaciones.

3.2.1. Operacionalización de variables

A continuación, en el siguiente cuadro se presenta la operacionalización de variables:

Tabla 1

Cuadro de operacionalización de variables

Variable	Definición operacional	Dimensión	indicador	unidad	Tipo de variable
Variable Independiente: Desarrollo del *Pleurotus ostreatus*	La adaptación o desarrollo del *Pleurotus ostreatus* puede ser medida a través de su dosificación en el sustrato y el tiempo en el que este hongo se desarrolla.	Dosificación del *Pleurotus ostreatus* en el sustrato	% en peso de inóculo-grano (*Pleurotus ostreatus*) /sustrato (5, 10, 15 y 20%)	%	Categórica
		Tiempo de desarrollo	semanas de desarrollo (5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 semanas)	Semanas	Categórica
Variable Dependiente: Biodegradación de colillas de cigarro	La biodegradación puede ser medida indirectamente a través del desarrollo del organismo que se encarga de biodegradarlo.	Indicadores indirectos de biodegradación	Cantidad de cuerpos fructíferos	Unidad	Numérica cuantitativa
			Peso de cuerpos fructíferos	mg	Numérica cuantitativa

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo y diseño de la investigación

4.1.1. Tipo de investigación

La investigación es **Básica** y de **nivel explicativo**, ya que su intención es explicar la causalidad entre el desarrollo del *Pleurotus ostreatus* y la biodegradación de colillas de cigarro, y es del tipo **experimental puro** ya que existe manipulación de las variables independientes (% de inóculo/grano y tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus*) para observar sus efectos en la variable dependiente (cantidad y peso de cuerpos fructíferos producidos) (Mousalli-Kayat, 2015).

Según la intervención del investigador, la investigación es intervencionista (experimental).

Según la planificación de la toma de datos, la investigación es prospectiva (datos primarios).

Según el número de ocasiones que se mide la variable de estudio, la investigación es longitudinal (medición antes y después).

Según el número de variables de interés, la investigación es analítica.

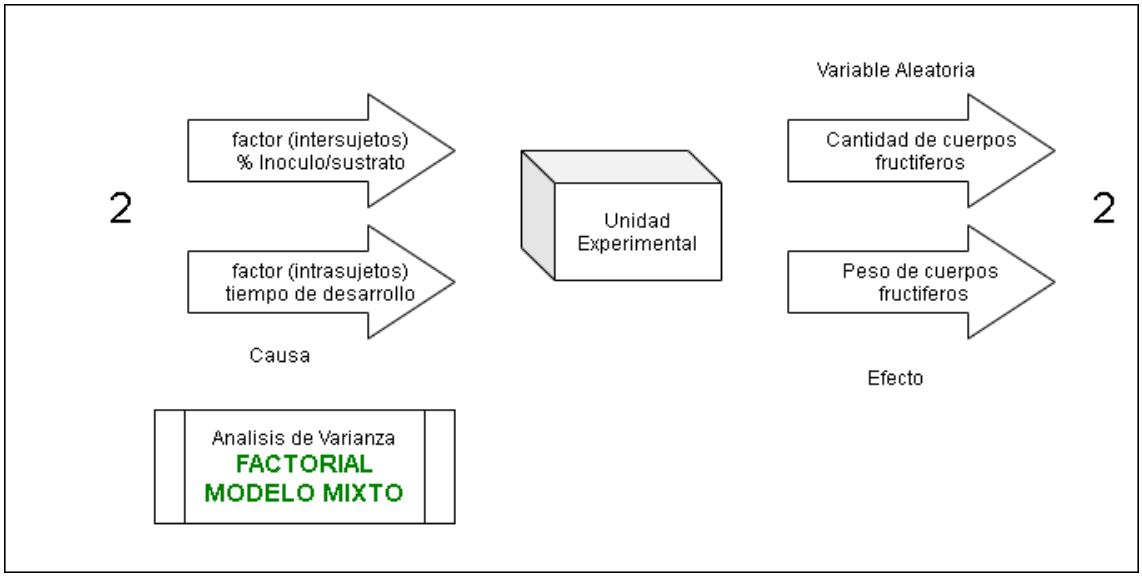
4.1.2. Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es experimental mixto, donde se usó un modelo analítico multivariado mixto (ver figura 6). Estos modelos o diseños mixtos se caracterizan por tener como variable independiente al menos a un factor intersujeto o muestra independiente (% de Inóculo/grano) y un factor intrasujeto

o muestra relacionada (tiempo de desarrollo de *Pleurotus ostreatus)* (Mousalli-Kayat, 2015).

Figura 6

Modelo analítico factorial mixto



A partir de este modelo con dos variables de respuesta, se establecieron las siguientes tablas (ver tablas 2 y 3) donde se muestran los arreglos entre las variables independientes (intersujetos e intrasujetos) con cada variable de respuesta o dependiente, teniendo en cuenta que para el factor % inóculo/sustrato se determinan 5 réplicas para poder hallar su varianza en torno a la media.

Tabla 2

Arreglo experimental para la variable de respuesta cantidad de cuerpos fructíferos producidos por Pleurotus ostreatus (indicador indirecto de biodegradación de colillas de cigarro)

Inter-sujetos		**Intra-sujetos**								
		Cantidad de cuerpos fructíferos producidos								
Tratamiento	**replicas**	**Semana 5**	**Semana 6**	**Semana 7**	**Semana 8**	**Semana 9**	**Semana 10**	**Semana 11**	**Semana 12**	**Semana 13**
5 % Inóculo – grano	1	4	1	4	3	0	0	0	0	0
	2	1	4	1	2	1	0	0	0	0
	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	4	3	6	2	0	0	1	0	0	0
	5	5	5	0	2	0	0	0	0	0
10 % Inóculo – grano	1	3	3	2	3	0	0	0	0	0
	2	3	1	1	0	1	0	0	0	0
	3	0	2	2	4	1	1	2	0	0
	4	4	3	2	4	0	0	0	0	0
	5	5	1	1	4	4	0	0	0	0
15 % Inóculo – grano	1	4	2	3	0	2	1	0	0	0
	2	4	1	2	2	1	0	0	0	0
	3	9	3	1	0	0	0	2	0	1
	4	4	3	5	0	1	0	0	0	0
	5	7	1	0	1	0	0	0	0	0
20 % Inóculo – grano	1	6	3	2	3	0	1	0	0	0
	2	7	1	3	0	1	1	1	2	0
	3	4	3	2	1	0	0	0	0	0
	4	6	2	4	1	0	2	0	1	0
	5	1	7	1	0	4	3	0	2	0

Tabla 3

Arreglo experimental para la variable de respuesta peso de cuerpos fructíferos producidos por Pleurotus ostreatus (indicador indirecto de biodegradación de colillas de cigarro)

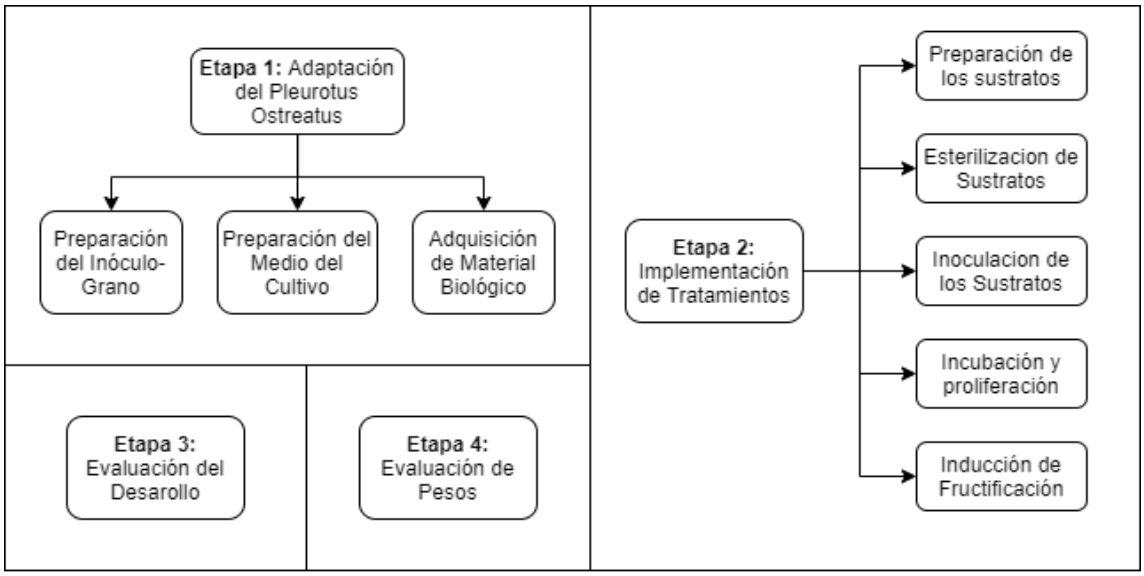
Inter - sujetos		**Intra – sujetos**				
		Peso de cuerpos fructíferos producidos				
Tratamiento	**replicas**	**Semana 5**	**Semana 7**	**Semana 9**	**Semana 11**	**Semana 13**
5 % Inóculo - grano	1	14.6	11	0	0	0
	2	9.9	12.2	1.7	0	0
	3	15.8	7	0	0	0
	4	15.5	3.1	1.5	0	0
	5	16.7	5.1	0	0	0
10 % Inóculo – grano	1	20.9	10.6	0	0	0
	2	18.6	2	2.3	0	0
	3	3.5	28	5.5	2.9	0
	4	13.6	18.4	0	0	0
	5	19.4	7.7	8.8	0	0
15 % Inóculo – grano	1	20.5	6.1	18.7	0	0
	2	20.7	16.2	2.5	0	0
	3	29.2	1.4	0	9.6	2.1
	4	32.2	8.5	5.5	0	0
	5	22.8	5.5	0	0	0
20 % Inóculo – grano	1	38.3	26.2	2.6	0	0
	2	18.7	10.3	14	13	0
	3	41.4	11.2	0	0	0
	4	29.8	28.4	3.6	1.4	0
	5	26.7	1.4	20	9	0

4.2. Método de investigación

Para la realización de esta investigación se establecieron diversas actividades, descritas en las siguientes etapas, según el flujograma de la siguiente figura:

Figura 7

Flujograma de etapas y actividades



Primera etapa*:* adaptación del *Pleurotus ostreatus.*

Preparación del material biológico (cepas de *Pleurotus ostreatus)*, preparación de medios de cultivo, preparación del inóculo-grano.

Segunda etapa: implementación de los tratamientos.

Preparación de los sustratos, esterilización de los sustratos, inoculación, incubación y proliferación, inducción de fructificación.

Tercera etapa*:* evaluación de la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

Cuarta etapa: evaluación de pesos de cuerpos fructíferos producidos.

4.2.1. **Etapa 1***: adaptación del Pleurotus ostreatus*

A. Adquisición de material biológico

Las cepas de *Pleurotus ostreatus* empleadas para este trabajo fueron donadas por el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales de la Universidad Nacional del Callao.

B. Preparación del medio de cultivo

Para preparar 300 ml de medio de cultivo, se utilizó los siguientes insumos y materiales:

i.Insumos y materiales

- 7.5 gramos Agar (Sabouraud dextrosa)
- Agua destilada
- Matraz Erlenmeyer con capacidad de 500 ml
- Trípode
- Rejilla
- Mechero Bunsen
- Tapón de algodón
- Placas de Petri
- Asa de siembra

Luego, para preparar el medio de cultivo se realizó el siguiente procedimiento.

ii.Procedimiento:

- **Paso 1:** se adicionaron 300 ml de agua destilada gradualmente con ayuda del mechero, el trípode y la rejilla; luego, se calentó la solución con la finalidad de homogenizar el medio de cultivo. Se colocó el tapón de algodón en la boca

del matraz y posteriormente se esterilizó en la autoclave a 121 °C y 15 libras de presión durante una (1) hora.

- **Paso 2:** para mantener un ambiente estéril previamente se desinfectó la superficie de trabajo con alcohol y se encendió el mechero para crear el halo de esterilidad para trasvasar el medio de cultivo en placas de Petri de diámetro de 9 cm. Una vez solidificado el medio, las placas se incubaron a 28 °C durante 24 h para prueba de esterilidad. Posteriormente se efectuó la revisión visual de las placas, las cuales no presentaron problemas de contaminación, se guardaron en papel craft y se refrigeraron.
- **Paso 3:** se inoculó las cepas de *Pleurotus ostreatus* respetando las condiciones de esterilidad anteriormente mencionadas; utilizamos un asa de siembra esterilizada en las placas que contenían el agar para ser incubadas y posteriormente inoculadas en la semilla.

Nota: el asa de siembra fue esterilizada flameando la punta en el mechero cada vez que se inoculó la cepa de *Pleurotus ostreatus* en cada placa (ver figura 8).

Figura 8

Medio de cultivo

Nota: a) dilución del agar en agua destilada, b) placas de Petri esterilizadas c) placas de Petri con agar y d) inoculación de cepas de *Pleurotus ostreatus*

C. Preparación de inóculo-grano

La elaboración del inóculo-grano se realizó con granos de cebada a los cuales se les retiró materia extraña luego se lavaron y remojaron durante 24 horas. Posteriormente se colocó 500 gramos de cebada en bolsas de polietileno (nombre comercial: bolsas de brillo). Se esterilizó en la autoclave a 121 °C y 15 libras de presión durante 1 hora. Luego se esperó hasta que se enfríe. Cuando el grano esterilizado alcanzó temperatura ambiente se inoculó con el cultivo de la cepa de *Pleurotus ostreatus* en el agar previamente preparado. Las bolsas de

500 gramos se incubaron a 28 °C durante 3 semanas hasta que el micelio invadió totalmente el grano (ver figura 9).

Figura 9

Preparación del inóculo-grano

Nota: a) cortado del agar con inóculo de *Pleurotus ostreatus*, b) colocación de inóculo en el grano de trigo, c) colocación en la incubadora y d) invasión del grano.

4.2.2. **Etapa 2***: implementación de tratamientos*

A. Preparación de los sustratos

Se utilizaron las colillas de cigarro como sustrato no convencional que se obtuvo mediante recolección manual de los espacios públicos de la urbanización San Agustín del distrito de Comas. Este sustrato se limpió y humedeció a temperatura ambiente en un recipiente de plástico 10 l. Luego se prepararon 25 de bolsas de polietileno (nombre comercial: bolsas de brillo) de capacidad de

150 gr cada una, que sirvieron para los tratamientos de 5 concentraciones diferentes y 5 repeticiones por cada una, incluyendo los blancos que sirvieron como control (ver figura 10).

Figura 10

Sustrato no convencional

B. Esterilización del sustrato

Pasado el tiempo de remojo a temperatura ambiente, se retiró el exceso de humedad del sustrato, luego se esterilizó en autoclave las 25 bolsas de polietileno con 150 gramos de colillas de cigarro cada una a 121 °C y 15 libras de presión durante 1 hora y se dejó enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente. Finalmente, se inoculó con el inóculo-grano de *Pleurotus ostreatus* (ver figura 11)

Figura 11

Esterilización del sustrato

Nota: a) secado del sustrato y b) esterilización del sustrato.

C. Inoculación de los sustratos

Se inoculó la semilla de *Pleorotus ostreatus* en diferentes pesos del sustrato (ver tabla 2 y 3). Se utilizaron 225 gr de inóculo y un total de 3750 g de sustrato húmedo (ver figura 12).

La inoculación de inóculo-sustrato de *Pleurotus ostreatus* se realizó de la siguiente manera:

- Concentración del inóculo al 5 % con respecto al peso del sustrato
- Concentración del inóculo al 10 % con respecto al peso del sustrato
- Concentración del inóculo al 15 % con respecto al peso del sustrato
- Concentración del inóculo al 20 % con respecto al peso del sustrato

Figura 12

Inoculación del sustrato

Nota: a) pesado del inóculo-grano, b) colocación del inóculo-grano en el sustrato y c) sustratos de diferentes tratamiento con inóculo-grano.

D. Incubación y proliferación

Para la incubación de los tratamientos inoculados fueron colocados dentro de una caja previamente desinfectada a temperatura ambiente, en condiciones de oscuridad para inducir la invasión del micelio del inóculo-grano de *Pleurotus ostreatus* en el sustrato por un periodo de dos semanas (ver figura 13 y 14).

Figura 13

Incubación de Hongos en Condiciones Oscuras

Nota: a) colocación en la caja para la incubación y b) caja con tratamientos a diferentes concentraciones.

Figura 14

Incubación de hongos en condiciones oscuras, primera y segunda semana de observación

Nota: a) primera semana de invasión del micelio y b) segunda semana de invasión del micelio.

E. Inducción de fructificación

Para inducir la fructificación del *Pleurotus ostreatus* se requirió cambiar las condiciones de iluminación, humedad y el recipiente que los contenía (ver figura 15 y 16).

- Los tratamientos estuvieron sometidos a iluminación natural.

- Una vez al día se agregó 15 ml de agua destilada por cada tratamiento para mantener la humedad en los sustratos.
- Se transfirió los tratamientos de las bolsas de polietileno a recipientes de plástico que fueron previamente desinfectados.

Figura 15

Inicio de proliferación

Nota: a) Inicio de proliferación y b) cinco días después de la proliferación.

Figura 16

Cambio de contenedor

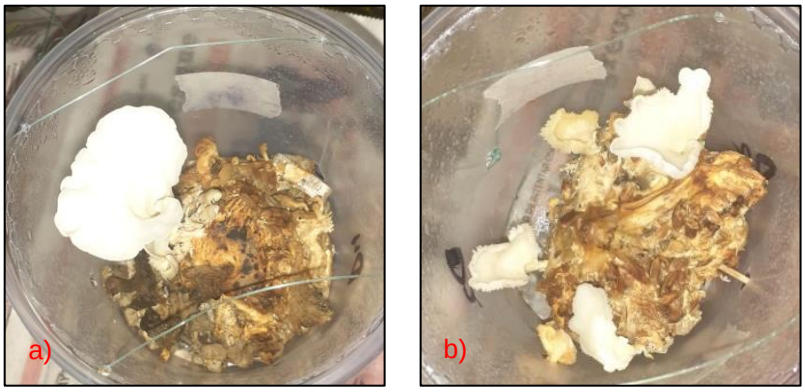
Nota: a) preparación de los contenedores para el traspaso y b) cambio de contenedor del sustrato D_3.

4.2.3. Etapa 3: evaluación del desarrollo

Durante el desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* se mantuvo la humedad de los tratamientos. Para ello, se agregó agua destilada por aspersión, así como se revisó dos veces por semana la fructificación de cada tratamiento y el conteo de cuerpos fructíferos que se encontraban en ese instante, los que fueron registrados (ver figura 17).

Figura 17

Evaluación del crecimiento



Nota: evaluación del crecimiento de cada sustrato. (Fuente: elaboración propia).

4.2.4. Etapa 4: evaluación de los pesos

Para determinar los pesos de los cuerpos fructíferos de los diferentes tratamientos, se trasladaron los cuerpos fructíferos en bolsa Ziploc en un cooler hacia la empresa Outsourcing Green S.A.C., donde se utilizó una balanza analítica con certificado de calibración.

Se realizó el pesado de los cuerpos fructíferos identificados de forma semanal de cada uno de los tratamientos.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

La población es desconocida desde el punto de vista numérico, ya que no se puede establecer cuántas colillas de cigarrillo son desechadas en los espacios públicos del distrito de Comas. Pero bajo un recuento se estima que la población diaria de colillas de cigarrillo generados en este distrito

La población del presente trabajo de investigación son las colillas de cigarro que se generan en los espacios públicos en el distrito de Comas.

4.3.2. Muestra

Se utilizaron 3.125 kg de colillas de cigarro como sustrato no convencional, que se obtuvo mediante recolección manual de los espacios públicos de las urbanizaciones San Agustín y El retablo en el distrito de Comas (ver Anexo N° 2).

4.4. Lugar de estudio y periodo de desarrollo

4.4.1. Lugar de estudio

Laboratorio de microbiología de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales de la Universidad Nacional del Callao.

4.4.2. Periodo de desarrollo

El periodo de recolección fue durante los meses de marzo a octubre del 2019, el tiempo de implementación del tratamiento con el hongo *Pleurotus ostreatus* y el procesamiento de datos duró aproximadamente 5 meses entre noviembre del 2019 hasta abril del 2020.

4.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.5.1. Técnicas de recolección de datos

La técnica de recolección de datos es la observación sistemática pues existe un instrumento.

4.5.2. Instrumentos de recolección de datos

A. Para determinar la cantidad de cuerpos fructíferos producidos

Instrumento: a través de un sistema de conteo, realizado manualmente por observación.

B. Para determinar el peso de los cuerpos fructíferos producidos

*Instrumento**:*** balanza analítica *con* certificado de calibración de la empresa Outsourcing Green S.A.C (marca: SARTORIUS, modelo: ENTRIS224-1S).

4.6. Análisis y procesamiento de datos

El diseño experimental (modelo analítico) es mixto, lo que nos permite seguir un análisis estadístico de la siguiente forma:

Primero: se determinó los supuestos de los datos obtenidos en las variables de respuesta respecto a las variables independientes (intersujetos e intrasujetos).

Supuestos para las muestras independientes (Intersujetos):

- Normalidad (prueba de Shapiro-Wilk para muestras menores a 50)
- Homogeneidad de varianzas
- Equivalencia de grupos
- Independencia de observaciones

Supuestos para las muestras relacionadas (intrasujetos)

- Pruebas de esfericidad

Segundo: según si se cumplen los supuestos, se determinó qué prueba estadística (ver tabla 4) nos ayudaría a interpretar los efectos intersujetos e intrasujetos en el análisis de varianza mixto (ANOVA mixto).

Tabla 4
Correcciones para el análisis del ANOVA mixto

Análisis para la corrección	**Cumplimiento de Supuestos**		
	Normalidad	**Equivalencia de muestras (Homogeneidad)**	**Esfericidad**
Traza de Pillai	NO	SÍ	SÍ
Raíz mayor de Roy	SÍ	NO	SÍ
Greenhouse-Geisser	SÍ	SÍ	NO
Límite Inferior	NO*	NO*	NO*

Nota: tomado de Montgomery, (1991).

Tercero: con la elección del análisis para la corrección de los supuestos, se determinó los efectos intrasujetos e intersujetos sobre las variables de respuesta.

Cuarto: una vez establecidos los efectos se realizó una prueba post-Hoc para determinar en qué grupos existen diferencias significativas.

Todo este proceso se llevó a cabo en el software estadístico SPSS.

V. RESULTADOS

5.1. Resultados descriptivos

5.1.1. Resultados mediciones de la cantidad de cuerpos fructíferos

Tabla 5

Cantidad de cuerpos fructíferos

Inter-sujetos		Intra-sujetos								
		Cantidad de cuerpos fructíferos producidos								
Tratamiento	**Réplicas**	**Semana 5**	**Semana 6**	**Semana 7**	**Semana 8**	**Semana 9**	**Semana 10**	**Semana 11**	**Semana 12**	**Semana 13**
5 % Inóculo - grano	1	4	1	4	3	0	0	0	0	0
	2	1	4	1	2	1	0	0	0	0
	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	4	3	6	2	0	0	1	0	0	0
	5	5	5	0	2	0	0	0	0	0
10 % Inóculo - grano	1	3	3	2	3	0	0	0	0	0
	2	3	1	1	0	1	0	0	0	0
	3	0	2	2	4	1	1	2	0	0
	4	4	3	2	4	0	0	0	0	0
	5	5	1	1	4	4	0	0	0	0
15 % Inóculo - grano	1	4	2	3	0	2	1	0	0	0
	2	4	1	2	2	1	0	0	0	0
	3	9	3	1	0	0	0	2	0	1
	4	4	3	5	0	1	0	0	0	0
	5	7	1	0	1	0	0	0	0	0
20 % Inóculo - grano	1	6	3	2	3	0	1	0	0	0
	2	7	1	3	0	1	1	1	2	0
	3	4	3	2	1	0	0	0	0	0
	4	6	2	4	1	0	2	0	1	0
	5	1	7	1	0	4	3	0	2	0

5.1.2. Resultados descriptivos de la cantidad de cuerpos fructíferos

En la siguiente tabla se presentan los resultados descriptivos de cada grupo en las diferentes semanas y según el tipo de tratamiento.

Tabla 6

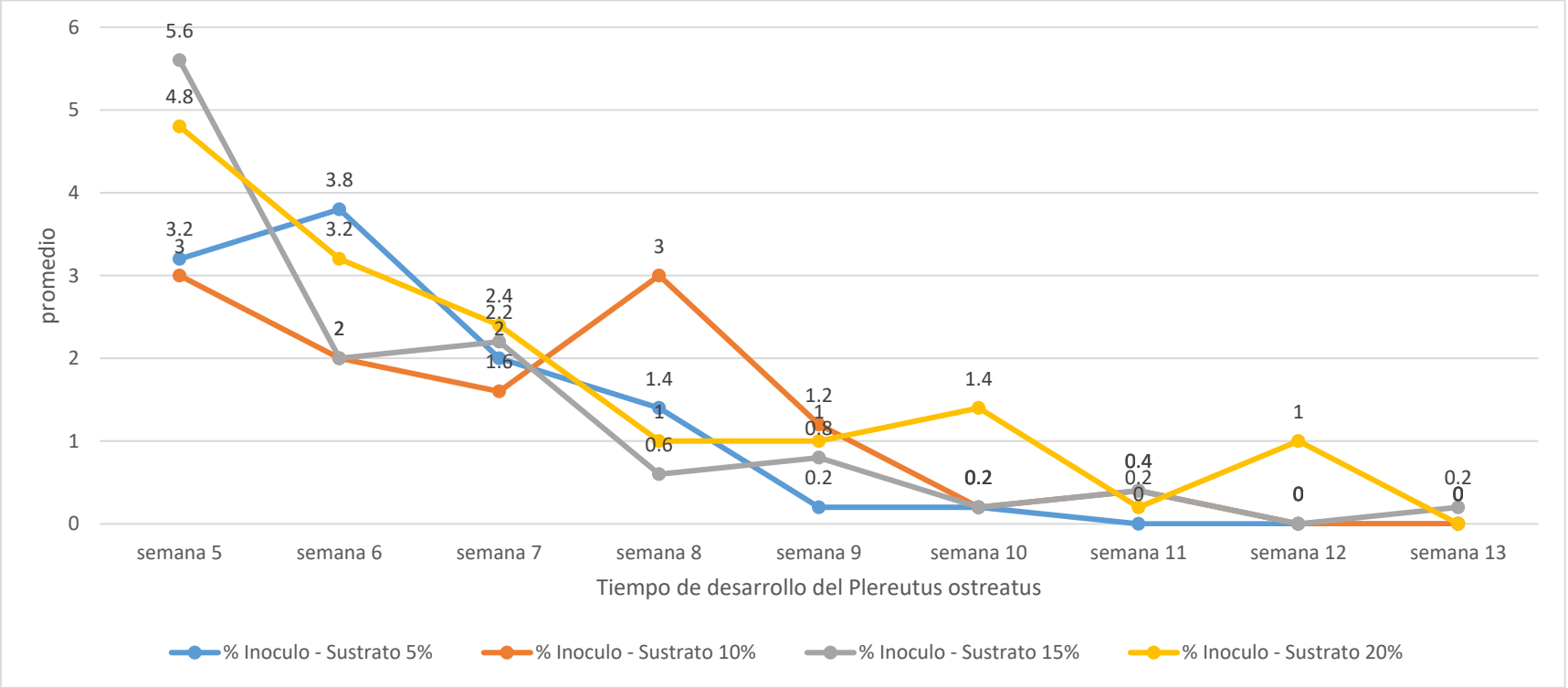
Descriptivos sobre los datos generados para la cantidad de cuerpos fructíferos

Periodo de conteo	% de Inóculo grano	Media	Desviación Estándar	Varianza	Mínimo	Máximo
Semana 5	5 %	3.20	1.483	2.200	1	5
	10 %	3.00	1.871	3.500	0	5
	15 %	5.60	2.302	5.300	4	9
	20 %	4.80	2.387	5.700	1	7
Semana 6	5 %	3.80	1.924	3.700	1	6
	10 %	2.00	1.000	1.000	1	3
	15 %	2.00	1.000	1.000	1	3
	20 %	3.20	2.280	5.200	1	7
Semana 7	5 %	2.00	1.581	2.500	0	4
	10 %	1.60	0.548	0.300	1	2
	15 %	2.20	1.924	3.700	0	5
	20 %	2.40	1.140	1.300	1	4
Semana 8	5 %	1.40	1.342	1.800	0	3
	10 %	3.00	1.732	3.000	0	4
	15 %	0.60	0.894	0.800	0	2
	20 %	1.00	1.225	1.500	0	3
Semana 9	5 %	0.20	0.447	0.200	0	1
	10 %	1.20	1.643	2.700	0	4
	15 %	0.80	0.837	0.700	0	2
	20 %	1.00	1.732	3.000	0	4
Semana 10	5 %	0.20	0.447	0.200	0	1
	10 %	0.20	0.447	0.200	0	1
	15 %	0.20	0.447	0.200	0	1
	20 %	1.40	1.140	1.300	0	3
Semana 11	5 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	10 %	0.40	0.894	0.800	0	2
	15 %	0.40	0.894	0.800	0	2
	20 %	0.20	0.447	0.200	0	1
Semana 12	5 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	10 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	15 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	20 %	1.00	1.000	1.000	0.0	2
Semana 13	5 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	10 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	15 %	0.20	0.447	0.200	0.0	1
	20 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

A continuación, en la siguiente figura se presentan los promedios de cantidad de cuerpos fructíferos generados en cada semana y según tratamiento.

Figura 18

Promedios de cantidad de cuerpos fructíferos generados en cada semana y según tratamiento (% inóculo/sustrato)



5.1.3. Resultados mediciones de los pesos de cuerpos fructíferos

Tabla 7

Pesos de cuerpos fructíferos

Inter – sujetos		**Intra – sujetos**				
		Peso de cuerpos fructíferos producidos				
Tratamiento	**Réplicas**	**Semana 5**	**Semana 7**	**Semana 9**	**Semana 11**	**Semana 13**
5 % Inóculo - grano	1	14.6	11	0	0	0
	2	9.9	12.2	1.7	0	0
	3	15.8	7	0	0	0
	4	15.5	3.1	1.5	0	0
	5	16.7	5.1	0	0	0
10 % Inóculo - grano	1	20.9	10.6	0	0	0
	2	18.6	2	2.3	0	0
	3	3.5	28	5.5	2.9	0
	4	13.6	18.4	0	0	0
	5	19.4	7.7	8.8	0	0
15 % Inóculo - grano	1	20.5	6.1	18.7	0	0
	2	20.7	16.2	2.5	0	0
	3	29.2	1.4	0	9.6	2.1
	4	32.2	8.5	5.5	0	0
	5	22.8	5.5	0	0	0
20 % Inóculo - grano	1	38.3	26.2	2.6	0	0
	2	18.7	10.3	14	13	0
	3	41.4	11.2	0	0	0
	4	29.8	28.4	3.6	1.4	0
	5	26.7	1.4	20	9	0

5.1.4. Resultados descriptivos de los pesos de cuerpos fructíferos

En la siguiente tabla se presentan los resultados descriptivos de cada grupo en las diferentes semanas y según el tipo de tratamiento.

Tabla 8

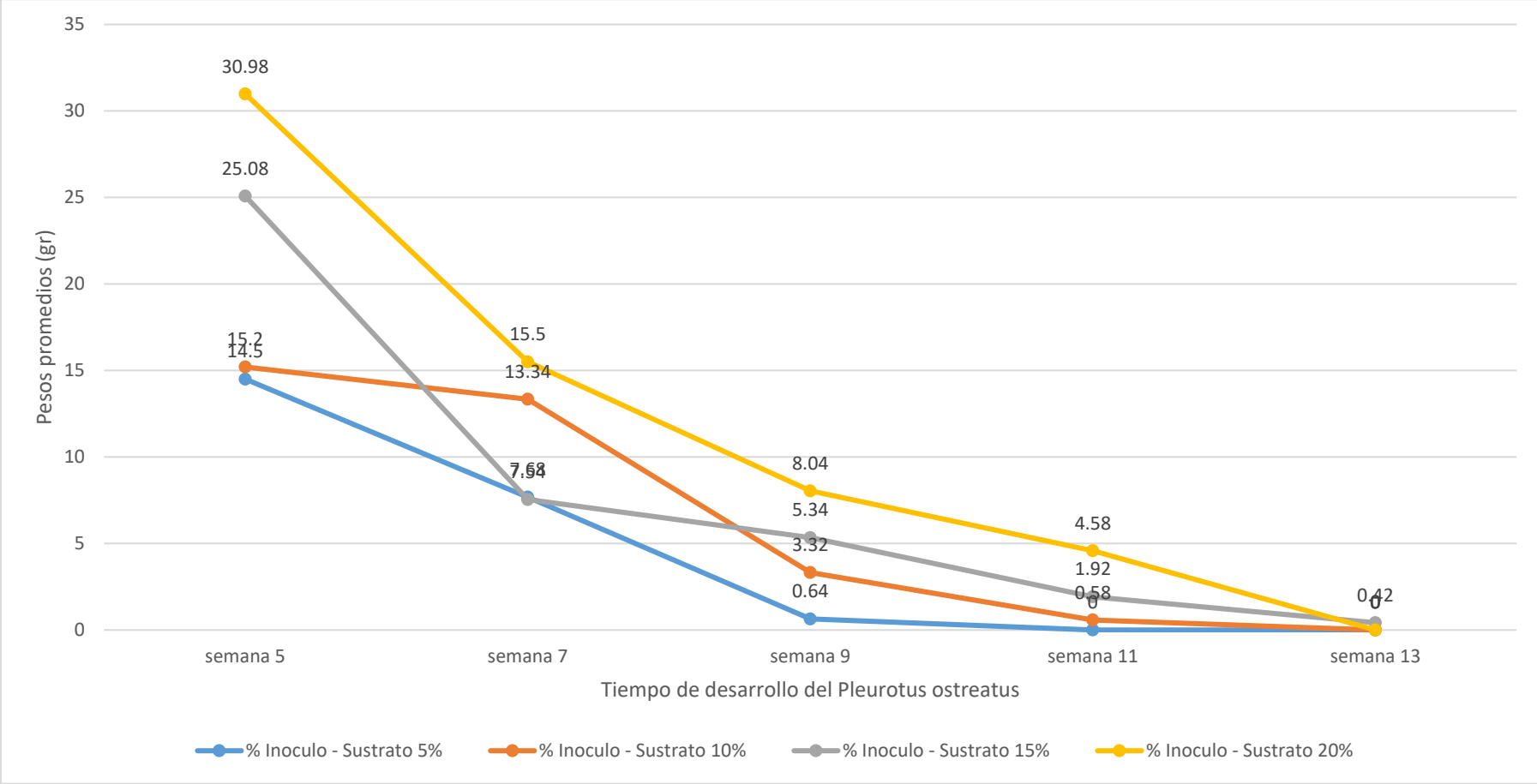
Descriptivos sobre los datos generados para los pesos de cuerpos fructíferos

Periodo de Conteo	% de inóculo grano	Media (gr)	Desviación Estándar	Varianza	Mínimo	Máximo
Semana 5	5 %	14.500	2.6786	7.175	9.9	16.7
	10 %	15.200	7.0912	50.285	3.5	20.9
	15 %	25.080	5.3157	28.257	20.5	32.2
	20 %	30.980	9.1196	83.167	18.7	41.4
Semana 7	5 %	7.680	3.8584	14.887	3.1	12.2
	10 %	13.340	10.1049	102.108	2.0	28.0
	15 %	7.540	5.4738	29.963	1.4	16.2
	20 %	15.500	11.4591	131.310	1.4	28.4
Semana 9	5 %	0.640	0.8792	0.773	0.0	1.7
	10 %	3.320	3.8036	14.467	0.0	8.8
	15 %	5.340	7.8040	60.903	0.0	18.7
	20 %	8.040	8.5515	73.128	0.0	20.0
Semana 11	5 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	10 %	0.580	1.2969	1.682	0.0	2.9
	15 %	1.920	4.2933	18.432	0.0	9.6
	20 %	4.580	5.8806	34.582	0.0	13.0
Semana 13	5 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	10 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	15 %	0.420	0.9391	0.882	0.0	2.1
	20 %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

A continuación, en la siguiente figura se presentan los promedios de los pesos de cuerpos fructíferos generados en cada semana y según tratamiento (porcentaje de inóculo – sustrato).

Figura 19

Pesos promedios de cuerpos fructíferos generados en cada semana y según tratamiento (% inóculo/sustrato)



5.2. Resultados inferenciales

Para los resultados inferenciales se comprobarán primero los supuestos de normalidad, homogeneidad de varianza, equivalencia de grupos, independencia de las observaciones de para el factor intersujetos (% de inóculo/sustrato). También se comprobará el supuesto de esfericidad para el factor intrasujetos (tiempo de desarrollo en semanas).

Según el cumplimento de estos supuestos, se elige la corrección de la tabla 4.

5.2.1. Comprobación de supuestos de muestras independientes (intersujetos) para los datos de cantidad de cuerpos fructíferos producidos

A. Supuesto de normalidad

En la siguiente tabla se muestran los resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, que se usa para muestras menores a 50.

Tabla 9

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk

Conteo de frutos por semana	% de Inóculo sustrato	Shapiro – Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Semana 5	5 %	0.956	5	0.777
	10 %	0.908	5	0.453
	15 %	0.773	5	0.048
	20 %	0.877	5	0.294
Semana 6	5 %	0.979	5	0.928
	10 %	0.821	5	0.119
	15 %	0.821	5	0.119
	20 %	0.860	5	0.228
Semana 7	5 %	0.987	5	0.967
	10 %	0.684	5	0.006
	15 %	0.979	5	0.928
	20 %	0.961	5	0.814
Semana 8	5 %	0.852	5	0.201
	10 %	0.701	5	0.010
	15 %	0.771	5	0.046
	20 %	0.833	5	0.146
Semana 9	5 %	0.552	5	0.000
	10 %	0.779	5	0.054
	15 %	0.881	5	0.314
	20 %	0.701	5	0.010
Semana 10	5 %	0.552	5	0.000

Conteo de frutos por semana	% de Inóculo sustrato	Shapiro – Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Semana 11	10 %	0.552	5	0.000
	15 %	0.552	5	0.000
	20 %	0.961	5	0.814
	5 %	0	5	0
	10 %	0.552	5	0.000
	15 %	0.552	5	0.000
	20 %	0.552	5	0.000
Semana 12	5 %	0	5	0
	10 %	0	5	0
	15 %	0	5	0
	20 %	0.821	5	0.119
Semana 13	5 %	0	5	0
	10 %	0	5	0
	15 %	0.552	5	0.000
	20 %	0	5	0

La prueba de Shapiro-Wilk para la distribución normal indica que no se cumple este supuesto en todos los grupos (F entre 0.0 y 0.987; gl: 5; p<0.05).

B. Supuesto de homogeneidad de varianzas

En la siguiente tabla se muestra los resultados de las pruebas de homogeneidad de varianzas de Levene.

Tabla 10

Prueba de homogeneidad de varianza de Levene

Conteo de frutos por semana	Estadístico de Levene	gl 1	gl 2	Sig.
semana 5	0.841	3	16	0.491
semana 6	0.813	3	16	0.505
semana 7	1.606	3	16	0.227
semana 8	0.486	3	16	0.697
semana 9	1.329	3	16	0.300
semana 10	2.861	3	16	0.070
semana 11	0.407	3	16	0.750
semana 12	16.000	3	16	0.000
semana 13	7.111	3	16	0.003

La prueba de Levene para la igualdad de varianzas indica que no se cumple este supuesto en todos los grupos (F entre 0.407 y 16.0; gl1: 3; gl2: 16; p<0.05).

C. Supuesto de equivalencia de grupos

Cada grupo formado consta de 5 observaciones (réplicas), por ello se cumple este supuesto.

D. Supuesto de independencia de observaciones

Cada observación es independiente pues pertenece a un grupo distinto en cada tratamiento según la dosificación o porcentaje de inóculo/sustrato (factor intersujetos).

5.2.2. Comprobación de supuestos de muestras relacionadas (intrasujetos) para los datos de cantidad de cuerpos fructíferos producidos

A. Prueba de esfericidad

En la siguiente tabla se muestran los resultados de las pruebas de esfericidad de Mauchly.

Tabla 11

Prueba de esfericidad de Mauchly

Efecto intrasujetos	W de Mauchly	Gl	Sig.
Tiempo de desarrollo	0.001	35	0.000

La prueba de esfericidad de Mauchly indica que no se cumple el supuesto de esfericidad (W de Mauchly 0.001, gl 35, $p<0.05$).

Se observa que no se cumplen con los supuestos de normalidad, ni de homogeneidad de varianza, ni el de esfericidad, por lo cual se debe usar como análisis correctivo la prueba de límite inferior (ver tabla 4).

5.2.3. Resultado de la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos

A continuación, se muestra la siguiente tabla para determinar los efectos intersujetos (% de inóculo/sustrato).

Tabla 12:

Prueba de efectos intersujetos para la dosificación de inóculos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
% de inóculo/sustrato	5.800	3	1.933	2.282	0.118

Se observa que la variable porcentaje de inóculo/sustrato no tiene efectos sobre la variable de respuesta (F=2,28 y p>0.05).

5.2.4. Resultado de la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos

A continuación, se muestra la siguiente tabla para determinar los efectos intrasujetos tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus*.

Tabla 13

Prueba de efectos intrasujetos para la influencia del tiempo

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tiempo de desarrollo	Límite inferior	308.900	1.000	308.900	24.414	0.000

Para el ANOVA mixto en cuanto a los efectos intrasujetos, la prueba límite inferior indica que hay diferencias significativas en la producción semanal de frutas (F=24,414 y p<0.05).

Una vez establecido que existen diferencias, se realiza la prueba *pos hoc* para determinar en qué grupos se encuentran dichas diferencias.

A. Prueba pos hoc para determinar entre que grupos se encuentran las diferencias significativas

A continuación, en la siguiente tabla se muestran los resultados de la prueba *pos hoc*, donde se comparan los grupos de dos en dos para determinar si existen diferencias entre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos en cada semana.

Tabla 14

Comparaciones por parejas

Cantidad de frutas semanal		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.[b]
Semana 5	Semana 6	1.400	0.688	1.000
	Semana 7	2.100	0.587	0.091
	Semana 8	2,650*	0.523	0.004
	Semana 9	3,350*	0.628	0.002
	Semana 10	3,650*	0.545	0.000
	Semana 11	3,900*	0.461	0.000
	Semana 12	3,900*	0.483	0.000
	Semana 13	4,100*	0.436	0.000
Semana 6	Semana 5	-1.400	0.688	1.000
	Semana 7	0.700	0.552	1.000
	Semana 8	1.250	0.522	1.000
	Semana 9	1,950*	0.409	0.008
	Semana 10	2,250*	0.324	0.000
	Semana 11	2,500*	0.400	0.000
	Semana 12	2,500*	0.369	0.000
	Semana 13	2,700*	0.364	0.000
Semana 7	Semana 5	-2.100	0.587	0.091
	Semana 6	-0.700	0.552	1.000
	Semana 8	0.550	0.436	1.000
	Semana 9	1.250	0.456	0.519
	Semana 10	1,550*	0.345	0.013
	Semana 11	1,800*	0.355	0.004
	Semana 12	1,800*	0.332	0.002
	Semana 13	2,000*	0.328	0.001
Semana 8	Semana 5	-2,650*	0.523	0.004
	Semana 6	-1.250	0.522	1.000
	Semana 7	-0.550	0.436	1.000
	Semana 9	0.700	0.434	1.000
	Semana 10	1.000	0.362	0.502
	Semana 11	1.250	0.335	0.066
	Semana 12	1.250	0.355	0.103
	Semana 13	1,450*	0.308	0.009
Semana 9	Semana 5	-3,350*	0.628	0.002
	Semana 6	-1,950*	0.409	0.008
	Semana 7	-1.250	0.456	0.519
	Semana 8	-0.700	0.434	1.000
	Semana 10	0.300	0.252	1.000
	Semana 11	0.550	0.343	1.000
	Semana 12	0.550	0.252	1.000

Cantidad de frutas semanal		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.[b]
Semana 10	Semana 13	0.750	0.300	0.852
	Semana 5	-3,650*	0.545	0.000
	Semana 6	-2,250*	0.324	0.000
	Semana 7	-1,550*	0.345	0.013
	Semana 8	-1.000	0.362	0.502
	Semana 9	-0.300	0.252	1.000
	Semana 11	0.250	0.203	1.000
	Semana 12	0.250	0.132	1.000
	Semana 13	0.450	0.166	0.552
Semana 11	Semana 5	-3,900*	0.461	0.000
	Semana 6	-2,500*	0.400	0.000
	Semana 7	-1,800*	0.355	0.004
	Semana 8	-1.250	0.335	0.066
	Semana 9	-0.550	0.343	1.000
	Semana 10	-0.250	0.203	1.000
	Semana 12	0.000	0.170	1.000
	Semana 13	0.200	0.122	1.000
Semana 12	Semana 5	-3,900*	0.483	0.000
	Semana 6	-2,500*	0.369	0.000
	Semana 7	-1,800*	0.332	0.002
	Semana 8	-1.250	0.355	0.103
	Semana 9	-0.550	0.252	1.000
	Semana 10	-0.250	0.132	1.000
	Semana 11	0.000	0.170	1.000
	Semana 13	0.200	0.122	1.000
Semana 13	Semana 5	-4,100*	0.436	0.000
	Semana 6	-2,700*	0.364	0.000
	Semana 7	-2,000*	0.328	0.001
	Semana 8	-1,450*	0.308	0.009
	Semana 9	-0.750	0.300	0.852
	Semana 10	-0.450	0.166	0.552
	Semana 11	-0.200	0.122	1.000
	Semana 12	-0.200	0.122	1.000

***** La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.
b: Ajuste para varias comparaciones: Benferroni.

Se puede evidenciar diferencias significativas entre los diferentes grupos formados por las semanas de desarrollo del *Pleurotos ostreatus* ($p<0.05$),

5.2.5. Resultado de la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos

A continuación, se muestra la siguiente tabla para determinar los efectos de la interacción entre el % de inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

Tabla 15

Prueba de efectos intrasujetos de la interacción

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% Inóculo/sustrato * Tiempo de desarrollo	Límite inferior	61.100	3.000	20.367	1.610	0.226

Se observa que no hay diferencias de acuerdo con la interacción entre el % de inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos (F=1,610 y P>0,05).

5.2.6. Comprobación de supuestos de muestras independientes (intersujetos) para los datos de pesos de cuerpos fructíferos producidos

A. Supuesto de normalidad

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los supuestos de normalidad; para ellos, se usa la prueba de Shapiro-Wilk, ideal para muestras menores a 50.

Tabla 16

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk

Peso de frutos por semana	% de Inóculo sustrato	Shapiro – Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Semana 5	5 %	0.806	5	0.090
	10 %	0.836	5	0.153
	15 %	0.855	5	0.209
	20 %	0.962	5	0.820
Semana 7	5 %	0.938	5	0.649
	10 %	0.966	5	0.849
	15 %	0.931	5	0.600
	20 %	0.903	5	0.429
Semana 9	5 %	0.720	5	0.015
	10 %	0.890	5	0.357
	15 %	0.777	5	0.052
	20 %	0.880	5	0.309
Semana 11	5 %	0.0	5	0.0
	10 %	0.552	5	0.000
	15 %	0.552	5	0.000

Peso de frutos por semana	% de Inóculo sustrato	Shapiro – Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Semana 13	20 %	0.826	5	0.131
	5 %	0.0	5	0.0
	10 %	0.0	5	0.0
	15 %	0.552	5	0.000
	20 %	0.0	5	0.0

La prueba de Shapiro-Wilk para la distribución normal indica que no se cumple este supuesto (F entre 0.0 y 0.966; gl: 5; p<0.05).

B. Supuesto de homogeneidad de varianzas

En la siguiente tabla se muestran los resultados de las pruebas de homogeneidad de varianzas de Levene.

Tabla 17

Prueba de homogeneidad de varianza de Levene

Peso de frutos por semana	Estadístico de Levene	gl 1	gl 2	Sig.
semana 5	2.329	3	16	0.113
semana 7	3.226	3	16	0.051
semana 9	4.313	3	16	0.021
semana 11	8.620	3	16	0.001
semana 13	7.111	3	16	0.003

La prueba de Levene para la igualdad de varianzas indica que no se cumple este supuesto (F entre 2.329 y 8.62; gl1: 3; gl2: 16; p<0.05).

C. Supuesto de equivalencia de grupos

Cada grupo formado consta de 5 observaciones (réplicas), por ello se cumple este supuesto.

D. Supuesto de independencia de observaciones

Cada observación es independiente pues pertenece a un grupo distinto en cada tratamiento según la dosificación o porcentaje de inóculo/sustrato (factor intersujetos).

5.2.7. Comprobación de supuestos de muestras relacionadas (intrasujetos) para los datos de pesos de cuerpos fructíferos producidos

A. Prueba de esfericidad

En la siguiente tabla se muestran los resultados de las pruebas de esfericidad de Mauchly.

Tabla 18

Prueba de esfericidad de Mauchly

Efecto intrasujetos	W de Mauchly	Gl	Sig.
Tiempo de desarrollo	0,02	9	0.000

La prueba de esfericidad de Mauchly indica que no se cumple el supuesto de esfericidad (W de Mauchly 0.02, gl: 9, $p<0.05$).

Se observa que no se cumplen con los supuestos de normalidad, ni de homogeneidad de varianza, ni el de esfericidad, por lo cual se debe usar como análisis correctivo la prueba de límite inferior (ver tabla 4).

5.2.8. Resultado de la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos

A continuación, se muestra la siguiente tabla para determinar los efectos intersujetos (% de inóculo/sustrato).

Tabla 19

Pruebas de efectos intersujetos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% de inóculo/sustrato	710.077	3	236,692	36,110	0.000

Se observa que la variable porcentaje de inóculo/grano tiene efectos sobre la variable de respuesta peso de cuerpos fructíferos producidos (F=36,4 y p<0.05).

A. Prueba pos hoc

A continuación, en la siguiente tabla se muestran los resultados de la prueba *pos hoc*, donde se comparan los grupos de dos en dos para determinar si existen diferencias sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos en cada tratamiento (% de inóculo/sustrato).

Tabla 20

Comparaciones múltiples

Porcentaje Inóculo/sustrato			**Diferencia de medias (I-J)**	**Desv. Error**	**Sig.**
HSD Tukey	5% Inóculo/sustrato	10 % Inóculo/sustrato	-1.924	0.7241	0.074
		15 % Inóculo/sustrato	-3,496*	0.7241	0.001
		20 % Inóculo/sustrato	-7,256*	0.7241	0.000
	10% Inóculo - sustrato	5 % Inóculo/sustrato	1.924	0.7241	0.074
		15 % Inóculo/sustrato	-1.572	0.7241	0.174
		20 % Inóculo/sustrato	-5,332*	0.7241	0.000
	15% Inóculo - sustrato	5 % Inóculo/sustrato	3,496*	0.7241	0.001
		10 % Inóculo/sustrato	1.572	0.7241	0.174
		20 % Inóculo/sustrato	-3,760*	0.7241	0.000
	20% Inóculo - sustrato	5 % Inóculo/sustrato	7,256*	0.7241	0.000
		10 % Inóculo/sustrato	5,332*	0.7241	0.000
		15 % Inóculo/sustrato	3,760*	0.7241	0.000

* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05

Se puede evidenciar que existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos formados por los porcentajes de inóculo – sustrato (p<0.05).

5.2.9. Resultado de la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos

A continuación, se muestra la siguiente tabla para determinar los efectos intrasujetos tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus*.

Tabla 21

Prueba de efectos intrasujetos

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tiempo de desarrollo	Límite inferior	6078,871	1.000	6078,871	38,8	0.000

Para el ANOVA mixto en cuanto a los efectos intrasujetos, la prueba límite inferior indica que hay diferencias significativas en la producción semanal de frutas (F=38,8 y p<0.05).

A. Prueba pos hoc para determinar entre qué grupos se encuentran las diferencias significativas

A continuación, en la siguiente tabla se muestran los resultados de la prueba *pos hoc*, donde se comparan los grupos de dos en dos para determinar si existen diferencias sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos en cada semana.

Tabla 22

Comparaciones por parejas

Cantidad de frutas semanal		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.[b]
Semana 5	Semana 7	10,425*	2.605	0.010
	Semana 9	17,105*	2.453	0.000
	Semana 11	19,670*	1.999	0.000
	Semana 13	21,335*	1.438	0.000
Semana 7	Semana 5	-10,425*	2.605	0.010
	Semana 9	6.680	2.657	0.230
	Semana 11	9,245*	2.307	0.010
	Semana 13	10,910*	1.889	0.000
Semana 9	Semana 5	-17,105*	2.453	0.000
	Semana 7	-6.680	2.657	0.230
	Semana 11	2.565	1.323	0.703
	Semana 13	4.230	1.395	0.079
Semana 11	Semana 5	-19,670*	1.999	0.000
	Semana 7	-9,245*	2.307	0.010
	Semana 9	-2.565	1.323	0.703
	Semana 13	1.665	0.771	0.462
Semana 13	Semana 5	-21,335*	1.438	0.000
	Semana 7	-10,910*	1.889	0.000
	Semana 9	-4.230	1.395	0.079

Cantidad de frutas semanal	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.[b]
Semana 11	-1.665	0.771	0.462

***** La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05
b: Ajuste para varias comparaciones: Benferroni.

Se puede evidenciar diferencias significativas entre los diferentes grupos formados por las semanas de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* (p<0.05).

5.2.10. Resultado de la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos

A continuación, se muestra la siguiente tabla para determinar los efectos de la interacción entre el % de inóculo/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

Tabla 23

Prueba de efectos intrasujetos

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% Inóculo/sustrato * Tiempo de desarrollo	Límite inferior	700.429	3.000	233.476	1.492	0.255

Se observa que no hay diferencias de acuerdo con la interacción entre el % de Inóculo/grano y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos (F=1,49 y P>0,05).

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados

6.1.1. Contrastación de la primera hipótesis específica

H_o: No existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

H_A: Existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

Según la tabla 12 se observa que la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato no tiene efectos sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos (F=2,28 y p>0.05); entonces ***se acepta la Hipótesis Nula*** **(Ho).**

6.1.2. Contrastación de la segunda hipótesis específica

H_o: No existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

H_A: Existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

Según la tabla 13 se observa que el tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* tiene efectos sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos (F=24,414 y p<0.05) entonces ***se acepta la Hipótesis Alterna*** **(H_A).**

Luego en la tabla 14 (comparaciones por parejas) se determina que las semanas 5, 6 y 7 son las que más producción de cuerpos fructíferos han tenido con respecto a las otras semanas (p<0.05); sin embargo, entre estas no se encuentran diferencias significativas para poder decidir cuál fue la que tuvo mayor producción (p>0.05).

6.1.3. Contrastación de la cuarta hipótesis específica

H_o: No existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

H_A: Existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

Según la tabla 19 se observa que la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato tiene influencia sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos (F=36,4 y p<0.05); entonces ***se acepta la Hipótesis Alterna*** **(H_A).**

Luego en la tabla 20 (prueba *pos hoc*) se determina que el tratamiento al 20 % de inóculo/sustrato tiene los mejores pesos de cuerpos fructíferos producidos, pues tiene diferencias significativas con todos los tratamientos restantes (p<0.05).

6.1.4. Contrastación de la quinta hipótesis específica

H_o: No existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

H_A: Existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

Según la tabla 21 se observa que el tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus*/sustrato tiene influencia sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos (F=38,8 y p<0.05); entonces ***se acepta la Hipótesis Alterna*** **(H_A).**

Luego en la tabla 22 (comparaciones por pareja) se determina que la semana 5 fue la que obtuvo mejores pesos de cuerpos fructíferos que todas las semanas, ya que tiene diferencias significativas con todas las demás semanas (p<0.05).

6.1.5. Contrastación de la tercera hipótesis específica

H_o: No existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

H_A: Existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.

Según la tabla 15 se observa que la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo no tiene influencia sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos (F=1,610 y P>0,05); entonces ***se acepta la Hipótesis Nula*** **(Ho).**

6.1.6. Contrastación de la sexta hipótesis específica

H_o: No existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.

H_A: Existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos.

Según la tabla 23 se observa que la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo no tiene influencia sobre los pesos de cuerpos fructíferos producidos (F=1,49 y P>0,05); entonces ***se acepta la Hipótesis Nula*** **(Ho).**

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares

En este estudio el hongo *Pleurotus ostreatus* pudo degradar colillas de cigarrillo, esto según Updyke, R. (2014), debido a que las colillas de cigarrillos contienen acetato de celulosa, un polímero que ha demostrado ser degradado por Hongos ostra (*Pleurotus ostreatus),* este mismo autor comparo el *Pleurotus ostreatus* con otros tipos de hongos ostra, en donde el *Pleurotus ostreatus* tuvo la menor calidad de hongos (peso y cantidad de cuerpos frutíferos) con respecto al *Pleurotus djamor.* Por otro lado autores como Peña González, (2017) y Ruiz Ramos (2019) también registraron el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* usando como sustrato colillas de cigarrillo. En cuanto al tiempo de degradación en este estudio se estimaron 13 semanas (90 dias) para degradar las colillas de cigarrillo; mientras que Korobushkin et al. (2020) demostro que especies como la lombriz de tierra aceleran las tasas de descomposicion de las colillas de cigarrillo en aproximadamente 70 dias, y Fournier, A., et al. (2016) acelero el proceso de degradacion de las colillas de cigarrill a un mes a travez de un tratamientos en reactores anaerobicos.

6.3. Responsabilidad ética

La presente investigación titulada “Biodegradación de colillas de cigarro por el desarrollo de *Pleurotus ostreatus*” se encuentra dentro de los principios y compromisos de responsabilidad ética según los reglamentos vigentes de la Universidad Nacional del Callao.

Del mismo modo, el desarrollo de la investigación se centra en teorías que han sido debidamente referenciadas, lo que evidencia la originalidad de este tema y trabajo.

CONCLUSIONES

- Se concluye que, para la cantidad de cuerpos fructíferos producidos, el tipo de tratamiento (% de inóculo sustrato) no tiene influencia sobre la producción de estos frutos; además, se pudo observar que las semanas donde se alcanzó las mayores producciones fueron la quinta, sexta y séptima (con medias entre 1.6 y 5.6 unidades), que corresponden a las semanas donde se inician los brotes de las cepas del *Pleurotus ostreatus*. Aunque la cantidad de cuerpos fructíferos producidos es un indicador indirecto de biodegradación de las colillas de cigarrillos, se demostró que el tiempo de desarrollo del tratamiento favorece la biodegradación de estas colillas de cigarrillos como sustrato para el hongo *Pleurotus ostreatus*.
- Se concluye que, para a los pesos de cuerpos fructíferos producidos, el tipo de tratamiento (% de inóculo sustrato) tiene efecto sobre estos pesos generados. Se demostró que el tratamiento con mayor porcentaje de inóculo sustrato (20 % inóculo-sustrato) genera los mayores frutos con los mejores pesos. Además, se concluye también que en la quinta semana se generan los pesos más altos de cuerpos fructíferos con respecto a las otras semanas de tratamiento; esto pone en evidencia que el hongo *Pleurotus ostreatus* puede biodegradar colillas de cigarro produciendo frutos con pesos que varían entre 14.5 y 30,98 gr en su mejor semana de producción.
- Se concluye que la biodegradación de colillas de cigarrillos, medida a través de cantidad y peso de cuerpos fructíferos generados por el *Pleurotus ostreatus*, fue mejor en la quinta semana de tratamiento, lo que coincide con el inicio de la fructificación.

- Por otro lado, la investigación aporta a la línea de investigación de la Biorremediación, ya que se comprueba la degradación de colillas de cigarrillo por organismos.

RECOMENDACIONES

La presente tesis ha formulado las siguientes recomendaciones:

1. Realizar la caracterización de los hongos que se lleguen a cosechar, ya que el hongo podría bioabsorber los metales pesados que las colillas de cigarro contienen. Al ser un hongo comestible, esos parámetros pueden ser comparados con los valores que aparecen en el códex alimentario de la FAO.
2. Analizar las concentraciones de acetato de celulosa al final de los tratamientos mediante ensayos de laboratorio.
3. Realizar la investigación considerando diferentes tipos de inóculo-grano como variables, con el objetivo de identificar el grano en que el *Pleurotus ostreatus* tiene mayor eficacia.
4. Realizar la experimentación controlando las variables intervinientes como temperatura y humedad para un desarrollo más óptimo del *Pleurotus ostreatus.*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, B. A., & Badr, S. Q. (2015). Bioremediation of some types of heavy metals by Candida spp. International Journal of Engineering and Technical Research, 3, 2454–4698.

Alani, F., Anderson, W. A., & Moo-Young, M. (2008). New isolate of Streptomyces sp. with novel thermoalkalotolerant cellulases. *Biotechnology Letters*, *30*(1), 123–126.

Artiola, J., Pepper, I. L., & Brusseau, M. L. (2004). *Environmental monitoring and characterization*. Elsevier.

Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2017). A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*(1), 94.

Baldrian, P., & Valášková, V. (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, *32*(3), 501–521.

Bayer, E. A., Belaich, J.-P., Shoham, Y., & Lamed, R. (2004). The cellulosomes: multienzyme machines for degradation of plant cell wall polysaccharides. Annu. Rev. Microbiol., 58, 521–554.

Béguin, P., & Aubert, J.-P. (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Reviews*, *13*(1), 25–58.

Carollo, P., & Grospietro, B. (2004). Cellulose acetates: properties and applications. In Plastic materials (pp. 335–352). Wiley-VCH Weinheim.

Cazemier, A. E., Verdoes, J. C., Reubsaet, F. A. G., Hackstein, J. H. P., van der Drift, C., & Den Camp, H. J. O. (2003). Promicromonospora pachnodae sp.

nov., a member of the (hemi) cellulolytic hindgut flora of larvae of the scarab beetle Pachnoda marginata. *Antonie van Leeuwenhoek*, *83*(2), 135–148.

Chevalier, Q., El Hadri, H., Petitjean, P., Bouhnik-Le Coz, M., Reynaud, S., Grassl, B., & Gigault, J. (2018). Nano-litter from cigarette butts: Environmental implications and urgent consideration. *Chemosphere*, *194*, 125–130.

Das, S., & Dash, H. R. (2014). Microbial bioremediation: A potential tool for restoration of contaminated areas. In Microbial biodegradation and bioremediation (pp. 1–21). Elsevier.

Elberson, M. A., Malekzadeh, F., Yazdi, M. T., Kameranpour, N., Noori-Daloii, M. R., Matte, M. H., … Sowers, K. R. (2000). Cellulomonas persica sp. nov. and Cellulomonas iranensis sp. nov., mesophilic cellulose-degrading bacteria isolated from forest soils. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50(3), 993–996.

Eriksen, M., Mackay, J., Schluger, N., Gomeshtapeh, F. I., & Drope, J. (2015). The Tobacco Atlas: Fifth Edtion. *American Cancer Society Inc., Atlanta, GA*.

Fennema, O. (2000). Química de los alimentos. 2da, Edición. *Editorial Acribia SA Zaragoza, España*.

Fournier, A., Debbagh, M. y Wang, S. (2016). Tratamiento metodológico de colillas de cigarrillos por descomposición biológica anaeróbica. *McGill.*

Fukudome, K., Sato, M., Takata, Y., Kuroda, H., Watari, J., & Takashio, M. (2002). Evaluation of yeast physiological state by Alcian blue retention. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, *60*(4), 149–152.

Germaine, K. J., Byrne, J., Liu, X., Keohane, J., Culhane, J., Lally, R. D., … Dowling, D. N. (2015). Ecopiling: a combined phytoremediation and passive

biopiling system for remediating hydrocarbon impacted soils at field scale. *Frontiers in Plant Science*, *5*, 756.

Gilbert, M. (2017). Cellulose Plastics. In *Brydson's Plastics Materials* (pp. 617–630). Elsevier.

Giovino, G. A. (2002). Epidemiology of tobacco use in the United States. *Oncogene*, *21*(48), 7326–7340.

Gupta, S., Wali, A., Gupta, M., & Annepu, S. K. (2017). Fungi: An Effective Tool for Bioremediation. In Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives (pp. 593–606). Springer.

Gupta, V., & Premapuri, P. (2015). CSIR-Tech Private Limited: Facilitating Lab to Market Journey. *Indian Institute of Management Ahmedabad*.

Guzmán, G. (2002). *El cultivo de los hongos comestibles: con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agroindustriales*.

Hazla. (2019). Actualidad Ambiental. Retrieved from https://www.actualidadambiental.pe/este-2019-hazla-por-tu-playa-recolecto-20-toneladas-de-residuos/

Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2014). Metodología de la investigación. Sexta Edición. Editorial Mc Graw Hill. México. 2014• Hernández, R. *Metodología de La Investigación. 6a Edición, Mc Graw Hill, México*.

Hoffmann Ilse, D. H. (1997). The changing cigarette, 1950-1995. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, *50*(4), 307–364.

Hoffmann, D., Hoffmann, I., & El-Bayoumy, K. (2001). The less harmful cigarette: a controversial issue. A tribute to Ernst L. Wynder. *Chemical Research in Toxicology*, *14*(7), 767–790.

Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., & Chen, G. (2010). Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, *87*(1), 38–46.

Korobushkin, D. I., Garibian, P. G., Pelgunova, L. A., & Zaitsev, A. S. (2020). The earthworm species Eisenia fetida accelerates the decomposition rate of cigarette butts on the soil surface. *Soil Biology and Biochemistry*, 108022.

Kumar, A., Govil, M., Singh, S., Sharma, K. K., Tripathi, S. K., Tiwari, R. K., … Singh, S. (2015). Role of Micro-Organisms in Bioremediation: A Comprehensive Model Using Trichoderma spp. In *Handbook of research on uncovering new methods for ecosystem management through bioremediation* (pp. 29–50). IGI Global.

Kurmus, H., & Mohajerani, A. (2020). The toxicity and valorization options of cigarette butts. *Waste Management*, *104*, 104–118.

León-Santiesteban, H. H., Wrobel, K., Revah, S., & Tomasini, A. (2016). Pentachlorophenol removal by Rhizopus oryzae CDBB-H-1877 using sorption and degradation mechanisms. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *91*(1), 65–71.

Mallak, A. M., Lakzian, A., Khodaverdi, E., Haghnia, G. H., & Mahmoudi, S. (2020). Effect of *Pleurotus ostreatus* and Trametes versicolor on triclosan biodegradation and activity of laccase and manganese peroxidase enzymes. *Microbial Pathogenesis*, 104473.

Mathur, M., & Gehlot, P. (2020). Mechanistic evaluation of bioremediation properties of fungi. In New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering (pp. 267–286). Elsevier.

Mohajerani, A., Kadir, A. A., & Larobina, L. (2016). A practical proposal for solving the world's cigarette butt problem: Recycling in fired clay bricks. *Waste Management*, *52*, 228–244.

Mousalli-Kayat, G. (2015). Métodos y diseños de investigación cuantitativa. Revista researchgate. Obtenido de researchgate.

Murashima, K., Kosugi, A., & Doi, R. H. (2003). Synergistic effects of cellulosomal xylanase and cellulases from Clostridium cellulovorans on plant cell wall degradation. *Journal of Bacteriology*, *185*(5), 1518–1524.

National Geographic. (2019). Las colillas de cigarrillos también significan contaminación plástica tóxica. Retrieved from https://www.nationalgeographicla.com/medio-ambiente/2019/08/las-colillas-de-cigarrillos-tambien-significan-contaminacion-plastica-toxica.

Navarro, J. M. (2005). Hongos en Aragón. Retrieved from https://www.naturalezadearagon.com/hongos/index.php

Ng, T. B. (2004). Peptides and proteins from fungi. *Peptides*, *25*(6), 1055–1073.

Novotny, T. E., Lum, K., Smith, E., Wang, V., & Barnes, R. (2009). Filtered cigarettes and the case for an environmental policy on cigarette waste. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, *6*, 1691–1705.

Novotny, T. E., & Slaughter, E. (2014). Tobacco product waste: an environmental approach to reduce tobacco consumption. *Current Environmental Health Reports*, *1*(3), 208–216.

Pal, A. K., Singh, J., Soni, R., Tripathi, P., Kamle, M., Tripathi, V., & Kumar, P. (2020). The role of microorganism in bioremediation for sustainable environment management. In *Bioremediation of Pollutants* (pp. 227–249). Elsevier.

Pardo, A. (2013). Cómo contaminan las colillas de cigarro. Retrieved from https://www.nacion.com/revista-dominical/como-contaminan-las-colillas-de-cigarro/J4BEER3A6ZGONFCKDPPMJ3C6AU/story/

Peña González, J. R. (2017). Procesos de biorremediación en el tratamiento de residuos sólidos del cigarrillo. Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá.

Potter, N. N., & Hotchkiss, J. H. (1973). *La ciencia de los alimentos*. Centro Regional de Ayuda Técnica.

Rahman, M. T., & Mohajerani, A. (2020). Use of bitumen encapsulated cigarette butts in stone mastic asphalt. *Construction and Building Materials*, *261*, 120530.

Robertson, R. M., Thomas, W. C., Suthar, J. N., & Brown, D. M. (2012). Accelerated degradation of cellulose acetate cigarette filters using controlled-release acid catalysis. *Green Chemistry*, *14*(8), 2266–2272.

Ruiz Ramos, J. de J. (2019). Degradación de filtros de cigarro por medio “hongo ostra” de *Pleurotus ostreatus* var. crema BPR -1. Mexico.

Salama, A., Mohamed, A., Aboamera, N. M., Osman, T., & Khattab, A. (2018). Characterization and mechanical properties of cellulose acetate/carbon nanotube composite nanofibers. *Advances in Polymer Technology*, *37*(7), 2446–2451.

Srivastava, S., & Dwivedi, A. (2015). Biological wastes the tool for biosorption of arsenic. Journal of Bioremediation and Biodegradation, 7(1), 1–3.

Stamets, P. (2011). Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten speed press.

Suresh, B., & Ravishankar, G. A. (2004). Phytoremediation—a novel and promising approach for environmental clean-up. Critical Reviews in Biotechnology, 24(2–3), 97–124.

Tigini, V., Prigione, V., Di Toro, S., Fava, F., & Varese, G. C. (2009). Isolation and characterisation of polychlorinated biphenyl (PCB) degrading fungi from a historically contaminated soil. *Microbial Cell Factories*, *8*(1), 5.

Tso, T.-C. (1990). *Production, physiology, and biochemistry of tobacco plant*. Ideals.

Updyke, R. (2014). Biodegradation and Feasibility of Three Pleurotus Species on Cigarette Filters.

Villalobos, V. M., & Thorpe, T. A. (1991). Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. *Cultivo de Tejidos En La Agricultura*, 127–141.

Vishwakarma, G. S., Bhattacharjee, G., Gohil, N., & Singh, V. (2020). Current status, challenges and future of bioremediation. In *Bioremediation of Pollutants* (pp. 403–415). Elsevier.

Wallace, R. B., Stratton, K., & Bonnie, R. J. (2007). *Ending the tobacco problem: a blueprint for the nation*. National Academies Press.

Wypych, G. (2016). CA cellulose acetate. In G. B. T.-H. of P. (Second E. Wypych (Ed.) (pp. 33–38). ChemTec Publishing. http://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-895198-92-8.50012-4

Yañez, M. (2012). ¿Qué hacer con los billones de colillas de cigarros? Retrieved from https://www.nuevamujer.com/lifestyle/2012/02/13/que-hacer-con-los-billones-de-colillas-de-cigarros.html?year=2012&month=02&page=1&blog=latam&kind=category

Ying, G.-G. (2018). Remediation and Mitigation Strategies. In *Integrated Analytical Approaches for Pesticide Management* (pp. 207–217). Elsevier.

Zafeiridou, M., Hopkinson, N. S., & Voulvoulis, N. (2018). Cigarette smoking: An assessment of tobacco's global environmental footprint across its entire supply chain. *Environmental Science & Technology*, *52*(15), 8087–8094.

Zhang, Y., Dai, L., Kong, X., & Chen, L. (2012). Characterization and in vitro antioxidant activities of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *51*(3), 259–265. http://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.05.003

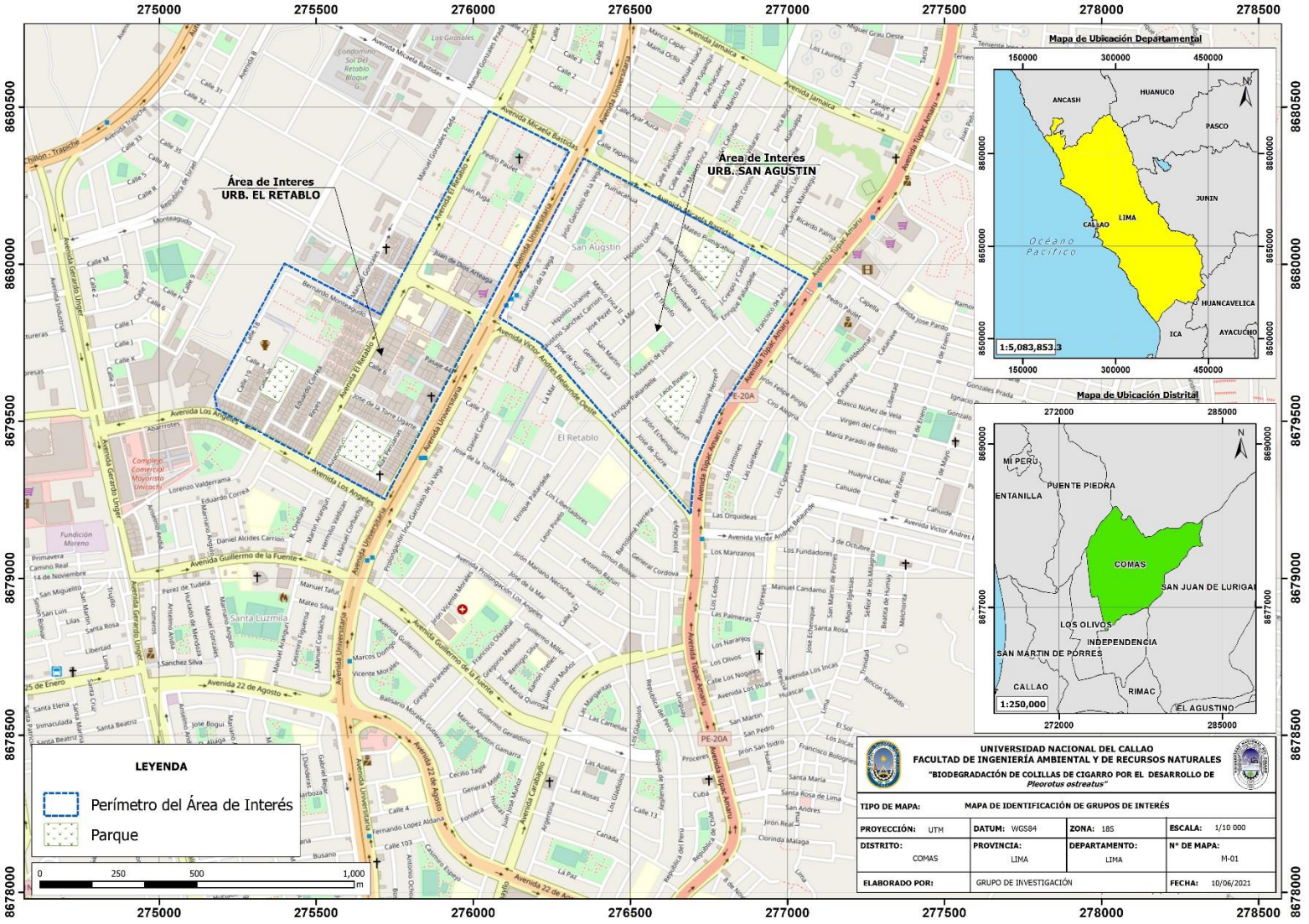
ANEXOS

ANEXO N.° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

BIODEGRADACIÓN DE COLILLAS DE CIGARRRO POR EL DESARROLLO DE *Pleurotus ostreatus*

Problema principal	**Objetivo principal**	**Hipótesis principal**	**Variables**	**Dimensiones**	**Indicadores**	**Unidad**
¿Cuál es el efecto del Desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro?	Determinar el efecto del desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro.	Existe efecto significativo del desarrollo del *Pleurotus ostreatus* en la biodegradación de colillas de cigarro.				
Problemas específicos	**Objetivos específicos**	**Hipótesis específicas**		Dosificación del *Pleurotus ostreatus* en el sustrato	% en peso de inóculo-grano (*Pleurotus ostreatus*/sustrato)	%
P1: ¿Cuál es la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos?	**O1:** determinar la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.	**H1:** existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.	**Variable Independiente:** Desarrollo del *Pleurotus ostreatus*			
P2: ¿Cuál es la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos?	**O2:** determinar la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.	**H2**: existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.		Periodo de desarrollo	Semanas de desarrollo	Semanas
P3: ¿Cuál es la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos?	**O3:** determinar la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.	**H3:** existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre la cantidad de cuerpos fructíferos producidos.				
P4: ¿Cuál es la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos?	**O4:** determinar la influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.	**H4:** existe influencia de la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.			Cantidad de cuerpos fructíferos	Unidad
P5: ¿Cuál es la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos?	**O5:** determinar la influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.	**H5:** existe influencia del tiempo de desarrollo del *Pleurotus ostreatus* sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.	**Variable Dependiente:** biodegradación de colillas de cigarro.	Indicadores indirectos de biodegradación.		
P6: ¿Cuál es la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos?	**O6:** determinar la influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.	**H6**: existe influencia de la interacción entre la dosificación del inóculo de *Pleurotus ostreatus*/sustrato y el tiempo de desarrollo sobre el peso de cuerpos fructíferos producidos.			Peso de cuerpos fructíferos	mg

ANEXO N.° 2: MAPA DE IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS DE INTERÉS

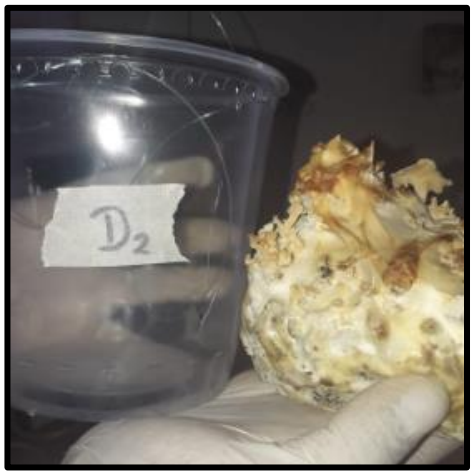

Área de Interes
URB. EL RETABLO
Área de Interes
URB. SAN AGUSTIN
Mapa de Ubicación Departamental
ANCASH
HUANUCO
PASCO
JUNIN
LIMA
CALLAO
HUANCAVELICA
ICA
AYACUCHO
Océano Pacífico
1:5,083,853.3
Mapa de Ubicación Distrital
MI PERU
PUENTE PIEDRA
ENTANILLA
COMAS
SAN JUAN DE LURIGAN
LOS OLIVOS
INDEPENDENCIA
SAN MARTIN DE PORRES
CALLAO
RIMAC
EL AGUSTINO
1:250,000
LEYENDA
Perímetro del Área de Interés
Parque
0 250 500 1,000 m
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES
"BIODEGRADACIÓN DE COLILLAS DE CIGARRO POR EL DESARROLLO DE Pleorotus ostreatus"
TIPO DE MAPA: MAPA DE IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS DE INTERÉS
PROYECCIÓN: UTM
DATUM: WGS84
ZONA: 18S
ESCALA: 1/10 000
DISTRITO: COMAS
PROVINCIA: LIMA
DEPARTAMENTO: LIMA
N° DE MAPA: M-01
ELABORADO POR: GRUPO DE INVESTIGACIÓN
FECHA: 10/06/2021

ANEXO N.° 3: PANEL FOTOGRÁFICO

Fotografía 01: sustrato de colillas de cigarro para el Tratamiento B.

Fotografía 02: peso de hongo proliferado sobre el sustrato.

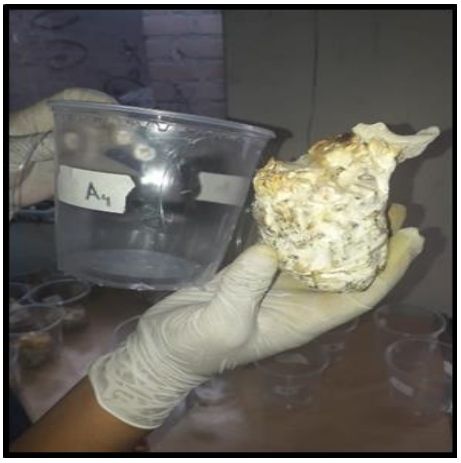
Fotografía 03: primer control de fructificación para el Tratamiento D.



Fotografía 04: tercer control de fructificación para el Tratamiento D.

Fotografía 05: sexto control de fructificación para el Tratamiento A.

Fotografía 06: sexto control de fructificación para el Tratamiento D.



Fotografía 07: control de fructificación para el tratamiento A.

Fotografía 08: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 5.1 g.

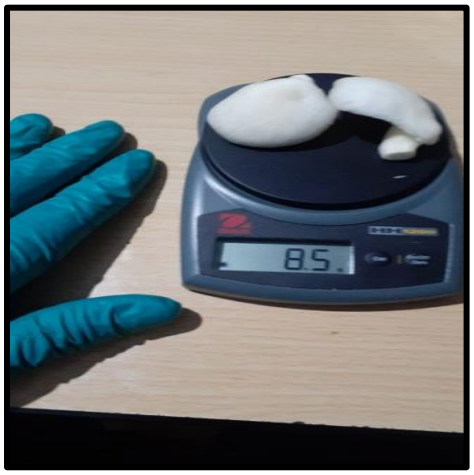
Fotografía 09: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 7.7 g.

Fotografía 10: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 1.5 g.

Fotografía 11: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 7.2 g.

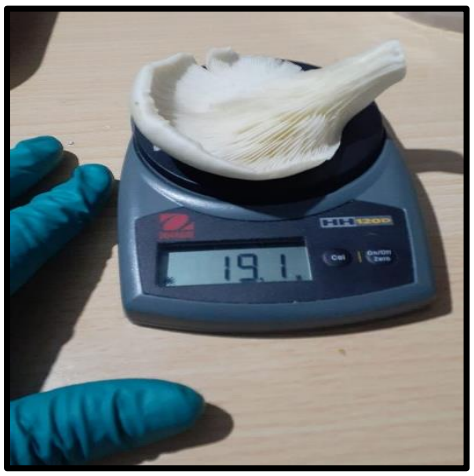
Fotografía 12: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 5.5 g.

Fotografía 13: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 7.0 g.



Fotografía 14: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 8.5 g.

Fotografía 15: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 7.3 g.



Fotografía 16: el pesado de *Pleurotus ostreatus* resultó en 19.1 g.