



I Seminario Internacional sobre Biotecnología en la Agroindustria Cafetalera

Compiladores
S. Roussos
R. Licona Franco
M. Gutiérrez Rojas

Xalapa, Ver., México, del 12 al 15 de abril de 1989

MEMORIAS

I SEMINARIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA EN LA AGROINDUSTRIA CAFETALERA

COMPILADORES

**S. Roussos
R. Licona Franco
M. Gutierrez Rojas**

ORGANIZADORES

INSTITUTO MEXICANO DEL CAFE (INMECAFE) en coordinación con
la UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA- IZTAPALAPA (UAM-I) y
el INSTITUTO FRANCES DE INVESTIGACION CIENTIFICA PARA EL
DESARROLLO EN COOPERACION (ORSTOM)

COMITE ORGANIZADOR

Comité científico:

M. Gutiérrez Rojas
R. Licon Franco
S. Roussos
G. Viniegra Gonzalez

Secretariado científico:

S. Roussos

Coordinación administrativa: L.E. Arias Juárez

A. Gonzalez Armendariz
L. Hannibal
S. Hernández Miranda
M.E. Martínez Roque
R. Martínez Villegas
R. Tostado Cabrera

Relaciones públicas:

M.J. Sanchez de la Torre

Edición:

W. Rodriguez Perez

ISBN 968-840-776-3

INDICE

Agradecimientos	8
Indice de autores	9
Prólogo	
Ing. Roberto Licona Franco	11
Introducción	
Gustavo Viniegra Gonzalez	13
 I. PARTE : MEJORAMIENTO GENETICO DEL CAFE BIOPESTICIDAS Y EQUIPO	
Micropropagación del café	
Marc Berthouly	17
Mejoramiento genético del cafeto	
Andrés Rivera Fernández	29
Control biológico de plagas y enfermedades del cafeto en México	
Alfonso Villanueva Marrufo	37
 II PARTE : APROVECHAMIENTO DE LOS PRINCIPALES SUBPRODUCTOS DEL CAFE	
Utilización Integral de los subproductos del café	
Jaime Zuluaga Vasco	63
Tratamiento de aguas residuales, reutilización y prensado de la pulpa en el beneficio de café	
José Jorge Morales Olguín	77
Reactores para el tratamiento anaerobio de aguas	
Adalberto Noyola Robles	95
Tratamiento biológico de efluentes con cultivos microalgales de clorofitas	
Amparo Ramos & Margarita Salazar	111
Detoxificación de la pulpa de café por Fermentación Sólida	
Sévastianos Roussos	121

Producción de enzimas a partir de la pulpa de café y su aplicación en el beneficio húmedo Ernesto Favela Torres	145
Pulpa de café fermentada: su uso como aditivo en la alimentación de rumiantes Rolando Herrera y Saldaña	153
Producción de hongos comestibles sobre pulpa de café a nivel comercial Daniel Martínez Carrera	177
III PARTE : RESUMENES DE CARTELES	
a) GENETICA Y FITOPATOLOGIA	
Formación del cultivar Garnica (Mundo - novo 15 vs. Caturra Amarillo 13) de <i>C.arabica</i> L. Rivera A., García L. & Hernandez S.	187
Propagación <i>in vitro</i> de <i>Coffea arabica</i> L. a partir de secciones de hoja Departamento de Genética INMECAFE.	188
Control natural del minador de la hoja del cafeto en México Aranda E. D.	190
Nemátodos en cafetales del centro de Veracruz Regalado O.A. & Villanueva M.A.E.	193
La broca del grano de café (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferr.) en México Villanueva M.A.E.	195
Combate químico de la roya anaranjada del cafeto (<i>Hemileia vastatrix</i> Berk y Br.) en México Regalado O.A. & Villanueva M.A.E.	197
Producción de biopesticidas a nivel planta piloto para uso en el cultivo de café. Montero F.A., Roussos S. & Olmos A.	199
Fisiología comparada de esporulación de hongos filamentosos Montero F.A & Roussos S.	203

b) TRATAMIENTO DE AGUAS DE LAVADO

Digestión anaeróbica y algas

en el tratamiento de aguas residuales

Monroy O., Ramos A., Ramírez F., Noyola A., Guyot J-P.,
Schetino B., Salazar M., Fuentes M. & Rodríguez D.

204 —

c) VALORIZACION DE LOS SUBPRODUCTOS

Aislamiento e identificación de cepas de hongos filamentosos
con capacidad de degradar la caféina

para detoxificar la pulpa de café por FMS.

Aquiahuatl M-A., Roussos S. & Salas J-A.

205 —

Fisiología y bioquímica de hongos filamentosos
que degradan la caféina.

Sánchez R., Roussos S. & Viniegra G.

206 —

Decafeinización de la pulpa de café
por fermentación en medio sólido.

Nava G., Hannibal L., Raimbault M., Trejo M. & Roussos S.

207 —

Uso de enzimas comerciales en el beneficio húmedo
del café variedad robusta.

Huerta S., Favela E., López R., Nava G., Olivares G.,
Roussos S., Viniegra G. & Gutiérrez M.

208 —

Producción de enzimas a partir de pulpa de café
y su aplicación en el beneficio húmedo.

Favela E., S. Huerta, S. Roussos, G. Olivares, G. Nava,
G. Viniegra & M. Gutiérrez.

209 —

Aislamiento, cinética de crecimiento y producción
de cuerpos fructíferos de *Pleurotus cornucopoides* (fr.) Gill,
sobre residuos de *Agave* sp.

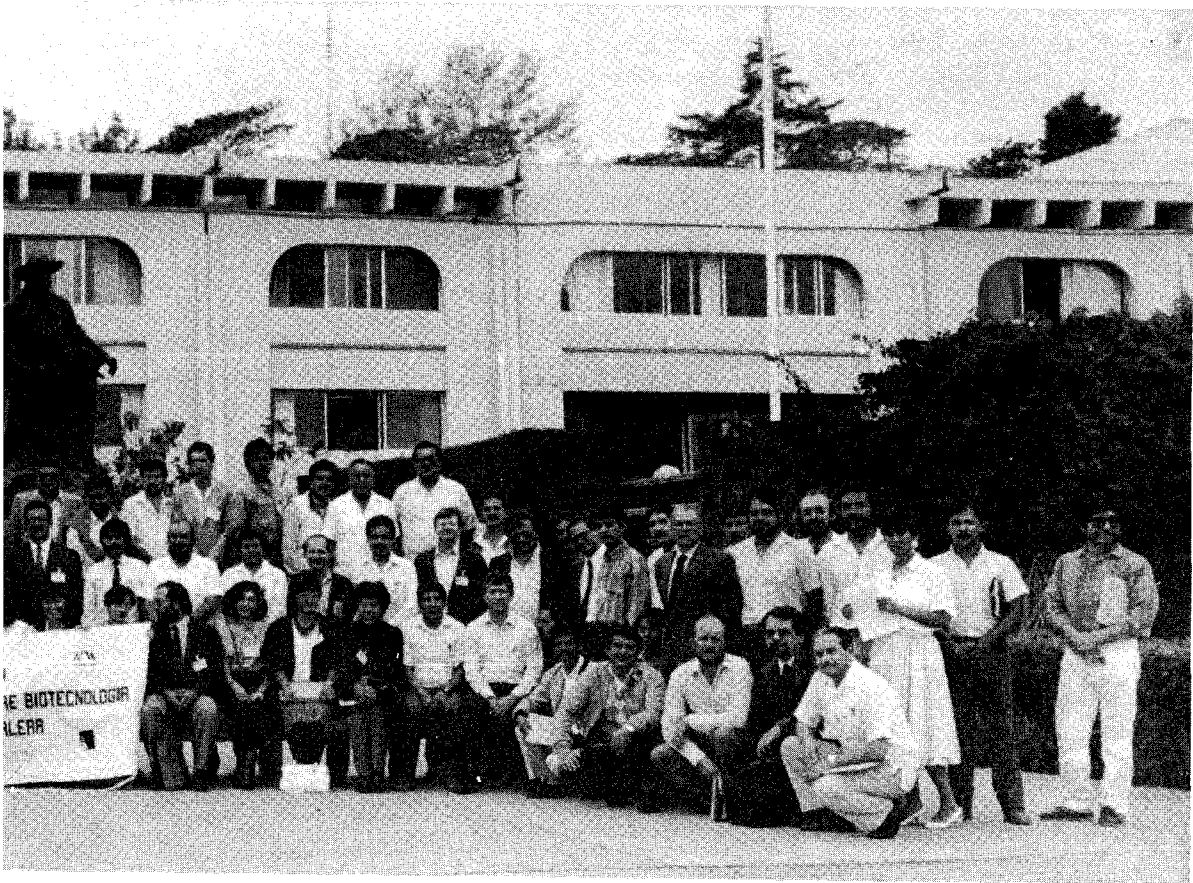
Martínez O.P. & Sánchez H. M. del C.

210

IV PARTE: DIRECTORIO

Primer Seminario Internacional S. I. C.
Biotecnología en la Agroindustria Capitalina
Agrupados los días 12 al 15 de noviembre





AGRADECIMIENTOS

Los organizadores de este I SEMINARIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA EN LA AGROINDUSTRIA CAFETALERA agradecen a: Asociación Mexicana de Exportadores de Café (AMEC), Compañía Nestle S.A. de C.V., DIDEA del Trópico, Andrade S.A., Lic. Alicia González de Armendariz, Ing. Roberto Martínez Villegas, Sr. Angel Montero Montano y a todos aquellos cuyo nombre omitimos de manera involuntaria pero que con su apoyo y participación contribuyeron al realce de este evento.

INDICE DE AUTORES

Dr. Marc Berthouly
IICA-PROMECAFE
Genetica
Apdo. Postal 55; 2200 Coronado
TELEFONO: (506) 29 02 29
San Jose, Costa Rica
Costa Rica C.A.

Dr. Ernesto Favela Torres
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 338
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Dr. Rolando Herrera
Univ. Aut. de Chapingo
Colegio de Posgraduados
Colegio de Posgraduados UACH
TELEFONO: (595) 4 22 00
Chapingo, 56230 México
México

Ing. Roberto Licon Franco
INMECAFE
Investigacion
Km 4.5 Carr., Xalapa-Veracruz
TELEFONO: (281) 8 78 31
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Dr. Daniel Martínez Carrera
IMINAP
Magnolia # 53-A
TELEFONO: (22) 44 09 78
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Dr. Adalberto Noyola Robles
UNAM
Instituto de Ingenieria
Apdo. Postal 70-472
TELEFONO: 6 86 03 22 ext 330
04510 Ciudad Universitaria
México

Sr. Andres Rivera Fernandez
INMECAFE
Dpto. de Genetica
Km. 4.5 carr. Xalapa-Veracruz
TELEFONO: (281) 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

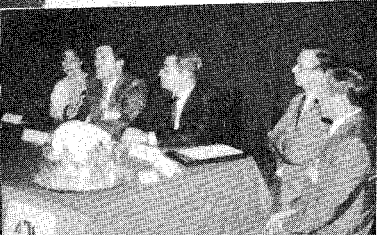
Dr. Sevastianos Roussos
ORSTOM
Mexico
Homero # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Sr. Alfonso Villanueva Marrufo
INMECAFE
Fitopatologia y Entomologia
Km. 4.5, Carr, Xalapa-Veracruz
TELEFONO: (281) 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Dr. Jaime Zuluaga Vasco
Federacion Nacional Cafeteros Colombia
Seccion Quimica Industrial -CENICAFE
CENICAFE
TELEFONO: 96850-6631
Chinchina, Caldas
Colombia

DISCURSOS DE LA

CEREMONIA DE INAUGURACION



1.- Sr. Javier
Sanchez de la Torre

2.- Dr. Michel
Portails Director de
ORSTOM México

3.- Ing. Roberto
Licón Franco

4.- Dra. Isabel
Guerrero Legarreta
Jefa del
Departamento de
Biotecnología
UAM-I

5.- Lic. José
Becerra Oleari
Representante del
Gobierno estatal

PROLOGO

Con especial satisfacción presentamos estas memorias del I Seminario Internacional sobre Biotecnología en la Agroindustria Cafetalera, celebrado del 12 al 15 de abril de 1989.

Esta obra materializa los esfuerzos de la comunidad científica que callada y pacientemente ha venido dedicandose al estudio de los muy diversos problemas que presenta el proceso de transformación del café a partir de su cosecha, y en ocasiones desde antes, como es el caso del desarrollo de biopesticidas o de nuevas variedades.

Con la intención de reunir en un propósito común y de ordenar el esfuerzo de investigadores e instituciones públicas y privadas, los trabajos que desde años atrás han encausado hacia la búsqueda de mejores alternativas de producción o al estudio de problemas que la afectan, se analizó durante el pasado mes de enero, la conveniencia de organizar un FORO que diera a conocer a todo aquel interesado en la aplicación de la biotecnología para atacar la problemática de la agroindustria cafetalera. Los avances que en varios tópicos se han logrado y que en algunos casos ya son de aplicación práctica o ya se han implementado a escala industrial, como lo constata esta misma publicación.

Encontramos que el mejor FORO para llenar los anhelos de enero de 1989, debería ser un Seminario que reuniera a los generadores de la tecnología y a los usuarios o "clientela" de esta tecnología. Mas adelante, con renovado optimismo derivado de la excelente calidad de la información que teníamos en las manos, nos propusimos realizar un evento de participación internacional que llenara los espacios de comunicación que percibimos en ese ámbito.

Las expectativas se cumplieron, logramos reunir en un mismo propósito a investigadores y técnicos de Colombia, Costa Rica, Guatemala, Francia y México, a representantes de 11 organismos gubernamentales, a profesores y alumnos de 5

Universidades, a productores de 6 organizaciones de diversas regiones cafetaleras del país, a beneficiadores, exportadores, torrefactores y a fabricantes de maquinaria para la industria cafetalera. En total se registraron 151 participantes a quienes les expresamos nuestro reconocimiento por el interés que mostraron durante todo el evento, sin emportarles las limitaciones del espacio de trabajo.

No solo nos satisface la asistencia tan diversa, nos complace también, que en el marco del seminario ocurrieron discusiones acerca de las preocupaciones sobre la mejora de la calidad del café, sobre la contaminación que se origina en la industria cafetalera y sobre la utilización de los subproductos del café.

Estamos seguros que la información contenida en estas memorias alimentará el interés y la creatividad de investigadores y técnicos por continuar desarrollando tecnología, y será de utilidad a quien la aplica, con el conocimiento y la confianza de su eficiencia.

Este apenas ha sido el primer paso. La modernización de la agroindustria cafetalera impone nuevas necesidades que la biotecnología puede resolver, debe resolver! El mejor fruto del seminario lo constituye la creación del Comité para el intercambio de información científica y técnica sobre biotecnología en la agroindustria cafetalera, y el compromiso de todos los que en él participamos de realizar en forma periódica los seminarios siguientes.

Roberto LICONA FRANCO
Director de Investigación
y Fomento a la Cafeticultura
I N M E C A F E

Campo Experimental Garnica, Xalapa, Ver.
Noviembre de 1989.

INTRODUCCION

El café es un producto tradicional de las regiones tropicales entre las que destaca América Latina pues Brasil, Colombia y México se encuentran entre los cinco principales productores y la región en su conjunto produce mas de dos tercios del café de todo el mundo.

A pesar de que la producción agrícola, su cosecha y beneficio industrial tienen varios siglos de tradición en la región, en realidad se han realizado pocos avances tecnológicos en áreas novedosas de la ciencia moderna como son las Biotecnología aplicadas a campos tan diversos como: la micropropagación de variedades, el mejoramiento genético *in vitro*, la lucha biológica mediante el cultivo de mohos antagonistas y su uso como biopesticidas, las mejoras enzimáticas al beneficio húmedo y el bioprocesamiento de los principales residuos de esta industria.

Como otras agroindustrias tropicales, la del café tiene que adaptarse a las evoluciones del mercado y a las novedades en el desarrollo de nuevas alternativas y exigencias en la calidad de los productos finales. Por ejemplo, se considera que el café de América Latina tendrá que competir con mejor calidad en un mercado con tendencias a la saturación por un exceso relativo de la producción mundial. Para tener éxito en esa competencia, los productores que deseen tener éxito, deberán hacer mejoras en diversos aspectos del proceso: por un lado deberán abatir sus costos de producción, tanto en campo como en los beneficios y esto implica el uso de variedades resistentes a las plagas tales como la roya o el uso de biopesticidas que sean compatibles con exigencias ambientales cada vez mas estrictas; la protección ambiental tambien ha venido exigiendo que esta industria contaminante se convierta en una industria limpia y ésto significa el desarrollo de alternativas para el bioprocesamiento de las aguas residuales y para el aprovechamiento económico de la pulpa de café.

Esta situación ha motivado para que tres Instituciones: el Instituto Mexicano del Café (INMECAFE), en colaboración con la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) y el Instituto Frances de Investigación Científica para el Desarrollo en Cooperación (ORSTOM), convoquen y organicen este Seminario Internacional "La Biotecnología en la Agroindustria Cafetalera" el cual tuvo lugar en la sede del INMECAFE de Jalapa, Ver. del 12 al 15 de abril de 1989.

Los objetivos de este seminario fueron:

- . Discutir los avances de investigación más relevantes en el Area de Biotecnología , en relación con la problemática de la Industria cafetalera de América Latina.
- . Vincular a diferentes centros de investigación y universidades con el sector productivo, a través del INMECAFE.

Entre los temas tratados se destacan:

- Mejoramiento genético del café, Biopesticidas y Equipo
- Aprovechamiento de los principales subproductos del café
- Mesas redondas sobre los temas antes mencionados

Una de las características sobresalientes de este evento fué la amplia participación de los productores pues de 150 asistentes, cerca de 100 fueron técnicos y directivos de la Industria cafetalera de México, Guatemala, Costa Rica y Colombia y el resto fueron Investigadores y expertos internacionales en esta area.

Esta amplia participación del sector productivo permitió la discusión franca y muy directa de temas de gran actualidad para la sobrevivencia de las empresas, como es el problema cada vez mas agudo de la protección ambiental, dañada por las descargas de efluentes contaminados por los beneficios tradicionales, los cuales, ahora se ven sujetos a exigencias cada vez mayores para el tratamiento de sus residuos.

Otro problema muy discutido y debatido fué la necesidad de aumentar, en forma rápida , la calidad del grano producido pues la competencia será cada vez mas rígida y solo sobrevivirán en el mercado los de mejor producto. En este sentido, los procedimientos para mejorar el beneficio tradicional de tipo húmedo fueron de mucho interes por sus eventuales repercusiones en la calidad y por sus implicaciones sobre el ahorro del agua y de la energía. Por ejemplo, el uso de enzimas tipo pectinasas se perfila como una de las alternativas competitivas con los procesos químicos o mecánicos ya desarrollados.

El uso de las mejoras al proceso de producción de biogás para tratar las aguas residuales fué presentada como la principal

alternativa para reducir la contaminación ambiental y para producir una fracción de la energía utilizada en el proceso del secado.

En el mismo sentido, la fermentación de la pulpa para producir aditivos de uso forrajero y enzimas de tipo pectinasas, se presentó como una alternativa de mayor valor agregado que sería complementario al proceso convencional de composteo. Este tipo de planteamientos fueron puestos en perspectiva con respecto al funcionamiento agroindustrial por expertos de la agroindustria de México, Colombia y Francia.

Los procesos para el aprovechamiento integral de los subproductos fueron ilustrados mediante un documental audiovisual llamado "El catador de café y las biotecnologías", realizado por ORSTOM y la UAMI, el cual mostró en forma bastante gráfica que las Biotecnologías están cada vez más cerca de las aplicaciones de tipo agroindustrial.

En lo que respecta a la lucha biológica contra las plagas, diversas instituciones, incluyendo INMECAFE, la Confederación Colombiana de Café, UAM-I y ORSTOM, presentaron diversas alternativas para el uso de biopesticidas.

Las novedades de mejoramiento genético ya puestas en marcha en la región fueron presentadas y comentadas ampliamente por expertos de Costa Rica, México, Francia y Colombia, haciéndose notar la utilización de técnicas cada vez más avanzadas como la micropropagación y la fusión de protoplastos, que complementados con las pruebas convencionales de campo, prometen acelerar los procedimientos para el desarrollo y liberación de nuevas variedades resistentes a las plagas o de interés comercial.

Uno de los resultados más interesantes de este seminario fue el acuerdo de los participantes y los técnicos de los países asistentes para proponer la celebración de otros dos seminarios similares, uno en 1990 en Costa Rica y otro en 1991 en Colombia, como un paso hacia la mayor colaboración entre investigadores de Biotecnología e Industriales del café. Estos seminarios tendrían como principal objetivo la constitución de una red de intercambio técnico en estos temas de gran actualidad.

Gustavo VINIEGRA GONZALEZ
Departamento de Biotecnología
Universidad Autónoma Metropolitana
Iztapalapa, D.F., MEXICO.

I PARTE

MEJORAMIENTO GENETICO DEL CAFE BIOPESTICIDAS Y EQUIPO

MICROPROPAGACION DEL CAFE

Marc Berthouly (*)

El empleo de las técnicas de cultivo de tejidos se difunde cada vez más. El desarrollo de esta nueva tecnología se debe a las múltiples ventajas y a las enormes posibilidades que ofrece en numerosos sectores de investigación: Bioquímica, Fitopatología, Morfogénesis, fitomejoramiento y Genética.

Una parte importante de lo que se denomina "Biotecnología" reposa esencialmente en el empleo de técnicas de cultivo de tejidos, llamado también método *in vitro*.

Entre las diferentes posibilidades que ofrece el cultivo *in vitro* (obtención de haploides, obtención de plantas libres de virus, hibridación somática), la multiplicación vegetativa *in vitro* es la forma más difundida de estos métodos de cultivo de tejidos.

Además la multiplicación vegetativa es el único procedimiento que permite reproducir en gran escala los genotipos sobresalientes y cuya fijación por vía sexual no puede considerarse por diversas razones entre las que se consideran incompatibilidad, depuración genética prolongada, etc.

PRINCIPIOS Y ORIENTACIONES

La mayoría del café consumido en el mundo proviene de dos especies: *Coffea arabica* y *Coffea canephora*.

El *C. arabica* cultivado principalmente en América Latina ($2n=44$) es autógama y por lo tanto se puede reproducir fielmente por semillas. Su mejoramiento hecho hasta ahora, ha llevado a la creación de varios cultivares relativamente homogéneos (Caturra, Mundo Novo).

(*) Genetista IRCC (CIRAD), Asesor de PROMECAFE ; IICA-PROMECAFE ; Apdo. Postal 55; 2200 Coronado ; San José, Costa Rica

El *C.canephora* (2=22) cultivado en Africa es autoincompatible y su mejoramiento comprende dos orientaciones:

- . Vía generativa que conduce a poblaciones muy heterogéneas

- . Vía vegetativa, la más utilizada que da lugar a clones cuya explotación solo puede utilizarse en mezcla policlinal en razón de su autoincompatibilidad.

Desde hace varios años tanto en Africa como en América, por razones diferentes el mejoramiento de los cafetos ha estado orientado hacia la creación de híbridos interespecíficos para enfrentar los problemas que amenazan la cafeticultura.

La tendencia actual en América es la creación de híbridos intra e interespecíficos no fijado con exigencias agronómicas ecológicas y características agronómicas similares a las variedades comerciales actuales.

La creación de una variedad estable, para ser distribuida al productor necesita de 30 a 40 años.

Frente a este plazo tan largo y debido a los problemas fitosanitarios importantes (roya, nematodos) existentes o potenciales (CBD) de un lado, y el deseo de ampliar la base genética del *C.arabica*, implicó la creación de tales híbridos cuyo aprovechamiento debe ser rápido, a través de técnicas que permitan conservar la identidad genética. Los numerosos trabajos realizados en cultivo de tejidos en café desde 1970, demuestra que las especies cultivadas *C.arabica* y *C.canephora* responden favorablemente a este tipo de cultivo.

Los programas realizados desde entonces en cultivo de tejidos abren nuevas perspectivas a los investigadores utilizando la multiplicación asexual *in vitro* para multiplicar variedades mejoradas heterocigotas.

TECNICAS DE MULTIPLICACION VEGETATIVA *in vitro* DE LOS CAFETOS

El cultivo *in vitro* de las plantas es realizado partiendo fragmentos del vegetal completo. Estos pedazos de tejidos que se usan son llamados comúnmente explantes.



Fig. 1 : Nudo ortotrópico con dos yemas axi-
lares preexistentes (13-15 días)



Fig. 2 : Acercamiento de dos yemas axilares pre-
existentes. (El número de yemas brotadas
depende de la concentración de BAP).

De la parte de la planta de la cual son obtenidos va a depender la metodología utilizada.

A nivel de IICA-PRIMECAFE en coordinación con el IRCC-CIRAD se ha tratado de establecer dos metodologías de trabajo:

- . Propagación mediante microestacas
- . Propagación mediante embriogénesis somática

PROPAGACION MEDIANTE MICROESTACAS

La propagación vegetativa *in vitro* mediante microestacas consiste en obtener a partir de un nudo portador de yemas preexistentes una microplanta cuyos nudos pueden ser utilizados como estacas *in vitro* y así sucesivamente para obtener un gran número de individuos.

Dicha metodología incluye los siguientes pasos:

- . Cultivo de segmentos de tallos ortotrópicos y obtención *in vitro* de tallos ortotrópicos (Fig. 1, Fig. 2)
- . Multiplicación clonal *in vitro*
- . Enraizamiento y aclimatación (paso de condiciones *in vitro* a condiciones *in vivo*).

El explante con sus yemas axilares ortotrópicos preexistentes se toma de un tallo ortotrópico joven clorofillico. Generalmente se utilizan los tres primeros nudos.

La alta contaminación por bacterias y hongos es uno de los problemas mas importantes. También la oxidación fenólica que se manifiesta mediante la aparición de un color café en el medio, en el cual, se encuentran sembrados los explantes es muy frecuente en este tipo de material. Estas dos etapas de la metodología son las mas difíciles de superar.

Una vez establecido el cultivo se constituye un Banco de germoplasma *in vitro* a partir del cual se puede iniciar la multiplicación masiva del material.



Fig. 3 : Crecimiento de los brotes ortotrópicos



Fig. 4 : Efecto de la giberellina sobre el crecimiento de los brotes.

Generalmente las microestacas que han alcanzado un desarrollo de aproximadamente 4 o 6 pares de hojas se separan del esqueje original y se dividen en micronudos o microestacas y se colocan en un nuevo medio de regeneración (Fig. 3, Fig. 4)

Luego se producen nuevos talles que se dividirán en nuevas microestacas y así sucesivamente.

En PROMECAFE los resultados obtenidos han permitido bajo buenas condiciones de cultivo obtener al cabo de un año, cerca de 20.000 plantas provenientes de un solo explante (o sea un explante es capaz de producir de 6 a 8 microestacas cada tres meses).

El objetivo de la fase de multiplicación es obtener una gran cantidad de plantas aptas para ser llevadas al campo, una vez enraizadas y aclimatadas.

Existen dos métodos para inducir el enraizamiento (Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7):

- . *In vitro*
- . *In vivo*

El objetivo es inducir la aparición de raíces en la base de la microestaca.

Se ha desarrollado una metodología simple que ha permitido obtener un 100% de enraizamiento, con una pérdida de 5 a 10% de plantas en la fase de aclimatación.

Desde 1985, se ha iniciado a nivel de PROMECAFE la distribución de dicho material para ser sembrado en el campo y así poder observar el comportamiento de dichas plantas. Por esta razón se han distribuido varios ensayos regionales a nivel de los países miembros.

Los primeros resultados de producción muestran un buen comportamiento de las plantas producidas *in vitro*.

PROPAGACION MEDIANTE EMBRIOGENESIS SOMATICA

"Cada célula vegetal, cualquiera que sea su especialización si está viva y posee un núcleo, está en la capacidad de producir una planta entera " (Haberland 1902).

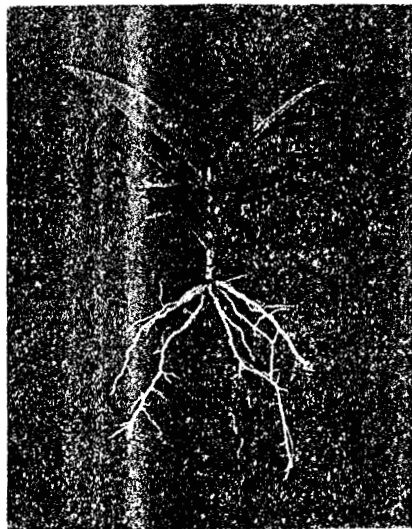


Fig. 5 : Inducción de raíces *in vivo*

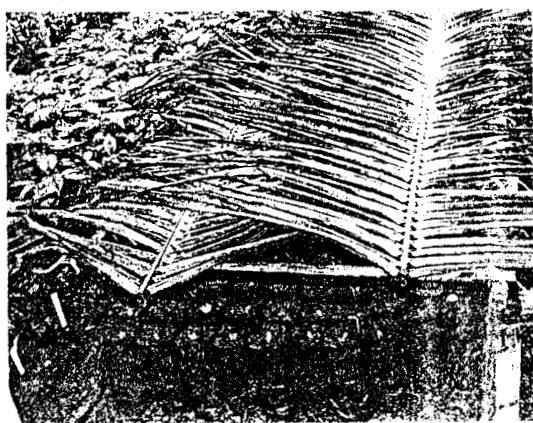


Fig.6: Sistema de aclimatación de plantas producidas *in vitro* (1 mes)

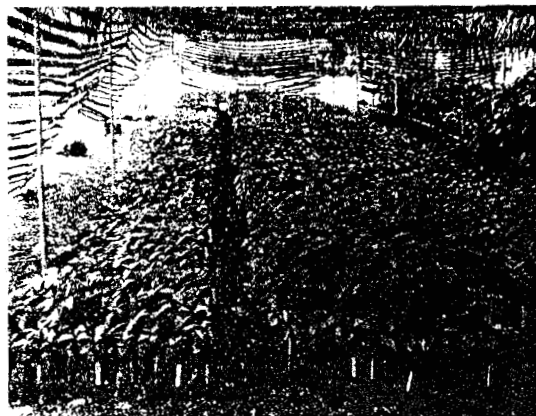


Fig.7: Desarrollo de plantas producidas *in vitro*

A esta extraordinaria capacidad de la célula vegetal se deben los progresos y avances realizados en cultivo de tejidos.

Los primeros casos de embriogénesis somática en el género *Coffea* fueron obtenidos por Staritsky (1970) sobre explantes de *Coffea canephora*.

Desde entonces varios autores (Sondahl, 1979; Dublin, 1980) han obtenido resultados tanto en *C.arabica* como en híbridos interespecíficos (*arabusta*).

Pero hasta el momento nadie ha podido definir ni establecer una metodología para todo tipo de cafetos. A nivel de PROMECAFE se ha trabajado con dos técnicas, utilizando fragmentos de hojas y definidas por Sondahl y Sharp como:

- . LFSE (Low Frequency Somatic Embryogenesis) o embriogénesis somática directa (Fig. 8).

- . HFSE (High Frequency Somatic Embryogenesis) o embriogénesis somática inducida que produce un callo secundario, células indirectas (Tasa de multiplicación alta) (Fig. 9).

Cualquiera que sea la metodología, el embrión somático al término de su diferenciación comprende una zona radicular con hipocótilo y una zona caulinar con dos hojas cotiledonales. Los embriones somáticos completamente diferenciados pueden pasarse a un medio de regeneración donde se desarrollan las raíces y los tallos hasta la formación de plantulas de 4 o 5 pares de hojas aptas para ser transferidas a condiciones *in vivo* (Fig. 10).

En PROMECAFE además de los trabajos realizados con *C.arabica* se esta trabajando con *C.canephora* con el fin de producir plantas resistentes o tolerantes a nemátodos que podrian ser utilizadas como patron en la injertación con *C.arabica*.



Fig. 8 : Embriogénesis somática directa. Aparición de embrioides directamente sobre el explante.

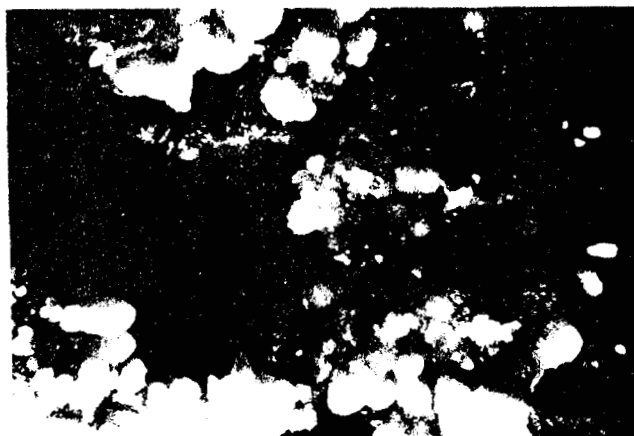


Fig. 9 : Embriogénesis somática Indirecta. Aparición de embrioides globulares sobre un callo secundario

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La multiplicación vegetativa por medio de diferentes metodologías podría jugar un papel importante en el mejoramiento de los cafetos cultivados en el curso de los próximos años.

Esta reproducción vegetativa será indispensable para multiplicar a gran escala, los genotipos excepcionales provenientes de:

- . Combinación genética dirigida
- . Variaciones inducidas *in vitro* y cuya diferenciación por vía sexual sea muy larga y onerosa.

La reproducción *in vitro* por microestacas a partir de yemas preexistentes ofrece sin lugar a duda todas las garantías de conformidad pero su tasa de multiplicación no es muy elevada.

La embriogénesis somática directa que no comprende ninguna fase de callo diferenciado, debería también conducir a un grado de confiabilidad satisfactorio, el cual puede aceptarse o rechazarse por medio de evaluaciones del material en el campo.

La embriogénesis somática indirecta o sobre callo secundario presenta un coeficiente de multiplicación mucho más elevado que los otros procedimientos, pero podrían conducir a variaciones genéticas cuya importancia solamente se podría determinar con experimentos de campo.

En el caso de los cafetos se podría tolerar cierta variabilidad siempre y cuando las variaciones eventuales que resultarían en los procedimientos *in vitro* no afecten las características agronómicas y genéticas primordiales (rendimiento promedio, resistencia, etc.). A favor de esta hipótesis podría agregarse que generalmente la diversidad genética está acompañada de una mayor facilidad de adaptación a condiciones ecológicas diversas y a una mayor resistencia a factores adversos.



Fig. 10 : Regeneración de embriones en medio líquido

BIBLIOGRAFIA

- BERTHOULY M., GUZMAN N., CHATELET P. 1985. Propagación clonal *in vitro* de híbridos F₁ por el método de microestacas. VIII Simposio de Cafeticultura Latino-Americana, Granada, Nicaragua, 3-4 Octubre 1985.
- DUBLIN P. 1981. Introduction de bourgeons néoformés et embryogénèse somatique. Deux voies de multiplication végétative *in vitro* des caféiers cultivés. Café, Cacao, Thé. Vol.25 (4): 237-242.
- PENA M., SERNA M. 1984. Adaptación de plantas de *Coffea arabica* Var. Mundo Novo obtenidas por embrilogénesis somática a cultivo bajo condiciones de campo. Cenicafe (col) 35(3):66-70.
- SONDAHL J. 1979. A histological study of high frequency on low frequency induction of somatic embryos in cultured leaf explants of *Coffea arabica* L. Z. Pflanzenphysiol. 94 p.
- STARITSKY G. 1970. Embryoid formation in callus culture tissue of *coffea*. Acta Botanica Neerl. Vol 19(4): 509-514

MEJORAMIENTO GENETICO DEL CAFETO

Andrés Rivera Fernández , Leobardo V. García Ortiz &
Sergio Hernández Acosta (*)

El café se introdujo al Continente Americano a principios del siglo XVIII proveniente de Yemen (Centro de Dispersión) pasando por Indonesia, Holanda y Francia. Su distribución abarca desde México hasta el Trópico de Capricornio en Brasil y Paraguay (Medina y al., 1984; Rivera y Madrigal, 1980, Rodríguez y al., 1975; Krug y Carvalho, 1967). Actualmente constituye uno de los productos comerciales de mayor importancia mundial y es el cultivo perenne más extendido en las regiones tropicales; varios países de América Latina dependen en gran medida de la producción de café para la obtención de divisas como Colombia, Brasil y el Salvador (Cornide, 1983). En México el café ocupa un primerísimo lugar dentro de los productos agrícolas de exportación generando cerca del 30 % de las divisas del sector (INMECAFE, 1985).

La evidencia de que el café cultivado en América Latina procedía de una única planta sembrada en el Jardín Botánico de Amsterdam, *Coffea arabica* Var. Typica, aunada a la explosiva expansión del cultivo a partir de esa variedad, favoreció la manifestación de una gran uniformidad genética. La ausencia de variabilidad genética en las poblaciones las hace vulnerables del ataque de plagas y enfermedades que pueden llegar a causar daños catastróficos al cultivo. Lo anterior ha motivado un gran interés, por casi todos los países productores de café de Latino América, por emprender programas permanentes de mejoramiento genético.

ANTECEDENTES HISTORICOS DEL FITOMEJORAMIENTO EN MEXICO

Selección de material nativo. El fitomejoramiento del café en México se inició desde 1950; año en, que a partir del método de selección individual, se eligieron cerca de 4000 plantas de las variedades Typica y Bourbon para el registro de su producción.

(*) Ingenieros Agrónomos Investigadores del departamento de genética del INMECAFE

Con datos de 4 cosechas se seleccionaron las más sobresalientes y se llevaron a experimentación en diferentes áreas ecológicas, usando siempre como testigos a la variedad Typica original. En todos los casos, las selecciones Bourbon: B.1128 y B.1162 superaron al testigo en rangos que fueron del 19% a 36% (promedio de 6 cosechas). Las selecciones de Typica: T.947 y T.949 produjeron, 12.2% y 4.7% respectivamente más que la variedad testigo. En base a los resultados obtenidos se establecieron lotes de multiplicación de semilla para la entrega a los productores, actividad que ha sido continua desde 1957.

Introducción de variedades comerciales. En 1951 se introdujeron al país las variedades Caturra rojo de Colombia y Mundo Novo de Brasil. Su utilización en experimentación fue inmediata y para finales de la década de los cincuenta's se manifestó el Mundo Novo como superior a cualquier variedad comercial y el Caturra fue superado únicamente por Mundo Novo y las selecciones mexicanas de Bourbon. En dos experimentos establecidos en Chiapas, uno en 1959 y otro en 1965, el mejor Mundo Novo produjo 105 % y 63 % más que el testigo, respectivamente; mientras que el Caturra amarillo fue superior al testigo en 20 y 47 % respectivamente. Sin embargo, en otro experimento realizado en Tezonapa, Ver., en 1961, la variedad Caturra rojo superó al testigo en un 51 % y al Mundo Novo 15 en 16 %.

Introducción de recursos genéticos. En 1960 se inició la introducción de variedades reportadas como resistentes a la roya anaranjada del cafeto (*Hemileia vastatrix*), procedentes del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) de Turrialba, Costa Rica. La mayoría de estos materiales procedían de una prospección realizada en Etiopía (Centro de origen de *Coffea arabica*) auspiciada por la FAO. Otros materiales procedían de Portugal quien los importó de la India e Indonesia.

En 1961 se establecieron los primeros experimentos de comparación de algunas de las introducciones, ante las variedades comerciales de México. Bajo experimentación destacaron las introducciones B.A.36 de la India y S.12 Kaffa de Etiopía superando, en 74 y 67 % respectivamente, a la variedad testigo.

Con los materiales introducidos se establecieron tres bancos de germoplasma ubicados en diferentes campos experimentales de INMECAFE. Actualmente se cuenta con cerca de 750 introducciones que incluyen desde poblaciones silvestres hasta generaciones avanzadas (F 5 y F6) de híbridos de alto interés agronómico como lo son los catimores y sarchimores, con resistencia a la roya del cafeto y a ciertos

nemátodos. Los bancos o colecciones de germoplasma nos permiten observar y caracterizar cada introducción para su posterior evaluación sobre resistencia a roya, resistencia a nemátodos, adaptabilidad en diferentes zonas y calidad de la bebida. El comportamiento de las introducciones permitirá su posible utilización directa en algunas regiones o la transferencia de sus caracteres genéticos a las variedades comerciales.

Hibridación Intervarietal. El comportamiento favorable de las introducciones Mundo Novo, de porte alto, elevado rendimiento y gran rusticidad; así como de Caturra de porte reducido, rendimiento aceptable y susceptible a alta tecnificación dado su enanismo; motivó la conjugación de sus características para la formación de una nueva variedad. En 1960 se efectuó la hibridación entre las selecciones Mundo Novo 15 y Caturra amarillo 13, para 1963 se trasplantaron a su lugar definitivo 159 cafetos híbridos de los cuales se seleccionaron 11 por su fenotipo y producción acumulada en 8 cosechas. De estos cafetos se obtuvo semilla para proseguir su selección en las generaciones subsecuentes. A partir de la tercera generación de selección se inició la fase experimental incluyendo en ella solo cafetos de porte reducido, elevada producción y frutos rojos a los cuales se les denominó poblaciones "Garnica" y se les designó un número para su identificación. Como patrón comparativo se usaron a los progenitores Mundo Novo y Caturra. En seis ciclos de cosecha las poblaciones experimentales mostraron una superioridad al mejor de sus progenitores en cuanto a producción en el orden de 30, 28 y 21 % para los "Garnicas" 24-56-26, 48-61-63 y 48-64-31 respectivamente.

En función de los resultados obtenidos se continuó la selección genealógica para efectuar una nueva fase de experimentación, dando como resultado grupos de familias más estables, más vigorosas y susceptibles a alta tecnificación (altas densidades de población y mayor facilidad de manejo).

Las acciones a seguir a corto plazo son: la validación tecnológica de estas poblaciones y el establecimiento de lotes de multiplicación de semilla para su distribución comercial.

Selección de poblaciones Catimor. El descubrimiento del "Híbrido de Timor" en la isla de la Indonesia con el mismo nombre, ha sido de gran apoyo en la búsqueda de resistencia genética a la roya anaranjada del cafeto. Este híbrido procede del cruzamiento natural entre *C.arabica* x *C.canephora* y manifiesta todas las características morfológicas del primero de los progenitores.

Aunque se ha definido como resistente a las 30 razas fisiológicas conocidas de la roya anaranjada, presenta otros caracteres agronómicos que son indeseables como su baja producción y su tendencia acentuada a formar frutos sin semilla. Esta limitante para su utilización directa motivó a los fitomejoradores del centro de investigación de las royas del cafeto (CIFC) de Portugal a transferir únicamente los factores de resistencia del H. de Timor a la variedad comercial Caturra rojo. A las generaciones avanzadas de este cruzamiento se les designó como "Catimores".

Los Catimores se introdujeron a México en 1980, se anexaron a los bancos de germoplasma para su estudio, se seleccionaron para su reconfirmación de la resistencia a roya y en 1984 se iniciaron los experimentos de comparación ante variedades comerciales. Se cuenta a la fecha con dos registros de cosecha de Catimores x Garnica y sus producciones y calidad en taza son semejantes. Se espera que en cuatro años más se tenga información suficientemente sólida para su eventual validación.

Otras líneas de trabajo con Catimores tienden a evaluar su comportamiento ante nemátodos fitoparásitos, al estudio de su longevidad, la respuesta a altas densidades y a la evaluación de híbridos entre Garnicas y Catimores.

Cultivo "in vitro".- A raíz de la introducción de los Catimores a México se inició la aplicación de las técnicas de cultivo de tejidos para la propagación masiva de genotipos vallosos.

La propagación comercial del cafeto por semilla, la duración de su estadio juvenil de dos a tres años para entrar a su fase productora y el valor genético de los Catimores fueron factores decisivos para que el INMECAFE procurara sistemas alternos de reproducción en gran escala. En 1981 se suscribió un convenio de colaboración entre la Universidad Autónoma de Chapingo e INMECAFE para la generación de metodologías que permitieran la propagación vegetativa masiva del cafetos resistentes a roya. El convenio incluía la capacitación de un investigador del INMECAFE en propagación por cultivo de tejidos. Los primeros experimentos efectuados se encaminaron al estudio de los métodos de desinfestación para diferentes tipos de explante, concentración óptima de sales inorgánicas y de reguladores de crecimiento, así como requerimientos de fotoperíodo e intensidad lumínica.

Se encontró que el explante que ofreció mayor potencial de reproducción fué el de tejidos foliares (vía Embrilogénesis

Somática) de 25 mm². Este tipo de tejido obtuvo menos problemas para su desinfestación con hipoclorito de sodio al 10 % durante 40 minutos, que los tomados de tallo, ápices y yemas. Se consiguió una mayor producción de callos cuando la relación de los reguladores de crecimiento 2-4-D/BA oscilaron en rangos de 1-3 mg/l para el primero y de 1-10 mg/l para BA. La mayor producción de embriones se obtuvo en el medio MS 100 % con adición de Sacarosa (20 g/l), tiamina (10 mg/l), inositol (10 mg/l), cisteína (25 mg/l), ácido naftalenacético (0.1 mg/l) y kinetina (0.5 mg/l).

El transplante de embriones a un medio nutritivo conteniendo 0.5 mg/l de AIB favoreció una gran uniformidad de germinación y desarrollo radicular normal.

Cada hoja manifestó un potencial de generación de 17 500 plántulas de cafeto en un periodo de 7 meses. Actualmente se tienen en campo alrededor de 200 cafetos obtenidos "in vitro" los cuales han manifestado un desarrollo similar a los propagados por semilla.

Resistencia del cafeto a nemátodos. En las variedades comerciales de cafeto cultivadas en el Continente Americano no se ha encontrado mecanismos de resistencia a la roya del cafeto ni a nemátodos fitoparásitos. Estos últimos han venido cobrando gran importancia por el daño que causan a la raíz del cafeto, su dificultad para controlarlos mediante agroquímicos y por la facilidad de dispersión en plantas de viveros infectados a áreas libres de ellos. Afortunadamente, la distribución de nemátodos no ha sido explosiva hasta la fecha; los análisis de suelo efectuados por el departamento de Fitopatología del INMECAFE en cafetales del estado de Veracruz en los últimos tres años han arrojado que las poblaciones de nemátodos más elevadas se han localizado en los municipios de Tlacotepec, Ixhatlán del Café, Huatusco, Tepatlaxco, Atoyac y Amatlán de los Reyes. La especie detectada que causa daños más severos es *Meloidogyne incognita* (Regalado y Villanueva, 1988).

En 1985 se inició la evaluación de resistencia al nemátodo *M. incognita* en 37 poblaciones de cafeto, de las cuales 29 fueron catimores de origen colombiano, 5 catimores portugueses, 2 selecciones robusta y como testigo se utilizó a la variedad Caturra rojo. Los análisis estadísticos efectuados arrojaron diferencias altamente significativas para las variables: grado de daño en la raíz, longitud de la planta, peso seco y fresco de la planta. Sin embargo, en ninguna población se detectó una resistencia completa a los

nemátodos. Solo tres tratamientos, todos de origen colombiano, mostraron un grado de ataque menos agresivo en relación a los restantes y sin deterioro del vigor vegetativo.

Lo anterior hace pensar que es factible localizar fuentes de resistencia a nemátodos en los catimores. Se ha programado para 1989 la evaluación sobre resistencia a *M.incognita* en una mayor cantidad de germoplasma incluyendo a nueve clones de café robusta.

Inducción de mutaciones. Como se indicó en un inicio, la especie *C.arabica* manifiesta escasa variación genética, sobre todo en lo referente a resistencia a plagas y enfermedades. Una forma de producir variación es mediante la hibridación ya sea entre variedades de la misma especie o entre especies diferentes, otra forma es mediante la aplicación de agentes mutagénicos físicos y químicos. Entre los primeros sobresalen las radiaciones ionizantes y en los segundos el gas mostaza.

Los agentes físicos se han utilizado con mayor frecuencia, para la inducción de variaciones genéticas recientemente se han empleado las radiaciones gamma para provocar cambios en gramíneas y oleaginosas con bastante éxito.

En 1989 se inició la irradiación con rayos gamma a partir de una fuente de Cobalto 60, a semillas de café de la variedad Caturra amarillo. Las dosis utilizadas fueron de 2500-40 000 rads (dosis de radiación absorbida). El equipo usado en la irradiación fué un Gammacell 220 propiedad del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares quien proporcionó asesoría y servicio gentilmente a través de su personal altamente capacitado.

Las variables que se medirán serán: Germinación, Crecimiento, vigor y fenotipo de las plantas. Se determinará la dosis letal media (DL-50) y la dosis letal total (DL-100) y las plantas que sobrevivan se llevarán hasta la segunda generación (M_2) para cuantificar y clasificar las posibles variaciones.

Conclusiones. El fitomejoramiento del cafeto, a través de sistemas tradicionales de selección e hibridación; ha permitido la separación de plantas más eficientes en sus actividades metabólicas con resistencia a plagas y enfermedades, adaptabilidad a diferentes áreas ecológicas y fenotipo que facilite una elevada tecnología del cultivo. La formación de una nueva variedad de cafeto obtenida por estas vías requiere por lo menos de unos treinta años de investigación, experimentación, validación y

distribución . El cultivo de tejidos y otros procesos biotecnológicos podrán permitir en un futuro no lejano la liberación de nuevos y mejores blotipos en un plazo bastante menor así como su propagación masiva sin la necesidad del establecimiento de grandes lotes de reproducción.

BIBLIOGRAFIA

CORNIDE T.M. & MONTES S. 1983. Genética y mejoramiento de los cafetos. Café y Cacao No. 3 Cuba. 85 pp.

INMECAFE. Informe de Actividades 1984, 1985, 1986, 1987 y 1988. Departamento de Genética, Gerencia de Investigación y Experimentación. Xalapa Ver., Sin publicar.

KRUG C.A. & CARVALHO A. 1967. El fitomejoramiento. Las Ciencias Agrícolas en América Latina. IICA y ALAF. San José Costa Rica. p. 287-337.

MEDINA-FILHO A., CARVALHO M.R., SONDAHL L.G., FAZUOLI & COSTA W.M. 1984. Coffee breeding and related evolutionary aspects. In Plant Breeding Review. Avis press. Connecticut. p. 157-193.

REGALADO O.A. & VILLANUEVA, M.A. 1988. Nemátodos en cafetales del Centro de Veracruz. XV. Congreso Nacional de Fitopatología. Xalapa, Ver. 3-5 de Agosto.

RIVERA F.A. & MADRIGAL L.R. 1980. Evaluación de la resistencia a la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk et Br) en variedades del Banco de Germoplasma del Instituto Mexicano del Café. Revista Chapingo Nos. 25-26. Chapingo, México p. 29-33.

RODRIGUES Jr. C.J., BETTENCOURT A.J. & RIJO, L. 1975. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. Annual Review of Phytopathology. Volume 13. p. 49-70.



Dr. Marc Berthouly
presentando su
trabajo sobre
micropropagación
del café.

CONTROL BIOLOGICO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL CAFETO EN MEXICO

Alfonso E. Villanueva Marrufo (*)

En México la cafeticultura se desarrolla en 560,342 hectáreas que se localizan en 3556 comunidades pertenecientes a 382 municipios de los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, San Luis Potosí, Nayarit, Colima, Jalisco, Tabasco y Querétaro. Esta actividad representa una importante fuente de ingreso de divisas, ya que es el primer producto agrícola de exportación.

Las condiciones de cultivo, clima, topografía, localización de las plantaciones, idiosincracia de los productores y sus recursos muy limitados son factores que en un momento dado pueden proporcionar el desarrollo de plagas, como es el caso de la Broca del grano de café, Minador de la hoja del café, Chacuatete barrenadores de tallos y ramas, Palomilla blanca; así como también defoliadores de los Ingas; desarrollo de enfermedades: Roya del café, Ojo de gallo, Koleroga o mal de hilachas, Requemo o derrite, Antracnosis.

Plagas y enfermedades a un nivel tal que constituyen un problema socio-económico de gran trascendencia para nuestra economía cafetalera, problemas que estamos empeñados en preveer.

Una de las formas de preveer los problemas fitosanitarios de la cafeticultura es por medio de la implantación de un programa de control integrado, incluyendo investigaciones sobre el empleo del control biológico de plagas y enfermedades del café en México.

El Control Biológico de plagas y enfermedades ha recibido una gran y entusiasta acogida durante los últimos 70 años, habiéndose obtenido grandes éxitos y resultados prácticos en más de 60 países de todo el mundo.

(*) Investigador del Instituto Mexicano del Café (INMECAFE)
Km 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz, Xalapa, Veracruz, México

BROCA DEL GRANO DE CAFE

La Broca del grano de café *Hypothenemus hampei* es la plaga más dañina de este cultivo. En México se observó por primera vez en Octubre de 1978 en el Ejido Mixcum del municipio de Cacahoatan en el estado de Chiapas.

Para alimentarse y reproducirse, el insecto daña directamente la parte aprovechable de la planta y con ello reduce tanto el peso como la calidad del grano. En el peor de los casos, puede causar destrucción total de los granos o caída de frutos cuando son atacados muy tiernos (Villanueva, 1986).

En México hasta el 31 de diciembre de 1988 se encontraba distribuida en 59,328 hectáreas de 14,909 productores que viven en 498 comunidades de 21 municipios de las regiones cafeticultoras de Tapachula y Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; así como también, a partir de Enero de 1989 se le detectó en el estado de Oaxaca en una superficie de 217 hectáreas de un municipio de dicho estado.

CONTROL BIOLOGICO

La Broca ha ocasionado que muchos países intentaran la introducción de sus enemigos naturales, pero existen diversos factores que no les han permitido mantener la infestación a niveles bajos. Hay insectos parasitoides que no pueden sobrevivir si la Broca no se reproduce; por consiguiente, su población disminuye cuando hay épocas adversas para la plaga.

Ante toda condición ambiental adversa, los parasitoides se ven sensiblemente afectados con respecto a la Broca, pues ésta tiene una longevidad y una capacidad de supervivencia grande que le permiten superar la resistencia de aquellos.

En lo que respecta a los hongos entomopatógenos, el principal obstáculo que se ha presentado, es la dificultad para hacer las inoculaciones artificiales, es decir, para diseminarlos en el campo. A pesar de esto, quedan por hacerse nuevas pruebas de inoculación y nuevos estudios acerca de la biología de estos hongos, sobre todo para determinar las condiciones óptimas de su desarrollo.

Prorops nasuta Waterston

Este es uno de los parasitoides que se han estudiado mas intensamente en todo el mundo. Pertenece al Orden *Hymenoptera* y a la familia *Bethylidae* y es conocida en América como "avispa de Uganda", puesto que fué en este país donde se colectaron los primeros ejemplares descritos en 1921 (Waterston, 1923).

El adulto mide de 2 a 3 mm. de largo; su cabeza y cuerpo son de color castaño oscuro, pero sus antenas y patas son mas claras. Existe dimorfismo sexual, el macho difiere de la hembra por su menor tamaño, sus antenas más largas y el extremo del abdomen menos puntiagudo. El huevecillo es translúcido y elongado; mide 0.53 x 0.18 mm. La larva es de color blanco; bien desarrollada mide 1.8 mm. de largo y 0.65 mm. en su parte más ancha (Hargreaves, 1926).

Los adultos paralizan a las larvas de *H.hampel* mediante una picadura en la parte ventral del tórax, posteriormente le fijan un huevecillo en la parte lateral y dorsal tanto de larvas como de pupas. Después de tres días de incubación, la larva, ligada aún al hospedero, se alimenta succionándole el contenido del cuerpo por un periodo de 3 a 4 días, después de los cuales teje un capullo de seda para transformarse en pupa, cuya duración es de 21 días. De esta manera, el ciclo completo dura de 24 a 32 días, con un promedio de 27. La reproducción partenogenética es común; las hembras no fertilizadas dan origen a machos únicamente, aunque muchos están incapacitados para ello. El número máximo de huevos puestos por una hembra en cautiverio es de 37. Su longevidad máxima, también en cautiverio es de 65 días, con una media de 47.

La escasez de frutos perjudica indirectamente pues sin ellos la Broca no se reproduce y por lo tanto, la avispa tampoco puede ovipositar puesto que es un parásito obligado. Los estados inmaduros de la Broca, son indispensables para que la avispa oviposite. Si la Broca no se reproduce (época de secura, escasez de frutos etc.), la alimentación del parásito se limita a las Brocas adultas pero tampoco se reproduce. Por lo tanto es improbable que su longevidad le permita sobrevivir hasta la siguiente fructificación o hasta que *H.hampel* reinicie sus posturas. De Toledo (1942) demostró que con una dieta a base de Brocas adultas, su longevidad se reduce. Las avispas adultas que se alimentaron exclusivamente de larvas y pupas registraron la máxima longevidad (155 días), con una media de 91 días. Las que se alimentaron solamente de adultos vivieron un promedio de 58 días, con un máximo de 82. Además de la dieta, la

temperatura influye también en la longevidad y en la oviposición . Sin alimento, los adultos no viven más de 11 días.

Cephalonomia stephanoderis, Betren

Este parasitoide fué descrito por Betren (1961), y estudiado por Ticheler (1961) en Costa de Marfil. Su biología es muy similar a la de *P.nasuta*. La hembra paraliza a las larvas de la Broca y pone sobre ellas un huevecillo. Al nacer la larva (que vive muy poco), succiona todo el contenido de la larva de *H.hampei*. Posteriormente construye un capullo en las paredes de la galería para pupar. La proporción de machos y hembras es de 1:48.

La evolución completa, de huevo a adulto, dura aproximadamente un mes y se lleva a cabo exclusivamente dentro de los frutos viejos que contengan larvas de *H.hampei* en su último estadio. De 100 frutos viejos infestados por Broca, un máximo de 50 contenían *C.stephanoderis*, mientras que en las cerezas el máximo registrado fué de 27%.

El adulto se alimenta de Brocas adultas y frecuentemente mata a todas las que se encuentran en el fruto, aunque en éste no haya estados inmaduros de la Broca. De esta manera puede reducir considerablemente la población de Brocas que pudieran quedar en los frutos no cosechados, sobre todo en las plantaciones abandonadas o mal cuidadas. Estas cualidades lo han convertido en el parásito de la Broca más importante. En vista de que su descubrimiento es muy reciente y su conocimiento escaso, quedan en pie las posibilidades de introducción en países donde se opte por el control biológico de *H.hampei*.

En México Barrera, citado por Regalado (1989) ha iniciado una serie de investigaciones tendientes al control biológico de la broca del grano de café *H.hampei* en Tapachula, Chiapas para el efecto a partir de Septiembre de 1988 se han introducido a México procedentes de Inglaterra 13 envíos de los parasitoides *Cephalonomia ephanoderis* y *Prorops nasuta* en estado adulto, los cuales se les ha alimentado con miel de abeja y agua; debido a problemas (se desconocen) con el parasitoide *P.nasuta*, únicamente se ha introducido *C.stephanoderis*, del cual a la fecha se han recibido 796 especímenes y se han obtenido alrededor de 19,000 de septiembre a diciembre de 1988. Para el envío de los parasitoides a México y su cuarentena en Inglaterra, mientras duraba ésta, hubo la necesidad de criar a dichos insectos, para el efecto, se hace necesario las cerezas

y Brocas, debido a ésto fueron enviadas a Inglaterra la producción de los parasitoides.

El sistema de crianza de dichos parasitoides de la Broca, actualmente es muy rústico en los laboratorios de Tapachula, Chis., para la colecta manual de estos insectos se necesitan tres personas para una producción de 300 insectos por día.

El ciclo biológico de *C.stephanopoderis* en México bajo condiciones de laboratorio con una humedad relativa de 76% y 27.5 °C es el siguiente:

Huevo	-	2.6 días
Larva	-	2.8 días
Pupa	-	12.2 días
Huevo-Adulto	-	17.6 días

Cada hembra de *C.stephanoderis* puede poner 71 huevos en un periodo de 30 días; en un solo día puede poner hasta 9 huevos. La hembra es ligeramente más grande que el macho.

A partir del 31 de octubre de 1988 se llevó a cabo la etapa de liberación de *C.stephanoderis* en campo, en cinco fincas de la región de Soconusco, Chiapas con alta infestación por *H.hampel* y donde no aplican plaguicidas y donde no cosechen ni benefician.

FINCAS	MUNICIPIO
El Rincón	Tapachula, Chis.
Allanza	Tapachula, Chis.
San Miguel	Tapachula, Chis.
Irlanda	Tapachula, Chis.
Maravillas	Tapachula, Chis.

Las cantidades de parasitoides que se han liberado del 31 de Octubre de 1988 a Enero de 1989 son como mínimo 2000 y como máximo 10,000 especímenes.

El tiempo ideal para efectuar la liberación de los insectos benéficos es de 11:30 a 13:30 horas que es cuando tienen mayor actividad.

El Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA-PROMECAFE), ante la grave amenaza que representa *H.hampel* para la cafecultura de los países miembros de este Instituto en Enero de 1989 llevó a cabo una reunión en Retahuleo, Guatemala, a fin de integrar un Comité Técnico Regional de Proyecto de Control Biológico de la Broca, dicho Comité quedó integrado por los siguiente países:

GUATEMALA

HONDURAS

EL SALVADOR

MEXICO

Este Comité tomando en cuenta los avances de investigación sobre estos parasitoides que México ha llevado a cabo, formuló el siguiente programa a seguir en cada país miembro.

CALENDARIO DE ACTIVIDADES PARA 1989 DEL COMITE TECNICO REGIONAL DE PROYECTO DE CONTROL BIOLOGICO DE LA BROCA.

ACTIVIDAD	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
A. INSTALACION DEL INSECTARIO	X	X	X	X	X	X						
B. CRIANZA DE LA BROCA.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
C. ENVIO DE PARASITOIDES.						X	X	X	X	X	X	X
D. RECEPCION Y CUARENTENA DE PARASITOIDES.						X	X	X	X	X	X	X
E. CRIANZA DE LOS PARASITOIDES EN EL LABORATORIO.						X	X	X	X	X	X	X
F. ESTUDIO BIOLOGICO EN LABORATORIO RELACION HUESPED-PARASITO.									X	X	X	X
G. BUSQUEDA DE UN MEDIO ARTIFICIAL.						X	X	X	X	X	X	X
H. SELECCION DE ZONAS CAFETALERA PARA MUESTREO E INSTALACION DE JAULAS.		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
I. MUESTREO DE LAS POBLACIONES DE INSECTOS		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
J. ESTUDIOS BIOECOLOGICOS: BROCA Y PARASITOIDES EN JAULAS EN CAMPO.										X	X	X
K. LIBERACION DE LOS PARASITOIDES EN EL CAMPO.										X	X	X
L. EVALUACION DE DISPERSION Y EFICACIOA DE LOS PARASITOIDES.											X	X
M. CAPACITACION.						X					X	
N. ELABORACION DE AUDIOVISUALES.												
O. CONSULTORES.											X	
P. REUNIONES TECNICAS.							X				X	
Q. PRESENTACION DE REPORTES.											X	

Heterospilus coffeicola, Schmiedeknecht

Este braconido fue descubierto en Uganda por Hargreaves en 1923 y descrito en ese mismo año por Schmiedeknecht. En este país no fue posible la crianza artificial, lo que significó una gran desventaja para su estudio. Este parasitoide solo pone un huevo por fruto, debido a esto es muy corto el período que permanece dentro del mismo. Los huevecillos generalmente son puestos sobre los de *H.hampel*. Las larvas bien desarrolladas son blancas translúcidas y presentan pequeñas setas dispuestas en pares sobre sus segmentos, lo cual le sirve para distinguirlas de *P.nasuta*. Las hembras adultas miden 2.5 mm. de largo, el cuerpo y las antenas son de color castaño oscuro, las patas, ovíscapo y segmentos antenales próximos al cuerpo son de color castaño claro. El macho se distingue de la hembra en que no tiene ovíscapo y en que posee una mancha negra cerca de la base de cada ala (Hargreaves, 1926).

Den Dop (citado por DeToledo P. y P. da Fonseca, 1935) observó en Uganda que las larvas de *H.coffeicola* no solamente consumen huevos y larvas de *H.hampel*, sino que también de otras especies, incluso de la suya propia cuando le son ofrecidos; debido a esto existía el temor respecto a que podría convertirse en enemigo peligroso de *P.nasuta*, dada su naturaleza polífaga, sin embargo se constató que ambos parásitos se complementan en su lucha contra la Broca. *H.coffeicola* se halla en cerezas de reciente infestación por Broca, mientras que *P.nasuta* se encuentra en frutos infestados por más tiempo.

Beauveria bassiana, Bals.

El ataque de los hongos a *H.hampel* fue descubierto hacia 1910, en Java por Van Der Weelw, posteriormente Leefmans realizó los primeros estudios en 1923; el reconocimiento de *B.bassiana* como agente patógeno fue hecho por Bassi en 1835 (Cramer, 1957).

B.bassiana se encuentra en Java, conocida con el nombre de *Botrytis stephanoderis* mata a un porcentaje elevado de brocas (50-75 %), siempre y cuando haya humedad persistente y temperatura alta. Con el mismo nombre se le citó en Sao Paulo, en 1928, atacando a *Apate tenebrans* (Averna-Saccà, 1930).

Cuando ataca a *H.hampel*, lo momifica o causa su putrefacción antes de que alcance el pergamino, aunque también lo parasita una

vez que está dentro de las semillas. Cuando esto ocurre, los orificios de penetración se encuentran tapados por una masa filamentosa blanca (micelio) que no cubre el resto de la pulpa y que tampoco excede el límite del nivel de dichos orificios. Al germinar los microconidios del hongo sobre el cuerpo de la broca, envían sus tubos germinativos a través de las aberturas naturales del mismo. Los tubos micélicos alcanzan la parte interna de la broca, crecen y se ramifican rápidamente, destruyendo los órganos internos del insecto, ya sea por acción mecánica o por la acción solubilizadora de las enzimas para obtener alimento. Muerta la broca, el hongo pasa de parásito a saprófito y continúa produciendo sus microconidios. Las brocas muertas por *B.bassiana* dan el aspecto de estar cubiertas por un polvo blanco.

OTRAS ESPECIES DE INSECTOS REPORTADOS COMO ENEMIGOS NATURALES DE *H.hampel*.

ESPECIE	DISTRIBUCION
<i>Calliocras dictynna</i>	Uganda
<i>Dindymus rubiginosus</i>	Java
<i>Auximobasis coffeella</i>	Brasil
<i>Crematogaster curvispinosus</i>	Brasil

OTRAS ESPECIES DE HONGOS ENTOMOPATOGENOS REPORTADOS COMO ENEMIGOS NATURALES DE *H.hampei*.

ESPECIE	DISTRIBUCION
<i>Fusarium semitectum</i>	Camerùn
<i>Botrytis rileyi</i>	Brasil
<i>Spicaria javanica</i>	Java, Costa de Marfil
<i>Metharhizium anisopliae</i>	Brasil
<i>Aspergillus flavus</i>	Brasil

MINADOR DE LA HOJA DEL CAFETO

Este pequeño insecto fué descubierto por el entomólogo francés Perrotet en plantaciones de la isla de Guadalupe y fué clasificado por Guérin-Meneville como *Leucoptera coffeella* en 1842. Pertenece al Orden Lepidoptera y a la familia Lyonetiidae.

En México se encuentra presente en todas las áreas cafetaleras del país y en términos generales, el promedio a largo plazo de la población se encuentra por debajo del nivel que causa daño de consideración; sin embargo en ocasiones bajo condiciones favorables, el insecto es capaz de formar poblaciones abundantes en un breve periodo de tiempo y causar graves daños durante el lapso de una o varias generaciones.

El adulto es una pequeña palomilla, Aranda (1982) registra medidas de longitud de 1.53 mm. para los machos y 1.93 mm. para las hembras. Todo su cuerpo se halla cubierto de escamas de color blanco plateado, sus alas anteriores presentan en su extremo distal una mancha gris de forma ovalada rodeada por una línea negra y bordeada distalmente por una franja de color amarillo que se extiende por el borde marginal

(Motte, 1976). Las antenas son largas y filiformes, presenta el segmento basal modificado a manera de capuchón que durante el reposo cubre los ojos del tipo holóptico.

Los huevecillos son puestos en el haz de la hoja del cafeto, son ovalados y se asemejan a la forma de un volcán aplanado.

El cuerpo de la larva se caracteriza por un aplanamiento dorsiventral estando más aplanada la cápsula cefálica y el primer segmento torácico. Una vez desarrollada, teje un capullo en forma de "equis" para pupar.

Este insecto debido a la reducción del área foliar que consume y las importantes pérdidas que provoca en la producción, se ha considerado como una de las plagas más importantes del cultivo del café en México. Esto originó la necesidad de conocer los factores de regulación que en forma natural inciden sobre las poblaciones de este insecto.

CONTROL BIOLOGICO

En nuestro país, el minador de la hoja del cafeto *L.coffeella* se halla presente junto con un complejo parasitario, que no se había estudiado en sus aspectos básicos y fundamentales de la taxonomía, biología, ecología y demografía.

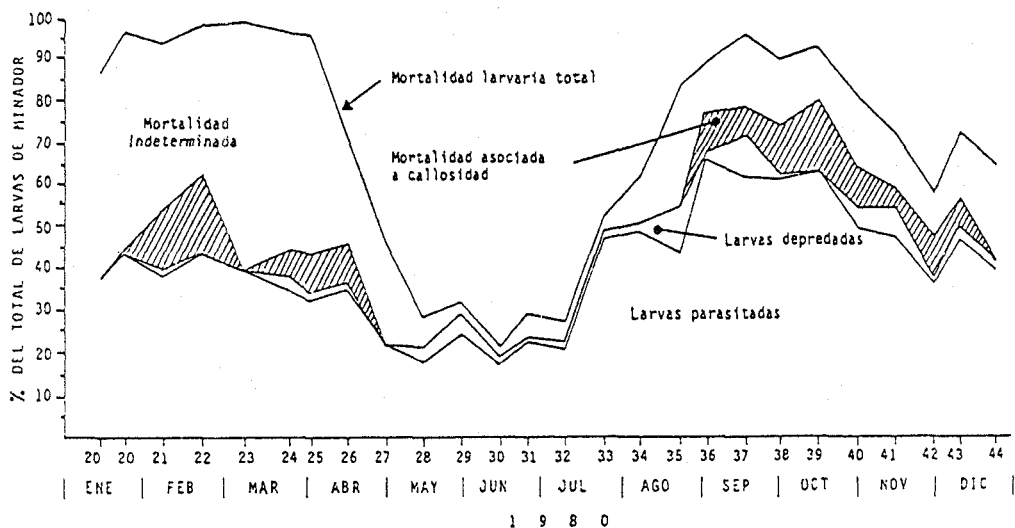
Aranda (1986) a partir de 1978 inicia una serie de estudios básicos sobre el control natural de *L.coffeella* en México; desarrolló trabajos en sitios de observación de 100 cafetos en plantaciones de café situadas en los Campos Experimentales Garnica en Xalapa, Veracruz e Ixtacuaco en Tlapacoyan, Ver., así como en tres plantaciones particulares en el Municipio de Tapachula, Chis.

La metodología se basó en la colecta quincenal de hojas dañadas por el minador, de ellas se efectuó un registro sistemático en base a 100 galerías recientes, la crianza y obtención de estados adultos de los parásitos, su ordenación empírica por especies, su determinación taxonómica y el análisis integral de la información registrada a lo largo del ciclo anual de 1980.

Fueron descritos y analizados los diferentes factores y niveles de mortalidad y sobrevivencia del minador, sus variaciones en el año y su importancia relativa. Se registró y analizó los factores de mortalidad tales como parasitismo, mortalidad por clima, resistencia

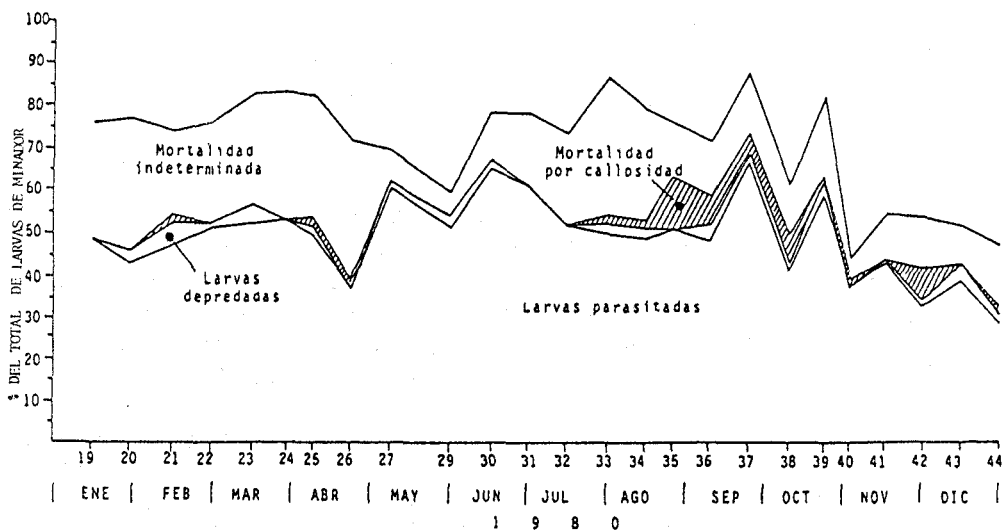
GRAFICA 1. PORCENTAJES DE MORTALIDAD LARVARIA DEL MINADOR DE LA HOJA DEL CAFETO.
CAMPO EXPERIMENTAL IXTACUACO, TLAPACOYAN, VER.

1 9 8 0
(ARANDA, 1986)



GRAFICA 2. PORCENTAJES DE MORTALIDAD LARVARIA DEL MINADOR DE LA HOJA DEL CAFETO.
CAMPO EXPERIMENTAL GARNICA, XALAPA, VER.

1 9 8 0
(ARANDA, 1986)



de la planta, depredación e inviabilidad de los huevecillos (Gráficas 1 y 2).

Aranda (*op. cit.*) en dicho estudio registró un total de 22 especies parásitas del minador, el estado que parasita, modo de parasitismo y su distribución conocida (Cuadro 1). Por otra parte quedó integrada una guía ilustrada para la identificación de los parásitos en estudio; así como también las características biológicas de los parásitos adultos, índices de parasitismo general y por especie y los diferentes factores y niveles de mortalidad para los estados de desarrollo de los parásitos.

CUADRO 1.

LISTA DE AVISPAS PARASITAS DEL MINADOR DEL CAFETO, SU MODO DE PARASITISMO Y SU DISTRIBUCION CONOCIDA EN MEXICO

ESPECIE	ESTADO QUE PARASITA	MODO DE PARASITISMO	DISTRIBUCION CONOCIDA					
			Gar., Ver.		Ixt., Ver.		Soc., Chis.	
			0	0	0	0	0	0
<i>nr. Altophormpha</i>	Larva	Endoparásita	*					
<i>Ceranisus</i> sp.	Larva	Endoparásita		*		*		
<i>Chrysocharis</i> nr. <i>milleri</i> Yoshimoto	Larva	Endop. (hiperp.)	*	*	*	*	*	
*								
<i>Chrysocharis</i> sp.	Larva			*				
<i>Chrysonotomyia</i> sp. (sp. 2-4)	Larva	Endoparásita	*	*	*	*	*	*
<i>Chrysonotomyia</i> sp. (sp. 6-7-16)	Larva	Endop., hiperp.	*	*	*	*	*	*
<i>Chrysonotomyia</i> sp. (sp. 9)	Larva	Endop., hiperp.		*	*			
<i>Chrysonotomyia</i> sp. (sp. 10)	Larva	Endoparásita					*	
<i>Cirrospilus</i> sp.	Larva	Ectop., hiperp.			*	*	*	*
<i>Clostercerous</i> sp.	Larva	Endoparásita	*	*	*	*	*	*
<i>Elachertus</i> sp. (sp. 11-14)	Larva	Endoparásita					*	*
<i>Elachertus</i> sp. (sp. 17)	Larva	Endoparásita			*		*	
<i>Gelis</i> sp.	Pupa	Ectoparásita	*(Jilotepec, Ver.)					
<i>Leuridanon</i> Mues. n. sp.	Pupa	Endoparásita			*	*	*	
<i>Phigalio elongatus</i> (Zetterstedt)	Larva	Predator larval	*	*	*	*	*	
*								
<i>Phigalio coloni</i> (girault)	Larva	Predator larval	*	*	*	*	*	
*								
<i>Psephenivorus</i> sp.	Larva y pupa	Endop., hiperp.	*(Jil., Ver.)					
<i>Sympiesis</i> sp.	Larva	Endoparásita						*
<i>Tetrastichus</i> sp.								*
<i>Zagrammosoma multilineatum</i> (Ashmead)	Larva	Endoparásita	*	*	*	*	*	*
<i>Zagrammosoma</i> sp.	Larva	Endoparásita	*					
(sp. 22) Braconidae-SIN IDENTIFICAR	Pupa	Endoparásita	*(Jil., Ver.)					

(ARANDA, 1986)

PALOMILLA BLANCA

En el estado de Veracruz se localizan tres importantes zonas cafeticultoras: Noroeste, Centro y Sur. La zona Centro esta integrada por los municipios de Córdoba, Huatusco, Coatepec, Xalapa, Xico, Emiliano Zapata, Cosautlán, Banderilla y Jilotepec.

Desde hace varios años se señala a la "Palomilla Blanca" como una plaga del cafeto afectando plantaciones de la zona Centro. Se considera a este insecto como la especie *Monoflata pallescens* (Homoptera; Flatidae). También se menciona que dicho insecto es una plaga de hábitos fitófagos que al succionar la savia de las plantas produce daños en sus funciones de: crecimiento, floración y fructificación (Topete, 1966).

M. pallescens como todos los seres vivos está sujeta al ataque de parásitos y predadores. Destaca como parásito de sus huevecillos un pequeño himenóptero: *Telenomus* sp. (Hymenoptera; cecionidae).

Hasta antes de 1973 no se disponía literatura realizada sobre *Telenomus* sp., lo que revela que en México hay poca información disponible sobre éste parasitoide en café. Distintas Universidades y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, hicieron estudios con este género y algunos autores lo consideran como enemigo natural efectivo de huevecillos de ortópteros, homópteros, hemipteros y lepidópteros, considerados como plagas en especies agrícolas de importancia económica.

Delgadillo (1973) al mismo tiempo que realizó estudios sobre biología de *Monoflata pallescens* (Homoptera-Flatidae) se hicieron observaciones sobre el parasitoide *Telenomus* sp. en sus diferentes aspectos biológicos y ecológicos.

En su ciclo biológico se definieron los hábitos de cópula mediante observaciones directas con 17 parejas. Los adultos estan capacitados para aparearse a los 30 minutos después de la emergencia bajo condiciones de cautiverio y cuando disponen de suficiente alimento y huevecillos de *Monoflata pallescens* no parasitados (op. cit.).

La oviposición ocurre pocos minutos después de efectuada la cópula. La hembra localiza detectando con sus antenas, los huevecillos de *M. pallescens* para introducir los suyos con su largo y

fuerte ovíscapto. En esta actividad tardan hasta 15 minutos con varias ovíposiciones durante el día.

Durante el desarrollo embrionario del parasitoide en el huésped, se observó que a medida que transcurre el tiempo el huevecillo gradualmente adquiere una coloración más oscura, posiblemente esto se deba a la esclerotización de los tejidos ectodérmicos de la avispa (Delgadillo, 1973).

Referente a la morfología existe semejanza en coloración para machos y hembras. Ambos son de color negro. Las hembras son ligeramente más grandes que los machos. Las alas membranosas y transparentes adornadas con setas largas, son características de esta familia. El dimorfismo sexual se manifiesta principalmente en las antenas con 11 segmentos y del tipo clavada, y para los machos 13 segmentos del tipo filiforme. El abdomen de la hembra es más alargado observándose el agudo ovíscapto.

En muestreos realizados indicaron que *Telenomus sp.* se localiza en todos los lugares donde habita *M. pallens* tanto en cafetos como en las diferentes hospederas para la "Palomilla blanca".

El porcentaje de parasitismo está muy relacionado con la distribución de *M. pallens* y la temperatura, la mayor incidencia ocurre durante la primera quincena de Noviembre y de Enero, y fluctúa de un 8.0 a un 49.6%.

En México se han identificado 40 especies pertenecientes a diversas familias del orden Lepidoptera que en su estado larvario se han constituido en un problema debido al daño que ocasionan el cual consiste en defoliaciones intensas de los árboles que se utilizan para proporcionar sombra a los cafetales, al destruir el follaje (hojas y yemas) terminales para alimentarse, dejando únicamente las nervaduras de las hojas, devorando muchas veces hasta la misma nervadura. En ataques sucesivos difícilmente se recuperan los árboles dañados. Y como consecuencia de ello, aumenta repentinamente la luminosidad, y ventilación del cafetal, lo que provoca una sensible baja en la humedad relativa y un aumento en la oscilación térmica.

DEFOLIADORES DE LOS INGAS

Los cafetos aumentan su actividad fotosintética y si no están bien nutridos, pueden sufrir una fuerte descompensación. Además las malezas se desarrollan más rápidamente y se favorecen las condiciones para el desarrollo de otras plagas y enfermedades.

PORCENTAJE DE PARASITISMO DE *Telenomus* sp. SOBRE HUEVECILLOS DE *Monoflata pallens* EN 14 LOCALIDADES, (DELAGADILLO, 1973).

LOCALIDAD	No. DE HUEVECILLOS COLECTADOS	% HUEVECILLOS	
		PARASITADOS	SANOS
PUERTO RICO	835	49.6	50.4
LA LAGUNA	1,467	21.2	78.8
LA PITAYA	409	40.5	59.5
QUIMIAPAN	11,564	31.0	69.0
MINILLAR	39,975	29.6	70.4
LAS ANIMAS	2,187	26.3	73.7
PACHO NUEVO	10,386	23.1	76.9
GARNICA	1,080	22.3	77.7
LAS TRANCAS	1,750	22.7	77.3
ESTANZUELA	19,084	19.6	80.4
CONSOLAPA	372	17.4	82.6
PACHO VIEJO	3,372	13.2	86.8
ALBORADA	2,129	13.4	86.6
PASO LADRILLO	1,400	8.0	92.0

CONTROL BIOLOGICO

En la fase de larvas de su desarrollo biológico estos insectos tienen varios enemigos naturales, tales parasitoides son en su gran mayoría insectos pertenecientes al orden Hymenoptera de la familia Ichneumonidae, cuyos adultos, pequeñas avispias, depositan sus

huevecillos en las larvas defoliadoras desarrollándose en algunos casos, grandes cantidades de larvas que terminan en consumir a su huésped. También es común encontrar larvas defoliadoras en cuya piel se encuentran adheridos una gran cantidad de pequeños capullos de sus parásitos, de los cuales emergerán las pequeñas avispas. En estos casos, la larva parasitada termina por morir después de varios días.

Topete (1963) como parásitos de larva encontró cinco especies diferentes de avispas (Hymenoptera) y una especie parásita de huevecillos. Obtuvo también cuatro especies de moscas (Diptera) parásitos de larvas defoliadoras.

El mismo autor (*op. cit.*) reporta a los predadores que con mayor frecuencia se encontraron fueron los siguientes, todos pertenecientes al orden Hemiptera, familia Reduviidae; *Zelus rubidus* Lep., *Zelus ruficeps* Stal. y *Arilus cristatus* Linn.; en algunas ocasiones se observaron adultos de la especie *Castolus plagiaticollis*.

Estos predadores para alimentarse clavan su estilete bucal-chupador en las larvas defoliadoras y succionan sus vísceras previamente digeridas en el cuerpo mismo de la presa. Estas "chinchas" constantemente se encontraron sobre el follaje de los árboles que proporcionan sombra al cafeto, en estado ninfal y adulto, ejerciendo su acción predatoria natural de los estados larvario de los Lepidópteros.

Las especies de predadores anteriormente citados fueron durante un tiempo criados y multiplicados en el Campo Experimental Garnica, como una opción para el control de los defoliadores. Sin embargo las técnicas de multiplicación masiva no han sido completamente desarrolladas a nivel satisfactorio. Entre las características de cada especie podemos citar las siguientes:

Zelus rubidus Lep.

El adulto tiene el cuerpo alargado, de color anaranjado con negro, la cabeza es cilíndrica adelgazándose en la unión con el tórax; el tórax en su parte dorsal es negra y anaranjada la ventral, la parte ventral del abdomen es de color rojo claro con anillos negros siendo la parte final de color anaranjado; cuando la hembra está fecundada el abdomen aumenta de volumen formándose una franja blanca en su parte lateral. La hembra es más grande que el macho siendo el promedio para la hembra de 19.6 mm. y de 15.4 mm. para el macho. Los

huevecillos son cilíndricos, de color café oscuro con el opérculo anaranjado seco, son puestos verticalmente y estrechamente unidos entre sí mide 1 mm. de largo por 0.5 mm. de diámetro.

El ciclo biológico de esta especie en condiciones de laboratorio es de 70 días en promedio (Topete, 1963).

Zelus ruficeps Stal.

El adulto es de cuerpo alargado, de color anaranjado rojizo, la cabeza cilíndrica, adelgazándose en la unión con el tórax; este último en su parte dorsal presenta la forma de un escudo rojizo oscuro y en parte se observan coloraciones blancas, amarillas y negras, por la parte ventral del abdomen su color es blanco sucio con anillos negros. Las hembras fecundadas presentan un aumento en el volumen de su abdomen. La hembra es más grande que el macho variando su longitud entre 19.5 mm. y 21.5 mm., encontrándose la mayor frecuencia en 20.4 mm. para la hembra y entre 16 y 19 mm. para el macho siendo su máxima frecuencia de 17 mm.

Los huevecillos recién puestos son de color café oscuro, al cabo de 72 horas su color es negro con el opérculo de color blanco sucio en forma de cráter mide 1 mm. de largo por 0.5 mm. de diámetro, una hembra pone en promedio 70 huevecillos. Los huevecillos al eclosionar dan origen a las ninfas las que miden 1.2 mm. de longitud, siendo de color amarillo claro transparente, a los 30 minutos cambian a color anaranjado formando un anillo visible en el tercer segmento de las antenas. El ciclo biológico de esta especie de huevo a adulto es de 90 días.

Arilus cristatus Linn.

El adulto es de cuerpo alargado y de color negro sucio; la cabeza es cilíndrica adelgazándose en la unión con el tórax la parte dorsal del tórax presenta un abultamiento en forma de una cresta semicircular y aserrada, la parte ventral es de color gris oscuro con puntos blancos y las patas delanteras y medias son negras, en el último segmento de las patas posteriores presentan una coloración rojiza, las antenas son también negras. Los huevecillos son cilíndricos de color café oscuro con el opérculo café claro, mide 2.5 mm. de largo por 1.6 mm. de diámetro los huevecillos dan origen a las ninfas, las cuales recién emergidas son de color

anaranjado claro y miden 4 mm. de largo. El ciclo biológico de huevo a adulto tiene una duración de 233 días.

Castolus plagiotollis

El adulto es de cuerpo alargado con el dorso de color anaranjado combinado con negro y gris; la cabeza es cilíndrica y de color rojo, adelgazándose en la unión con el tórax, los ojos son prominentes y de color negro, siendo las antenas negras, el tórax en su parte dorsal es de color anaranjado claro con el centro negro y en la parte ventral es de color amarillo claro; la parte dorsal del abdomen es de color gris con negro y el vientre de color blanco sucio con cuatro semicírculos de color negro, presentando los bordes abdominales una coloración rojiza clara; en las extremidades se observa el color rojo claro, de los fémures, siendo las tibias de color negro.

Los huevecillos son cilíndricos de color café oscuro brillante con el opérculo blanco brillante, dan origen a las ninfas las cuales al emerger son de color rojizo, a los treinta minutos la cabeza se vuelve de color anaranjado, el tórax amarillo y el abdomen de color rojo un poco abultado. En condiciones de laboratorio el ciclo biológico de esta especie es de 121 días (Topete, 1963).

LARVAS DE 2 CM. DE LONGITUD DEVORADAS POR LAS DIFERENTES ESPECIES DURANTE SU VIDA (Topete, 1963).

ESPECIE	NUMERO DE LARVAS PREDADAS (PROMEDIO DIARIO)		TOTAL
	NINFA	ADULTO	
<i>Z. rubidus</i>	1.0-1.5	2.0-4.0	168
<i>Z. ruficeps</i>	2.0-3.0	4.0-6.0	325
<i>A. cristatus</i>	4.0-6.0	6.0-8.0	751
<i>C. plagiotollis</i>	0.4-0.8	0.8-1.5	139

Estos hemipteros como ya se ha mencionado se han localizado en varias regiones cafetaleras del país devorando larvas de defoliadores en las partes altas del follaje de los árboles de sombra. Se ha observado que muestran preferencia por las larvas chicas de lepidópteros y en el caso de *A. cristatus* devora también a los gusanos peludos debido a que las larvas no vuelan ni saltan y siendo su cuerpo blando y movimientos lentos, fácilmente son capturados y succionados por los predadores.

Algunos patógenos (hongos y bacterias), causan pérdidas importantes a las poblaciones de defoliadores. En estado larval en poco tiempo ocasionan su momificación, quedando suspendidas en las hojas y totalmente cubiertas por un polvillo de color claro. Este polvillo constituido por esporas en reproducción, es liberado por el viento y depositado en las hojas en donde nuevas larvas lo ingieren y adquieren la infección; al estar infectadas las larvas, estas dejan de comer y los daños al follaje cesan, debido a una parálisis intestinal causada por la acción de los cristales delta endotoxina. Los cristales tóxicos de la bacteria *Bacillus thuringiensis* ataca las paredes del intestino medio de la larva causando disrupción en el balance osmótico, abrasión en la pared estomacal, y permitiendo el escape de las esporas contenidas en el intestino hacia el hemocelo del insecto. Las lesiones causadas en la pared intestinal en combinación con la falta de alimentación son lo suficientemente graves como para causar la muerte del insecto.

Inmediatamente después de las rupturas en la pared intestinal, las esporas de la bacteria *B. thuringiensis* se escapan hacia la cavidad llamada hemocelo, en donde los tejidos son bañados por la sangre del insecto en un sistema circulatorio abierto. Como la sangre del insecto ofrece un medio ideal para el desarrollo de las bacterias, las esporas comienzan a desarrollarse rápidamente durante solo 12 horas, una sola espora puede producir 69 billones de nuevas bacterias. Como resultado del alto número de bacterias en la sangre del insecto, éstas compiten con el insecto por los nutrientes contenidos en la sangre, causando un debilitamiento total, se mueven torpemente, cambian de color, exhiben características similares a vómitos y diarrea y finalmente mueren quedando completamente momificadas en un plazo de 48-72 horas (anónimo, 1984).

ROYA ANARANJADA DEL CAFETO

La roya del cafeto, causada por el hongo *Hemileia vastatrix* Berk y Br. es la enfermedad más importante del cafeto detectada por vez primera en nuestro país en el mes de julio de 1981 en el estado de Chiapas.

La enfermedad se caracteriza por la formación de pustulas visibles en el envés de las hojas cuyo tamaño y número variable en infecciones fuertes, ocasiona defoliación de los cafetos repercutiendo en su producción.

Actualmente se encuentra distribuida en 218,789 hectáreas que representan el 39.0% de la superficie total cultivada a nivel nacional, afectando a 103,489 productores de 329 municipios de los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, Hidalgo, San Luis Potosí y Tabasco.

Entre las líneas de investigación del Centro de Investigaciones de las Royas del Cafeto en Oeiras, Portugal (D'Oliverira, 1957) está el "Estudio de los organismos asociados o parásitos de las royas del cafeto", con el objetivo de definir su papel como posibles factores limitantes en la dispersión de las royas.

Tres especies de hongos son hasta ahora aislados de las pustulas uredospóricas de *H.vastatrix*, *Verticillium hemileia*, Bour., *Cladosporium hemileia*, Stey., y *Penicillium waksmani* Zaleski.

V.hemileia es el más común de estos hongos y se encuentra presente en prácticamente todas las razas de roya. En las condiciones de invernadero origina serios problemas en el cultivo de las razas de *H.vastatrix* siempre que la humedad relativa es alta y la temperatura abajo de 20 °C. Por lo contrario, *C.hemileia* solo raras veces ha sido observado en muestras recibidas de la roya anaranjada. Fue encontrada con cierta frecuencia asociado a *H.vastatrix* parasitando hojas de *C.canephora* en Angola. En cuanto a *P.waksmani* aparece esporádicamente en las razas de la roya mantenidas en el invernadero. Los elementos que se tienen parecen indicar que los dos primeros hongos son verdaderos hiperparásitos de *H.vastatrix* mas que *P.waksmani*, el cual es un asociado eventual sin efectos predatorios sobre las royas.

V.hemileia en virtud de la frecuencia de su desenvolvimiento sobre las pústulas de la roya anaranjada, las cuales adquieren un color blanco y de su aparente hiperparasitismo, es la especie que mejor ha sido estudiada. La producción de una enzima proteolítica por *V.hemileia* ha sido estudiada como la forma de ataque utilizada por este hongo para destruir la pared celular de las uredosporas de la roya y así penetrar en su interior. Al realizar un examen bajo el microscopio electrónico de las uredosporas de *H.vastatrix* parasitadas por *V.hemileia* se pudieron observar las hifas de este hongo en el interior de las esporas de la roya mostrando así la verdadera naturaleza hiperparasitaria. Sin embargo el papel que desempeña *V.hemileia* en el control biológico de la roya no está convenientemente esclarecido.

El estudio de los complejos *H.vastatrix-C.hemileia* y *H.vastatrix-P.waksmani* ha sido impedido por la dificultad de obtenerse cultivos de roya libres de *V.hemileia* que puedan ser inoculados con cultivos puros de cada uno de los hongos que se desean estudiar por separado.

Los estudios fisiológicos que han sido llevados a cabo con cultivos puros de estos hongos, muestran que *P.waksmani* libera enzimas con actividad proteolítica, celolítica y laminarásica y *C.hemileia* no produce ninguna de ellas. Se desconoce si la producción de estas enzimas tiene algún significado en la asociación de estos hongos con las esporas de la roya anaranjada.

Desde el punto de vista entomológico en México se han hecho observaciones de campo en la región del Soconusco en el estado de Chiapas, sobre insectos que se alimentan de las pústulas de *H.vastatrix*; se ha comprobado la presencia de una larva esporófaga perteneciente al orden Diptera y a la familia Cecidomyiidae la cual se alimenta de las esporas de la roya anaranjada del cafeto; de aquí que se hace necesario efectuar investigaciones en torno a este insecto para ser empleado en el control biológico de *H.vastatrix*.

CONCLUSIONES

Actualmente para el combate de plagas y enfermedades del cafeto se recomiendan prácticas de cultivo y control químico; sin embargo faltan por hacer investigaciones sobre el empleo del control biológico el cual es de mucha importancia, ya que de implementarse no se efectuarían erogaciones por concepto de insecticidas y equipo de aplicación, aunado a esto se evitarían riesgos en la

aplicación de insecticidas tales como contaminación, intoxicación y residuos entre otros.

La biotecnología en el control biológico se presenta como una alternativa para afrontar el combate de plagas y enfermedades del cafeto. Es una nueva herramienta que si se sabe utilizar y aprovechar, sería benéfico para la cafeticultura de México al incluirlo en un programa de control integrado.

BIBLIOGRAFIA

ARANDA D.E. 1982. Prueba de tamaño de adultos de minador del cafeto *Leucoptera coffeella* Guer-Men, 1842., para diferenciar sexo. Depto. de Entomología, INMECAFE Xalapa, Veracruz.

ARANDA D.E. 1986. Control natural del minador de la hoja del cafeto en México *Leucoptera* Guer-Men, 1842. (Lep-Lyonetiidae). Tesis profesional, Universidad Veracruzana. Xalapa Veracruz, México, 217 p.

AVERNA SACCA R. 1930. Os entomofagos criptogâmicos na broca do cafeiro encontrados em Sao Paulo. Bolm. Agric. Vol. 31 (1-2): 10-24; (3-4): 195-213, Sao Paulo.

BETREN J.G. 1961. *Cephalonomia stephanoderis* Nov. spec. Entomologische Berichten 21 (10): 183-4 Amsterdam.

CRAMER P.J. 1957. A review of literature of coffee research in Indonesia (From about 1602 to 1945). Inter-American Institute of Agricultural Sciences. 262 p. pp. 51-4. Costa Rica.

DELGADILLO T.M.S. 1973. Contribuciones al conocimiento biológico de la "Palomilla blanca" del cafeto *Monoflata pallescens* (Stal) (Homoptera-Flatidae) y su parásito *Telenomus* sp. (Hymenoptera-Scellionidae) en la región de Coatepec, Veracruz. Tesis profesional, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz, 90 p.

D'OLIVEIRA B. 1957. As ferrungen do cafeiro. Junta de Investigações do Ultramar. Centro de Investigações das ferrogens do Cafeiro. Estacao Agronomica Nacional. Oeiras, Portugal. 61 p.

HARGREAVES H. 1926. Notes on the coffee berry-borrrer (S. Hampel Ferr) in Uganda. Bull. Ent. Res. 16: 347-54. London.

MOTTE G. 1976. Investigaciones sobre la biología y el control del minador del café *Leucoptera coffeella* (Guer) en café de sol (*Coffea arabica* variedad Caturra) en Cuba. Diez años de colaboración científica Cuba-RDA., Academia de Ciencias de Cuba, INIFAT. p. 41-45.

REGALADO C.A. 1989. Informe de actividades de la reunión del programa de investigación sobre control biológico de la broca. Instituto Mexicano del Café (INMECAFE) Gerencia de Investigación y Experimentación.

TICHELER J.H.G. 1961. Estudio analítico de la epidemiología del escolitido de los granos de café (*S. hampei* Ferr) en Costa de Marfil. CENICAFE Vol. 14 (4): 223-287 (1963) Colombia.

TOLEDO P.S. DE & PINTO DA FONSECA J. 1935. *Heterospilus coffeicola* Sch., parasito da broca do cafe *S. hampei* Ferr. Arq. Inst. Biol. 6: 179-99 Sao Paulo.

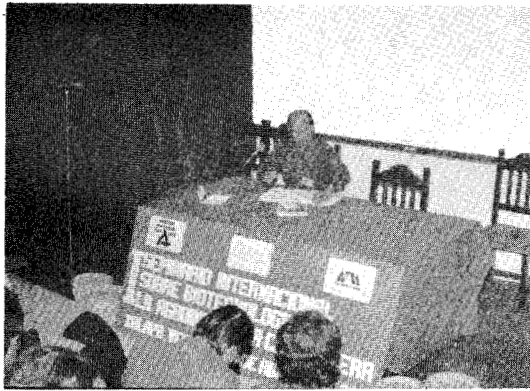
TOLEDO A.A. DE 1942. Notas sobre a biologia da vespa de Uganda *Prorops nasuta* W. (Hym-Bethyl). no estado de Sao Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol. 13: 233-60 Sao Paulo.

TOPETE P.E. 1963. Estudio sobre chinches predatoras (*Hemiptera-reduviidae*) y la posibilidad de utilizarlas para el control biológico de los gusanos defoliadores que afectan los árboles que proporcionan sombra a los cafetos. Sección Fitopatología y Entomología. Instituto Mexicano del Café (INMECAFE). Xalapa, Veracruz 30 p.

TOPETE P.E. 1966. Plagas y enfermedades del cafeto. Instituto Mexicano del Café (INMECAFE). Xalapa, Veracruz. 70 p.

VILLANUEVA M.A.E. 1986. Prueba de insecticidas para el control de la broca del grano de café *H. hampei* Ferr (Col.-Scolytidae) en el Soconusco Chiapas. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Chapingo, 94 p.

WATERSTON H. 1923. Notes on parasitic hymenoptera. Bull. Ent. Res. 14 (1): 103-18, London .



Asistencia a las ponencias sobre mejoramiento genético del café, uso de biopesticidas y equipo para la agroindustria cafetalera.



II PARTE

APROVECHAMIENTO DE LOS PRINCIPALES SUBPRODUCTOS DEL CAFE

"UTILIZACION INTEGRAL DE LOS SUBPRODUCTOS DEL CAFE"

Jaime Zuluaga Vasco, Sección de Química Industrial,
Centro Nacional de Investigaciones de Café - CENICAFE
Chinchiná - Caldas - Colombia

La familia de las Rubiáceas, a la cual pertenece el cafeto, está compuesta por unos 500 géneros y 8.000 especies. En el género Coffea hay dos especies que son de importancia comercial, Coffea arábica Linn y Coffea canéphora Pierre ex Froehner, las cuales se conocen comercialmente como arábica y robusta, respectivamente.

Aproximadamente el 75% de la producción mundial es de Coffea arábica y en Colombia se han cultivado las dos variedades "originales" de esta especie: C. arábica var. arábica (var. typica) y C. arábica var. bourbón. La segunda es probablemente un mutante de la primera y se dice, de acuerdo con algunos reportes, da una mayor producción y un licor de mejor calidad.

También se ha cultivado ampliamente en los últimos años por su gran producción y su muy buena adaptación al medio ambiente de la zona cafetera colombiana, el Caturra, una variedad del Bourbón. Actualmente se comienza a cultivar la variedad Colombia, una variedad compuesta y proveniente de los cruza-mientos de la variedad Caturra con el Híbrido de Timor, que posee todas las características básicas del Caturra y además es resistente a la Roya del cafeto causada por Hemileia vastatrix Berk. y Br.

La forma, tamaño y composición química del fruto del cafeto están determinados principalmente por factores intrínsecos de la planta (especie y variedad) e influenciados por factores ambientales y culturales.

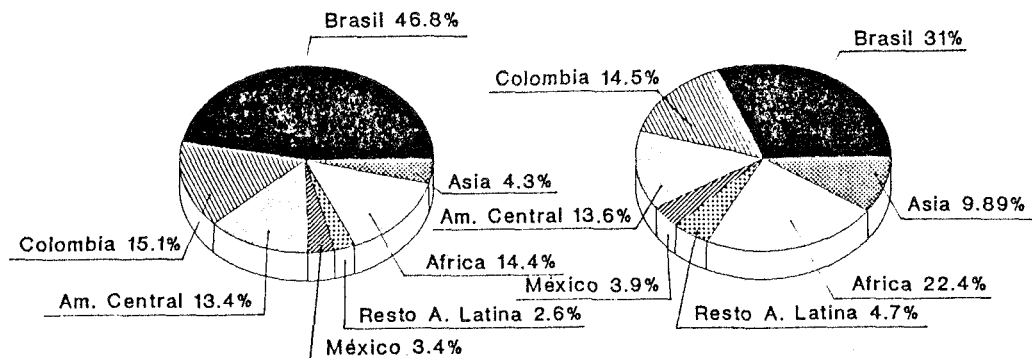
PRODUCCION INTERNACIONAL DE CAFE

En la Figura 1 se observa la producción promedio de café para los principales países productores en los períodos 1950/51 - 1954/55 y 1980/81 - 1985/86. Para este intervalo de 30 años la producción mundial se multiplicó por un factor de 2,3 y la contribución del Brasil en el total mundial disminuyó sustancialmente, mientras la participación de Africa y Asia aumentaron sensiblemente.

PRODUCCION INTERNACIONAL DE CAFE PRINCIPALES PAISES PRODUCTORES

PROMEDIO 1950/51-1954/55

PROMEDIO 1980/81-1985/86



Cosecha promedio 40,878 millones (sacos) Cosecha promedio 92,530 millones (sacos)

Fuente: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia-USDA

FIGURA 1. Producción Internacional de café. Principales países productores.

La producción actual de café a nivel mundial es del orden de los 85 millones de sacos (1), de los cuales aproximadamente el 70-75% son cafés arábicos y el resto cafés robustas (2). La demanda por parte de los países consumidores adscritos a la OIC (Organización Internacional del Café) es de 50 a 55 millones de sacos al año de los cuales el 40% son cafés arábica lavados (3).

EL FRUTO DEL CAFETO

El fruto del café tiene el mismo aspecto que el de una cereza y por esta razón se le llama con este nombre. Un corte longitudinal del fruto (Figura 2), muestra las diferentes capas celulares. La pulpa está formada por el exocarpio (epidermis) y parte del mesocarpio. El color de la epidermis varía de verde (clorofila) a rojo (antocianinas) y depende de la variedad de café y del grado de maduración del fruto. Envuelto por la epidermis se encuentra el mesocarpio el cual está constituido por una gruesa capa de tejido esponjoso de aproximadamente 5 mm de espesor, rico en azúcares y pectinas y que rodea dos granos

enfrentados por su cara plana. Los granos están a su vez revestidos por una doble membrana: la primera llamada comúnmente pergamino, de color amarillo pálido y de consistencia dura y frágil, la segunda mucho más fina que la anterior y adherida al grano (albúmen), llamada película plateada (tegumento seminal). En la base del grano (albúmen) y sobre su cara interna se encuentra el gérmen (embrión).

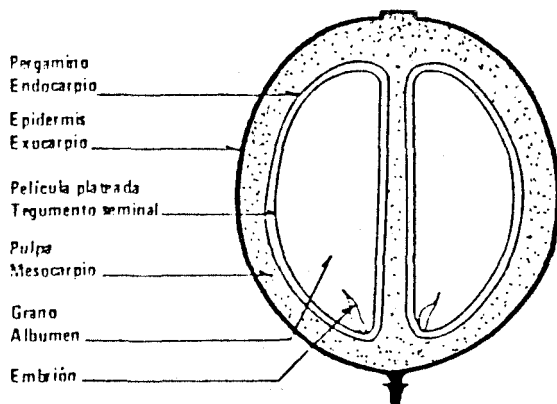


FIGURA 2. Corte longitudinal de un fruto de café. Tomado de bibliografía 4.

EL PROCESO DE BENEFICIO DEL CAFE

El tipo de proceso de beneficio al cual se somete el fruto de café, después de la recolección depende en gran medida de la especie y variedad de café cultivado, de la disponibilidad de agua y sobre todo del tipo de recolección practicada.

Normalmente los cafés arábica recolectados racionalmente (recolección manual del fruto maduro y sano) son beneficiados por vía húmeda y dan origen a las bebidas suaves de más alta calidad. Los cafés arábica y robusta recolectados indiscriminadamente (frutos maduros, verdes, pintones, secos en el árbol, recogidos del suelo, etc.) son beneficiados por vía seca (secados sin remover la pulpa) y dan origen a bebidas de calidad media y baja respectivamente (Figura 3).

BALANCE DE MATERIA EN EL PROCESO DE UTILIZACION DEL FRUTO DE CAFE.

El estudio de la distribución en porcentaje de los macro-componentes de la cereza de café (Figura 4), procesada hasta la obtención de la infusión, permite

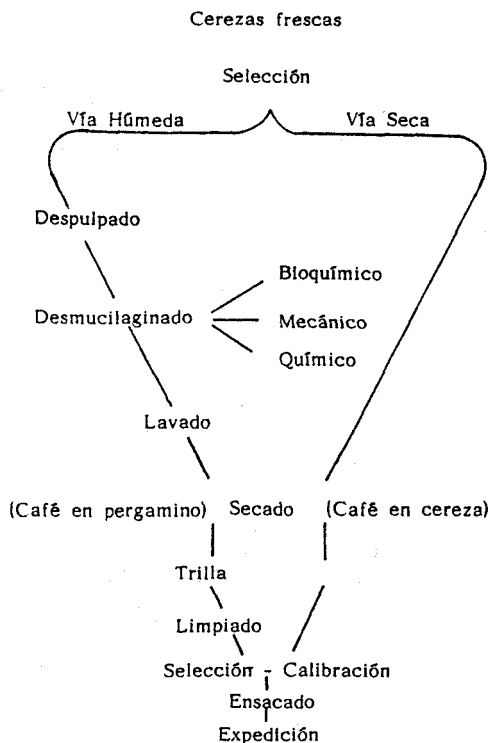


FIGURA 3. Operaciones sucesivas en el beneficio del café por vía húmeda y vía seca. Tomado de bibliografía 5.

constatar que solamente el 6% del peso del fruto fresco es utilizado para la preparación de la bebida. El 94% restante, constituido por agua y subproductos del proceso, en la mayoría de los casos no es utilizado y se convierte en una fuente de contaminación del medio ambiente.

Se observa que durante el proceso de beneficio húmedo del café se generan dos subproductos : la pulpa que constituye el 39% del peso del fruto fresco y el mucílago que representa el 22%.

Balances de materia realizados por otros investigadores, Bressani y colaboradores (7) y expresados en base seca muestran que la pulpa constituye el 28,7% de la materia seca de la cereza, el mucílago el 4,9%, la cascarilla o pergamino el 11,9% y el grano el 55,4%.

De acuerdo con Aguirre (8), esta distribución en porcentaje, base seca, de los macrocomponentes del fruto del café varía ligeramente entre variedades de café. Para el caso de *Coffea arábica* var. Típica y *Coffea arábica* var. Bourbon la pulpa representa el 26,5% y 29,6% respectivamente; el mucílago el 13,7% y 7,5%; la cascarilla el 10% y 11,2% y el grano el 50% y 51,7%. Es de esperarse que las condiciones climáticas y culturales también tengan una influencia sobre esta distribución.

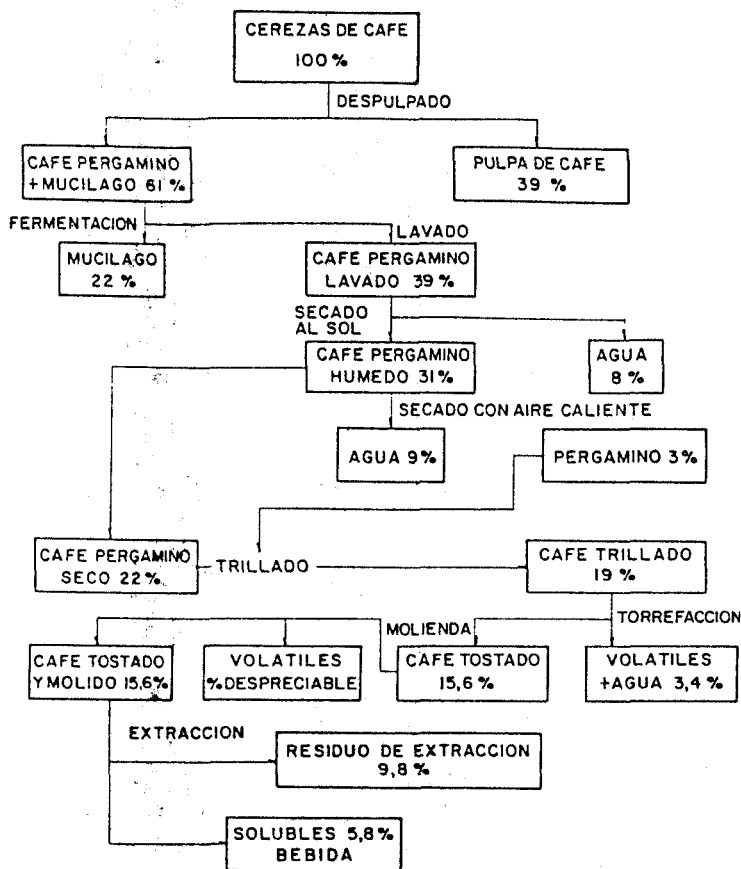


FIGURA 4. Distribución en porcentaje de los macro-componentes de la cereza de café. Tomado de bibliografía 6.

PRODUCCION CALCULADA DE SUBPRODUCTOS EN COLOMBIA.

La producción anual de café en Colombia fluctúa entre 10 y 13 millones de sacos de 60 kilos los cuales son producidos por aproximadamente 300.000 familias de caficultores. Las labores de cultivo, beneficio, transporte, mercadeo e industria del café dan empleo directo o indirecto al 10% de la población del país (3).

De acuerdo con el Censo Cafetero 1980-81 (9) la capacidad potencial de producción del país, en cargas de 125 kilos de café pergamino seco, es de 8'930.617. Esto equivale a 1'116.237 toneladas de café pergamino seco que a su vez provienen de 5'023.472 toneladas de café cereza (teniendo en cuenta que 4.5 kilos de café en cereza producen un kilo de café pergamino seco; de acuerdo con Uribe (10)).

Dado que la pulpa constituye el 40% del peso del fruto fresco se puede calcular una producción anual para el país del orden de 2.009.389 toneladas de pulpa fresca. De igual manera puesto que el mucílago constituye aproximadamente el 22% del peso del fruto fresco, es posible calcular una producción anual de 1'105.164 toneladas de mucílago fresco.

CAPACIDAD CONTAMINANTE DE LAS AGUAS RESIDUALES DEL PROCESO DE BENEFICIO HUMEDO DE CAFE.

En la producción de los cafés lavados de alta calidad, los países están asumiendo un sobre costo que no está siendo bien reconocido en el mercado internacional y es el debido a la contaminación de las corrientes de agua con los efluentes acuosos del proceso de beneficio húmedo.

La contaminación generada por un beneficiadero que procesa una tonelada de café limpio por día es equivalente a 60.000 galones (ingleses) de aguas residuales domésticas o a los residuos domésticos de una población de 2.000 habitantes-día (11). Lo anterior equivale a decir que el beneficio de un kilogramo de café en cereza produce una contaminación equivalente a la de 45.5 litros de aguas residuales domésticas o que el beneficio de tres kilogramos de café cereza equivale a la contaminación generada por una persona por día.

La dimensión del problema también puede entenderse al comparar las características físico-químicas de las aguas residuales del proceso de beneficio húmedo de café con las de las aguas residuales domésticas (12).

PARAMETRO	BENEFICIO HUMEDO				Aguas residuales domésticas
	Aguas del Despulpado		Aguas del Lavado		
	Muestra A	Muestra B	Muestra A	Muestra B	
Agua usada (Lts/kg de cerezas)	1.8	7.2	1.2	4.8	
Sólidos totales mg/L	19893	3660	10685	2287	435
D.Q.O.* de sólidos totales p.p.m.	24800	8150	15465	3385	389
Sólidos disueltos mg/L	19552	3211	9377	2232	246
D.Q.O.* de sólidos disueltos. p.p.m.	20490	5676	9665	2720	
pH	5.0		4.4		7.0

* D.Q.O. Peso de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica presente en una muestra.

COMPOSICION QUIMICA DE LA PULPA DE CAFE.

Puesto que la pulpa fresca contiene naturalmente un 78% de agua en peso (13), la cantidad de pulpa producida en el país en base seca puede ser del orden de 442.066 toneladas.

No obstante la gran cantidad de pulpa producida en el país, su contenido de humedad y la forma tan atomizada de su obtención, han impedido su utilización a nivel industrial y su uso mas frecuente, a nivel de finca, es como abono después de una adecuada descomposición por fermentación aeróbica. La utilización industrial mas conocida, sobre todo en América Central, es como alimento para el ganado vacuno.

La tabla 1 (14) presenta los resultados de un análisis químico proximal de la pulpa de café. Nótese la importancia del contenido en hidratos de carbono, fibra cruda, cenizas así como en proteínas. También se observa el contenido no despreciable de cafeína, taninos, ácido clorogénico y ácido cafeico.

El contenido de nutrimentos de la pulpa de café es superior al de la cáscara de cítricos, material utilizado ampliamente en la alimentación de rumiantes.

TABLA 1. Composición química proximal de la pulpa de café deshidratada.

N u t r i m e n t o	Pulpa deshidratada
Humedad	6.93 %
Materia seca	93.07 %
Extracto etéreo	2.50 %
Fibra cruda	15.10 %
Nitrógeno	1.32 %
Proteína (N x 6.25)	8.25 %
Cenizas	8.12 %
Extracto libre de nitrógeno	59.10 %
Carbohidratos +	74.10 %
Cafeína	0.75 %
Taninos	3.70 %
Calcio	0.32 %
Fósforo	0.05 %
Potasio	3.17 %
Sodio p.p.m.	160
Hierro p.p.m.	250

+ Carbohidratos = Extracto libre de Nitrógeno + Fibra cruda.

Un análisis mas preciso en relación con los azúcares libres, las proteínas y los compuestos polifenólicos puede observarse en las tablas 2, 3 y 4. (6).

El análisis de los azúcares, por cromatografía gas-líquido, de la pulpa de café secada por liofilización, muestra que ella contiene 22.65% de azúcares libres y su naturaleza y proporciones pueden observarse en la tabla 2 (6). La diferencia en el contenido de azúcares libres entre la pulpa liofilizada y la pulpa secada al sol puede explicarse por el efecto de la hidrólisis de glicósidos, ocurrida en la pulpa secada al sol, dando origen a una mayor cantidad de azúcares libres.

TABLA 2. Contenido de azúcares libres de la pulpa de café.

Azúcares	Liofilizada		Secada al sol	
	mg/100 mg	% total	mg/100 mg	% total
$\alpha + \beta$ D-fructuosa	9.92	43.8	15.20	57.1
D - galactosa	2.40	10.6	1.38	7.0
α -D-glucosa	3.42	15.1	4.52	17.0
β -D-glucosa	3.42	15.1	3.11	11.7
Inositol	0.28	1.2	0.10	0.4
Sacarosa	3.21	14.2	1.33	6.8
Total	22.65		26.64	

La evaluación "in vitro" de la calidad de las proteínas muestra que los amino-ácidos esenciales mas abundantes son : triptófano, treonina, tirosina, valina y fenil-alanina y las menos abundantes : metionina e isoleucina. Tabla 3 (6).

La determinación cuantitativa de las diferentes clases de compuestos fenólicos para dos muestras de pulpa de café arábica, variedad Típica roja, secadas por liofilización y por exposición al sol, respectivamente, ha mostrado la ausencia de taninos en la pulpa fresca (liofilizada) y un contenido de 2.07% en la pulpa secada al sol. El total de compuestos fenólicos en la pulpa fresca es de 6.29% (expresados como ácido gálico por cada 100 mg de pulpa fresca) y de 6.62% en la pulpa secada al sol. Tabla 4 (6). De igual manera que para los azúcares libres, el mayor contenido de fenoles en la pulpa secada al sol se explica por hidrólisis de glicósidos fenólicos que dejan libre el núcleo fenólico y el azúcar.

TABLA 3. Composición de aminoácidos de la pulpa de café.

Aminoácidos (AA)	mgAA/gn	mgAA/100 g muestra	gAA/100 g proteína	gAA/16 g N
Lisina	224.2	287	3.59	3.59
Histidina +	Presente	Presente	Presente	Presente
Arginina	235.5	302	3.76	3.79
Acido glutámico	721.9	926	11.58	11.55
Acido Aspártico	328.0	420	5.25	5.25
Treonina	232.9	299	3.74	3.73
Serina	552.5	708	8.85	8.84
Prolina	292.0	374	4.68	4.67
Glicina	271.0	348	4.35	4.34
Alanina	269.7	346	4.32	4.32
Cistina	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Valina	346.7	444	5.55	5.55
Metionina	48.5	62	0.78	0.78
Isoleucina	167.9	215	2.69	2.69
Leucina	239.0	307	3.34	3.82
Fenilalanina	241.0	309	3.86	3.86
Triptófano	246.9	316	3.95	3.95

+ La Histidina no se evaluó por no separar del Amoníaco.

TABLA 4. Contenido fenólico de la pulpa de café.

Tipo de secado	Fenoles totales	Fracciones no taninas			Fracciones taninas		
		Fenoles	Flavonoides	Total	Condensados	Hidrolizables	Total
Liofilizada	6.29	2.28	4.01	6.29	0.00	0.00	0.00
Secada al sol	6.62	1.72	2.83	4.55	1.64	0.43	2.07

Estos resultados permiten pensar que la formación de los taninos en la pulpa de café se efectúa principalmente por una reacción de polimerización (condensación) de moléculas del tipo de las catequinas y leucoantocianidinas, las cuales son los constituyentes de los taninos condensados. También hay formación de taninos hidrolizables, cuyas unidades básicas de constitución son los ácidos fenólicos o los derivados de éstos. La formación de los taninos condensados explica el cambio de color de la pulpa de rojo o amarillo a café oscuro por polimerización de los antocianidinas; compuestos responsables del color rojo de la cereza.

El estudio detallado de la fracción fenólica mas importante, los flavonoides, permitió mediante análisis cromatográficos y espectroscópicos determinar la presencia de dos heterósidos : cianidina-3-glucoramnósido y cianidina-3-glucósido.

COMPOSICION QUIMICA DEL MUCILAGO DE CAFE.

De acuerdo con el Censo Cafetero 1980-81 (9) y la Figura N° 4 (6) se puede calcular una producción de mucílago fresco del orden de 1'105.164 toneladas (base húmeda).

Nadal (15) reporta que el 84.2% del peso del mucílago fresco es agua, lo cual permite calcular una producción de mucílago, en base seca, del orden de 174.616 toneladas.

Desde el punto de vista físico el mucílago es un hidrogel. Químicamente, el mucílago contiene agua, pectinas, azúcares y ácidos orgánicos. Durante la maduración del fruto del café el pectato de calcio y la protopectina son convertidos en pectinas por la acción de enzimas pectinolíticas. De acuerdo con Aguirre (8) el mucílago no contiene ni cafeína ni taninos.

En la tabla 5 puede observarse la composición química del mucílago reportada por varios autores.

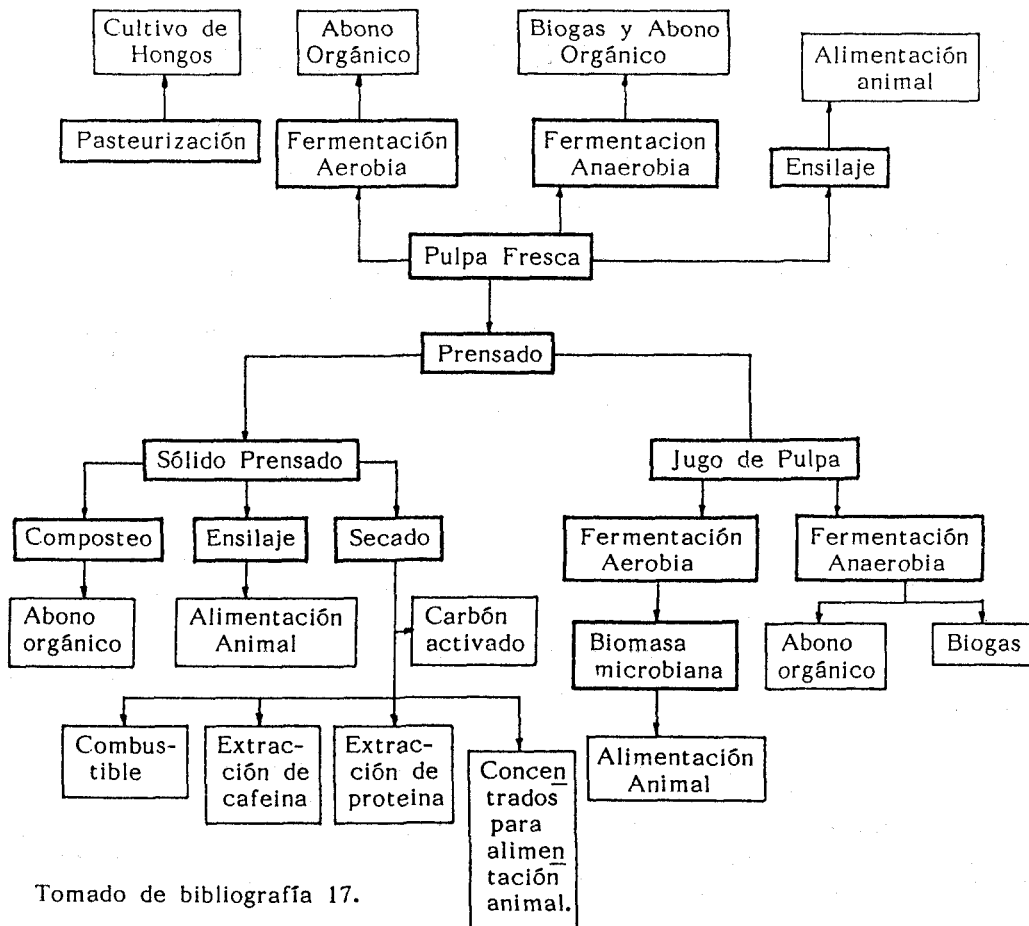
TABLA 5. Composición química del mucílago del fruto del café.

C o m p o n e n t e	Nadal (15)	Bressani (16)
	% Base Húmeda	% Base Seca
Sustancias pécticas totales		35.8
Azúcares totales	4.1	45.8
Azúcares reductores		30.0
Azúcares no reductores		20.0
Celulosa + Cenizas		17.0
Agua	84.2	
Proteína	8.9	
Acido péctico	0.91	
Cenizas	0.70	

APROVECHAMIENTO INDUSTRIAL DE LOS SUBPRODUCTOS DEL BENEFICIO HUMEDO DEL CAFE.

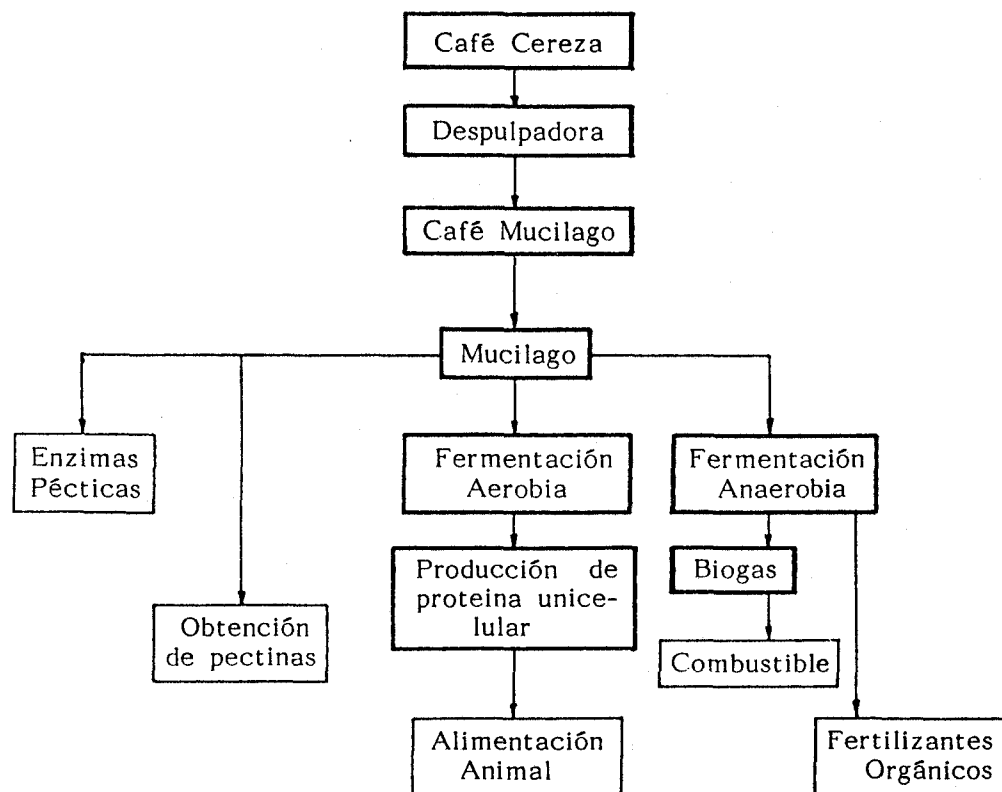
Hay varios factores que han limitado el uso industrial de los subproductos del café : 1) el alto contenido de agua de los subproductos lo cual hace antieconómico su transporte o deshidratación, 2) el bajo precio de los productos hasta ahora obtenidos en su procesamiento. Hay un tercer factor de importancia, que se presenta en los países donde la producción de café se hace en su gran mayoría en pequeñas fincas, caso de Colombia, y en la forma tan atomizada como se originan los subproductos; lo que hace necesario su transporte a centros de acopio para su procesamiento industrial. No obstante varios investigadores han propuesto e investigado, sobre todo a nivel de laboratorio, varias alternativas de utilización para estos subproductos, Figuras 5 y 6.

FIGURA 5. Alternativas de uso para la pulpa de café.



Tomado de bibliografía 17.

FIGURA 6. Alternativas de uso para el mucílago de café.



Tomado de bibliografía 17.

Es una constante, en las publicaciones sobre utilización industrial de subproductos de café, la ausencia de estudios económicos de factibilidad. También es necesario valorar las bondades, desde el punto de vista ambiental, de los procesos de utilización de estos subproductos que impiden su conversión en fuentes de contaminación.

En la actualidad es la biotecnología la que está abriendo las mas amplias perspectivas para la utilización de los subproductos agroindustriales, de manera rentable, mediante la obtención de productos finales con alto valor agregado (enzimas o metabolitos secundarios) y es muy posible que a corto plazo se tengan utilizations concretas a nivel industrial de los subproductos del proceso del café.

BIBLIOGRAFIA

1. I.C.O.-WP Agreement N° 13/88.
2. I.C.O. - Documento ICC-50-8, 4 octubre/88.
3. CHALARCA, J. El café en la vida de Colombia. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Bogotá, 1987.
4. BUERGIN, E.C., Café, Sigloch Edition, Salzboung (1978).
5. WILBAUX, R. Technologie du café Arabica et Robusta, Publication de la Direction de L'Agriculture, des Forets et des L'Elevage, Brussels, 1956.
6. ZULUAGA V., J. Contribution a l'etude de la composition chimique de la pulpe de cafe (Coffea arabica L.). Thèse de Doctorat es Sciences. Faculté des Sciences, Université de Neuchatel-Suisse. 1981.
7. BRESSANI, R., E. ESTRADA y R. JARQUIN. Pulpa y pergamino de café. I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa. Turrialba, 22:299-304. 1972.
8. AGUIRRE, B. F. La utilización industrial del grano de café y de sus productos. Guatemala, Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (Investigaciones Tecnológicas del ICAITI, N° 1). 43 p. 1966.
9. FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. División de Investigaciones Económicas. Departamento Censo Cafetero. Censo Cafetero Nacional 1980-1981. pp. 24.
10. URIBE H., A. Constantes físicas y factores de conversión en café. Avances Técnicos. CENICAFE (Colombia). Abril 1977. N° 65.
11. ADAMS, M.R.; DOUGAN, J. Microbiological methods for the disposal and utilization of coffee processing wastes. ASIC, 9ª Colloque, Londres, 1980.
12. ZULUAGA V., J.; COOKMAN, G. Un sistema de filtro anaeróbico de flujo ascendente (UAF) para la biodigestión de aguas residuales del beneficio del café. Tercer Simposio Internacional sobre la utilización integral de los subproductos del café. Guatemala, 1987.
13. ZAMBRANO F., D.; ZULUAGA V., J. Balance de materia en un proceso de beneficio húmedo de café. Chinchiná (Colombia). Centro Nacional de Investigaciones de Café. 1985. s.p. (mecanografiado).

14. ZULUAGA V., J.; BONILLA, C.; QUIJANO, M. Contribución al estudio y utilización de la pulpa de café. Séptimo Coloquio Internacional sobre la Química de los cafés. (Hamburgo 9-14 de junio/75), ASIC Paris, p. 233-242.
15. NADAL N, G.M. Coffee mucilage, its chemical composition. Coffee and Tea Ind. 82(Nº 8):17-18. 1959.
16. ASOCIACION NACIONAL DEL CAFE "ANACAFE". Guatemala. Manual Práctico de Beneficios de Café. Boletín Nº 13. 1973. 96 p.
17. SANCHEZ, J. R.; YOUNG, M. A.; BERISTAIN, B. Panorama general de producción y aprovechamiento de residuos agrícolas y agroindustriales en México. In: Hurtubia, J.; Monroy, O. eds. memorias del Taller Regional PNUMA (CEPAL) Geplacea sobre: utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en América Latina y el Caribe. 1985: 379-406.

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

REUTILIZACION Y PRENSADO DE PULPA EN EL BENEFICIO DE CAFE

ING. IND. QUIM JOSE JORGE MORALES OLGUIN (*)

El beneficio húmedo es el que transforma el café cereza a pergamino seco, en su proceso interviene como agente principal el agua, ésta una vez utilizada se le llama agua residual, su contenido en sustancias orgánicas es bastante elevado y son descargadas comunmente a los ríos y arroyos cercanos a los beneficios; sus efectos son indudablemente contaminantes, destruyen o degradan la ecología y crean en ocasiones graves focos de infección.

El Instituto Mexicano del Café (INMECAFE) se ha preocupado por esta situación, y se han venido haciendo estudios sobre las aguas residuales del beneficio húmedo del café, el grado de avance de las mismas apenas comienza, por la magnitud del problema que aborda.

El presente estudio pretende hacer algunas aportaciones a la solución de dicho problema, contempla los tratamientos necesarios para controlar la degradación ecológica y el aprovechamiento del agua una vez tratada, utilizará métodos físico-químicos y biológicos para determinar parámetros de evaluación.

OBJETIVO

El presente trabajo tiene como objetivo primordial dar una solución al problema de la contaminación que ocasionan los beneficios del café, ya que en la actualidad la cafeticultura forma parte de una de las actividades económicas más importantes para México, tanto por las divisas que obtiene como por los empleos que genera; con frecuencia se habla del café sin un conocimiento pleno de su cultivo, industrialización y comercialización; así como las investigaciones realizadas en su ámbito; dando origen a confusiones o contradicciones.

(*) Instituto Mexicano del Café , Región Huatusco, Ver.

De igual manera dar una solución al problema presentado en el beneficio húmedo "CHOCAMAN", con respecto a la contaminación ocasionada por sus aguas residuales al cauce del río "seco", del cual se abastece parcialmente el sistema de agua potable de la ciudad de Córdoba, motivo por el cual fué sancionada dicha planta por las autoridades de SEDUE Y CEAPA y no autorizar su operación. (2)

GENERALIDADES

1. ANALISIS DEL CONTENIDO DE SOLIDOS EN LAS AGUAS RESIDUALES DEL PROCESO DEL BENEFICIADO HUMEDO DEL CAFE.

Del analisis realizado, se estableció que los principales usos del agua que originan desechos en los beneficios de café son:

- a) Usos varios, tales como separar las materias extrañas por gravedad en el tanque sifón.
- b) Transporte del café cereza a las despulpadoras desde el tanque sifón.
- c) Transporte del café despulpado a los tanques de fermentación.
- d) Lavado del grano en los tanques de fermentación.
- e) Transporte del grano de los tanques de fermentación a oreadoras.

2. LOS DESECHOS DE CAFE MAS IMPORTANTES SON:

- a) PULPA: es el desecho mas molesto y en mayor volumen, aproximadamente representa el 40% del peso total del fruto, en algunos beneficios se recolecta la pulpa, pero en la mayoría de éstos no se cuenta aún con dispositivos adecuados para su manejo y disposición.
- b) AGUA DE DESPULPADO: Contiene relativamente una alta cantidad de sólidos sedimentables, azúcares, materia orgánica en abundancia, lo cual la hace altamente contaminante.
- c) AGUA DE LAVADO DE LA FERMENTACION: Contiene una gran cantidad de geles coloidales de pectinas y otros productos, los cuales son comparativamente sustancias contaminantes menores. (3), (1)

DESCRIPCION DEL PROCESO

1. ESTUDIO SOBRE EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DEL BENEFICIO HUMEDO DEL CAFE

El presente estudio fué realizado sobre las aguas residuales del beneficiado del café por vía húmeda en el beneficio CHOCAMAN (fig. 1), está orientado a establecer los índices de contaminantes vertidos a las corrientes de ríos y arroyos, debido a las aguas utilizadas en el proceso de transformación del café. Se establecerá el tratamiento que se debe emplear en el agua residual con el fin de amortiguar sus efectos ecológicos negativos y así cumplir con las disposiciones que señalan la ley federal para prevenir y controlar la contaminación.

Este trabajo plantea por una parte, las características físico-químicas y bacteriológicas de las aguas residuales vertidas a los ríos y por la otra, los dispositivos sanitarios adecuados a las características determinadas; de antemano se establece que será un cuerpo receptor, con capacidad de autopurificación adecuado a la presente problemática, el porqué se llegó a esta conclusión se tiene que en materia de tratamiento de aguas con estas características; contiene olores y bastante materia orgánica, se ha comprobado que los medios físicos son más efectivos que los químicos; la combinación de ambos puede determinar un adecuado tratamiento, además su aplicación práctica y económica.

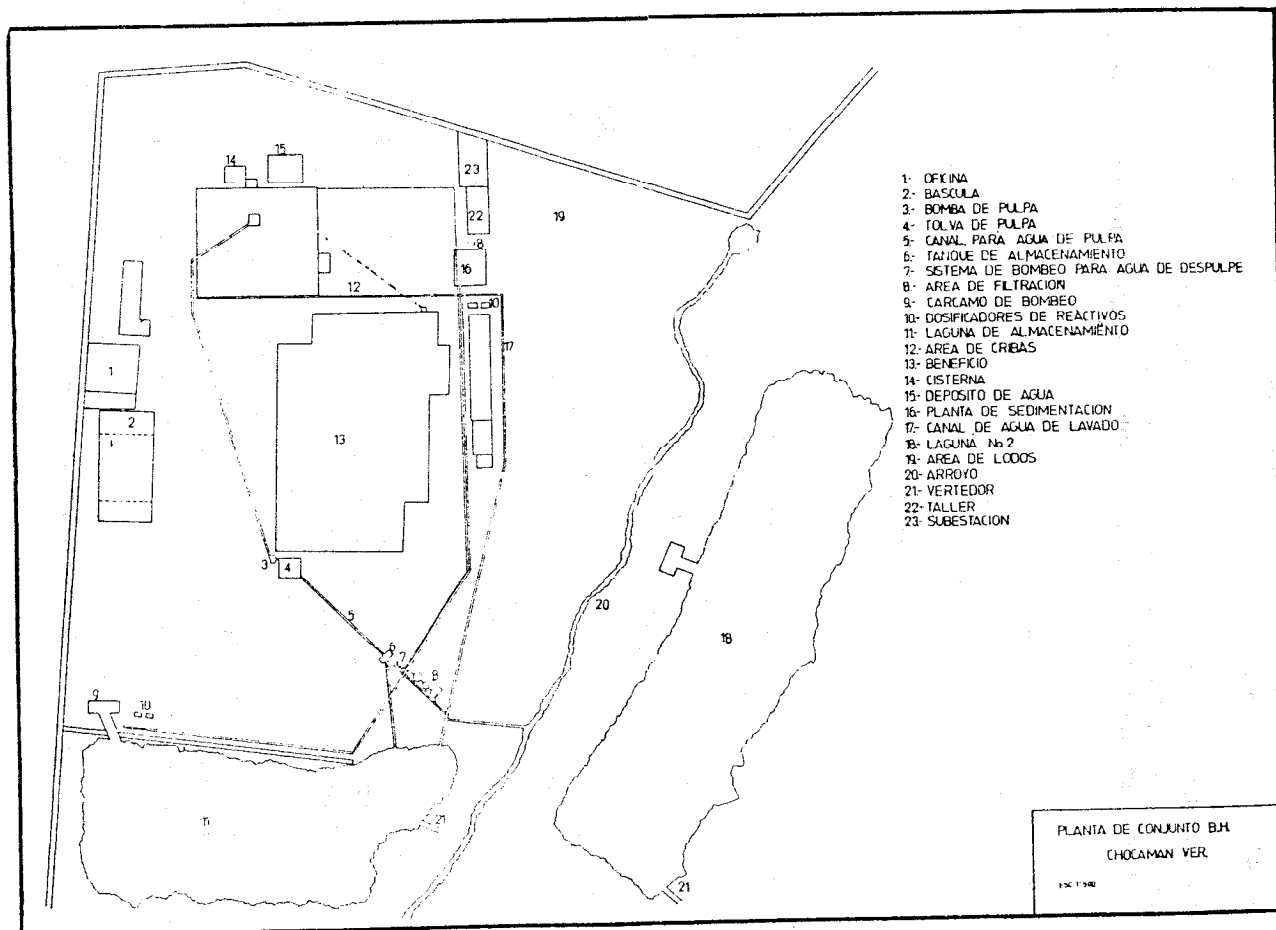
2. PREVALENCIA DE CONTAMINANTES DEL BENEFICIO HUMEDO

Como resultado de los análisis realizados se establece que hay necesidad de implantar un sistema de tratamiento de agua residual que evite en lo posible el aumento de contaminación, y se convierta en un foco real de infección.

La remoción de sustancias que originan la insalubridad puede lograrse mediante diversos procesos que en ingeniería sanitaria reciben el nombre de tratamiento primario y secundario de aguas.

Se ha considerado enunciar brevemente las alternativas viables hacia el objeto del estudio; éstos son tres procesos para el tratamiento de aguas residuales:

- Proceso de lagunas



- Proceso de digestión de lodos
- Proceso planta tipo paquete.

El proceso mas adecuado a las circunstancias es el tipo "planta paquete", éste es sencillo, fácil de operar y sobre todo económico.

El tratamiento escogido como adecuado para las aguas residuales tendrá como objetivo el transformar un afluente que cumpla con los requerimientos legales para prevenir y controlar la contaminación ambiental, que se establecen a través del reglamento para prevenir y controlar la contaminación del agua.

3. DESCRIPCION DEL TRATAMIENTO ESCOGIDO

Despues de examinar pruebas realizadas y de acuerdo a la eficiencia en aguas residuales de beneficios húmedos , se llegó a la conclusión que la planta paquete es la mejor alternativa de los tratamientos antes mencionados, el proceso de su manejo es el siguiente:

a. Tratamiento previo

- . Neutralización con cal
- . Sedimentación de sólidos producidos por medio de sulfato de aluminio
- . Filtración por medio de arena silica y carbón activado

. Posible retorno del agua tratada para su reaprovechamiento en el beneficiado, se requiere preveer los tratamientos fisico-químicos y biológicos, necesarios para el óptimo control de calidad

b. Tratamiento físico

El tratamiento físico abarca los procesos mediante los cuales las impurezas se separan del agua sin producirse cambios en la composición de las sustancias. Dentro de este tratamiento nombraremos el proceso de sedimentación y filtración.

. Sedimentación

Es un proceso donde se aprovecha la acción que ejerce la fuerza de gravedad sobre las partículas mas pesadas en el medio acuoso, con la cual descienden depositándose en el fondo. Las aguas de desecho del beneficio contienen sólidos sedimentables de tipo orgánico, que deben separarse antes de la descarga final. Dependiendo de la naturaleza de los sedimentos y de la materia suspendida; la sedimentación simple (sin coagulante) requiere un tiempo de retención que varía de 4-12 hs para eliminar un 20% de materia sedimentable.

Cuando se utilizan coagulantes (sulfato de aluminio), la sedimentación es rápida, el tiempo de retención varía de 40-60 minutos, lograndose eliminar hasta el 95% de material sedimentable, permitiendo la separación de un liquido que pueda filtrarse, el pH óptimo para la formación de los grumos es de 5.5 a 7.0.

. Filtración

La remoción de sólidos suspendidos, al pasar el agua a través de un medio poroso, es principalmente una acción mecánica, muchas partículas no pasan por los intersticios del filtro a causa de su tamaño.

Esta acción sola, sin embargo, puede no dar una clarificación completa, los sólidos finalmente divididos son solo eliminados por la formación de películas gelatinosas al rededor de los granos del medio filtrante.

En algunos filtros, este recubrimiento de los granos de arena, se obtiene por acción biológica, la cual es mas acentuada en filtros lentos de arena, en los cuales se forma una capa limosa sobre la superficie del lecho filtrante. La resistencia de la capa a la rotura se debe usualmente a su relación con organismos microscópicos, la masa reticular que ellos forman ayuda a la clarificación.

c. Tratamiento químico

El tratamiento químico es uno de los procesos en los que la separación de las impurezas del agua implica la alteración de la composición del material contaminante, dentro de este tratamiento nombraremos únicamente el proceso de neutralización.

. Neutralización

En algunos casos, para que el agua que se utiliza en el proceso sea de calidad satisfactoria o para el tratamiento de aguas de desecho, se requiere de la neutralización de la acidez o basicidad; la neutralización puede aumentar o disminuir el pH a un valor deseado o conveniente.

Cuando se procesan grandes volúmenes de agua se prefiere adicionar un álcali, el dosificador de la solución alcalina alimenta en forma continua la solución acuosa de lechada de cal; la adición debe hacerse a una velocidad controlada a fin de mantener el valor de pH. La neutralización no es instantánea y se requiere un período de contacto que por lo general no sobrepasa los 5 minutos. La solución alcalina puede dosificarse por gravedad o vertiéndola a la corriente a tratar; los tanques de almacenamiento de líquido se diseñan para una operación de 12-24. hs entre cada relleno.

4. El tratamiento físico-químico con dosificación de cal y coagulante:H

El tratamiento físico-químico con dosificación de cal y coagulante sulfato de aluminio; se logró obtener una reducción y separación mas eficiente de lodos y contaminantes que llevan las descargas de desecho del beneficio húmedo Chocamán. Los productos cal y sulfato de aluminio son facilmente adquiribles en el comercio.

5. Bases generales del diseño conforme a resultados obtenidosH

Los reactivos utilizados en el área de pretratamiento fueron: solución de hidróxido de calcio al 40% 1.2 a 1.4 ml. y en el área de tratamiento final fueron:

Cal química 1.6 ml. a 40%

Sulfato de aluminio 1.0 al 40% por cada litro de agua a tratar.

6. Flujo de agua y volumen de la planta de tratamientoH

Debido a las diferentes demandas de capacidad de procesamiento en el beneficio húmedo Chocamán y con el fin de obtener un mejor aprovechamiento de la planta instalada, en este beneficio se maneja un

VI.-MUESTREO REALIZADO EN EL BENEFICIO CHOCAMAN EL 01 ENERO DE 1987

NOMBRE DE LA MUESTRA	NUM.	pH	NH ₄ ⁺ mg/l	S/TOTALES g/l	S/VOLATILES g/l	DBO mg/l	CaCO ₃ g/l	HCO ₃ mg/l
AGUA DE CISTERNA DE ABASTECIMIENTO	CH1	7.67	ND*	0.72628	0.7731	925.17	0.54	10.81
AGUA DE DESPULPE	CH2	4.74	3.8	12.3315	10.7278	3192.4	ND*	ND*
AGUA DE ACARREO ANTES DE LOS TANQUES DE FERMENTACION	CH3	4.75	2.5	4.5738	4.1297	1577.23	ND*	ND*
AGUAS DE LA TOLVA DE ESCURRIDO (INICIACION)	CH4	4.52	6.4	3.8386	2.9872	2037.05	ND*	ND*
AGUAS DE LA TOLVA DE ESCURRIDO (MINUTOS DESPUES)	CH5	4.45	3.8	3.8851	3.4177	1025.41	0.043	0.877
AGUA DE DESPULPE DESPUES DE LA BOMBA	CH6	10.98	3.2	2.9367	2.311	1010.92	0.286	5.73
AGUAS DE LA LAGUNA	CH7	4.8	1.9	2.7755	1.9047	1775.06	0.19	3.8
AGUAS DE SALIDA DESPUES DE PASAR POR EL FILTRO DE ARENA A LA LAGUNA	CH8	9.625	1.92	0.745	0.851	582.73	0.413	8.27

*ND =NO DETERMINABLE
 NH₄ =IONES AMONIO
 S/TOTALES =SOLIDOS TOTALES
 S/VOLATILES =SOLIDOS VOLATILES
 DBO =DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO
 CaHCO₃ =CARBONATO DE CALCIO
 HCO₃ =ACIDO CARBONICO

volumen diario maximo de 432 mts. cúbicos, obteniendose de éste un flujo de 300 l./min. aproximadamente (3 y 6).

PARTE OPERACIONAL

Con la finalidad de obtener una mayor eficiencia en el funcionamiento en el tratamiento de aguas del beneficio húmedo Chocamán, se planteó el proceso que se detalla a continuación : (fig. 2)

1. CAPACIDAD

El beneficio húmedo Chocamán cuenta con una capacidad instalada de 480 qq lo que equivale a 120 toneladas diarias de café cereza.

Si consideramos que para beneficiar un kg de café cereza se requiere de 7 l. de agua, por lo tanto para operar el beneficio a toda su capacidad (120 ton.) se necesitan 840 m^3 de agua diarios, que equivalen a 840 mil litros.

Considerando que por cada kilogramo de café el 60% del agua es utilizada para el despulpe y el 40% para el lavado del mismo, y teniendo como primer objetivo de este proyecto tratar solamente las aguas de lavado y de escurrido, de fermentación por los métodos de sedimentación, coagulación y filtración, que son las que se consideran altamente contaminantes, mientras las aguas de despulpe reciben el siguiente tratamiento:

El 50% aproximadamente es recirculada nuevamente, el proceso y el restante es tratada a través de filtros de arena sílica para posteriormente ser devueltas a su cause normal.

Por lo tanto el 40% de total de los 840 m^3 serian 336 m^3 a tratar diariamente.

Planteando la siguiente comparación tenemos:

CAPACIDAD QQ.

TIEMPO DE LAVADO

1 tanque de 100 QQ
480 QQ

1.25 hs.
X 6 hs./dia

Este tiempo se estima utilizando una bomba centrífuga de 300 gal./min. (1 110 l/min.) obteniendo un gasto total de 399 600 l/día.

2. SECCION I : AREA DE CRIBAS

Esta área se compone de un canal de concreto a través del cual es conducida el agua de lavado, éste a su vez cuenta con una serie de cribas instaladas desde un diametro mayor hasta uno menor con la finalidad de retener un cierto porcentaje de sólidos, con el cual se reduce grandemente el problema de clarificación así como también la cantidad de solución química a utilizar en la dosificación.

CARACTERISTICAS DE LAS CRIBAS

Material de fabricación: Lámina de acero inoxidable calibre 12, dimensiones 68.8 cm de ancho por 75 cm de alto.

PERFORACIONES		CANTIDAD
3/8"	Ø	1 pza.
5/16"	Ø	1 pza.
1/4"	Ø	2 pzas.
3/16"	Ø	3 pzas.
1/8"	Ø	3 pzas.
1/16"	Ø	2 pzas.

3. SECCION II: PRETRATAMIENTO

Esta etapa se inicia al final del canal de agua de lavado en el cual se adiciona una primera dosificación de cal al agua de lavado, despues de haber pasado del área de cribas, posteriormnete es conducida y depositada esta agua en la laguna de almacenamiento no. 1, donde se efectúa una primera sedimentación de sólidos.

La relación con respecto a la solución es la siguiente:

1.4 ml de solución al 40% de cal (hidróxido de calcio) por cada litro de agua a tratar.

4. SECCION III: CIRCULACION Y REUTILIZACION DEL AGUA DE DESPULPE

El agua de despulpe se clasifica en dos tipos:

- La del agua con café almendra y
- agua con pulpa

Para obtener el primer caso, el agua es utilizada para transportar el café despulpado hasta los tanques de fermentación, la cual después de esta operación es conducida a través de una tubería hasta un cárcamo de bombeo, en el cual el agua es succionada y enviada una parte hasta el área de filtración (filtros de arena sílica) con la finalidad de eliminar sólidos en suspensión, logrando así una clarificación de estas aguas, para ser arrojadas en estas condiciones al arroyo sin causar una contaminación que dañe a la ecología; la otra parte restante de agua, es recirculada hasta los sifones de café cereza, con el fin de volver a utilizarla en la operación de despulpe, y debido a sus características (enriquecida en azúcares) se lleva a la práctica la aceleración de la fermentación por vía natural, así también se logra la eliminación de grandes volúmenes de agua a utilizar en esta operación.

Para el segundo caso, es el agua que transporta a la pulpa a la tolva pulpero, en donde se realiza el cribado o tamizado de la pulpa de café y para el agua residual se aplica el proceso anterior.

5. SECCION IV: LAGUNA DE ALMACENAMIENTO

Esta laguna con una capacidad aproximada de 5 000 m³ es utilizada para descargar los diferentes volúmenes de agua de lavado y las de despulpe cuando es necesario.

Las aguas antes mencionadas se dejan reposar en este medio durante 72 hs., con la finalidad de que se efectúe una primera selección de sólidos.

Así como también es empleada para la regulación del flujo que abastece a la planta tratadora.

6. SECCION V: CARCAMO DE BOMBEO

Esta sección consta del sistema de bombeo para la alimentación de la planta tratadora, así como también del sistema de regulación de la misma, y el área de tanques para la preparación de soluciones químicas.

SISTEMA DE BOMBEO

Bomba de acero inoxidable

potencia = 10 H.P.

R.P.M. = 1 700

Succión = 6" Ø

Descarga = 3.5 Ø

Flujo = 1 000 l/min

SISTEMA DE REGULACION

Este opera por medio de un BAY PASS instalado en la descarga de la bomba con la finalidad de regular el flujo requerido por la planta tratadora, dependiendo esto de la velocidad de sedimentación calculada, el resto del agua es devuelto a la laguna # 1, en el caso de que a esta agua no se le considere altamente contaminante, debido a la primera separación de sólidos que se realiza en el tiempo que reposa en la laguna, es arrojada al arroyo y así reducir el volumen de agua a tratar en la etapa final, en los casos cuando existe la saturación en la capacidad del beneficio.

AREAS DE TANQUES

Esta área se compone de dos tanques para la preparación de soluciones (hidróxido de calcio y sulfato de aluminio) con una capacidad de 2 500 l uno y 5 000 l otro, equipados con sus respectivos agitadores y bombas dosificadoras.

7. SECCION VI: AREA DE FLOCULACION

En esta etapa se realiza la mezcla de agua a tratar y soluciones químicas, inmediatamente después de haber sido succionada de la laguna de almacenamiento y depositada en un canal, en el cual se agregan las soluciones hidróxido de calcio y sulfato de aluminio en

una proporción de 3.89 l/min. de lechada de cal y 2.4 l/min. de coagulante para un flujo de 300 l/min. de agua a tratar aproximadamente, esta operación realizada como se dijo inicialmente es una mezcla rápida y efectiva de soluciones y agua por medio de una instalación mecánica lo cual permite el desarrollo de los flóculos grandes, densos y de asentamiento rápido, ya que al salir el agua del floculador es conducida a una menor velocidad hasta la planta de tratamiento.

Esta operación se llevó a prueba en su totalidad únicamente al inicio de dicho tratamiento, para lograr obtener una óptima calidad en el agua tratada, eliminando posteriormente el sulfato de aluminio, ya que era incosteable dicha solución y no repercutía considerablemente en los resultados obtenidos, sino únicamente la variación en el pH, siendo su diferencia de 6.5 a 9.0, y no considerandose éste altamente contaminante, puesto que antes de ser devueltas las aguas a su cause normal son tratadas por medio de un sistema de filtración, consistente en arena sílica y de carbón activado.

8. SECCION VII: PLANTA DE TRATAMIENTO

Esta planta tipo paquete marca AQUAMEX cuenta con un equipo completo y diseñado para aplicarse al tratamiento convencional, neutralización, coagulación y sedimentación bajo una área reducida, el equipo está integrado por receptáculos y líneas hidráulicas de alimentación y para desecho de lodos.

La operación de la planta inicia en el primer compartimento de mezclado hasta alcanzar el nivel del vertedor que comunica el segundo compartimento (división para la sedimentación y retención de lodos), del receptáculo tratador.

Una vez alcanzado el nivel vertedor que ofrece el paso al compartimento de sedimentación y retención de lodos, el medio acuoso se conduce por una cámara inclinada delimitada por una de las caras oblicuas que constituyen el fondo del tanque tratador y las superficies que perfilan al compartimento de retención y acumulación del agua depurada, hasta llegar al área mas baja del compartimento de sedimentación y retención de lodos, donde se encuentra la cavidad que da paso a la válvula con la cual se establece la salida de lodos acumulados en cada ciclo operativo.

Posteriormente el medio acuoso pasa al módulo de sedimentación , que consiste en un paquete inclinado de láminas galvanizadas sujetas por un bastidor y colocadas unas sobre otras bajo una separación de 4 a 5 cms. el módulo de sedimentación está empotrado en la otra cara oblicua que forma parte del fondo del receptáculo tratador. El objeto de este módulo es retener los lodos que se formaron por el fenómeno de coagulación , asimismo dar paso al agua tratada, que debe emerger libre de materia orgánica al tercer compartimento, división de retención y acumulación del agua depurada, este último compartimento está formado por la parte superior al receptáculo tratador, teniendo la salida al agua depurada a través de un vertedor rectangular, y conducida a través de tuberías hasta el área de filtración y arrojada al arroyo.

La planta cuenta en uno de sus compartimentos con líneas de purgas para los lodos, los cuales son enviados hasta una área de terreno acondicionada para que se efectúe la deshidratación y degradación de los mismos.

9. SECCION VIII: AREA DE FILTRACION

Esta sección completa la etapa final del proceso y su finalidad es obtener una mayor clarificación así como también eliminar olores. Está formada por un filtro vertical de arena y carbón activado a través del cual se hace pasar el agua tratada, entrando por la parte superior de la unidad y distribuyéndose mediante un tubo perforado para ser filtrada al descender a través del medio filtrante. El agua filtrada es recogida por un sistema de drenaje inferior y se descarga por medio de un tubo principal que comunica a la tubería de salida la cual comunica el agua hasta el arroyo.

PRENSADO DE PULPA

Como complemento al tratamiento de aguas descrito anteriormente, se plantea el siguiente proyecto:

1. INTRODUCCION

El secado de pulpa al sol, actualmente en casi todos los beneficios donde se seca la pulpa, ésta se riega al suelo o en patios en capas delgadas de 2 a 3 pulgadas para que después de una semana o más , pueda utilizarse como combustible (calderas, hornos).

El gran inconveniente (sin hablar desde el punto de vista higiénico) de este sistema, es que necesita una gran superficie para regar la pulpa y utilizar mano de obra constante para lograr secarla.

El secado mecánico consiste en eliminar mecánicamente la mayor cantidad de agua a la pulpa, tal como sale de la despulpadora, el procedimiento planteado en este trabajo es de la compresión por medio de prensa sencilla y de bajo costo.

2. OBJETIVO

Tiene como finalidad llevar a la práctica nuevos métodos en el beneficiado de café como parte de la reconversión industrial, para así tratar de lograr los siguientes objetivos:

. La operación principal de dicha máquina es comprimir la pulpa fresca por medios mecánicos y obtener pulpa prensada con un menor peso.

. Eliminar los costos de acarreo y carga, en virtud que la diferencia de peso después de ser comprimida de 45 a 50% aproximadamente.

. La eliminación de contaminación en los lugares donde es depositada, ya que al ser comprimida pierde las propiedades de ácidos contenidos en mieles y agua, quedando únicamente pulpa prensada de fácil degradación.

. La pulpa prensada puede ser utilizada como combustible de hornos y calderas, sometiéndole a un tratamiento de secado anticipadamente (asoleo en planillas).

3. DESCRIPCION

La prensa proyectada en este trabajo, consiste en un cilindro de 12" de diámetro y 1.5 mts. de largo, en el cual es instalado un helicoidal montado sobre chumaceras, adaptándosele una entrada en la parte superior izquierda por donde es alimentada continuamente.

Esta prensa está instalada en base de ángulo de 4" X 2.5", accionado con sistema de transmisión utilizando una potencia de 10 a 15 H.P. Para su descarga se requiere de un elevador que recoja la pulpa ya prensada y descargarla en tolvas o directamente al vehículo de acarreo.

4. PARTE OPERACIONAL

La operación de dicha máquina es comprimir la pulpa mojada a través de un helicoidal que comprime contra las paredes del cilindro y la tapa posterior de la misma, hasta lograr extraer de la pulpa mojada materiales líquidos (agua y mieles) por medio de perforaciones que contiene el cilindro.

La descarga de pulpa se efectúa en el momento en que la tapa logra abrirse debido a que la presión existente en el cilindro es mayor que la presión que ejerce en el sistema mecánico de salida.

La pulpa prensada a la salida se presenta en forma compacta y al caer al suelo se deshace.

Esta pulpa se puede secar en un solo día de asoleo y utilizarse para combustible.

Dicha máquina está calculada para procesar de 7 a 8 toneladas por hora, utilizando para esto una potencia de 10 a 15 H.P.

BIBLIOGRAFIA

1) BRAHAM R. J. E, BRESSANI, 1979. Tecnología y Utilización de subproductos. Volumen 2 No. 8 (Pags. 20, 21). Publicaciones CID, Bogotá, Colombia.

2) ESTRADA VARGAS G. 1986. Estudio comparativo de diferentes métodos de Ingeniería sanitaria de probable aplicación en los beneficios húmedos y secos de café. Pag. 121, doc. INMECAFE

3) GUARDADO BALADRAN F.J. Estudio sobre el tratamiento de aguas residuales del beneficiado húmedo del café y su posible reaprovechamiento. Pags. 2, 3, 16, 17, 25, 34, 37, 40, 48 y 50. Hermosillo, Sonora 1981.

4) GUERRERO TORRES R. Manual de tratamiento de aguas. Pags. 82, 87 y 88. Editorial Limusa 1981.

5) NOTARBARTOLO L. Procedimiento mecánico para secado de pulpa. Pags. 3, 4 y 6. San Salvador, El Salvador.

6) SHEPPARD T, POWELL. Acondicionamiento de aguas para la Industria. Pags. 64, 65, 75 y 79 Cuarta Reimpresión 1981.



Dr. Adalberto Noyola Robles presenta alternativas para el tratamiento de aguas residuales en el beneficio Húmedo del café.

Adalberto Noyola Robles (*)

Los residuos orgánicos, ya sea en forma de suspensiones concentradas en mayor o menor grado, o bien en forma soluble, son casi exclusivamente tratados por medio de procesos microbiológicos por una serie de razones técnicas y económicas. De las dos vías metabólicas, la aerobia ha sido hasta la fecha la más utilizada y consecuentemente la tecnología de los tratamientos aerobios está ya bien establecida. Por su parte, la digestión anaerobia estuvo considerada por mucho tiempo como una vía promisorio pero sólo aplicable a contados casos. Esto, aunado a un conocimiento muy limitado del proceso desde los puntos de vista fundamental y aplicado, se tradujo en una mala imagen (dificultad en el arranque, inestabilidad, sensibilidad a cambios etc.) y en una falta de interés por parte del cuerpo técnico responsable de diseñar y construir los sistemas de tratamiento, provocando así un retraso considerable en relación a los procesos aerobios.

En la actualidad esta situación ha cambiado gracias a los esfuerzos de investigación realizados en todos los niveles, desde el fundamental hasta el desarrollo tecnológico. Lo anterior ha dado por resultado el surgimiento de la digestión anaerobia como una alternativa de tratamiento seria, confiable y eficiente, en muchos casos superior a los procesos aerobios.

En este trabajo se presentan las principales características de la digestión anaerobia, se describen los diversos procesos anaerobios de tratamiento de aguas y se termina con un ejemplo de aplicación para tratar las aguas residuales de un beneficio húmedo de café.

(*) Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Apdo. Postal 70-472; 04510 México D.F.

LA BIOTECNOLOGIA EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

La aplicación de procesos biológicos en el tratamiento de desechos orgánicos remonta al siglo pasado, cuando sistemas rústicos como la fosa séptica comenzaron a ser utilizados para el control de la contaminación y de los riesgos sanitarios asociados. Posteriormente, nuevos procesos fueron desarrollados sobre bases puramente empíricas, como el sistema conocido de lodos activados. Sin embargo, no es hasta mediados del presente siglo que las bases teóricas comenzaron a ser planteadas, al utilizarse los resultados de investigaciones sobre crecimiento bacteriano y fermentaciones. Hoy en día, el avance en el conocimiento de los fundamentos y aplicación de los procesos biotecnológicos para el tratamiento de residuos orgánicos es considerable. A ello ha contribuido el auge de la biotecnología en general y la necesidad de ejercer cada vez un control más estricto sobre los efluentes contaminantes, ya sean municipales o industriales.

Para realizar el tratamiento de aguas residuales existen dos familias de procesos: los fisicoquímicos y los biológicos. Por razones técnicas y económicas, los primeros son aplicados en aguas con contaminantes inorgánicos o con materia orgánica no biodegradable, mientras que los segundos se utilizan cuando los principales componentes contaminantes son biodegradables. De esta manera, y salvo muy contadas excepciones, los desechos líquidos de la industria alimentaria, la agroindustria, algún tipo de petroquímica y farmacéutica, así como las aguas negras municipales, son tratados por vía biológica. Se puede considerar que las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en estos procesos son las mismas que se realizan en el medio natural (río, lago, suelo, etc.), sólo que en forma controlada y a velocidades de reacción mayores. Es por esta razón que, técnica y económicamente, resulta el sistema de tratamiento más adecuado para este tipo de desechos.

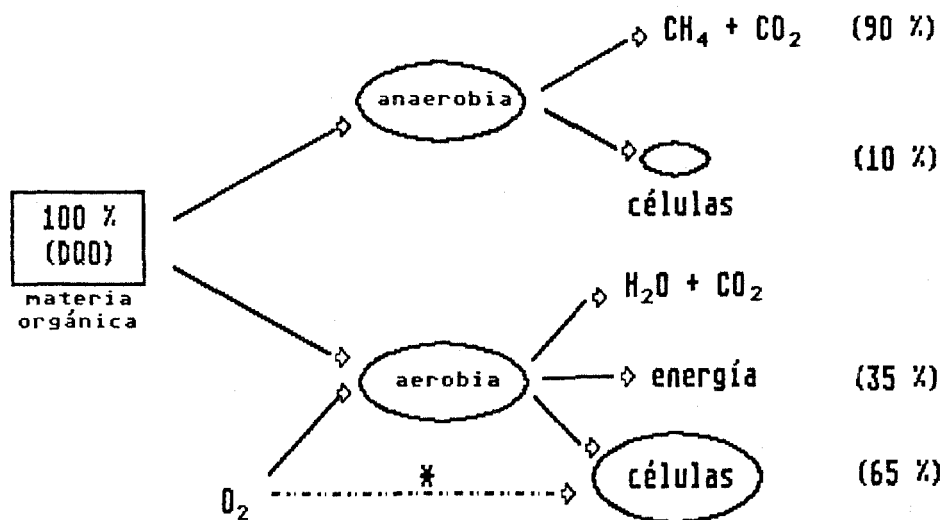
En los procesos biológicos, la materia orgánica contaminante es utilizada como alimento por los microorganismos presentes en tanques o reactores. De esta forma pueden obtener la energía necesaria para reproducirse y llevar a cabo sus funciones vitales. Con esto, los compuestos contaminantes son transformados en nuevas células y otros productos que pueden ser más fácilmente separados del agua.

La principal división entre los diversos procesos biológicos existentes para el tratamiento de aguas residuales se hace en

relación a la forma en que los microorganismos utilizan el oxígeno. Es así que se tienen los procesos aerobios (requieren de oxígeno) y los anaerobios (no requieren oxígeno). Esto se traduce en sistemas muy diferentes entre sí, tanto en su microbiología, como en sus aplicaciones, su ingeniería y su control.

Dado que los microorganismos son los responsables de llevar a cabo un proceso biológico, sus características metabólicas determinarán el tipo de aplicación, las ventajas y desventajas del proceso en cuestión. Las principales características, en relación al aspecto energético, se esquematizan en la Fig. 1.

La energía contenida en la materia orgánica contaminante utilizada por los microorganismos, medida como demanda química de oxígeno (DQO) o como demanda bioquímica de oxígeno (DBO), es transformada en diversos productos, dependiendo del metabolismo aerobio o anaerobio de la célula. Es así que una bacteria anaerobia utilizará el 10% de la energía contenida en su alimento o sustrato para funciones de reproducción, dando origen a nuevas células; el 90% restante lo dirigirá al gas metano.



* en caso de contar con digestión aerobia de lodos de purga

Fig. 1 Esquema del flujo de energía en los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales

Por su parte, la bacteria aerobia empleará, en presencia de oxígeno, un 60 a 65% de la energía del sustrato en la síntesis de nuevas células, mientras la fracción restante es utilizada para llevar a cabo esa y otras funciones metabólicas y disipada en forma de calor.

Las implicaciones ingenieriles son muy importantes. Por un lado, la vía anaerobia produce pocos lodos (células), mientras que la aerobia genera una cantidad aproximadamente cinco a diez veces mayor, con los consecuentes problemas de tratamiento y disposición de lodos de purga. Por otro lado, la energía contenida en el metano puede ser utilizada como energía calorífica directamente o transformada a mecánica o eléctrica según las necesidades existentes en el sitio. Otro punto es que el proceso aerobio requiere el suministro de oxígeno, lo que representa un costo energético importante. Es así que mientras el proceso anaerobio es un productor neto de energía, el proceso aerobio la consume. Esta tendencia se acentúa en los casos en que los lodos de purga de la planta aerobia son digeridos aeróbicamente, lo que implica un nuevo costo energético. En cuanto a los lodos producidos en el proceso anaerobio, además de producirse en menor cantidad, éstos ya están lo suficientemente estabilizados como para poder ser evacuados directamente, sin un tratamiento previo. Por lo tanto, se puede considerar la vía anaerobia como altamente eficiente en la conservación de energía, mientras que en la aerobia integral (agua y lodos) el dispendio energético es considerable.

Las características anteriores se manifiestan en forma más marcada cuando se aplican ambos tipos de procesos biológicos al tratamiento de aguas residuales concentradas en materia orgánica, como es el caso de la mayoría de los desechos de la industria alimentaria. Las cargas orgánicas que pueden recibir los reactores anaerobios fluctúan entre 10 y 20 KgDQO/m³d, mientras que en los aerobios son alrededor de 10 veces menores. Esto significa que para un agua residual con elevada DQO (superior a 5 g/l), el volumen del reactor anaerobio será menor que el del reactor aerobio en esa misma proporción. Además, en estas condiciones, la cantidad de energía necesaria para transferir el oxígeno requerido por los microorganismos es muy grande; en contraste, el volumen de metano producido por el reactor anaerobio es considerable. Sin duda, un análisis de costos de energía da elementos suficientes para seleccionar el proceso anaerobio en aguas residuales industriales biodegradables.

Cabe mencionar las desventajas de los procesos anaerobios en relación con los aerobios. Los efluentes tratados por vía

anaerobia pueden requerir un postratamiento, ya que conservan aún cierto contenido de materia orgánica y no tiene oxígeno disuelto. La necesidad de realizar el postratamiento estará determinada por las condiciones particulares de descarga que le hayan sido fijadas a la empresa. En la mayoría de los casos, el postratamiento será aerobio, dando por resultado un proceso combinado altamente eficiente en la remoción de los contaminantes, autosuficiente energéticamente y a costos de inversión, operación y mantenimiento sensiblemente menores que los de un proceso totalmente aerobio.

DESARROLLO DE LOS PROCESOS ANAEROBIOS

La evolución de la tecnología anaerobia ha dado lugar a tres generaciones de reactores. La primera comprende aquellos procesos en donde la biomasa se encuentra en suspensión; en los de segunda generación, los microorganismos son retenidos en el reactor, ya sea al suministrarles un soporte para que se adhieran en forma de biopelícula, o bien por medio de su sedimentación; los reactores de tercera generación tienen también los microorganismos en forma de biopelícula, pero el soporte se expande o fluidiza con altas velocidades de flujo. A continuación se describen brevemente los diversos reactores existentes.

1. Reactores anaerobios de 1a. generación. Los reactores anaerobios más primitivos son, por un lado la fosa séptica que será descrita más adelante, y por otro lado los digestores del tipo rural con alimentación semicontinua, de los que se tienen referencias desde el siglo pasado. Estos digestores son utilizados para la producción de biogás a partir de desechos agrícolas y ganaderos, por lo que una descripción detallada cae fuera del tema de este trabajo. En la actualidad estos sistemas se han difundido considerablemente a nivel doméstico o de granja familiar, sobre todo en China (FAO, 1978) y en la India (Singh, 1971) La pulpa del café puede ser tratada en este tipo de reactores que son semejantes al reactor anaerobio convencional.

a. Fosa séptica y tanque Imhoff. La fosa séptica puede considerarse como un digestor convencional a escala muy reducida, en donde las condiciones anaerobias estrictas no son siempre cumplidas ya que existen zonas anóxicas. Su uso se ha limitado a tratar las aguas de desecho de casas habitación, escuelas, hospitales, etc., generalmente en zonas rurales en donde no existe el servicio de drenaje. Dado que su principal función se limita a la hidrólisis de la materia orgánica en suspensión, para lograr una buena

eficiencia es necesario que la fosa evacúe en un sistema de zanjas de absorción colocadas en el suelo, el cual se encargará de realizar la estabilización de la materia orgánica. Los tiempos de retención en estos dispositivos son muy variables (entre 4 y 10 días).

Por su parte, el tanque Imhoff es un sistema un poco más elaborado que el anterior, ya que crea dos compartimentos distintos, el de decantación y el de digestión. Esto impide en cierto modo que los productos de la hidrólisis de los lodos sean evacuados por el efluente, lo que se traduce en mejores eficiencias de tratamiento. Sus aplicaciones han sido a nivel de pequeñas comunidades, en donde la fosa séptica no sería recomendable debido al volumen que requeriría. En ambos sistemas, una evacuación periódica de los lodos acumulados es necesaria (generalmente cada año para el tanque Imhoff y dos años para la fosa).

b. Lagunas anaerobias. Este es otro proceso rústico empleado en aguas de desecho industriales evacuadas a temperatura superior a la del ambiente y con cierto contenido de sólidos suspendidos sedimentables. Consiste en estanques profundos (hasta 10 metros) en donde las condiciones anaerobias prevalecen, con la excepción de una pequeña zona en la superficie. Las condiciones meteorológicas influyen grandemente la operación de estos sistemas, registrándose generalmente una baja considerable en la eficiencia durante el invierno. Un punto particularmente problemático son los malos olores asociados con estos sistemas. Los tiempos de retención reportados en la literatura son muy variables (1.2 a 160 días, con 5 días como valor recomendado).

c. Digestor anaerobio convencional. Este sistema se ha aplicado principalmente para estabilización de los lodos de desecho provenientes del proceso de lodos activados, aunque en la actualidad sus limitadas eficiencias han hecho que sea substituido por la versión completamente mezclada. Consiste de un tanque cerrado sin agitación y sin calentamiento, en donde el desecho a tratar se estratifica en zonas definidas. La parte en donde se lleva a cabo prácticamente la totalidad de la actividad microbiana representa alrededor del 30% del volumen total del digestor, lo que aunado a la lentitud de la cinética de degradación bajo estas condiciones, resulta en volúmenes de reactor considerables (tiempos de retención mayores a 30 días).

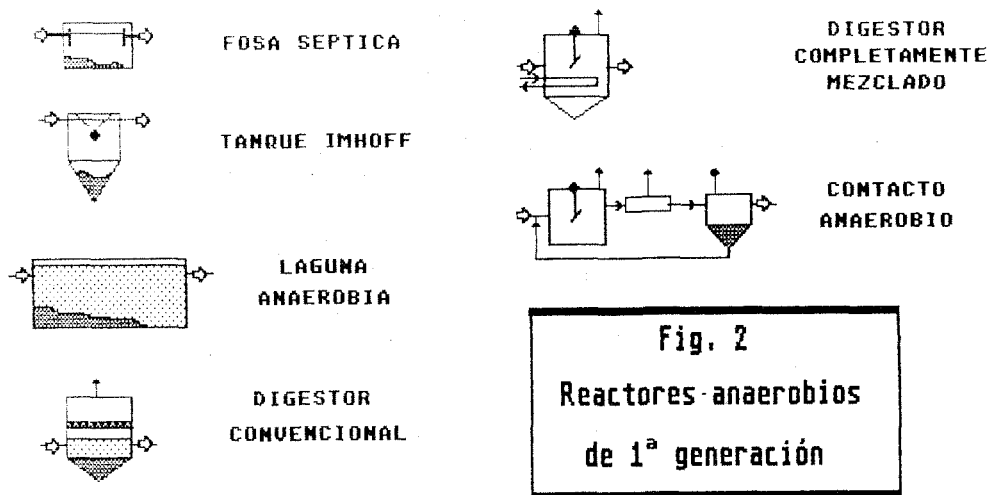
d. Digestor anaerobio completamente mezclado. La introducción de una agitación vigorosa del medio de reacción, aunada

frecuentemente a un calentamiento del reactor, se traduce en mayores eficiencias en la remoción de materia orgánica. La agitación es lograda ya sea por un agitador mecánico o por la inyección del biogás en el fondo del reactor. Debido a su mezcla completa, el efluente cuenta con una alta concentración de sólidos suspendidos, por lo que se desarrolló una variante que une en serie un digestor completamente mezclado con un digestor convencional en donde se realiza la decantación de los sólidos. Su principal aplicación es en el tratamiento de los lodos de desecho de grandes plantas de lodos activados.

e. Digestión en dos etapas. La diferencia en tasas de crecimiento y en requerimientos ambientales de los dos principales grupos de bacterias de la digestión anaerobia, las fermentativas y las metanogénicas, sugirieron la idea de separarlas físicamente, optimizando cada una de las dos etapas o fases (Gosh y Pohland, 1974). En el primer reactor los tiempos de retención son inferiores a 14 horas, llevándose a cabo la etapa de acidogénesis ($\text{pH} < 6.6$). En el segundo reactor los tiempos de retención son mayores a 10 días y en el se lleva a cabo la etapa de metanización. Este sistema es apropiado para tratar residuos líquidos concentrados en donde la materia orgánica es fácilmente degradable.

f. Reactor de contacto anaerobio. Este es un sistema de transición entre la primera y la segunda generación de reactores anaerobios. Consiste básicamente en un reactor completamente mezclado acoplado a un decantador que separa la biomasa para que sea recirculada hacia el reactor. Es el equivalente anaerobio de los lodos activados. Con la recirculación, la cantidad de microorganismos en el reactor aumenta al igual que su tiempo de permanencia dentro del sistema, sin que el tiempo de retención hidráulica se incremente. Esto resulta en volúmenes de reactor más pequeños y en una mayor estabilidad del proceso. El punto problemático es la adecuada separación de los lodos anaerobios en el decantador, pues tienen tendencia a flotar, debido a las burbujas de gas atrapadas en el flóculo. Esto se soluciona creando un vacío en la línea de unión entre el reactor y el decantador, lo que favorece la desgasificación, o bien impidiendo este fenómeno enfriando la parte baja del decantador en donde se encuentran los lodos. Los tiempos de retención hidráulica son del orden de 5 días y el tiempo de retención celular varía entre 15 y 30 días. Este sistema se ha aplicado en el tratamiento de aguas residuales de industrias alimentarias.

En la Fig. 2 se representan los reactores anaerobios de 1a. generación.



2. Reactores anaerobios de 2a. generación. El progreso logrado con este tipo de reactores se manifiesta en tiempos de retención hidráulica sustancialmente menores (de 0.5 a 3 días), lo que implica una importante reducción en los volúmenes de reactor, y en una mayor estabilidad y facilidad en su operación. Esto se logra al retener la biomasa anaerobia dentro del reactor mediante la formación de una película de microorganismos fijos sobre soportes, o bien por medio de la sedimentación de flóculos microbianos con muy buenas características de decantación. Con esto, la limitación provocada por la reducida tasa de crecimiento de las bacterias anaerobias es prácticamente eliminada. Otras ventajas obtenidas son un cierto grado de resistencia a productos tóxicos (Parkin y Speece, 1983), una adaptación rápida a cambios en la alimentación (Van den Berg y col., 1980; Noyola, 1986) y un arranque rápido después de periodos prolongados sin alimentación (Lettinga y col., 1982; Sánchez y col., 1985; Noyola, 1986).

a. Filtro anaerobio. El filtro anaerobio fue introducido por Young y McCarty (1969), recomendándolo inicialmente para sustratos solubles y medianamente concentrados en materia orgánica. En la actualidad se ha aplicado en laboratorio y a escala real tratando una amplia serie de sustratos a diversas concentraciones (Kobayashi y col., 1983). Esencialmente consiste en un reactor de flujo ascendente empacado con soportes plásticos o con piedras de 3 a 5 cm de diámetro promedio. El coeficiente de vacío debe ser grande para evitar el taponamiento, lo que en algunos casos se traduce en un área específica inferior a $100 \text{ m}^2/\text{m}^3$. Debido a la distribución desordenada del soporte, las purgas de lodo no son efectivas, lo que provoca una acumulación lenta pero constante de biomasa que con el tiempo puede crear problemas de taponamiento. Este reactor puede admitir cargas hasta de $10 \text{ Kg DQO}/\text{m}^3 \text{ día}$.

b. Reactor tubular de película fija. Para evitar la acumulación de lodos dentro del reactor, Van den Berg y Lentz (1979) desarrollaron el reactor tubular de flujo ascendente o descendente. El soporte utilizado en este caso consiste de tubos o placas dispuestas de tal forma que se crean canales verticales. El material puede ser cerámica, PVC, políester, etc. El ordenamiento del soporte resulta en coeficientes de vacío importantes con buenas relaciones área/volumen ($> 150 \text{ m}^2/\text{m}^3$). Las cargas aplicadas pueden llegar hasta $30 \text{ kg DQO}/\text{m}^3 \text{ día}$.

c. Reactor anaerobio de lecho de lodos (UASB). Corresponde a Lettinga el desarrollo de este reactor que por su simplicidad se ha difundido en varios países. Su gran ventaja consiste en que no requiere ningún tipo de soporte para retener la biomasa, lo que implica un ahorro importante. Su principio de funcionamiento se basa en la buena sedimentabilidad de la biomasa producida dentro del reactor, la cual se aglomera en forma de granos o "pellets" hasta de 5 mm de diámetro. Estos granos cuentan además con una actividad metanogénica muy elevada, lo que explica los buenos resultados del proceso. El reactor es de flujo ascendente y en la parte superior cuenta con un sistema de separación gas-líquido-sólido, el cual evita la salida de sólidos suspendidos en el efluente y favorece la evacuación del gas y la decantación de los flocúlos que eventualmente llegan a la parte superior del reactor. Un punto importante en su diseño es la distribución de las entradas del agua residual, ya que una mala repartición puede provocar que ciertas zonas de la cama de lodos no sean alimentadas, desperdiciando así su actividad. Esto es particularmente cierto en el tratamiento de aguas residuales municipales, pues la limitada materia orgánica presente forma sólo pequeñas cantidades de biogás y por lo tanto

la agitación del lecho, provocada por las burbujas, se ve reducida. El punto débil del proceso consiste en la lentitud a la que se forman los granos, elemento indispensable del sistema. Esto puede ser solucionado mediante una inoculación importante con lodos adecuados. Las cargas orgánicas alimentadas a este reactor pueden llegar hasta 40 Kg DQO/m³ día.

En la fig. 3 se esquematizan los reactores anaerobios de 2a. generación.

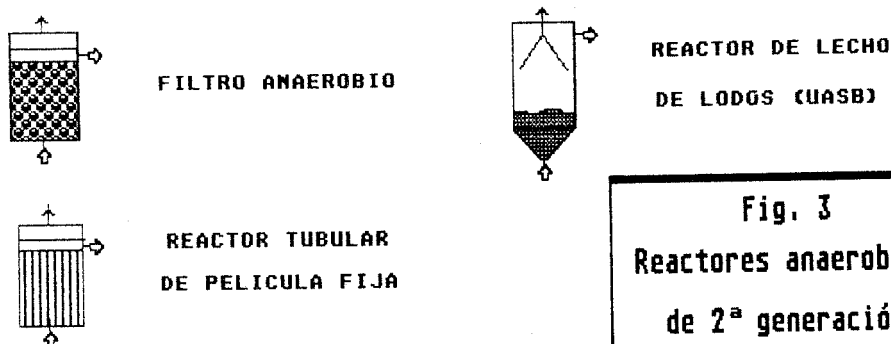


Fig. 3
Reactores anaerobios
de 2ª generación

d. Reactores anaerobios de 3a. generación. Estos reactores se encuentran básicamente aún en nivel piloto o semi-industrial. Son también reactores de película fija pero el soporte utilizado es lo suficientemente pequeño y ligero para que pueda ser fluidizado con una recirculación del efluente. Se han reportado resultados de laboratorio en extremo prometedores (Jewell y col., 1981) pero en escala piloto han sido mediocres, por lo menos en el caso del agua residual doméstica (Switzenbaum y col., 1984). Los dos tipos de reactores, el reactor de lecho expandido y el reactor de lecho fluidizado, son semejantes entre sí, diferenciándose en el grado de fluidización del soporte (20 % para el lecho expandido superior al 50 % para el lecho fluidizado). Su avance consiste en tiempos de retención aún menores, inferiores a 12 horas, ya que la superficie de soporte disponible es muy elevada (superior a 200 m²/m³) y la

agitación en el lecho es vigorosa, eliminando los problemas de transferencia de sustrato. Otra ventaja es que no presentan problemas de taponamiento. Sin embargo, requieren energía para la recirculación y la fluidización del lecho; además, su operación y arranque son en extremo delicados. Las cargas aplicadas pueden sobrepasar los 40 Kg DQO/m³ día.

APLICACION DE LOS PROCESOS ANAEROBIOS

EL CASO DEL BENEFICIADO DEL CAFE

Si se hace un inventario de los procesos anaerobios a nivel industrial existentes en el extranjero, la gran mayoría de los sistemas pertenecen a la 1a. generación, ya que la 2a. inició su etapa industrial solo a fines de los años setenta. En 1983 se reportan (Speece, 1983) alrededor de 60 plantas industriales para el tratamiento anaerobio de aguas residuales, sin tomar en cuenta los digestores de lodos o los de desechos agrícolas o ganaderos. Actualmente, el número se ha doblado o inclusive triplicado.

En el caso de México, los pocos sistemas de tratamiento de aguas son del tipo aerobio y los procesos anaerobios prácticamente no existen (sólo algunos digestores rurales de desechos agrícolas y ganaderos). Los avances presentados anteriormente colocan a la digestión anaerobia en un lugar comparable y en muchos casos superior a los procesos aerobios. Resumiendo, las características más atractivas de los reactores de 2a. generación en relación al contexto del país, son:

- la limitada producción de lodos de desecho (ahorro considerable en el sistema de tratamiento de lodos)
- el balance positivo de energía (bajo consumo energético y producción de CH₄)
- requerimientos limitados de equipo (sistemas relativamente simples)
- operación y mantenimiento sin mayores complicaciones (procesos estables)
- resistencia a periodos sin alimentación (adecuado a las industrias de temporada).

Por otro lado, los inconvenientes son la necesidad en algunos casos de realizar un postratamiento (caso de descarga en un cuerpo receptor sensible), los problemas en la fase inicial de desarrollo del proceso (falta de inóculos adecuados) y sobre todo la mala imagen tradicional de la digestión anaerobia (obstáculo a su aplicación a nivel industrial).

En su contexto, los beneficios de café por vía húmeda producen aguas residuales que son adecuadas para ser tratadas en reactores del tipo de 2a. generación. Principalmente se puede señalar su concentración en materia orgánica (DQO) superior a 5 g/l, la operación por temporada del beneficio (septiembre - abril), las necesidades de combustible para el secado del café, la carencia de personal calificado para operar la planta de tratamiento.

Un diseño de la planta de tratamiento basada en el reactor anaerobio de lecho de lodos (UASB) conducirá a *grosso modo* a las siguientes dimensiones y eficiencias:

- Beneficio tipo Industrial de 600 a 700 Quintales /d de café oro
- Gasto de evacuación (despulpe y lavado): 10 l/s (en 24 horas)
- DQO: 8000 mg/l
- Tiempo de retención hidráulica: 18 horas
- Carga volumétrica : 10.6 kgDQO/m³d
- Carga orgánica : 2 kgDQO/kgSSV.d
- Eficiencia remoción DQO: 95%
- DQO salida: 400 mg/l
- Producción diaria de metano: 2 000 m³/d
 - equivalentes a: 17.7 millones de kcal
 - 70.2 millones de Btu
 - 20 580 kWh

que convertidos a energía eléctrica son 4 100 kWh diarios.

- Dimensiones reactor:
 - volumen útil: 650 m³
 - ancho: 10 m
 - largo: 12 m
 - altura: 5.5 m (50% enterrado)
- Tanque de homogenización - almacenamiento: 430 m³
- Equipo
 - bomba de alimentación (2 a 5 hp, según carga a vencer)

Si lo anterior se compara con una planta aerobia del tipo laguna aerada (el más simple de los procesos con aeración mecánica) se llega a:

- Tiempo de retención hidráulica: 48 h
- Carga volumétrica: 4 Kg DQO/m³ d
- Eficiencia remoción DQO: 98%
- DQO salida: 160 mg/l
- Volumen reactor: 1.730 m³
- Tanque de homogenización - almacenamiento: 430 m³
- Tanque sedimentador (100 m³) o laguna de pulimento (1.400 m³)
- Equipo
 - bomba de alimentación (2 a 5 hp)
 - aeradores mecánicos flotantes tipo turbina de 80 hp
 - rastras de sedimentador caso tanque sedimentador)

Las características del agua de salida son mejores en el proceso aerobio, pero sus costos son mucho más fuertes. De requerirlo la legislación, el proceso anaerobio puede ser seguido de un pulimento aerobio, pero ya alimentado con solo el 5% de la carga original, reduciendo considerablemente sus costos. El conjunto tendría una eficiencia superior al 99%.

CONCLUSIONES

Los nuevos procesos anaerobios presentan un buen número de atractivos para los países en desarrollo. Estos procesos pueden contribuir a la protección del ambiente con costos razonables.

De los procesos existentes en la actualidad, los mas adecuados para México son los reactores de 2a. generación, principalmente por sus altas eficiencias y simplicidad en su construcción y operación. A su vez, el reactor de lecho de lodos (UASB) es el más recomendable.

Para el caso particular de los beneficios húmedos del café, una planta de tratamiento basada en el reactor anaerobio de lecho de lodos, puede alcanzar eficiencias de remoción de la DQO del orden del 95%, con volúmenes de tanques y requerimientos de equipo limitados. Además de los bajos costos de operación y mantenimiento propios al proceso, la producción de energía en forma de biogás puede repercutir muy favorablemente en los costos de producción de los beneficios que cuentan con secadoras de grano.

BIBLIOGRAFIA

- FAO 1978. China: Azolla propagation and small scale biogas technology. FAO Soils Bulletin, No. 41
- Gosh S.G. y Pohland F.G. 1974. Kinetics of substrate assimilation and product formation in anaerobic digestion. J. Wat. Pollut. Control Fed., 46, 748-759.
- Jewell W.J., Switzenbaum M.S. y Morris J.W. 1981. Municipal wastewater treatment with the anaerobic attached microbial film expanded bed process. J. Wat. Pollut. Control Fed., 53, 482-490.
- Kobayashi H.A., Stenstrom M.K. y Mah R.A. 1983. Treatment of low strength domestic wastewater using the anaerobic filter. Water Res., 17, 903-909.
- Lettinga G., de Zeew W.J., Hulshoff Pol L.H., Hobma S.W., Grin P.C., Wiegant W.M., Van Velsen A.F.M. y Koster I.W. 1982. Anaerobic waste water treatment using the UASB - treatment process. Memorias del Simposio Internacional: "Avances en Digestion Anaerobia", II Curso Regional de la OEA, UAM-I, ICAITI, Mexico, D.F.
- McCarty P.L. 1981. History and overview of anaerobic digestion. Second International Symposium on anaerobic digestion, Travemunde, Holanda.
- Noyola A. 1986. La digestión anaerobia aplicada al tratamiento de aguas residuales a nivel individual y semicolectivo. Memorias del V Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 15 a 18 de octubre, Puebla, Pue., 131-135.
- Noyola A., Capdeville B. y Roques H. 1988. Anaerobic treatment of domestic sewage with a rotating-stationary fixed film reactor. Water Res. 22, 12-18.
- Nyns E.J. 1981. Conférence plénière sur l'état de la biochimie et de la microbiologie de la digestion méthanique. Trib. Cebedeau, 34, 453-454.
- Parking G.F. y Speece R.E. 1983. Attached versus suspended growth anaerobic reactors: Response to toxic substances. Wat. Sci. Tech., 15, 261-289.

Sánchez Riera F., Cordoba P. y Sineriz F. 1985. Use of the UASB reactor for the anaerobic treatment of stillage from sugar cane molasses. *Biotech. Bioeng.*, 27, 1710-1716.

Singh R.B. 1971. Bio-gas plant: Generating methane from organic wastes, Gobar Gas Research Station, Uttar Pradesh, India.

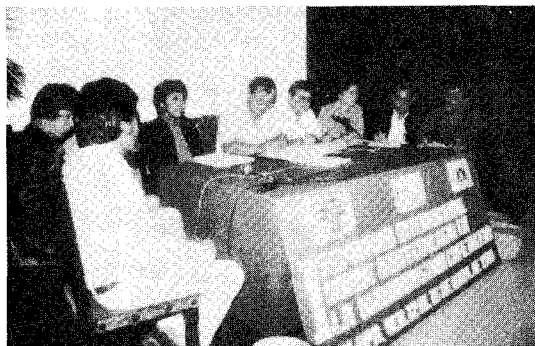
Speece R.E. 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.*, 17, 416A-427A.

Switzenbaum M.S. y Jewell W.J. 1980. Anaerobic attached-film expanded-bed reactor treatment. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 52, 1953-1965.

Switzenbaum M.S., Sheehan K.S. y Hickey R.F. 1984. Anaerobic treatment of primary effluent. *Env. Tech. Let.*, 5, 189-200.

Van den Berg L. y Lentz C.P. 1979. Comparison between up and downflow anaerobic fixed film reactors of varying surface-to-volume ratios for the treatment of bean blanching waste. *Proc. 34th Purdue Indust. Waste Conf.*, 319-325.

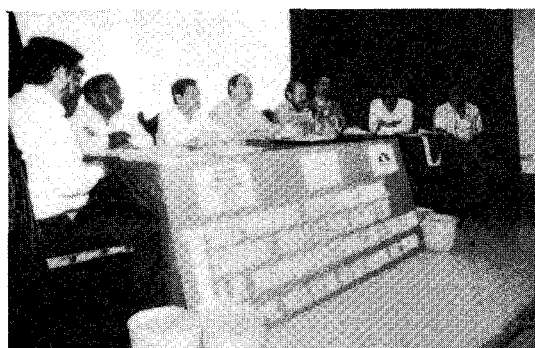
Young J.C. y McCarty P.L. 1969. The anaerobic filter for waste treatment. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 41, 160-173.



"Mejoramiento genético y aspectos agronómicos. Moderador: Dr.

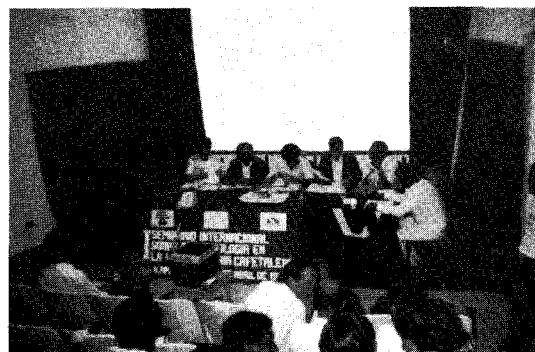
M.Berthouly;

**Participantes: Dra. E.Morales , Biol. S.Navarro U. , Dr. A.Carmona H.,
Ing. J.J.Osorto, Ing. A.Rivera F., Ing. A.Regalado O., Ing. B.Salé,
Dr. L.Cambrezy**



"Industrialización del café". Moderador: Ing. M.Fernandez S.

**Ing. R.Licona F., Dr. E.Favela T., Ing. A.Perez S., Dr. G.Viniegra G.,
Ing. A.Baron G., Ing. H.Mendez L. e Ing. J.Muller.**



"Aprovechamiento integral de los subproductos del café".

Moderador: M.en C. O.Monroy H.

**Dr. A.Noyola R., Dr. D.Martinez C., Dr. S.Roussos, Dr. M.Raimbault,
Dr. J.Zuluaga V., Q.F.B. P.Martinez O. e Ing J.J.Morales O.**

TRATAMIENTO BIOLOGICO DE EFLUENTES

CULTIVOS MICROALGALES DE CLOROFITAS

Amparo Ramos & Margarita Salazar (*)

La creciente demanda sobre el adecuado manejo de los recursos, han hecho necesario la implementación de mecanismos que permitan la reutilización de los mismos. El establecimiento de sistemas de tratamiento de aguas residuales que permitan el reuso y disponibilidad de este recurso en las condiciones más adecuadas, ha generado un gran interés para la investigación y desarrollo tecnológico de dichos procesos. Existen diversos tipos de sistemas para la purificación del agua, que cumplen funciones específicas, dependiendo del tipo de tratamiento utilizado será la calidad del efluente obtenido. Generalmente los procesos utilizan una fase primaria para separación de sólidos mediante tanques de sedimentación, seguida de una etapa secundaria para la degradación de la materia orgánica (digestores anaerobios, biodiscos, lodos activados, etc.). El empleo de tratamientos secundarios genera un tipo de contaminación colateral provocada por la descarga de altas concentraciones de nutrientes, sobretodo amonio y fosfatos. El empleo directo de estos efluentes por sus características puede en determinado momento llegar a ser tóxicos para el desarrollo de diversos organismos, además del desperdicio que representa la pérdida de dichos nutrientes.

El desarrollo de cultivos microalgales en efluentes secundarios es un adecuado mecanismo para la eliminación de nutrientes inorgánicos y representa además una fuente potencial de empleo de la biomasa generada, como alimento, para la obtención de compuestos químicos, pigmentos, etc.(3, 6 y 13). En la actualidad las algas son ampliamente utilizadas en el tratamiento de diversos tipos de efluentes (domésticos, agrícolas, industriales, etc.), ya que estos líquidos de desecho son un medio adecuado que permite su rápida proliferación, gracias a su tolerancia a altas concentraciones de nutrientes.

(*) Depto de Biotecnología Universidad Autónoma Metropolitana -
Iztapalapa Ap. Postal 55-535, 09340 México D.F., México

El desarrollo algal provee oxígeno para la continua oxidación bacteriana de la materia orgánica, incorporando los nutrientes resultantes en su tejido celular, así mismo reduce la eutroficación de las aguas e inhibe la proliferación de organismos patógenos (9, 10 y 13).

La eficiencia del proceso está sujeta a las fluctuaciones en la carga hidráulica, tasa de dilución, tiempos de retención, temperatura, etc. En el caso de los cultivos algales una influencia particular es ejercida por las diversas variaciones en la intensidad luminosa, siendo la producción neta proporcional al rango de oxidación fotosintética y de incorporación de nutrientes en la biomasa algal. (12). Otro factor determinante es la variedad de efluentes que deben ser tratados y los posibles contaminantes a los que está sujeto el cultivo, ya que pueden afectar la composición de la biomasa final obtenida y restringir sus posibles aplicaciones.

El agua tratada resultante puede ser empleada directamente para fertilización de estanques de producción acuícola, cumpliendo así la doble finalidad en cuanto a purificación del efluente y producción de biomasa aprovechable. Los posibles usos del efluente dependerán tanto de la calidad, como de la eficiencia obtenida en el tratamiento.

La tecnología para el cultivo de microalgas a gran escala, se encuentra todavía en etapa de desarrollo, su expansión ha sido limitada fundamentalmente por los altos costos de inversión requeridos, sobre todo en lo referente a las grandes extensiones de terreno, mecanismos de agitación y procesos de separación. (7, 9, 10 y 13). La implementación tecnológica de los sistemas de cultivo masivo se puede considerar que se encuentra en una etapa inicial, debido al corto periodo de tiempo en que se ha desarrollado, siendo necesario enfocar los esfuerzos de investigación hacia la reducción de las necesidades de espacio, optimización de mecanismos de agitación y recolecta. Todo ello sin limitar la eficiencia del proceso de tratamiento, ni disminuir la producción de la biomasa algal.

Los estudios a nivel de laboratorio y semipiloto nos permiten tratar de resolver algunos de estos problemas, mediante el empleo de sistemas de cultivo continuo o semicontinuo en volúmenes reducidos, minimizando los requerimientos espaciales y favoreciendo el rápido desarrollo de las cepas a probar. Ello nos permite obtener resultados estandares en cuanto al control de los parámetros de cultivo, como de la biomasa resultante.

Puesto que las microalgas muestran tasas de crecimiento, menores que las bacterias y las diluciones en los cultivos semicontinuos están limitadas a la tasa de crecimiento máximas, se requiere reciclar una porción de la suspensión algal para poder operar el sistema en máxima productividad posible bajo las condiciones ambientales propias del lugar y los recursos técnicos disponibles.

La combinación de tratamientos secundarios (digestión anaerobia) y terciario (laguna de estabilización con microalgas) permite aprovechar las características de cada proceso, reducir sus respectivas limitaciones y obtener un sistema altamente eficiente, con optimización de recursos, reducción de costos de operación y mantenimiento. Representando una valiosa alternativa a los sistemas convencionales empleados actualmente.

MATERIAL Y METODO

Se emplearon cultivos mixtos de clorofitas (*Chlorella*, *Closterium* y *cenedemus*) y monoalgales (*Chlorella*), en tanques de mica de PVC transparentes de 120 l de capacidad. Los experimentos se llevaron a cabo en un invernadero con termoregulación e iluminación natural. El esquema general de las pruebas realizadas se presenta en la fig. 1.

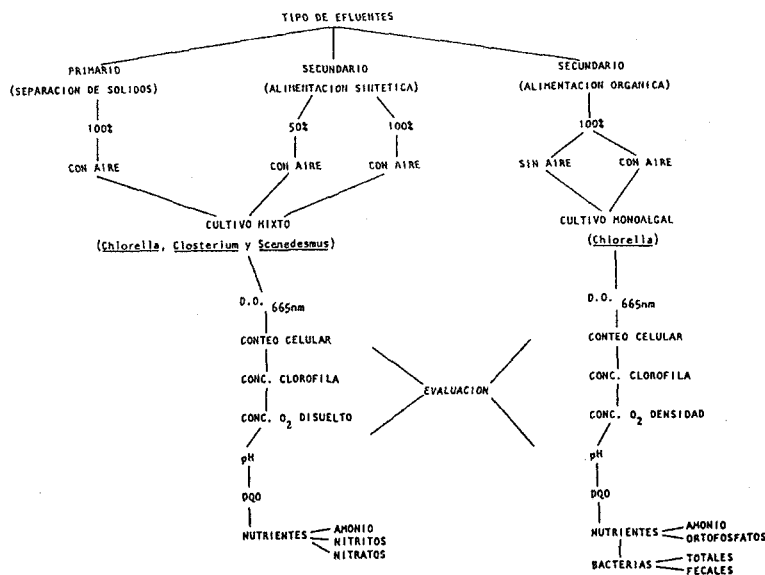


Fig. 1 : Esquema de las diferentes pruebas y parámetros determinados en los cultivos realizados con los efluentes primario y secundario.

Se probaron tres tipos de efluentes:

- primario (sedimentación de sólidos),
- secundario (de un reactor UASB alimentado sintéticamente)
- secundario (de un reactor UASB alimentado en forma orgánica con las aguas residuales de la unidad).

Se determinaron los siguientes parámetros:

- densidad celular por medio de un contador de partículas Counter Coulter TA II,
- densidad óptica en espectrofotómetro a 665 nm,
- concentración de clorofila por el método de metanol caliente (4).
- concentración de oxígeno disuelto lectura directa con oxímetro,
- DQO, nutrientes (amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos) y número de bacterias. (2, 5, 14 y 15).

RESULTADOS

En los cultivos realizados con el efluente primario debido a la alta concentración de materia orgánica y sólidos suspendidos se presenta una gran cantidad de protozoarios, limitando el desarrollo algal por depredación, obteniéndose por este motivo la densidad celular más baja de todos los cultivos (Fig.2). Las tres pruebas realizadas con el efluente secundario muestran un comportamiento similar en las curvas de crecimiento, sin embargo la densidad celular para el efluente proveniente del reactor alimentado sintéticamente presenta un valor menor, alrededor de 88×10^6 cel/ml en comparación con aquellos provenientes del reactor alimentado en forma orgánica donde se alcanzan valores superiores a 200×10^6 cel/ml (Fig. 2 y 4).

En los resultados obtenidos con los diferentes efluentes podemos observar que las mayores densidades poblacionales se registraron en los cultivos monoalgales de *Chlorella*.

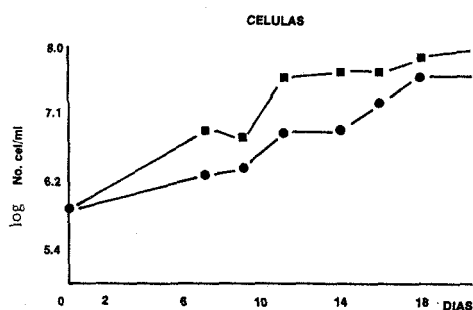
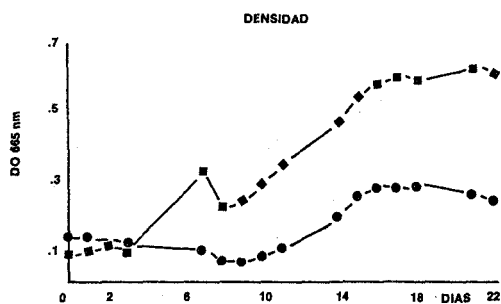


Fig. 2 : Comparación de las curvas de crecimiento de cultivos mixtos (*Chlorella*, *Closterium* y *Scenedesmus*), realizados en tanques de mica de PVC de 100 L, con efluente primario al 100% (●) y efluente secundario al 50% (■).

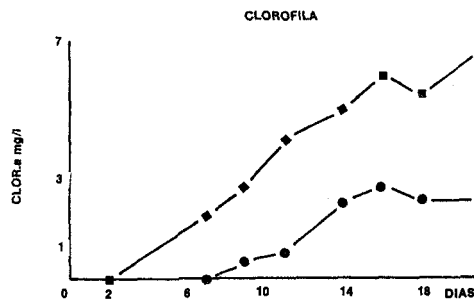
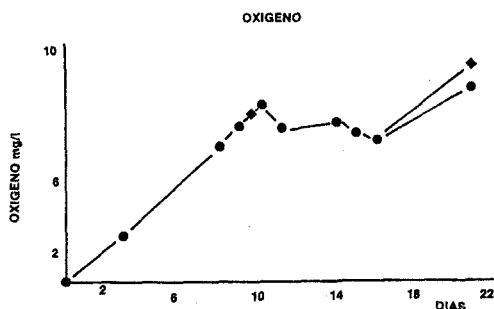


Fig. 3 : Variaciones en la concentración de oxígeno disuelto y clorofila a, en cultivos mixtos (*Chlorella*, *Closterium* y *Scenedesmus*) en función del tipo de efluente empleado, Primario 100% (●), Secundario 50% (■).

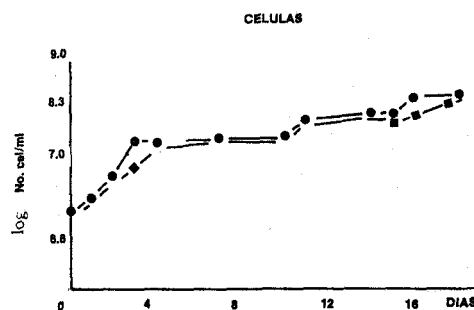
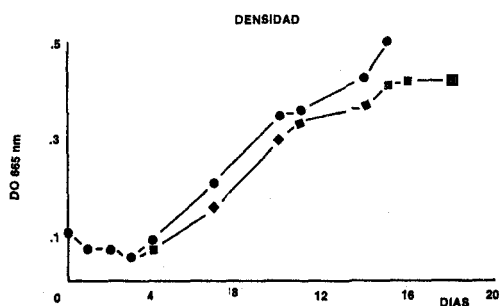


Fig. 4 : Comparación de las curvas de crecimiento de cultivos monoalgales (*Chlorella*) realizados en tanques de mica de PVC de 100 l, con un efluente secundario al 100%. Sin aereación (■), con aereación (●).

La concentración de oxígeno disuelto en los efluentes a tratar es aproximadamente de 1 mg/l, una de las funciones de los cultivos algales es suministrar oxígeno en forma disponible para la degradación bacteriana de la materia orgánica. Los valores más altos registrados se obtuvieron en el cultivo sin aeración del efluente secundario de origen orgánico, alcanzando hasta 20 mg/l (Figura 5), en comparación con los demás cultivos cuyos valores se encuentran alrededor de los 10 mg/l (Figura 3 y 5). En el cultivo sin aeración no se presentaron problemas ni de sedimentación, ni de disminución en la densidad poblacional. Tomando en consideración que se utilizaron tanques de mica transparentes, donde la luz penetra en toda el área y en función de los resultados, podemos afirmar que la agitación no representa un factor limitante para el desarrollo algal, ni para la eficiencia del tratamiento, en este tipo de cultivo semicontrolado.

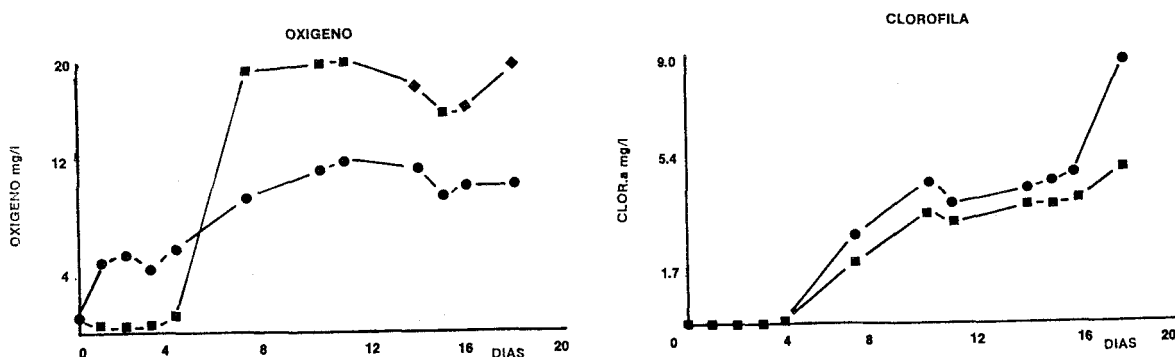


Fig. 5 : Variaciones en la concentración de oxígeno disuelto y clorofila a en cultivos monoalgales (*Chlorella*), empleando un efluente secundario al 100%, sin aeración (■), con aeración (●)

En los cultivos realizados con el efluente secundario al 50% se observa una marcada síntesis de clorofila, 6.6 mg/l para una densidad de 88×10^6 cel/ml, favorecida por la disponibilidad de los nutrientes en el medio, con respecto a las concentraciones obtenidas en las demás pruebas cuyos rangos promedio se encuentran entre 5 y 6.2 mg/l para densidades de 230 a 245×10^6 cel/ml (Figuras 3 y 5).

Los análisis de nutrientes nos muestran una alta tasa de remoción en todas las pruebas con los diferentes efluentes y cultivos; obteniéndose reducciones de 50 a 100% para amonio, de aproximadamente 100% para nitratos y hasta 40% para ortofosfatos, dependiendo del tipo de efluente.

Las remociones de DQO fueron superiores al 60%, independientemente de la carga orgánica inicial del efluente a tratar (Cuadro 1).

Cuadro 1 : Eficiencia de depuración mediante el tratamiento terciario con microalgas en los diferentes efluentes.

EFLUENTE	SEPARACION DE SOLIDOS	ALIMENTACION SINTETICA	ALIMENTACION	ORGANICA
	PRIMARIO 100% con aire	SECUNDARIO 50% con aire	SECUNDARIO 100% sin aire	SECUNDARIO 100% con aire
	% DE REMOCION		% DE REMOCION	
DQO	68.60	78.81	76.92	58.47
AMONIO	99.74	99.74	57.74	49.7
NITRATOS	97.70	100.00		
NITRITOS	72.72	9.09		
ORTOFOSFATOS			23.68	38.73

Eficiencia de depuración lograda mediante el tratamiento terciario con microalgas en los diferentes efluentes.

Otro resultado importante de estas pruebas fue la eliminación de bacterias fecales a consecuencia de la elevación del pH y la concentración de oxígeno después del tratamiento terciario con microalgas. Se trabajaron diluciones desde 1/100 hasta 1/10000 y se tomaron los valores promedio de cada uno determinando el número de bacterias en 100 ml (cuadro 2).

Cuadro 2 : Comparación del número de bacterias en los cultivos monoalgales realizados con el efluente secundario.

	BACTERIAS TOTALES No / 100 ml		BACTERIAS FECALES No / 100 ml	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Efluente secundario 100% sin aire	2770x10 ⁶	3.40x10 ⁶	1x10 ⁶	0.30x10 ⁶
Efluente secundario 100% con aire	2500x10 ⁶	0.26x10 ⁶	36x10 ⁶	0.12x10 ⁶

DISCUSION

El género *Chlorella* presentó las más altas tasas de crecimiento, dominancia, y eficiencias de remoción. Por su relativa abundancia y estabilidad de respuesta a las diferentes cargas orgánicas y concentración de nutrientes, se consideró como la cepa más resistente y se seleccionó para continuar los siguientes experimentos a nivel semipiloto.

Humenik y Hanna (1971), en sus trabajos experimentales encontraron que la producción de biomasa y la eficiencia de remoción se incrementaba en estanques sin agitación, considerando el empleo del mismo como una pérdida energética en el funcionamiento del sistema. Nuestros resultados apoyan dicho planteamiento ya que todos los cultivos se mantuvieron en condiciones similares y los resultados nos muestran que la agitación no es un factor limitante para el desarrollo algal. Ya que no se presentó sedimentación ni disminución de la densidad poblacional en los cultivos sin agitación.

En los estanques de estabilización para tratamiento de aguas se reporta que remociones superiores a 60% en nutrientes y DQO pueden considerarse favorables, (8, 9, 11 y 12) en nuestros resultados la mayor parte de las pruebas se encuentran por arriba de estos valores (Cuadro 1), por lo que podemos considerar que el sistema de cultivo empleado esta funcionando adecuadamente y cumpliendo con los objetivos propuestos. Los datos obtenidos nos permiten hacer una estimación de las eficiencias esperadas en el sistema semi-piloto en condiciones naturales, pudiendo llegar a alcanzar los mismos valores en ciertos periodos del año, cuando las variaciones estacionales sean mínimas.

La marcada disminución de bacterias, sobre todo en relación con las fecales, así como las concentraciones de oxígeno presentes en los efluentes, representa una ventaja muy importante del tratamiento terciario por microalgas principalmente por los usos que se le pretenda dar al agua tratada, (13).

Los datos obtenidos en las diferentes etapas del trabajo de investigación nos han permitido controlar y mejorar las eficiencias de los sistemas semipilotos en prueba actualmente.

BIBLIOGRAFIA

1. Abellovich A. & Azov Y., 1976. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Applied Environmental Microbiology* 31(6):801-806.
2. Anónimo. 1985. Standard Methods for the examination of water and wastewater. Amer. Public Health Associat. (APHA). Massachusetts. 1268 p.
3. Azov Y., SHELEF G., MORAINÉ R. & LEVY A. 1980. Controlling algal genera in high rate wastewater oxidation ponds. 245-254 pp. In: Shelef, G. and C.J. Soeder, Eds. *Algae Biomass*. Elsevier - North. Holland. Amsterdam.
4. Azov Y. 1982. Effect of pH on organic carbon uptake in algal culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 43(6):1300-1306.
5. Boersma L., BARLOW E.W.R., MINER I.R., PHINNEY H.K., & OLDFIELD J. 1975. Protein production rates by algae using swine manure as a substrate. 475-493 p.. In: Jewel, J.W. (Ed). *Energy, Agriculture and Management*. Ann Arbor Science Pub. Inc. Michigan.
6. Goldman J.C., 1979. Outdoor algal mass culture. I Applications. *Water Research* 13:1-19.
7. Humenik F.J. & Hanna G.P. Jr., 1971. Algal-bacterial symbiosis for removal and conservation of wastewater nutrients. *Journal WPCF* 43(4):580-594.
8. McGarry M.G. & Tongkasame C., 1971. Water reclamation and algae harvesting. *Journal WPCF* 43(5):824-835.
9. Oswald W.J., 1969. Current status of microalgae from wastes. *Chemical Engineering Program Symposia Series* 65:87-92.
10. Pieterse A.J.H., Le Roux J. & Toenen D.F. 1982. The cultivation of algae using waste water from feedlot. *Water S. A.* 8(4):202-207.
11. Ramos A. y Salazar M., 1988. (Inédito) Remoción de nutrientes en efluentes secundarios. Pruebas experimentales con cultivos microalgales. III Congreso de la Asociación Mexicana de Acuicultores A.C. Jalapa, Ver.

12. Richmond A., 1983. Phototrophic microalgae. 111-143 p. In: Dellweg, H. Ed. Biotechnology, Vol 3. Verlag-Chemie. Weinheim.
13. Solórzano L., 1969. Determination of ammonia in natural water by the phenol-hypochlorite method. Limnology and Oceanography 14:799-801.
14. Strickland J.D.H. & Parsons T.R., 1968. A manual of seawater analysis. Fishing Research Bd. of Canada, Ministry of Fish. Ottawa, 310p.

DETOXIFICACION DE LA PULPA DE CAFE POR FERMENTACION SOLIDA

ROUSSOS S.(*), AQUIAHUATL A., CASSAIGNE J., FAVELA E., GUTIERREZ M., HANNIBAL L.(*), HUERTA S., NAVA G., RAIMBAULT M.(*), RODRIGUEZ W., SALAS J-A., SANCHEZ R., TREJO M. & VINIEGRA-GONZALEZ G.

La pulpa de café, rica en proteína, representa uno de los subproductos agrícolas más abundante en México y América Latina. Sin embargo su aprovechamiento en la alimentación animal se reduce notablemente debido a la presencia de compuestos tóxicos, difíciles de degradar, tales como cafeína, fenoles, taninos, ácidos clorogénico, caféico y tánico (Bressani, 1979).

La hipótesis del presente trabajo, concierne la posibilidad de utilizar la Fermentación Sólida (FS) como una alternativa de mejoramiento de la calidad nutricional de la pulpa de café, utilizando cepas de hongos filamentosos seleccionadas, no por su capacidad de sintetizar proteínas de "novo", sino por su habilidad para degradar sustancias tóxicas específicas (Aquiahuatl y col. 1987).

En estudios previos (Roussos, 1985) se presentan microorganismos con la habilidad de descomponer compuestos orgánicos complejos. Como es el caso de compuestos lignocelulósicos que son degradados por microorganismos aislados del suelo, madera y frutos. Estos microorganismos son utilizados posteriormente en la FS de paja y salvado de trigo, de cascara de remolacha y de bagazo de caña.

En relación a la degradación de cafeína y polifenoles por microorganismos, ya se ha reportado que *Fusarium oxysporum* aparentemente resiste la toxicidad y crece a bajas concentraciones de cafeína. Por otra parte *Pseudomonas aeruginosa* sintetiza en su metabolismo un sistema enzimático para la oxidación de metilpurinas, parece tener xantina dehidrogenasa y uricasa, enzimas con alta especificidad para degradar compuestos muy parecidos a la cafeína como son las metilxantinas (Bergmann y col. 1962).

Depto. Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana
Iztapalapa (UAM-I); Apdo Postal 55-532; 09340 México DF

(*) ORSTOM: Institut Français de Recherche Scientifique pour le
Développement en Coopération, 213, rue Lafayette, 75010 Paris, France

Kurtzman y Schwimmer, (1971), han considerado los métodos biológicos como alternativas de extracción de la cafeína del café. Los autores encontraron que cepas de *Bacillus coagulans*, *Penicillium roqueforti* y especies de *Stemphylium*, presentan capacidad para degradar la cafeína. En estos casos la cafeína es utilizada como única fuente de nitrógeno en presencia de sacarosa. Schwimmer y Kurtzman (1972) reportan la decafeinización de infusiones de café con *Penicillium crustosum*, con una concentración inicial de cafeína de 0.45-0.59 mg/ml.

Por otra parte, los polifenoles y los taninos pueden ser degradados por microorganismos presentes en la microflora del suelo, ya que utilizan los compuestos fenólicos como fuente de carbono, entre los géneros mas interesantes se encuentran: *Penicillium*, *Fusarium*, *temphylium*, *Trichoderma*, *Trichosporum*, *Aureobasidium*, entre otros (Black y Dix, 1976; Mishustin y Erofeev, 1966; Shoda y col., 1980; Itoh y col. 1980; Takahashi y col. 1981).

Peñaloza, (1981), estudió el posible mejoramiento del valor nutritivo de la pulpa de café, mediante la FS para incrementar su uso en la alimentación de animales monogástricos. Otros investigadores Aguilar (1983) y Guzmán (1983), trabajaron con FS de la pulpa de café, variando los niveles de la fuente de nitrógeno con *Aspergillus niger* sin obtener una desaparición completa de la cafeína de la pulpa.

Por otra parte trabajos de Guzmán y Martínez-Carrera (1985) en México, Rolz y col. en Guatemala (1988) demostraron la factibilidad de producir varios hongos comestibles (champiñones) como son *Pleurotus* y *Auricularia* sobre pulpa de café a escalas de producción comercial (Martínez-Carrera, 1989).

El presente trabajo comprende un análisis de la disponibilidad de la pulpa de café a nivel mundial y nacional, una descripción breve de la composición química de la pulpa de café y de sus principales compuestos tóxicos. Finalmente, se presenta la descripción detallada de la degradación de la cafeína de la pulpa de café por los hongos filamentosos.

DISPONIBILIDAD DE LA PULPA DE CAFE COMO MATERIA PRIMA

1. La producción de café Mundial y Nacional

En el ámbito mundial, se encontró que tan sólo para el ciclo 1986-87 se obtuvo una producción total de 80,962,000 sacos de 60 kg de café verde, es decir de 4,857,720 ton. (tabla I).

A nivel Nacional, para el ciclo 1986-87, México produjo 5,100,000 sacos de 60 kilos (306,000 ton). Con base en la tabla I, a partir del ciclo 1979-80 hasta el ciclo 1986-87 el promedio que México representa, para la producción mundial de café, es de 5.14% tabla II.

Tabla I: Producción Mundial de Café Verde (INMECAFE)

Ciclo	Continente (miles de sacos de 60kgs)				Total
	América	Africa	Asia	Oceania	
1975-76	48,278	18,739	5,447	0.645	73,109
1976-77	34,787	19,440	6,029	0.651	60,907
1977-78	46,595	16,542	6,941	0.772	70,850
1978-79	52,504	17,990	7,696	0.751	78,941
1979-80	54,468	18,026	8,517	0.850	81,861
1980-81	55,314	21,427	8,753	0.863	86,354
1981-82	67,226	20,110	9,868	0.925	98,189
1982-83	53,241	20,374	8,449	0.654	82,778
1983-84	62,921	17,640	8,485	0.943	90,049
1984-85	59,156	20,578	9,807	0.756	90,357
1985-86	66,266	21,765	9,750	0.806	98,647
1986-87	48,137	21,331	10,588	0.906	80,962

Esto nos indica que México ocupa el cuarto o quinto lugar de producción mundial de café y solo lo superan: Brasil, Colombia, Costa de Marfil e Indonesia. Sin embargo se duda del lugar exacto que ocupa México, ya que la producción de café de Costa de Marfil, Indonesia y México son del mismo orden de magnitud y dependiendo de los ciclos la producción hay variación de un país a otro.

Tabla II: Promedio de Producción de café verde de México y Mundial
(sacos de 60 kgs; fuente INMECAFE)

Ciclo	Producción Mundial	Producción Nacional	% que México representa
1979-80	81,861,000	4,100,000	5.008
1980-81	86,354,000	4,100,000	4.748
1981-82	98,189,000	4,200,000	4.277
1982-83	82,778,000	4,560,000	5.508
1983-84	90,049,000	4,970,000	5.519
1984-85	90,357,000	4,410,000	4.880
1985-86	98,647,000	4,805,000	4.870
1986-87	80,962,000	5,100,000	6.299
Promedio total 5.14%			

2. La producción de pulpa de café en México

Para la estimación de la cantidad de pulpa de café producida por año a nivel mundial se pueden tomar en cuenta los balances de materia realizados por varios investigadores (Bressani y col.1972; Aguirre,1966; Zuluaga, 1981 y 1989). De estos trabajos resulta que el café verde representa en promedio el 52% en base seca (b.s.) del café cereza y representa el 26% b.s. de la pulpa de café. Es decir por cada 100 kg de café oro se producen, además 50 kg de pulpa de café.

Con respecto a estas consideraciones, y según los datos de las tablas I y II, la producción mundial de café verde fue de 4,857,720 toneladas para el ciclo 1986-87 y la producción de pulpa de café fue de 2,428,860 toneladas (b.s.). Estas cantidades fueron destinadas en una minoría a la obtención de abono orgánico para el mismo cafetal, y en su mayoría fueron manejados como desecho agrícola y tiradas por lo general al medio ambiente.

En lo referente a la producción Nacional, la tabla III se puede observar la cantidad de pulpa de café (b.s.) que aproximadamente produjeron los estados de la República Mexicana para el ciclo 1986-87 (INMECAFE).

Tabla III Producción aproximada de Pulpa de Café en México

Estado	sacos de 60 kgs	tons de café verde	pulpa de café en tons
Chiapas	1,688,583	101,314	50,657
Veracruz	1,516,083	90,964	45,482
Oaxaca	600,300	36,018	18,009
Puebla	716,452	42,987	21,493
Guerrero	222,333	13,399	6,699
Hidalgo	122,283	7,336	2,668
S.Luis P.	82,033	4,921	2,460
Nayarit	123,133	7,387	3,693
Jalisco	8,817	529	264
Tabasco	12,650	759	379
Colima	8,050	483	241
Querétaro	1,150	69	34
Total	5,069,300	304,158	152,079

Esto representa para el ciclo 1986-87, tan sólo para los cuatro estados principales productores de café, Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Puebla, una producción aproximada de 135,641 toneladas de pulpa de café, es decir, el 91% del total Nacional. Esto significaría un interés particular en el caso de instalación de una industria para el aprovechamiento integral de este substrato, debido a que son los estados de Chiapas y Veracruz que podrían facilitar la mayor cantidad de materia prima (pulpa de café); los dos estados siguientes en importancia serían Oaxaca y Puebla, ambos cercanos a Chiapas y Veracruz, respectivamente.

DESCRIPCION GENERAL DE LA PULPA DE CAFE

1. Características generales

La Pulpa de Café es la parte carnosa que se encuentra entre la cáscara y los granos o semillas, llamada también mesocarpio, está formada por una capa de células esponjosas y tiene un espesor aproximado de 5 mm.(Zuluaga,1989). La pulpa de café representa aproximadamente un 40% del peso en base fresca de la cereza de café

(Tauk, 1986) y un 26% en base seca, siendo el primer producto que resulta del procesamiento del café.

2. Composición

La composición química de la pulpa de café es ampliamente desarrollada en estas memorias por Zuluaga (1989). Sin embargo hay que mencionar que en la pulpa de café se encuentran sustancias químicas atractivas para la alimentación animal (azúcares libres, proteínas, hemicelulosa, celulosa,) ; estas son estrechamente ligadas con otras (cafeína y compuestos fenólicos) las cuales pueden ser tóxicas para ciertos animales (pollos, porcinos, bovinos).

3. Compuestos tóxicos de la pulpa

El número de sustancias con un posible efecto antifisiológico en la pulpa de café no se ha determinado con exactitud, pero basados en el análisis químico de la pulpa de café, se han identificado: Cafeína, ácido caféico, Fenoles libres o monómeros, Fenoles poliméricos es decir taninos hidrolizables y condensados, que están en cantidades variables (Bressani, 1979); así como cantidades relativamente altas de Potasio.

. La cafeína

La cafeína (1,3,7 Trimetilxantina) de un peso molecular de 194,20 gr/mol es una purina llamada también metilxantina. El contenido promedio de cafeína en la pulpa de café varía de 0.6 a 1.3% b.s. (Bressani y col., 1973; Bressani, 1974), de 1.14% b.s. (Tauk, 1986).

. Taninos, Fenoles y Polifenoles

Con respecto a taninos los valores reportados son de 4.5% (Aguirre, 1966), 1.44% (Jaffe y Ortiz, 1952), 2.4% (Molina y col., 1974) y 3.7% (Zuluaga y col. 1975).

Tabla IV: Contenido promedio de compuestos fenólicos en la pulpa de café fresca según Ramírez-Martínez (1988)

Compuestos fenólicos	(promedio g/kg m.s.)	% Total
Acido protocatéquico	0.21	1.65
Catequina	0.31	2.45
Acido clorogénico	5.30	41.84
Epicatequina	2.73	21.55
Acido ferúlico	0.11	0.87
Acido clorogénico I	0.71	5.60
Acido clorogénico II	2.48	19.57
Acido clorogénico III	0.55	4.34
Rutina	0.27	2.13
Total	12.67	100.00

En lo referente a los ácidos clorogénico y caféico las cifras son 2.71% y 0.31% (Molina y col., 1974) mientras otros autores dan valores de 2.3% y 1.6% (Bressani y Elias, 1976) respectivamente.

Estudios mas recientes realizados por Ramírez-Martínez en Venezuela reportan valores mucho mas altos. En la tabla IV se reportan estos valores obtenidos por cromatografía líquida de alta precisión (HPLC).

. El Potasio y el Acido salicílico

Es evidente por los valores de concentración en la pulpa de café, que el contenido de potasio en este material es alto, cerca de 3.20 g% (Zuluaga, 1989), estas concentraciones pueden representar un obstáculo para el uso de la pulpa de café como alimento para ciertos animales. Por otro lado, otros investigadores han encontrado 11.1% de ácido salicílico en la fracción de cenizas de este material (Aguirre, 1966), tambien limitando su utilización.

DEGRADACION DE LA CAFEINA POR LOS HONGOS FILAMENTOSOS

De los compuestos tóxicos de la pulpa de café el que destaca por su toxicidad para la alimentación animal es la cafeína (Bressani, 1979). Por esta razón en el Depto de Biotecnología de la UAM, se han iniciado una serie de investigaciones para aislar nuevos microorganismos capaces de crecer sobre este sustrato y degradar específicamente la cafeína contenida.

1. Aislamiento e identificación de los microorganismos

En la figura 1 se muestran los diferentes pasos que se han seguido para aislar de un ecosistema natural a los microorganismos "silvestres" con las características deseadas. En este caso con capacidad de crecer en un medio a base de cafeína como única fuente de nitrógeno. A continuación se detalla la metodología seguida:

a. *Recolección de muestras.* Para obtener microorganismos capaces de crecer sobre pulpa de café, es necesario buscarlos en su ecosistema natural, es decir en la finca o en el beneficio directamente. Por esta razón se recolectaron muestras de tierra, hojas y madera podridas, frutos de café dañados por las plagas o en vía de descomposición natural y colonizados por un micelio de mohos. Se trataron aproximadamente 36 muestras de Xalapa Ver., y de Soconusco Chis. principales regiones cafetaleras de México.

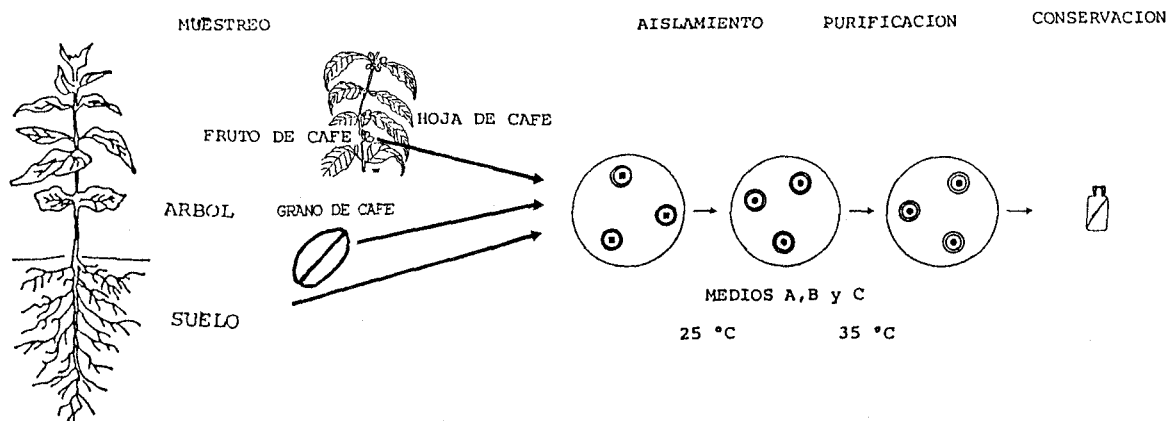


Fig. 1: Esquema de la estrategia de muestreo, aislamiento, purificación y conservación de los hongos filamentosos capaces de degradar la cafeína.

b. *Aislamiento de Microorganismos*. En la superficie de un medio de cultivo solidificado a base de café, se depositaron pedazos de muestras traídas del campo y se incubaron a 25°C o a 35°C por una semana. Alrededor de las muestras, aparecen casi siempre varias colonias de hongos filamentosos. Se aislaron de esta manera alrededor de 500 cepas (Aquilahuatl y col.1987), exclusivamente de hongos filamentosos, las bacterias y las levaduras se eliminaron de los cultivos por medio de antibióticos o de selección previa.

c. *Purificación de las cepas*. La confirmación de la pureza de las cepas se realizó con observaciones macroscópicas de la colonia y microscópicas del micelio. Hoy en día se dispone de una colección de mas de 350 cepas aisladas en cultivos puros (Aquilahuatl y col.1988).

d. *Conservación de las cepas*. Para la conservación de los microorganismos, las cepas se colocan en frascos con 5 ml de medio selectivo, en refrigeración (+5°C) durante varios meses (Roussos,1989)

e. *Identificación y Taxonomía*. Considerando unicamente características morfológicas del micelio y de las formas de reproducción sexual o asexual (esporas, conidias, filalidas, vesículas) según las claves de identificación de hongos de Answorth (1973), se confirmó la pertenencia de las cepas aisladas a grupos taxonómicos bien definidos (tabla V).

Con respecto a las cepas aisladas, los géneros que se presentan de acuerdo a sus características morfológicas, son principalmente *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* y *Zygomycete*. Se observa el efecto preponderante que la temperatura de incubación ejerce a nivel de la selección de los microorganismos. A 35°C se aislaron microorganismos "termotolerantes" y el género *Aspergillus* representa en promedio mas de 70% de los aislados. En esta temperatura de aislamiento no se obtuvieron cepas de *Penicillium*, al contrario si se utiliza una temperatura mas baja (25°) la repartición multigénero es mas variada y representativa de los ecosistemas naturales (Tabla V).

Tabla V : Identificación y distribución taxonómica a nivel del género de los hongos aislados a 25 y 35°C, a partir de muestras provenientes de Chiapas y de Veracruz.

GENEROS	CHIAPAS		VERACRUZ	
	25°C	35°C	25°C	35°C
Fusarium	27.16 %	9.09 %	9.43 %	4.17 %
Zygomycete	23.46 %	10.60 %	37.73 %	9.72 %
Aspergillus	20.99 %	68.17 %	27.64 %	75.00 %
Geotrichum	9.88 %	7.57 %	13.21 %	6.94 %
Penicillium	8.64 %	— — —	13.21 %	— — —
Trichoderma	3.70 %	1.52 %	1.89 %	1.39 %
Mucor	2.47 %	— — —	— — —	1.39 %
Rhizopus	2.47 %	1.52 %	1.89 %	1.39 %
Acremonium	1.23 %	— — —	— — —	— — —
Drechslera	— — —	1.52 %	— — —	— — —
TOTAL	100	100	100	100

Penicillium se conoce ya como un género que metaboliza la cafeína, (Kurtzman y Schwimmer, 1971; Schwimmer y col. 1971). Por otro lado *Trichoderma* y *Aspergillus* son otros de los géneros que se han encontrado con esta capacidad, el primero se ha reportado como una cepa que degrada los compuestos fenólicos, del segundo se ha encontrado mucha información sobre el enriquecimiento proteico de la pulpa de café por FMS (Peñaloza, 1981; Peñaloza y col. 1985; Gusman A.E., 1983; Aguilar M.D. 1983; de Leon R. 1988). Un género interesante para los objetivos de este trabajo.

f. *Fisiología y bioquímica*. Se investigaron las condiciones ambientales extremas de su crecimiento, para conocer mejor a los microorganismos aislados. Estos trabajos se realizaron únicamente con las cepas preseleccionadas por su alto rendimiento de degradación de la cafeína.

2. Selección de los mejores hongos filamentosos

Con objeto de obtener los mejores microorganismos para la detoxificación de la pulpa de café para la FS la selección de las cepas aisladas se llevó a cabo en cultivos líquidos o en cajas de petri considerando principalmente la aptitud para degradar la cafeína de cada cepa.

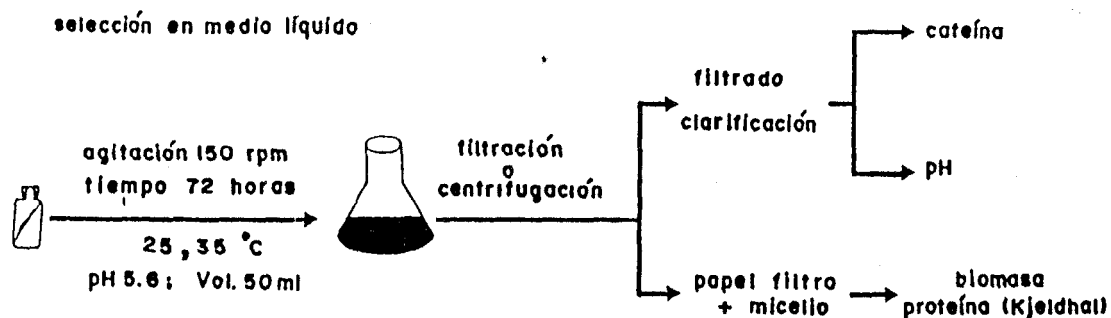


Fig. 2 : Tratamiento para los microorganismos aislados a fin de seleccionar aquellos con alta capacidad a degradar la cafeína en medio líquido agitado.

. Cultivos en medio líquido agitado

La degradación de la cafelna se estudió utilizando un medio líquido a base de cafelna (Aquiahuatl y col.1988). Las condiciones de incubación fueron de 3 a 4 días a 25 y 35°C en un baño maría con temperatura controlada y agitación de los cultivos, en matraces de 250 ml. En la fig.2, se presenta el esquema del tratamiento para los 350 microorganismos aislados.

De los 350 microorganismos aislados, se preseleccionaron 8 cepas (2 *Penicillium* y 6 *Aspergillus*) con alta capacidad a degradar la cafelna (de 90-100%). Hay que mencionar que las cepas retenidas fueron aisladas sobre medios de cultivo a base de extracto de café a 25°C (tabla VI).

Tabla VI : Rendimientos de esporulación (le) y crecimiento apical de hongos filamentosos que degradan la cafelna de la pulpa de café. Resultados obtenidos sobre PDA.

CEPA	IDENTIFICACION	le	CRECIMIENTO APICAL (mm/h)	
		Esporas/g Sps	25°C	35°C
V26A25	<i>Penicillium</i> sp	5,4x10 ⁹	0.15	0,11
V33A25	<i>Penicillium</i> roqueforti	9.3x10 ⁹	0.14	0.10
V12A25	<i>Aspergillus</i> oryzae	1.2x10 ⁹	0.24	0.26
C23B25	<i>Aspergillus</i> sp	4.8x10 ⁹	0.22	0.32
C16A25	<i>Aspergillus</i> niger	3.4x10 ⁹	0.24	0.29
C11B25	<i>Aspergillus</i> sp	8.8x10 ¹⁰	0.16	0.31
C28B25	<i>Aspergillus</i> sp	8.8x10 ⁹	0.19	0.31
C17B25	<i>Aspergillus</i> sp	1.5x10 ¹¹	0.23	0.26

. Cultivos en medio sólido en cajas Petri o en columnas

Para discriminar entre las 8 cepas y decidir por el microorganismo a utilizar en los procesos de FS de la pulpa de café, fué necesario considerar otras características que debían reunir para las FS, como son:

- esporulación importante (le), para producir inóculos abundantes
- crecimiento apical elevado, para invadir la superficie del sustrato
- tiempo de germinación corto, para disminuir la contaminación
- crecimiento a pH bajos, para prevenir posibles contaminaciones
- degradación total de la cafeína en las condiciones de FS

En las tablas VI e VII se presentan los resultados obtenidos:

Tabla VII: Caracterización fisiológica de las cepas preseleccionadas (Tiempo de germinación de las esporas, pH inicial de los cultivos, % degradación de la cafeína)

Cepa	% Germinación (hrs)		pH inicial			% Degradación
	25°C	35°C	2.0	3.0	4.8	
V26A25	12:00	12:30	-	+	+	98
V33A25	11:30	12:30	-	+	+	90
V12A25	10:30	8:00	-	+	+	100
C23B25	11:30	9:00	Nd	Nd	Nd	92
C16A25	11:00	9:00	Nd	Nd	Nd	99
C11B25	11:00	9:00	Nd	Nd	Nd	15
C28B25	11:15	9:00	Nd	Nd	Nd	98
C17B25	11:15	9:00	Nd	Nd	Nd	100
(-) No creció ; (+) Creció ; (Nd) No se Determinó						

Los índices de esporulación (le) son muy altos y casi del mismo orden de magnitud para todas las cepas. Se obtienen en promedio 10,000,000,000 de esporas de *Penicillium roqueforti* por gramo de sustrato inicial. El crecimiento apical es diferente en cada microorganismo a 25 o a 35°C. Los *Penicillium* crecen mejor a bajas temperaturas, al contrario los *Aspergillus* prefieren temperaturas mas elevadas (35°C). Si se considera el tiempo de germinación se observa un fenómeno semejante. Todas las cepas crecen sobre medios de cultivo muy ácidos, toleran concentraciones altas en cafeína y la degradan completamente despues de 4 días de cultivo en medio liquido agitado (Tabla VII).

A partir de estos resultados y tomando en consideración trabajos previos con una cepa de *Penicillium* para la degradación de la cafeína (Kurtzman y Schwimmer, 1971; Schwimmer y col. 1971, Schwimmer y Kurtzman, 1972), se decidió por una cepa de *P.roqueforti* para la detoxificación de la pulpa de café por FS.

DETOXIFICACION DE LA PULPA DE CAFE POR FERMENTACION SOLIDA

Las técnicas de FS con hongos filamentosos se utilizan en el Oriente lejano desde hace varios siglos para la preparación de alimentos tales como Miso, Shoyu, tempeh, Ragl (Raimbault, 1980). En México se desarrollan investigaciones desde hace varios años en la UAM-I en el marco de la cooperación internacional con la ORSTOM (Francia) sobre el uso y las aplicaciones de FS para el aprovechamiento de diferentes subproductos agrícolas tropicales: yuca, bagazo de caña y pulpa de café entre otros.

El método de FS esta basado en el acondicionamiento de la pulpa de café, uniformemente inoculada por una suspensión de esporas de *P.roqueforti*, a fin de llevar el medio de cultivo sólido a una humedad inicial de 72%. Con este proposito se utilizaron fermentadores de tipo columna empacada (Raimbault y Alazard, 1980) y se estudiaron las condiciones óptimas de fermentación a nivel laboratorio (influencia de la fuente de nitrógeno, de la temperatura, de la humedad, de la aireación, del pH y del tamaño del inóculo sobre la evolución del crecimiento). Para la producción a nivel planta piloto de lotes de 15 Kg (b.s.) de pulpa de café fermentada para las pruebas de evaluación nutricional se utilizó un fermentador vertical estático (Zymotis) descrito antes por Roussos (1985).

1. Fisiología de crecimiento y degradación de la cafeína en FS

La composición de los cinco medios de cultivo (A-E) que se utilizaron para ver el efecto de la adición de nitrógeno mineral sobre el crecimiento y la degradación de la cafeína de la pulpa de café se presenta en la tabla VIII. A un Kg de pulpa de café se añade 1 litro de cada medio. La mezcla se esterilizó a 110°C por una hora y se inoculó de manera homogénea con dos litros de una suspensión conteniendo 1×10^{10} esporas de *P.roqueforti*. El sustrato inoculado se empacó en los fermentadores de laboratorio (20 g) y la fermentación se llevó a cabo controlando los siguientes parámetros: aireación y temperatura para cada fermentador.

Tabla VIII : Detoxificación de la pulpa de café con *P.roqueforti* por FS: Efecto de la adición de Nitrógeno mineral.

Composición			Resultados al final del cultivo		
Medio	Urea g/l	(NH ₄) ₂ SO ₄ g/l	pH	Humedad %	Cafeína %
A	3.50	7.50	7.80	73.4	100
B	1.75	3.75	8.10	78.0	100
C	0.00	3.75	5.26	76.6	100
D	1.75	0.00	8.54	74.7	100
E	0.00	0.00	8.21	75.6	0

Después de 48 horas de fermentación *P.roqueforti* creció abundantemente, sobre todo en los medios A, B, C y menos en los medios D y E. En el medio E en que no se agregó una fuente de nitrógeno mineral, se observó una degradación de 100% de la cafeína de la pulpa (tabla VIII). Es decir que para *P.roqueforti*, la presencia de nitrógeno mineral en los demás medios de cultivo inhibe la degradación de la cafeína de la pulpa. Los valores de pH aumentaron hasta alcanzar valores de 8 después de 48 h de

fermentación, tal vez debido a que la cafeína se transforma en urea antes de ser metabolizada.

Esta observación importante sobre la regulación de la degradación de la cafeína de la pulpa de café por *P.roqueforti* es la primera vez que se pone en evidencia de una manera clara. Anteriormente varios investigadores utilizaron *A.niger* para el enriquecimiento proteico de la pulpa de café adicionando nitrógeno mineral al sustrato obteniendo rendimientos satisfactorios en proteína sin obtener una degradación completa de la cafeína (Peñaloza,1981; Peñaloza y all.1985; Gusman A.E.,1983; Aguilar M.D.1983; de Leon R.1988).

2. Decafeinización de la pulpa de café a nivel laboratorio

Considerando las observaciones anteriormente descritas se optimizaron las principales factores que afectan el crecimiento de *P.roqueforti* y la decafeinización de la pulpa de café por FS. En la fig.3 se presentan las cinéticas de degradación de la cafeína, de la evolución del pH y de la humedad durante la FS en reactores de tipo columna.

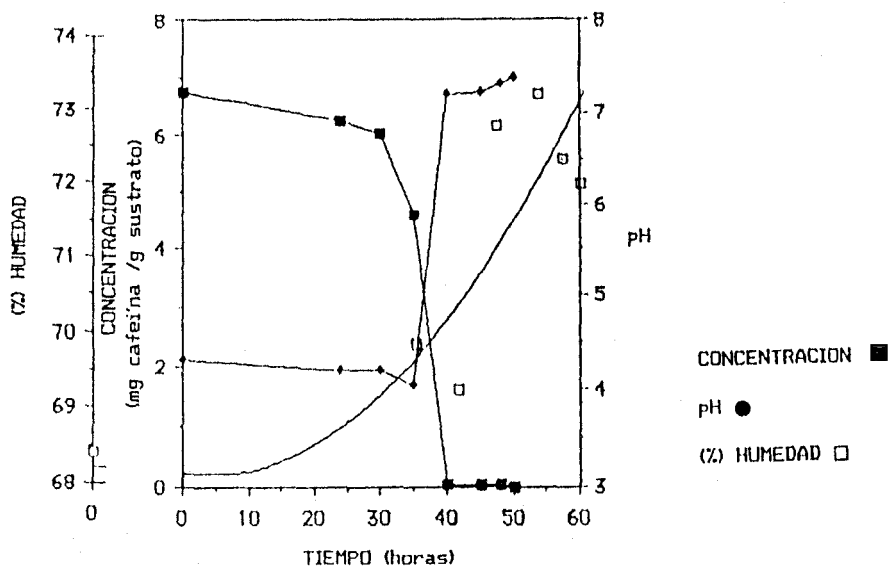


Figura 3 : Cinéticas de degradación de la cafeína, de la evolución del pH y de la humedad durante la FS de la pulpa de café en fermentadores de laboratorio del tipo columna.

Para el crecimiento de *P.roqueforti* sobre pulpa de café se requiere una humedad mínima inicial de 70%. Las esporas germinan después de 11 horas de incubación a 25°C. La inoculación homogénea y abundante permitió obtener un crecimiento rápido del micelio y una colonización en la superficie del sustrato. Después de 30 h de fermentación empieza a disminuir la concentración de la cafeína y desaparece rápidamente a las 40 h de incubación. Los valores del pH siguen bajos las primeras 30 h. Después aumentan rápidamente para alcanzar valores alcalinos (Fig.3). Este fenómeno está directamente relacionado con la degradación de la cafeína en urea antes de ser utilizada por *P.roqueforti* (Aquihuatl y col.1988).

3. Decafeinización de la pulpa de café a nivel Planta Piloto

Los resultados obtenidos en el laboratorio fueron confirmados por los estudios realizados a nivel planta piloto, utilizando un nuevo fermentador estático de tipo zymotis (Prebois y col. 1985) con una escala de extrapolación de 1/1,000 según la técnica anteriormente descrita. Los resultados obtenidos para 20 Kg de pulpa de café inoculada con *P.roqueforti* y fermentada en el Zymotis se presentan en la tabla IX.

Tabla IX : Detoxificación de la pulpa de café con *P.roqueforti* por FS a nivel Planta Piloto con 20 Kg de pulpa en Zymotis.

Tiempo Hrs	pH	Humedad %	% Degradación Cafeína
0	4.44	69.1	0
12	4.41	68.5	0
27	4.58	70.5	13
35	4.51	69.7	22
48	4.51	69.7	73

El microorganismo se desarrolló rápidamente sobre el sustrato. La degradación de la cafeína se inició a partir de las 20 horas y después de 48 de FS se removió el 73% de la cafeína de la pulpa. Hay que mencionar que la cuantificación de la cafeína se realizó en HPLC para todas las muestras, de esta forma se pudo seguir la desaparición de la cafeína con mucha precisión y fácil manejo.

Se fermentaron de esta manera varios lotes de pulpa de café para la evaluación nutricional de este producto. Los primeros resultados sobre la utilización como aditivo de la pulpa de café fermentada reportados por Tapia y col.(1989) demuestran un cierto efecto positivo a partir de una concentración de 1.5% en la dosis diaria por animal.

CONCLUSIONES

En México la producción de café se localiza en los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Puebla, principalmente. Siamo el quinto país productor de café a nivel mundial con una producción de 304,158 toneladas por ciclo anual. En la industrialización de café, también llamada beneficiado, la pulpa (mesocarpio) representa el principal desperdicio; tan solo para el periodo 1986-1987 se produjeron en México alrededor de 152,079 toneladas de pulpa (p.s.).

La pulpa de café representa un desecho agroindustrial muy abundante y de bajo valor nutricional debido a la presencia de sustancias tóxicas como la cafeína y los polifenoles. Se puede mejorar su valor nutritivo a través de una fermentación sólida(FS) con hongos filamentosos capaces de detoxificar la pulpa de café utilizando la cafeína como fuente de nitrógeno y los polifenoles como fuente de carbono para su crecimiento.

El aislamiento y purificación de los hongos filamentosos resultó ser muy práctica ya que permitió seguir una secuencia lógica del aislamiento y posteriormente de la purificación, de manera que la selección de las cepas siguió el mismo orden.

Los criterios de selección de las cepas fueron muy importantes ya que de estos dependió si la(s) seleccionadas cumplieran con las características de metabolizar la cafeína, alto índice de esporulación y rendimientos de crecimiento elevados sobre pulpa de café.

El crecimiento de los aislados en un medio con extracto de café, confirma la posibilidad de desarrollo de las cepas sobre pulpa de café, además de que se observa un decremento en la concentración de la cafeína inicial presente en esta. La metodología para el análisis de la cafeína, con la utilización de equipo como es la Cromatografía Líquida de Alta Precisión (HPLC) ha sido muy sencilla y rápida, además de confiable y específica.

Los generos encontrados como degradadores de cafeína son también citados por la literatura (*Penicillium*, *Aspergillus*) y consolidan nuestros resultados.

Los resultados de FS de la pulpa de café, obtenidos en el laboratorio, se reprodujeron satisfactoriamente en la planta piloto. A este nivel la desaparición de la cafeína no fué total, indicando que faltan todavía trabajos para optimizar las condiciones de operación.

Trabajos mas recientes realizados en este laboratorio reportan que una misma cepa de *Aspergillus* sp. degrada la cafeína de la pulpa bajo ciertas condiciones y la misma cepa produce concentraciones muy altas de enzimas pectinolíticas. Sería pues interesante probar esta cepa para detoxificar la pulpa y producir las pectinasas durante el mismo proceso.

BIBLIOGRAFIA

Aguilar M. D.P. 1983. Estudios sobre la utilización de carbohidratos, por *Aspergillus niger* en sistemas de fermentación sólida, usando pulpa de café como sustrato y diferentes niveles de fuente de nitrógeno. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. 111 p.

Aguirre F. 1966. La utilización industrial del grano de café y de sus subproductos. Investigaciones tecnológicas del ICAITI No. 1. 1966, Guatemala, C.A.

Ainsworth G.C. 1973. Introduction and keys to the higher taxa. in: The Fungi. An Advanced Treatise. Volumen 4a. A Taxonomic Review Keys. Academic Press, Nueva York

Aquilahuatl M.A., Raimbault M., Roussos S. & Trejo M.R. 1987. Aislamiento, purificación y fisiología de cepas de hongos filamentosos que crecen en extracto de café para detoxificar la pulpa

de café por fermentación sólida. XVIII Congreso Nacional de Microbiología. Acapulco, Gro. (Abril 1987). México

Aquilahuatl M.A., Raimbault M., Roussos S. & Trejo M.R. 1988. Coffee pulp detoxification by solid state fermentation: isolation, identification and physiological studies. in Raimbault M (Ed), Proceeding of seminar "Solid state fermentation in bioconversion of agroindustrial raw materials" ORSTOM-Montpellier 25-27 July 1988. pp.13-26

Bergmann F., Ungar-Waron H., Kwietny-Govrin H., Goldberg H. & Leon S. 1962. Some specific reactions of the purine-oxdizing system of *Pseudomonas aeruginosa*. Bioch. Biophys. Acta, 155:512-522.

Black R.L.B. & Dix N.J. 1976. Utilization of ferulic acid by microfungi, from litter and soil. Trans. Br. Mycol. Soc., 66 (2):313-317.

Bressani R., Estrada E. & Jarquin R. 1972. Pulpa y pergamino de café. I. Composición química de aminoácidos. Turrialba, 122:299-304

Bressani R., Estrada E., Elias L.G., Jarquin R., & de Valle L.U. 1973. Pulpa y pergamino de café. IV. Efecto de la pulpa de café deshidratada en las dietas de ratas y pollos. Turrialba, 123: 403-409

Bressani R. 1974. Composición química de los subproductos de café. In Informe final C.R. IICA p.13. Reunión internacional sobre la utilización de los subproductos agrícolas e industriales. Turrialba. 11-14 Junio 1974. Costa Rica.

Bressani R. & Elias L.G. 1976. Utilización de desechos de café en alimentación de animales y materia prima industrial. EXPICA 78, El Salvador 3-8 Mayo 1976, documento INCAP, Guatemala, 25 p.

Bressani R., 1979. Factores antifisiológicos de la pulpa de café. In: Braham J. E. & Bressani R. (Eds.) Pulpa de café; composición, Tecnología y Utilización. Ottawa, Canada, International Development Research Centre, p. 143-152.

De León R., 1988. Brief description of solid state fermentation processes at ICAITI. in Raimbault M. (Ed), Proceeding of seminar "Solid state fermentation in bioconversion of agroindustrial raw materials" ORSTOM-Montpellier 25-27 July 1988 (France). p.139-143

Guzmán A.E. 1983. Efectos de nivel y naturaleza de fuentes de nitrógeno sobre el mejoramiento de la calidad químico nutricional de

la pulpa de café por fermentación sólida usando *Aspergillus niger*. Tesis. Universidad San Carlos de Guatemala, 85 p.

Guzmán G. & Martínez D. 1985. Planta productora de hongos comestibles sobre pulpa de café. Ciencia y Desarrollo, 65:41-48

Itoh M., Takahashi S., Iritani M. & Kaneko Y. 1980. Degradation of three isomers of cresol and monohydroxybenzoate by Euromycetes. Agric. Biol. Chem. 44 (5): 1037-1042.

Jaffe, W. & Ortiz D.S. 1952. Notas sobre el valor alimenticio de la pulpa de café. Agro. (Venezuela), 23: 31-37,

Kurtzmann R.H. & Schwimmer S. 1971. Caffeine removal from growth media by microorganisms. Experientia, 127(4):481-482

Martínez-Carrera D. 1989. Producción de hongos comestibles sobre pulpa de café a nivel comercial. In Roussos y col. (Eds) Memorias I Sem. Intern. Biotecnol. Agroindust. Café. Xalapa 12-15 Abril 1989, México. pp 177-184

Mishustin E.N. & Erofeev N.S. 1966. Nature of the toxic compounds accumulating during the decomposition of straw in soil. Microbiol. 35 (1): 126-129.

Molina M.R., de la Fuente M., Batten M.A. & Bressani R. 1974. Decaffeination: A Process to Detoxify Coffee Pulp. Agricult. and Food Chemist. 122(6):1055-1059

Peñaloza W. 1981. Fermentación sólida de la pulpa de café. Tesis Univ. San Carlos de Guatemala. 50 p.

Peñaloza W., Molina M.R., Gómez Brenes & Bressani R. 1985. Solid-State Fermentation: An alternative to improve the nutritive value of coffee pulp. Appl. and Environ. Microbiol. 149 (2):388-393

Prebols J.P., Raimbault M. & Roussos, S. 1985. Biofermenteur statique pour la culture de champignons filamenteux en milieu solide. Brevet français No. 76.06.677.

Raimbault, M., 1980. Fermentation en milieu solide. Croissance de champignons filamenteux sur substrat amylacé. Thèse d'Etat. Univ. Paul SABATIER, Toulouse, 291 p.

Raimbault, M. Alazard, D. 1980. Culture method to study fungal growth in solid fermentation. Eur.J.Appl.Microbiol.Biotechnol. 9:199-209

Raimbault M. & Roussos S. 1985. Procédé de production de spores de champignons filamenteux. Brevet français No. 85.08555.

Ramirez Martinez J.R. 1988. Phenolic compounds in coffee pulp: quantitative determination by HPLC. J.Sci.Food Agric. 43:135-144

Rolz C., de León R., de Arriola M.C.. 1988. Solid substrate growth of white rot fungi on coffee pulp. Acta Biotechnol., 13:211-223

Roussos S. 1985. Croissance de *Trichoderma harzianum* par fermentation en milieu solide: Physiologie, sporulation et production de cellulases. Thèse d'Etat Université de Provence. 193 p.

Roussos S. 1989. El papel del Microbiólogo en los procesos biotecnológicos. Interface 32:7-10

Schwimmer S., R. H. Kurtzman. and Heftmann E. 1971. Caffeine Metabolism by *Penicillium roqueforti*. Arch. Biochem. Biophys., 1147:109-113

Schwimmer S., R.H. Kurtzman. 1972. Fungal decaffeination of roast coffee infusions. J. Food Science. 137:921-923

Shoda, M., K. Maruta, S. Uda, 1980. Isolation and properties of phenol utilizing microorganisms with special reference to catechol 1,2-oxygenase. Agric.Biol.Chem. 44(8):1841-1846

Takahashi, S., M. Itoh, K. Tsubaki, Y. Kaneko. 1981. Taxonomical Identification of phenol and o-cresol assimilating fungus *Aurebasidium pullulans* and its growth characteristics in phenol medium with methanol or formaldehyde. Agric.Biol.Chem.,45(8):1809-1815

Tapia I.M., Herrera-Saldana R., Viniegra G.G., Gutierrez M. & Roussos S. 1989. Pulpa de café fermentada: su uso como aditivo en la alimentación de rumiantes. In Roussos y col. (Eds) Memorias I Sem.Intern. Biotecnol.AgroIndust.Café. Xalapa 12-15 Abril 1989, México. pp 153-175

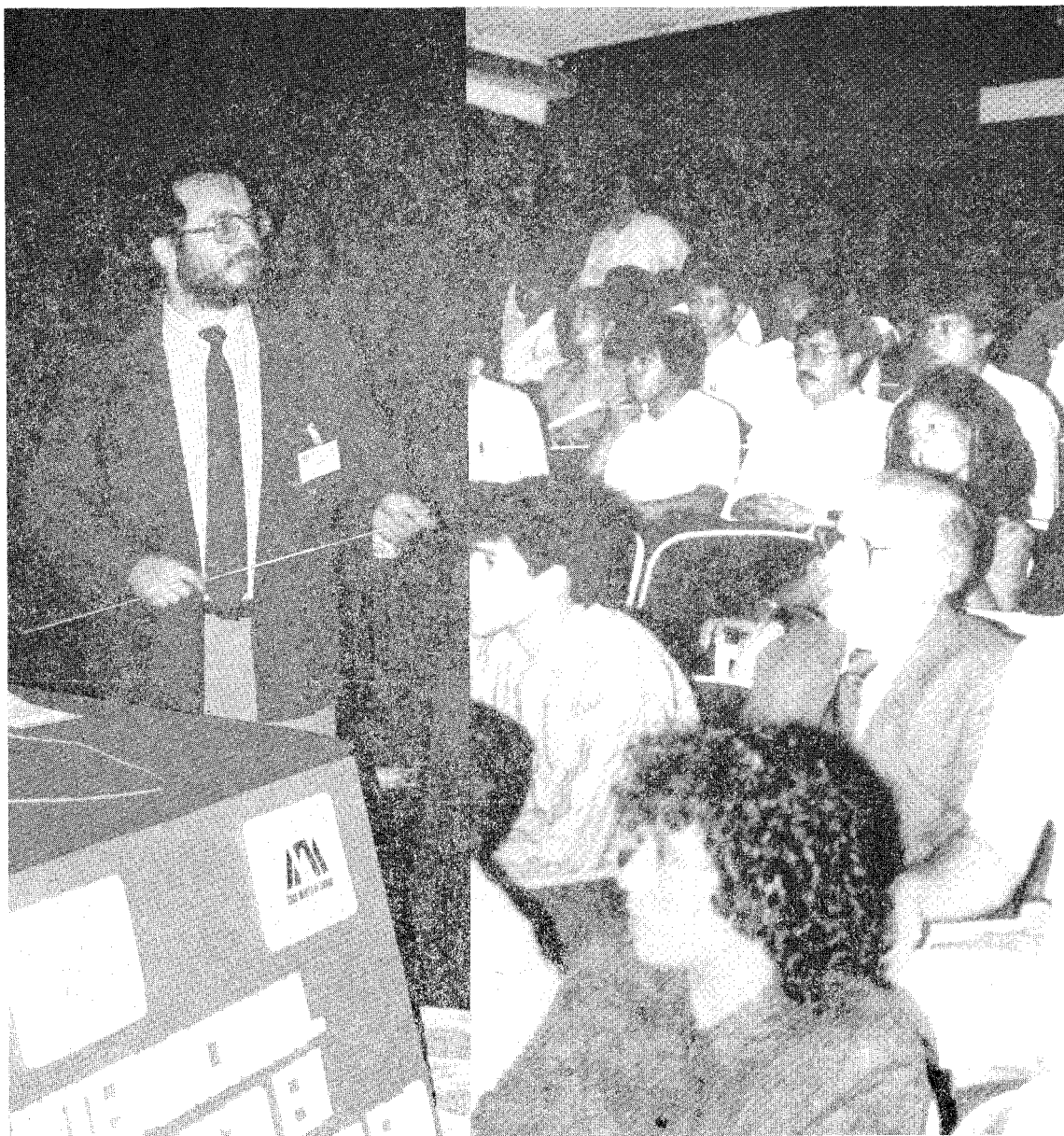
Tauk, S.M. 1986. Estudo decomposição da polpa de café a 45°C através do uso de microrganismos isolados da polpa. Turrialba, 136 (3): 271-280

Woolfolk C.A. 1975. Metabolism of N-Methylpurines by a *Pseudomonas putida* strain isolated by enrichment on caffeine as the sole source of carbon and nitrogen. J.Bacteriol. 123 (1):1088-1106

Zuluaga V.J., Bonilla C., Quijano R.M. 1975. Contribucion al estudio y utilización de la pulpa de café. VII Col.Intern.Quim.Café, Hamburgo 9-14 Junio, 1975, ASIC, Ed.Paris, p. 233-242.

Zuluaga V.J. 1981. Contribution à l'étude de la composition chimique de la pulpe de café (*Coffea arabica* L.). Thèse Doct.Sciences, Univ.Neuchatel, Suisse, 93 p.

Zuluaga V.J. 1989. Utilización Integral de los subproductos del café. In Roussos y col. Eds. Memorias I Sem.Intern. Biotecnol. AgroIndust.Café. Xalapa 12-15 Abril 1989 . México. pp 63-76



El Dr. Sevastian Roussos en la presentación del Trabajo:
Detoxificación de la pulpa del café

PRODUCCION DE ENZIMAS A PARTIR DE PULPA DE CAFE

Y SU APLICACION EN EL BENEFICIO HUMEDO

FAVELA E., HUERTA S., ROUSSOS S. (*), OLIVARES G., NAVA G., VINIEGRA G.G. & GUTIERREZ M.

La producción de café tiene un papel fundamental en la economía de varios países de Asia, Africa y América Latina. En términos generales, el café es procesado por vía seca o por vía húmeda (Menchù y Rolz, 1973; Rolz y col., 1982). En México la industria cafetalera utiliza casi en su totalidad la vía húmeda para el beneficiado del café.

En lo que se refiere a la tecnología empleada en el beneficiado del café por vía húmeda, no se ha hecho el esfuerzo suficiente para mejorar los rendimientos de producción. De la misma manera, los graves problemas de contaminación debidos al tratamiento inadecuado de los subproductos del beneficiado del café, no han sido atacados de una manera objetiva. En este sentido, Rolz y col. (1982) plantean una serie de alternativas de utilización para estos subproductos a fin de obtener ventajas de los mismos.

La pulpa de café es uno de los subproductos mayoritarios durante el beneficiado del café. Esta representa aproximadamente el 40 % en peso de la cereza de café. A pesar de que se han planteado múltiples alternativas para su aprovechamiento (De León y col., 1980; Vargas y col., 1982; Rolz y col., 1982; Barrientos, 1985; Peñaloza y col., 1985), éstas no se han implementado de una manera integral, principalmente porque la relación costo-beneficio es poco atractiva para los beneficiadores.

A continuación se enumeran algunas de las alternativas que han sido propuestas en la literatura citada para la utilización de la pulpa de café:

Depto. Biotecnología. UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA.
IZTAPALAPA. Apdo. Postal 55-535; C.P. 09340. México D.F.
(*) ORSTOM, 213 rue Lafayette; 75010 Paris, Francia.

- * Complemento dietético para nutrición animal.
- * Materia prima para la obtención de compuestos orgánicos presentes en la pulpa.
- * Abono orgánico y mejoramiento de la estructura del suelo.
- * Materia prima para la producción de compuestos orgánicos con procesos microbiológicos.
- * Materia prima para la producción de hongos comestibles.

La selección de una de estas alternativas depende de varios factores, tales como: la capacidad del beneficio, el tipo de tecnología empleada para el proceso y otra, que puede ser la más importante, la falta de interés por parte de los productores, para mejorar de una manera integral, todo lo relacionado con la producción y comercialización del café. Es necesario aclarar que la falta de interés puede ser debida a que las alternativas arriba mencionadas no han sido del todo convincentes, por lo que el productor teme arriesgar una parte de su capital en algo que puede resultar solamente una aventura.

PRODUCCION DE ENZIMAS A PARTIR DE LA PULPA DE CAFE

Un aspecto importante de la pulpa de café es su utilización para la producción de compuestos bioquímicos que serían de gran interés durante el beneficiado del café. En particular, la pulpa de café puede servir de materia prima para la producción de enzimas que pueden mejorar considerablemente el proceso de desmucilaginización.

Para poder visualizar más claramente esto, hay que analizar en detalle una de las etapas más importantes del beneficiado del café : la desmucilaginización o fermentación. Como su nombre lo indica, esta parte del proceso consiste en la eliminación de la capa mucilagínosa del grano de café gracias a la acción de una actividad microbiana compleja llamada fermentación. Dependiendo de la variedad del café, esta etapa puede durar desde unas cuantas horas (café tipo arábica) hasta varios días (café tipo robusta) (Rolz y col., 1971). Para poder entender mejor como puede mejorarse la desmucilaginización es necesario analizar qué fenómenos ocurren durante la fermentación natural (Hilmer y De la Cruz, 1964). Esta se lleva a cabo gracias a la presencia de compuestos bioquímicos, denominados enzimas, que tienen una acción directa sobre la capa mucilagínosa. Esta acción directa consiste en la degradación y separación del grano de café de los compuestos del mucilago. Una

parte de las enzimas responsables de esta degradación y separación se encuentran en el mismo grano del café; y otra fracción de ellas, no menos importante, es sintetizada por los microorganismos que se desarrollan durante la fermentación. Como se mencionó anteriormente, lo complejo de la población de microorganismos refleja una serie de actividades microbianas que pueden tener un efecto negativo a lo largo de la fermentación. En otras palabras, así como los microorganismos sintetizan las enzimas responsables de la desmucilaginización del café, estos microorganismos también sintetizan otras enzimas que pueden causar un gran deterioro del café, esto nos lleva a la obtención de café con alto grado de heterogeneidad y en ocasiones de mala calidad. Esto sucede cuando el pergamino y el mismo grano de café se ven afectados por las otras enzimas producidas por los microorganismos.

Entrando más en detalle veamos porqué los microorganismos sintetizan esa gran variedad de compuestos (enzimas). De la misma manera en la que nosotros respondemos a un efecto del medio ambiente (abrigarnos en presencia de frío) los microorganismos responden específicamente a ciertos factores del medio ambiente. Por ejemplo, y en este caso cuando los microorganismos están en presencia de los compuestos del mucilago, ellos producen todo un equipo de enzimas que degradarán tales compuestos hasta formas más sencillas que puedan ser fácilmente utilizadas por ellos. Así como hay una respuesta por parte de los microorganismos a la presencia del mucilago, también la habrá hacia los componentes del pergamino y del grano mismo, hasta un grado que, si dejamos los granos en la tina de fermentación por periodos excesivamente largos, observaremos que los granos serán degradados casi en su totalidad por la actividad de los microorganismos presentes.

De este análisis previo se puede concluir que la presencia de microorganismos es necesaria para la desmucilaginización por fermentación natural, sin embargo, debido a la heterogeneidad de la población microbiana éstos pueden ocasionar serios problemas en la calidad del café. La biotecnología contempla procesos de producción de compuestos específicos por vía microbiana. Es decir, la utilización de microorganismos que produzcan solo a las enzimas responsables de la desmucilaginización del café, lo cual es totalmente factible. De hecho estas enzimas (pectinasas) se encuentran disponibles en el mercado. Sin embargo, enzimas más específicas que las comerciales pueden ser producidas por los cafetaleros a partir de la pulpa de café en las mismas instalaciones del beneficio.

PRODUCCION Y USO DE PECTINASAS EN EL BENEFICIO HUMEDO

En este trabajo se tratan aspectos relacionados con la implementación de procesos biotecnológicos de baja inversión para el mejoramiento de la producción de café en términos de rendimiento, calidad y costos de operación. Aunque sean muchas las propuestas que puedan hacerse para alcanzar los beneficios arriba mencionados, aquí solamente se plantea la utilización de la pulpa para la producción de enzimas desmucilaginantés (pectinasas). Cabe mencionar que después del proceso de producción de enzimas, la pulpa de café puede ser utilizada para nutrición animal (Tapia y col., 1989).

Las pectinasas son producidas por vegetales y por un gran número de microorganismos. De estos últimos son los hongos filamentosos (mohos) los más utilizados para su producción a nivel industrial. Tradicionalmente las pectinasas se utilizan en la industria alimentaria, particularmente en procesos de producción de jugos de frutas.

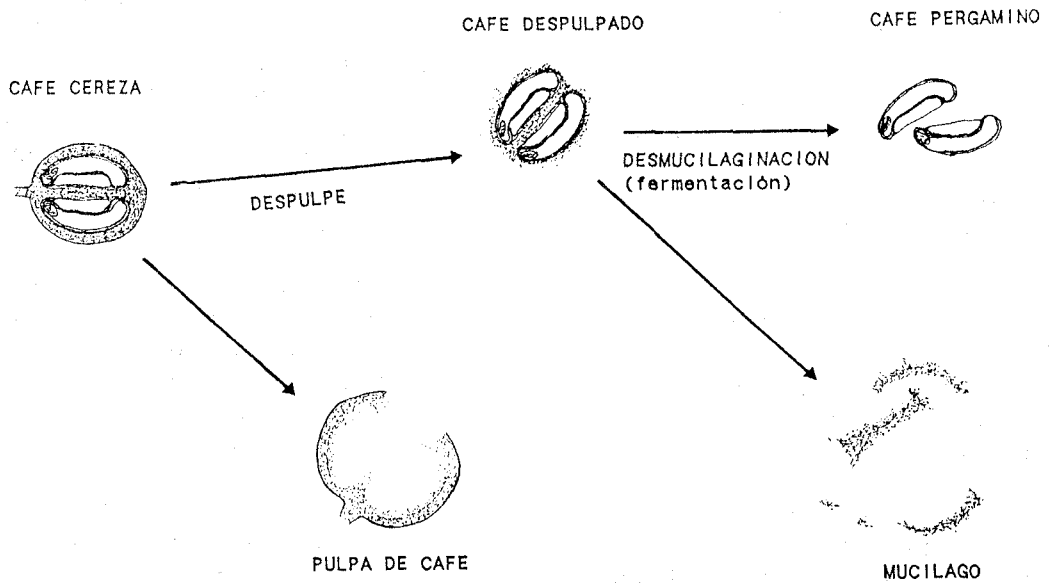
Estudios preliminares realizados en nuestro laboratorio demostraron que la pulpa de café es un material adecuado para la producción de enzimas pectinólíticas (pectinasas) de origen fúngico. Es importante reiterar que el hablar de producción de pectinasas no es tan aleatorio como lo parece. Las pectinasas son de gran utilidad para aumentar la productividad y la eficiencia de la fermentación natural que se lleva a cabo para la desmucilaginización del grano. Por otra parte, el uso de las pectinasas permite un control de calidad constante.

Las investigaciones realizadas en nuestro laboratorio indican la factibilidad de la producción y uso de tales enzimas en las instalaciones del beneficio, sin necesidad de inversiones elevadas.

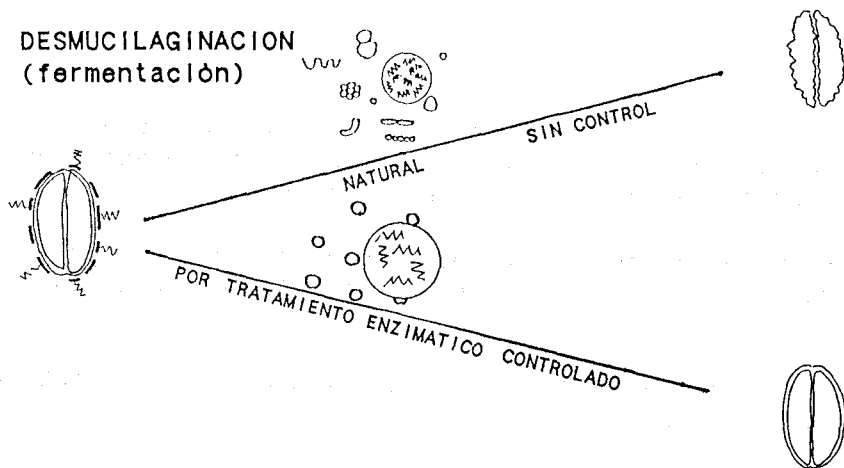
Para entender mejor los aspectos relacionados con la producción de enzimas a partir de pulpa de café y su aplicación en el beneficio húmedo es necesario describir el proceso de producción.

Partiendo del principio de que la pulpa de café contiene los nutrientes necesarios para que se produzcan las pectinasas, es necesario contar con un microorganismo capaz de producirlas a partir de la pulpa. En nuestros laboratorios contamos con cepas de *Aspergillus niger* capaz de crecer y de sintetizar las enzimas necesarias para la desmucilaginización del grano de café.

BENEFICIO HUMEDO DEL CAFE



DESMUCILAGINACION
(fermentación)



En realidad se trata de un proceso simple, que consiste en poner la pulpa de café en condiciones de pH, temperatura y humedad adecuadas (4.5, 35°C y 70% respectivamente) para que el hongo, previamente inoculado, se desarrolle a partir de la pulpa de café. Una vez que el hongo alcanzó su máximo crecimiento, el material es humedecido (con el 100% de agua) y prensado para obtener así un extracto rico en pectinasas. Es necesario aclarar que para que este proceso se lleve a cabo en las condiciones que nos interesan, es necesario suministrar aire al sistema durante todo el tiempo de crecimiento del hongo. El extracto producido al final de la etapa de crecimiento del hongo, puede ser adicionado directamente a las tinajas de fermentación, o bien pretratado y almacenado para posterior utilización.

Estudios realizados en las instalaciones de un beneficio demostraron que la adición de enzimas producidas por mohos acelera el proceso de fermentación natural del café variedad robusta, obteniéndose un café pergamino de muy buena calidad. Esto es gracias a que como se indicó más arriba, las enzimas producidas por el hongo solo atacan la capa mucilagínosa.

Finalmente se puede comentar que una vez extraídas las enzimas, los residuos de la pulpa de café, tratándolos de la manera adecuada, pueden quedar libres de cafeína y con un mayor contenido en proteína, de tal manera que pueden ser utilizados para nutrición animal.

CONCLUSIONES

Lo que se plantea en este trabajo es la utilización de la pulpa de café para obtener provecho en 3 importantes aspectos relacionados a las actividades realizadas dentro del beneficio de éste:

- a. Mejoramiento del proceso de desmucilaginizaci3n, gracias a la utilizaci3n de las enzimas producidas a partir de la pulpa de café,
- b. Aprovechamiento integral de la pulpa, eliminando los problemas de contaminaci3n que por ella se ocasionan, y
- c. utilizaci3n de la pulpa residual fermentada para nutrici3n animal.

BIBLIOGRAFIA

Barrientos Murrieta E., 1985. Pulpa de café digerida mezclada con suelo en combinación con la fertilidad química en viveros de café (*coffea arabica* L.) var. *Caturra rojo*. Tesis de la Universidad Autónoma de Chapingo, MEXICO.

De León R., Calzada F., Herrera R. & Rolz C. 1980. Fungal biomass production from coffee pulp juice. J.Ferment.Technol., 58,(6):579-582

Hilmer A.F. & Cruz A.M. 1964. Role of incidental microflora in natural decomposition layer in kona coffee cherries. J.Food Sci.,15:850-853

Menchù J.F. & Rolz C. 1973. Coffee fermentation technology. Café Cacao thé, Vol XVII (1) Janvier-Mars : 53-61

Peñaloza W., Molina M.R., Gómez Brenes R. & Bressani R. 1985. Solid-state fermentation: an alternative to improve the nutritive value of coffee pulp. Appl.Environ. Microbiol. 49(2):388-393

Rolz C., Menchù J.F., Espinosa R. & García Prendes A. 1971. Coffee fermentation studies. ASIC, 5e colloque, Lisbon.

Rolz C., Menchù J.F., Calzada F., de León R. & García R. 1982. Biotechnology in washed coffee processing. Process Biochem., March-April, 12:8-10

Vargas E., Cabezas M.T., Murillo B., Braham J.E. & Bressani R. 1982. Efecto de altos niveles de pulpa de café deshidratada sobre el crecimiento y adaptación de novillos jóvenes. INCAP/UNU-21, Vol XXXII, No. 4, 973-989



Ante una numerosa asistencia
de productores cafetaleros,
estudiantes, profesionistas,

científicos nacionales y
extranjeros



e investigadores del INMECAFE,
se llevaron a cabo los
trabajos de este seminario.



PULPA DE CAFE FERMENTADA :

SU USO COMO ADITIVO EN LA ALIMENTACION DE RUMIANTES

TAPIA I.M.(¹), HERRERA-SALDANA R.(¹), VINIEGRA G.G.(²),
GUTIERREZ M.² & ROUSSOS S. (³) (*)

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de cinco cultivos de hongos en la digestibilidad de distintos nutrientes en rumiantes.

Por lo anterior, el presente trabajo constó de dos fases: en la primera se determinó la composición química de los compuestos biológicos (cultivos fungales) y de los nutrientes usados para la evaluación y en la segunda se estudió el efecto de los compuestos fungales en la digestibilidad de nutrientes, para lo cual esta segunda fase constó de dos etapas.

En una primera etapa cuatro pruebas de digestibilidad *in vitro* fueron conducidas para determinar el efecto de cinco compuestos fungales: *Penicillium roqueforti* (PR), *Trichoderma harzianum* (TH), *Aspergillus niger* en bagazo de caña (AN₁), *Aspergillus niger* en yuca (AN₂) y *Aspergillus oryzae* (AO) Amaferm, sobre la digestibilidad de la materia seca (DMS) de tres fuentes de lípidos: aceite vegetal, cebo de res y manteca; tres fuentes de proteínas: harina de sangre, pasta de algodón y pasta de soya; tres fuentes de fibra: rastrojo de malz, heno de ballico y heno de alfalfa; y tres fuentes de almidón : desechos de panificación, grano de sorgo y grano de malz. Cada compuesto fue adicionado en cuatro niveles: 0, 1, 2 y 3% de la muestra (en base seca) antes del periodo de incubación de 48 horas. Los resultados fueron analizados usando un diseño completamente al azar designado con un arreglo factorial de 3X5X4 con dos repeticiones por tratamiento.

(*) 1. Universidad Autónoma de Chapingo; Colegio de Posgraduados Texcoco, Edo. Mex., 56230 México

2. Depto de Biotecnología ; Universidad Autónoma Metropolitana (UAM-I); Apdo Postal 55-535 ; 09340 Iztapalapa, México DF ; México

3. ORSTOM: Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération; 213 Rue Lafayette, 75010 Paris (France)

Los niveles de 2 y 3% dieron resultados positivos ($P < 0.05$). Los ingredientes mas beneficiados fueron los siguientes: manteca vegetal mas AN_2 al 2% (de 74-80%); cebo de res con 3% de AO (de 74.5 a 79.8%); harina de sangre (68.80, 69.91, 67.47, 68.72, 70.91, 65.45% para PR, TH, AN_1 , AN_2 , AO y Testigo respectivamente). En las fuentes de almidón el incremento fué moderado y la mejor respuesta se observó en el grano de sorgo con TH (de 82-86%). AN_2 y AO tendieron a presentar los mejores resultados en la DMS.

INTRODUCCION

El uso extensivo de los forrajes como fuentes de energia para los rumiantes está basado en la digestión microbiana de los carbohidratos estructurales como la celulosa y la hemicelulosa. En las dietas basadas en forrajes, cerca del 90% de la digestión ocurre en el rumen y el 10% restante ocurre principalmente en el intestino delgado. Las células microbianas y sus subproductos de ácidos grasos volátiles son utilizados para cubrir la mayor proporción de las necesidades de proteína y energía. Sin embargo la presión constante para incrementar la eficiencia en la producción ha estimulado el uso de mayores cantidades de concentrado, además de la búsqueda de nuevas técnicas que permitan incrementar la eficiencia y el nivel de producción de los animales.

Dentro de las técnicas que actualmente se están utilizando en distintas partes del mundo, está la manipulación ruminal con el objeto de lograr las siguientes metas:

- . promover la degradación de complejos lignocelulósicos,
- . incrementar la actividad celolítica
- . aumentar la síntesis de proteína microbiana
- . reducir la producción de metano y
- . reducir la actividad proteolítica, entre otras.

La biotecnología, una nueva disciplina en las ciencias biológicas, ha hecho importantes contribuciones en el área de producción animal y en particular en la manipulación ruminal a través de la producción de compuestos probióticos.

. El uso de estos compuestos ha despertado un gran interés debido a los incrementos observados en la digestibilidad ruminal de las dietas y el comportamiento productivo de los animales que los reciben.

A continuación se revisarán los conceptos básicos acerca de estos compuestos y algunas experiencias obtenidas con su uso en animales haciendo énfasis en los probióticos producidos a base de cultivos de hongos microscópicos.

CONCEPTOS GENERALES

Los probióticos pueden ser agrupados dentro de la categoría de los promotores de crecimiento los cuales han sido divididos a su vez en probióticos (en favor de la vida) y en antibióticos (contra de la vida). La función de estos últimos está bien definida y consiste en eliminar o en mantener a un bajo nivel de población de microorganismos patógenos o indeseables, sin embargo en la mayoría de los casos se desconoce el funcionamiento de los probióticos, esto se debe en parte a la gran diversidad de compuestos existentes y a la gran gama de procesos para producirlos. De cualquier forma resulta necesario tratar de definir que es un probiótico y cual o cuales pueden ser los mecanismos de su funcionamiento.

Podemos decir en forma general, que los probióticos son compuestos formados por una mezcla de microorganismos, enzimas, vitaminas, minerales y nutrientes o factores de crecimiento desconocidos que tienen un efecto benéfico en el desarrollo y producción animal.

Según Huber (1988), para que un compuesto biológico pueda ser considerado como un probiótico debe cumplir además con los siguientes requisitos:

- . ser no patógeno
- . estar libre de toxinas
- . ser requerido en pequeñas cantidades
- . incrementar la eficiencia en la utilización de nutrientes

Originalmente los probióticos consistían en preparaciones viables de lactobacilos, principalmente cepas de *Lactobacillus acidophilus*, actualmente los probióticos incluyen cepas viables y no viables de lactobacilos, estreptococos, hongos, levaduras y otras bacterias (Zinn, 1988).

Con relación a los mecanismos de acción de los probióticos, poco se sabe con certeza. Diversos autores (Lyons, 1986; Arambel y Wiedmeir, 1987; Gomez y al. 1987; Huber, 1988) han especulado sobre posibles formas en que los probióticos actúan, dentro de los posibles mecanismos están los siguientes:

- . servir como fuente de nutrientes para el rumiante,
- . producir antibióticos que eliminan o disminuyen patógenos,
- . cambiar las condiciones ambientales (físico-químicas) del rumen,
- . competir por sustrato contra agentes patógenos,
- . estimular el crecimiento de organismos benéficos al proveerlos de factores de crecimiento y
- . reducir la producción de metano.

Se desconoce si más de uno de estos mecanismos están involucrados en el efecto que los probióticos han demostrado en diversos estudios. Otro punto a considerar especialmente con respecto a los probióticos fungales, es que en el rumen existen hongos anaeróbicos que aparentemente se ven particularmente beneficiados con la adición de probióticos. La presencia de estos hongos en rumen fué demostrada recientemente (Orpin, 1981; Bauchop, 1979), la función de estos hongos está relacionada con la degradación de los carbohidratos estructurales de (celulosa y hemicelulosa) de las paredes celulares de las plantas. A continuación se revisarán algunos resultados obtenidos con la adición de probióticos fungales a dietas de rumiantes y posteriormente algunos métodos para evaluar el funcionamiento de dichos compuestos.

EFFECTO DE LA ADICION DE PROBIOTICOS FUNGALES SOBRE LA ACTIVIDAD Y DESARROLLO DE LOS MICROORGANISMOS EN RUMIANTES

Durante los últimos años varios cultivos de hongos han sido utilizados como aditivos en la ganadería. Las especies con las que más se ha trabajado son cepas de *A.oryzae* y *Saccharomyces cerevisiae* (Huber, 1988). Críticas a la adición de hongos como aditivos en la alimentación han sugerido que habría un escaso crecimiento fungal en el rumen debido a su naturaleza aeróbica. Sin embargo, Lyons (1988) reportó un incremento substancial en el número de hongos (*A.oryzae*) después de su introducción al rumen en animales fistulados. Así mismo Gomez y al.(1987) observaron un incremento en la producción microbial (15.5 vs. 20.0 g/100 g de materia orgánica fermentada) resultando en una mayor cantidad de proteína microbiana pasando al duodeno (355 vs.635 g/d).

Por otra parte, Arambel y al. (1987) reportaron que *A.oryzae* y/o *S.cerevisiae* adicionados a la alimentación de vacas lecheras incrementó ($p>0.5$) a nivel ruminal el total de bacterias celulolíticas. Harrison y al (1987) encontraron un aumento en el número de bacterias celulolíticas como resultado de la adición de cultivos de levaduras. Similares resultados fueron encontrados por

de cultivos de levaduras. Similares resultados fueron encontrados por Dawson (1987). Según Huber (1988) las posibles explicaciones del incremento en el número de bacterias celulolíticas al adicionar cultivo de hongos o levaduras son:

- . que poseen algún factor de crecimiento o nutrientes no específicos
- . la inhibición de ciertas bacterias o especies de protozoarios, permitiendo de esta manera que haya mayor cantidad de sustrato disponible para las celulolíticas. Sin embargo, éstas son solo sugerencias y requieren investigación futura.

MÉTODOS PARA EVALUAR EL EFECTO PROBIÓTICO DE COMPUESTOS FUNGALES

Existen varios métodos para evaluar a un posible compuesto probiótico. Tenemos desde los métodos relativamente simples de laboratorio, hasta las pruebas de producción con animales.

Los métodos de laboratorio nos permiten hacer una selección inicial de varios compuestos mediante pruebas de digestibilidad *in vitro*, para la determinación de la actividad enzimática, viabilidad en medios aeróbicos o anaeróbicos, capacidad de esporulación y composición química, entre los más importantes.

El siguiente tipo de métodos consiste en las pruebas de digestibilidad *in situ*. Para esto se requiere de animales fistulados en el rumen y/o duodeno; con este tipo de pruebas es posible determinar el efecto de un compuesto probiótico sobre la digestibilidad de nutrientes y sobre el crecimiento y desarrollo de bacterias y hongos ruminales.

El último tipo de prueba requiere de un número considerable de animales, los cuales deben ser: uniformes en cuanto a peso, sexo, nivel de producción y de consumo. Estas pruebas son, por lo general bastante complicadas y costosas, no obstante este tipo de pruebas son las más convenientes, debido a que los animales son nuestros indicadores más fieles para evaluar el efecto de un probiótico. Así, utilizando varios animales podemos realizar pruebas de digestibilidad, consumo, producción, balance energético y comportamiento reproductivo.

EVALUACION DE CUATRO CULTIVOS FUNGALES SOBRE LA DIGESTIBILIDAD *in vitro* DE LA MATERIA SECA DE CUATRO FUENTES NUTRIENTES

El presente estudio tuvo como finalidad la de desarrollar un método simple que permitiera determinar el valor como aditivo de cuatro cultivos fungales. Dichos cultivos fueron producidos por el laboratorio de Microbiología del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I). Debido a que se desconocía el nivel más adecuado para lograr un efecto positivo y cual sería el efecto de dichos compuestos cuando se adicionarán con diferentes alimentos (fibrosos, proteícos, energéticos, etc.) se diseñó esta evaluación de tal manera que pudiesen encontrarse respuestas a esas interrogantes. Así los niveles evaluados fueron: 0,1,2 y 3% de la materia seca incubada.

Las fuentes de substrato evaluadas fueron las siguientes:

- . fibrosas: rastrojo de malz, heno de pasto ballico (pasto inglés) y heno de alfalfa
- . proteícos: harina de sangre, harina de pasta de algodón y harina de pasta de soya
- . amiláceos: sorgo molido, malz molido y desechos de panificadora
- . lipídicos: cebo de res, manteca vegetal y aceite vegetal

Dichos substratos fueron seleccionados de tal forma, que se tuviera una fuente de baja degradabilidad, una de media y otra de alta (v.g. rastrojo de malz, h. de ballico y h. de alfalfa, respectivamente). Los compuestos evaluados fueron residuos de la fermentación de:

- . *Penicillium* sp. cultivado en pulpa de café (Psp).
- . *T.harzianum* cultivado en una mezcla de bagazo de caña más salvado de trigo (TH).
- . *A.niger* cultivado en yuca integral (AN₁).
- . *A.niger* cultivado en bagazo de caña (AN₂).

El efecto de estos compuestos fué comparado contra el efecto de un probiótico conocido como "Amaferm" (Biozyme Inc.), que es el producto de fermentación de *A.oryzae* en dos substratos diferentes. Dicho producto aún no se comercializa en México.

Tanto los sustratos como los compuestos fungales, fueron analizados en el laboratorio para determinar los siguientes parametros:

- . Materia seca (MS)
- . Materia Orgánica (MO)
- . Nitrógeno (PC)
- . Nitrógeno soluble (NS)
- . Paredes celulares (FDN)
- . Energia total (E)

Posteriormente, se realizaron las combinaciones de los compuestos fungales con los sustratos (Tabla 1). Cada fuente de sustrato fué evaluada independientemente de las otras a traves de una prueba de digestibilidad *in vitro* de la MS, utilizando la primera fase de Tilley y Terry (1963). El periodo de incubación fué de 48 hs. los niveles probados fueron de 0, 1, 2 y 3% de la materia seca de la fuente de sustrato. El diseño experimental utilizado fué completamente al azar con un arreglo factorial 3X5X4 (AXBXC), siendo A= efecto de Ingredientes (3), B= efecto del tipo de probiótico (5) y C= efecto del nivel de probiótico (4), con tres repeticiones por tratamiento. Para las comparaciones entre medias se usó la prueba de Tukey (1953) citado por Steel y Torrie (1963).

Tabla 1. Arreglo experimental de sustrato y los compuestos fungales.

Compuesto Niveles (% MS)	Sustrato : Harinas		
	malz	ballico	alfalfa
	0, 1, 2, 3	0, 1, 2, 3	0, 1, 2, 3
<i>Penicillium sp.</i>	"	"	"
<i>Trichoderma harzianum</i>	"	"	"
<i>Aspergillus niger (a)</i>	"	"	"
<i>Aspergillus niger (b)</i>	"	"	"
<i>Aspergillus oryzae</i>	"	"	"

RESULTADOS Y DISCUSION

FASE I. Composición química

a) Cultivos fungales

Los resultados de la composición química de los compuestos fungales procedentes de la UAM-I se reportan en la Tabla II. Puede observarse que los compuestos tienen un alto contenido de materia seca, materia orgánica y especialmente cenizas y proteína cruda, al compararlos con los sustratos en los que fueron fermentados.

Tabla II : Composición química de los compuestos biológicos.

compuesto fungal	M.S. %	M.O. %	FDN %	P.C. %	% del N total		Energía Kcal/Kg	Extracto etéreo %
					N-pro- téico	N-so- luble		
PR	93.54	86.72	65.3	12.37	81.81	8.58	3,848.3	1.64
TH	95.25	90.13	68.89	20.56	17.93	80.25	3,816.7	1.73
AN ₁	96.3	94.54	84.74	5.52	39.53	49.81	3,949.6	0.80
AN ₂	93.94	93.9	22.87	11.75	19.56	78.0	4,268.0	0.24

PR= *Penicillium roqueforti*

TH= *Trichoderma harzianum*

AN₁= *Aspergillus niger* en bagazo

AN₂= *Aspergillus niger* en yuca

Los valores de proteína cruda variaron dependiendo del cultivo fungal y tuvieron una amplitud observada de 5.52 a 20.60%. El mayor valor correspondió a *T.harzianum* en bagazo + salvado de trigo y probablemente se debió a la presencia del salvado en este compuesto,

por su alto contenido de PC. De la cantidad de N en los compuestos el 82% fué proteínico para PR, 17.93 en TH, 39.53 en AN₁ y 19.56% en AN₂. La solubilidad del N contenido en los compuestos también fué variada.

Con respecto al contenido de FDN, energía, almidón y cenizas los resultados (Tabla II) muestran también especificidad para cada compuesto biológico, lo que demuestra que cada cultivo tiene sus propias características en composición química determinado probablemente por el sustrato empleado.

Así por ejemplo, el de mayor contenido en FDN es *A.niger* en bagazo de caña, en energía es *A.niger* en yuca y en cenizas *P.roqueforti* en pulpa de café.

b) Fuentes de sustrato

En la Tabla III, se muestran los resultados de la composición química de las fuentes de proteína (harina de sangre, pasta de soya, harinolina), fuentes de fibra (heno de alfalfa, heno de ballico y rastrojo de maíz); fuentes de almidón (grano de maíz, desecho de panificación y grano de sorgo) y fuentes de lípidos (aceite de cartamo, manteca vegetal y cebo). Puede observarse que en gran parte de los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por el NRC (1988) y Church (1984).

FASE II. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca

Los resultados de digestibilidad de la materia seca de fuentes de lípidos se ilustran en la Tabla IV. Se observaron cambios positivos ($P < 0.01$) en la digestibilidad de la MS, en la mayoría de los casos, cuando se añadieron los compuestos biológicos al proceso de incubación *in vitro*. Al realizar el análisis de varianza incluyendo todas las fuentes de variación, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.01$) en los efectos principales (ingrediente, tipo y nivel de probiótico) y efectos de interacciones, con excepción de los efectos de las interacciones ingrediente X nivel de probiótico probablemente porque el efecto por niveles para cada ingrediente no sigue la misma tendencia, lo que provoca que se enmascaren las diferencias y lógicamente tampoco se observaron diferencias entre los efectos de la triple interacción.

Tabla III : Composición química de la fuente de sustrato

Ingredientes	MS %	PC %	N-pro- téico %	N-solu- ble %	FDN %	ALMIDON %	Energía Kcal/Kg	Extracto etéreo
Harina de sangre	94.42	51.31	77.71	21.07	24.74	-	3,862.75	5.82
Pasta de soya	98.02	47.25	92.63	35.44	13.36	-	4,166.66	1.6
Harinolina	98.64	48.25	90.66	42.48	13.36	-	3,713.62	1.38
Heno de ballico	96.25	20.57	-	-	51.95	-	2,900.12	-
Heno de alfalfa	92.43	20.95	-	-	36.79	-	2,076.59	-
rastrojo de maíz	95.39	4.13	-	-	65.15	-	3,896.0	-
Maíz grano	92.77	7.3	-	-	12.44	77.15	4,225.0	4.91
Desecho de pan- ificación	93.19	8.1	-	-	3.08	78.33	4,349.63	3.97
Sorgo	92.27	8.75	-	-	36.0	68.22	4,104.79	1.94
Heno de alfalfa + 5% de cebo	87.8	19.9	-	-	25.83	-	2,378.0	7.07
Heno de alfalfa + 5% de aceite de cartamo	89.1	18.66	-	-	26.21	-	2,402.2	6.53
Heno de alfalfa + 5% de manteca vegetal	87.93	18.42	-	-	25.86	-	2,411.13	7.46

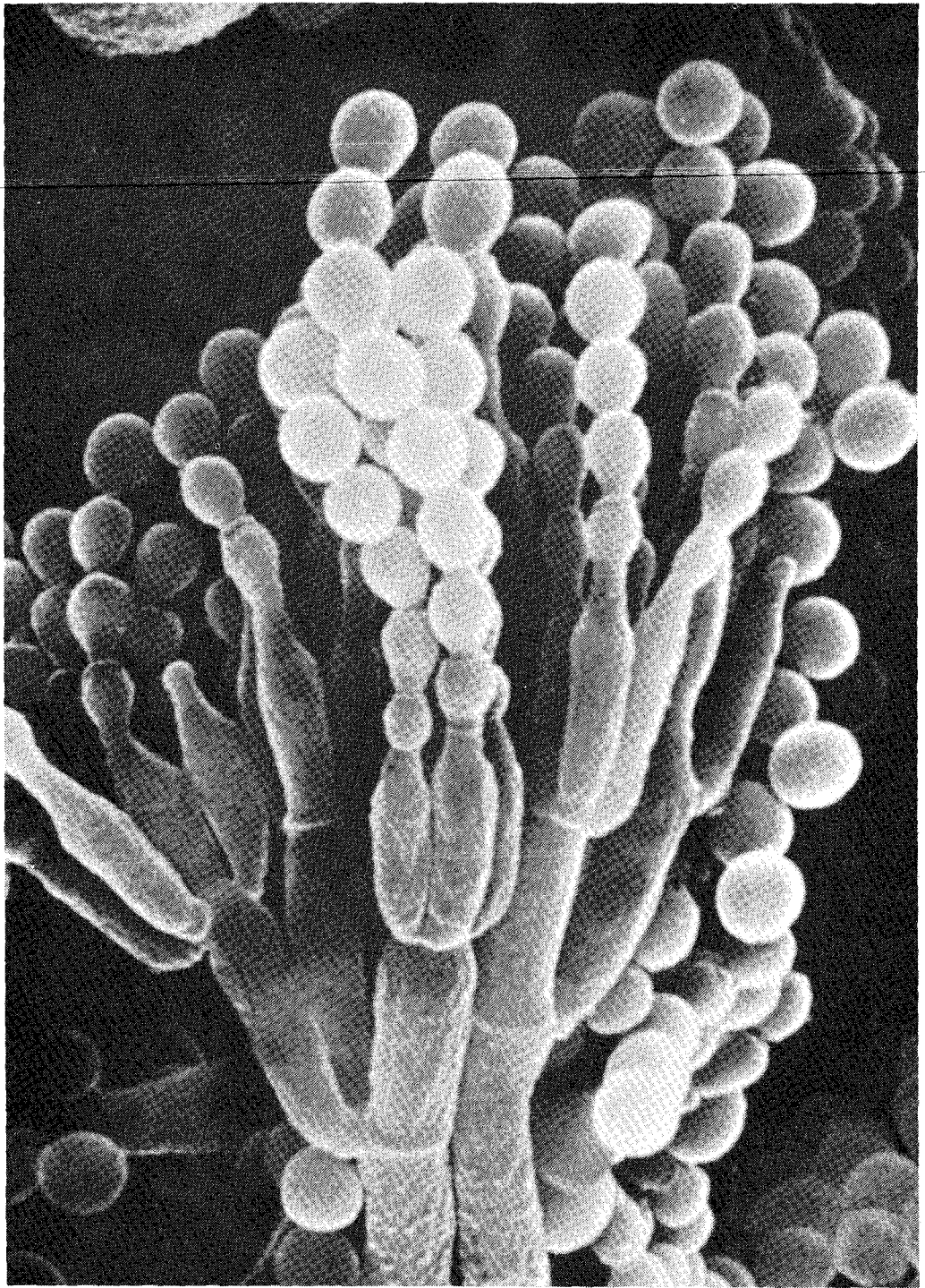


Tabla IV : Digestibilidad *in vitro* de la MS* de fuentes de lípidos

Problema	Nivel %	I n g r e d i e n t e s					
		Aceite vegetal		cebo de res		Manteca vegetal	
		x	D.E.	x	D.E.	x	D.E.
PR	1	73.71	0.55	74.38	3.11	75.77	0.41
	2	75.58	0.09	75.11	1.76	76.79	0.65
	3	75.17	1.32	76.07	2.77	76.83	0.02
	0	72.97	1.53	74.84	0.06	73.10	0.02
TH	1	73.44	1.11	76.46	1.39	75.50	0.90
	2	74.88	1.36	77.07	0.60	72.41	2.20
	3	73.99	1.26	76.29	0.62	72.79	2.95
	0	72.73	0.05	74.47	0.67	74.53	0.00
AN ₁	1	74.34	0.16	73.76	1.18	76.13	0.00
	2	73.50	0.17	73.70	1.86	76.91	1.26
	3	74.66	1.35	73.84	0.18	76.05	2.41
	0	72.8	0.21	74.32	0.74	74.51	0.02
AN ₂	1	72.22	0.86	75.77	1.48	75.18	0.01
	2	74.30	0.07	76.64	0.07	80.17	0.64
	3	75.39	0.68	77.39	0.04	78.18	0.03
	0	71.13	0.07	74.20	1.04	74.33	1.71
AMAFERM	1	73.21	0.78	77.94	0.19	77.61	0.16
	2	76.97	0.01	78.74	1.23	78.38	1.09
	3	75.62	0.32	79.86	2.01	79.39	0.02
	0	72.80	0.28	74.81	0.61	73.64	0.02
$\bar{x}$ nivel	0	72.48		74.52		74.02	

(*) Materia seca

PR= *P.roqueforti*

TH= *T.harzianum*

AN₁= *A.niger* en bagaso de caña

AN₂= *A.niger* en yuca

Amaferm= *A.oryzae*

Tabla V : Promedio de la digestibilidad *in vitro* de la MS de fuentes de lípidos

Ingrediente	Digestibilidad, % x	D.E.
Aceite de Cártamo	73.97 ^b	1.39
Sebo de res	75.98 ^a	1.75
Manteca vegetal	75.91 ^a	2.16

(a,b) Medias en la misma columna con distinta letra son diferentes ($P < 0.05$)

Tabla VI : Promedios de digestibilidad *in vitro* de la MS por niveles de adición de los probióticos a fuente de lípidos.

Nivel del probiótico	Digestibilidad % x	D.E.
0	73.68 ^c	1.05
1	75.03 ^b	1.64
2	76.08 ^a	2.13
3	76.10 ^a	1.99

(a,b,c) Medias en la misma columna con distinta letra son diferentes ($P < 0.05$)

Las comparaciones de promedios de digestibilidad (Tabla V) demuestran que el aceite de cartamo presentó la menor ($P < 0.05$) digestibilidad *in vitro* de la materia seca, mientras que el sebo de res y manteca vegetal presentaron resultados similares ($P > 0.05$). Además, se puede observar en la Tabla VI que los niveles de 2 y 3% de probióticos son los de mayor ($P < 0.05$) efecto, no existiendo diferencia significativa entre ambos niveles.

En la tabla VII, se puede observar que al comparar las medias de los efectos de cada uno de los probióticos, Amaferm tuvo el mayor efecto ($P < 0.05$) y no existieron diferencias significativas entre PR, TH, AN₁ y AN₂. El mayor efecto del Amaferm podría deberse a que este probiótico es un extracto de fermentación de *A. oryzae* lo que sugiere una mayor concentración en la población de esporas fungales; en cambio, los probióticos restantes no son extractos sino subproductos de fermentación sólida para la producción de enzimas, en la cuales varió el sustrato en el que fueron fermentados dependiendo del tipo de hongo cultivado.

Tabla VII : Promedios de digestibilidad *in vitro* por cultivos fungales adicionados a fuentes de lípidos.

	Digestibilidad x	D.E.
PR	75.03 ^b	1.29
TH	74.55 ^b	1.55
AN ₁	74.54 ^b	1.22
AN ₂	75.41 ^b	2.49
Amaferm	76.58	2.48

(a,b) Medias en la misma columna con distinta letra son diferentes ($P < 0.05$)

Los ingredientes proteínicos también tuvieron un incremento en su digestibilidad cuando se les adicionó los cultivos de hongos al proceso de incubación *in vitro* (Tabla VIII). Con el análisis de varianza, se pudo detectar diferencias ($P < 0.01$) entre efectos de ingredientes, de aditivo y nivel de administración del aditivo, con excepción de los efectos de las interacciones aditivo e interacción ingrediente X aditivo X nivel de administración de aditivo.

Tabla VIII : Digestibilidad *in vitro* de la MS de fuentes de proteínas

Problema	nivel	Ingredientes					
		Harina de	sangre	Harina de	Pasta de	soya	
	%	x	D.E.	x	D.E.	x	D.E.
PR	1	68.78	1.02	72.07	1.00	96.98	0.86
	2	68.85	1.04	71.87	0.86	97.46	1.71
	3	68.80	0.63	72.65	1.11	98.65	0.67
	0	65.06	0.31	71.01	0.51	97.25	0.27
TH	1	67.53	1.38	73.56	1.14	97.91	0.09
	2	68.95	1.37	74.39	0.66	98.68	0.04
	3	69.91	2.62	74.83	0.68	99.19	0.84
	0	65.30	0.12	72.67	0.90	97.51	0.47
AN ₁	1	65.44	2.47	74.23	1.20	98.28	2.05
	2	68.22	1.01	75.28	0.50	99.23	0.90
	3	67.47	0.65	74.35	1.54	99.28	0.68
	0	65.50	0.50	72.82	0.00	97.62	0.39
AN ₂	1	67.83	2.49	74.38	0.67	98.69	0.70
	2	68.43	0.49	74.46	0.62	99.68	0.12
	3	68.72	0.63	74.85	0.52	99.37	0.27
	0	66.07	0.40	72.47	1.14	97.49	0.28
Amaferm	1	65.83	3.30	75.62	1.29	98.09	0.70
	2	68.66	0.87	74.74	1.23	99.54	0.12
	3	70.91	0.09	75.95	0.98	99.60	0.16
	0	65.35	0.09	72.53	0.10	95.71	0.14
x nivel	0	65.45	0.37	72.30	0.73	97.11	0.79

PR= *P.roqueforti*

TH= *T.harzianum*

AN₁= *A.niger* en bagazo

AN₂= *A.niger* en yuca

Amaferm= *A.oryzae*

Los resultados demuestran además que el ingrediente de mayor digestibilidad es la pasta de soya (97.11%) seguida por la harinolina (72.3%) y la menor digestibilidad resultó ser la harina de sangre (65.45%) ($P < 0.01$); valores que resultan ser similares a lo reportado por el NRC (1988) y por ORSKOV y col., (1983). Al comparar los efectos promedio, entre niveles de administración, se encontró que las diferencias fueron significativas ($P < 0.05$) y que los niveles de mayor acción fueron los de 2 y 3 % (81 y 80.56% respectivamente) no existiendo diferencias entre ambos (Tabla VIII). Se pudo observar además que la digestibilidad de la harina de sangre, fué incrementada por el efecto de los cinco productos evaluados, siendo Amaferm al 3% el que aumentó más la digestibilidad de la MS 5% y 4% sobre TH y AN₁ y 3% sobre AN₂ y PR). Los resultados sobre la digestibilidad de harinolina y pasta de soya fueron moderados. De esto se puede resumir que la fuente de proteína más beneficiada fué la harina de sangre, ingrediente que es bastante resistente a la degradación ruminal (NRC, 1988).

La comparación entre productos aditivos permitió determinar que el efecto sobre fuentes proteínicas es similar ($P < 0.05$) para todos los cultivos fungales, con excepción de PR que fué el de menor acción en promedio para los tres ingredientes.

Los resultados presentes son semejantes a lo presentado por Wiedmeyer y col. (1987) quienes mostraron un aumento en la digestibilidad de la proteína cruda ($P < 0.05$), por lo que suponen que los cultivos fungales poseen factores estimuladores de las bacterias proteolíticas.

Con respecto al efecto de la adición de los cultivos fungales en fuentes fibrosas (Tabla IX), los resultados muestran un alto beneficio en la digestibilidad *in vitro*. Así se pudo observar que el rastrojo de maíz incrementó su digestibilidad en 11% con Amaferm al 3% seguido de heno de ballico con Amaferm al 3% y heno de alfalfa con AN₂ al 3% (9% y 7% respectivamente). El análisis de varianza mostró que los incrementos resultaron significativos ($P < 0.01$), pero al considerar los efectos principales y de interacciones se encontró que el efecto de la interacción ingrediente por nivel y el efecto de la triple interacción (ingrediente X probiótico X nivel de probiótico) no fueron significativos.

La comparación de los efectos del tipo de probiótico (Tabla X) mostró que AN₂ y Amaferm fueron los aditivos de mayor acción ($P < 0.05$), seguidos por AN₁, TH Y PR, respectivamente es importante indicar además que los niveles de mayor efecto fueron los de 2% y 3% sin existir diferencia significativa ($P > 0.05$) entre ambos. Los resultados indicaron que los cultivos fungales probablemente estimulan la población

Tabla IX : Digestibilidad *in vitro* de la MS de fuentes de fibra.

Probiótico	nivel %	I n g r e d i e n t e s					
		Rastrojo de		Heno de		Heno de	
		Malz	D.E.	Ballico	D.E.	Alfalfa	D.E.
		x		x		x	
PR	1	55.65	0.92	73.99	0.41	75.51	0.23
	2	58.80	1.30	73.85	2.57	76.66	0.05
	3	59.78	1.30	73.26	2.00	76.49	2.39
	0	56.20	0.28	72.18	1.66	74.70	0.76
TH	1	61.37	0.26	76.01	0.05	75.27	1.72
	2	59.22	0.59	75.87	0.12	74.94	0.76
	3	59.75	1.16	76.18	0.61	76.63	0.62
	0	57.47	0.46	72.18	0.53	74.67	0.60
AN ₁	1	60.22	0.43	76.37	1.66	76.00	1.02
	2	60.20	1.91	74.98	1.21	77.11	0.95
	3	61.39	0.62	76.50	0.09	78.02	1.08
	0	57.33	0.14	72.18	1.45	74.08	0.95
AN ₂	1	61.82	0.89	74.14	1.57	77.71	0.91
	2	61.29	0.36	78.38	0.65	79.64	1.93
	3	62.45	0.16	77.30	0.31	80.44	0.50
	0	57.26	0.13	72.18	0.11	74.67	2.02
Amaferm	1	63.40	0.50	76.13	1.74	78.64	1.39
	2	64.42	0.64	78.30	0.95	79.22	1.80
	3	64.46	0.58	79.56	0.19	78.39	2.26
	0	56.80	0.01	72.18	0.91	74.67	0.28
x nivel	0	57.01		72.18		74.55	

PR= *P.roqueforti*

TH= *T.harzianum*

AN₁= *A.niger* en bagazo

AN₂= *A.niger* en yuca

Amaferm= *A.oryzae*

de bacterias celulolíticas en el rumen, lo que trajo como consecuencia un incremento en la utilización de la fibra en la fase ruminal *in vitro*. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Wiedmeyer y col.(1987) quienes indicaron que los cultivos de AO y YC probablemente producen factores que estimulan a las bacterias del rumen y aún cuando los cultivos de *A.oryzae* no producen el complejo enzimático de despolimerización de los carbohidratos estructurales a azúcares simples, producen enzimas que causan una despolimerización parcial y ayudan a las bacterias celulolíticas en la despolimerización completa del material celulósico a azúcares simples.

Tabla X : Digestibilidad de fuentes fibrosas con adición de diferentes probióticos.

Probiótico	Digestibilidad x	D.E.
PR	68.92 ^c	8.51
TH	69.96 ^b	7.88
AN ₁	70.36 ^b	8.00
AN ₂	71.44 ^a	8.34
Amaferm	72.18 ^a	7.84

(a,b,c) Medias en la misma columna con distinta letra son diferentes (P<0.05).

PR= *P.roqueforti*

TH= *T.harzianum*

AN₁= *A.niger* en bagazo

AN₂= *A.niger* en yuca

Amaferm= *A.oryzae*

La anterior justificación se refuerza con lo reportado por Roussos (1981) quien mencionó que entre las especies de *Aspergillus* que pueden producir celulasas están *A.oryzae* y *A.niger*, los cuales además son capaces de producir cantidades importantes de B glucosidasa (O'Sousa y Volfora, 1982; Wase y Vald, 1983; citado por Roussos, 1985). Roussos (1981)

también indicó que las celulasas producidas por estas especies generalmente son ricas en endo B glucosidasas y pobres en exo B glucosidasa. Por otra parte *T.harzianum* produce cantidades importantes de celulasas e invaden los substratos con bastante rapidez. Además Bajracharya y Mudjet (1979) encontraron pectinasas en el líquido de muestras fermentadas con *Aspergillus*, en tanto que Alexopoulos (1979) señaló que se han aislado una gran cantidad de antibióticos de los cultivos de *Aspergillus*.

Los resultados obtenidos confirman también lo reportado por Gomez y col. (1987), Van Horn y col. (1984) por ello se supone que, además de la probable estimulación en la población de las bacterias celulolíticas, podría estimularse la población de hongos ruminales cuya función en la digestión de fibra a nivel ruminal ha sido demostrado por varios investigadores (Bauchop, 1979; Orpin, 1975; Akin y col. 1983; Windham y Akin, 1984).

La digestibilidad de las fuentes de almidón (desechos de panificación, grano de sorgo y grano de maíz) se incrementaron moderadamente al usar como aditivo los cultivos fungales (Tabla XI). La mejor respuesta ($P < 0.05$) se observó en el grano de sorgo + *T.harzianum* al 3% (4 unidades porcentuales, 82% del testigo vs. 86%) y *P.roqueforti* fue el aditivo que ejerció mayor efecto en la digestibilidad del grano de maíz (94% vs 97%) y desechos de panificación (95% vs 97%). El análisis de varianza reportó que el incremento de la digestibilidad por efecto del nivel probiótico (0, 1, 2 y 3%) fue estadísticamente significativo, siendo los niveles 2 y 3% los que más influenciaron la digestibilidad de la materia seca.

Para este grupo de ingredientes se observó una situación similar a lo sucedido con las fuentes fibrosas y proteínicas; el ingrediente más beneficiado por el efecto probiótico fue el más resistente a la digestión en el rumen, que en este caso se trató del sorgo cuya resistencia a la digestibilidad ruminal ha sido indicada por Hale (1970), citado por Waldo (1973).

Tabla XI : Digestibilidad *in vitro* de la MS de fuentes de almidón

Probiótico	nivel %	I n g r e d i e n t e s					
		Desecho de pa-		S o r g o		M a i z	
		x	D.E.	x	D.E.	x	D.E.
PR	1	95.02	0.13	81.43	3.18	96.03	0.91
	2	94.39	0.52	82.41	1.88	97.57	0.11
	3	97.25	0.75	82.91	0.59	97.43	1.63
	0	95.50	1.00	81.11	1.41	94.87	0.45
TH	1	96.64	0.31	84.24	0.55	94.69	0.24
	2	96.67	3.29	86.63	0.00	95.57	0.30
	3	96.23	1.08	86.58	0.65	94.83	1.35
	0	95.03	2.04	82.87	1.33	94.32	0.02
AN ₁	1	94.74	0.86	83.34	1.20	94.95	1.90
	2	94.35	1.30	83.74	2.64	94.37	1.68
	3	96.73	1.82	84.83	0.67	94.60	1.87
	0	95.80	0.07	82.63	0.57	94.67	0.76
AN ₂	1	94.77	3.06	84.24	2.31	93.31	0.07
	2	97.54	0.55	84.25	0.91	94.94	0.01
	3	97.02	0.22	84.79	0.22	94.86	0.01
	0	95.53	0.31	82.54	0.38	93.99	0.40
Amaferm	1	95.30	0.04	83.25	2.22	94.93	0.26
	2	96.52	0.02	84.57	0.26	94.84	0.26
	3	95.09	1.11	84.56	1.40	96.11	0.04
	0	95.90	0.40	81.89	0.04	93.59	1.87
x nivel	0	95.52		82.20		94.24	

PR= *P.roqueforti*

TH= *T.harzianum*

AN₁= *A.niger* en bagazo

AN₂= *A.niger* en yuca

Amaferm= *A.oryzae*

Tabla XII : Digestibilidad *in vitro* de fuentes de almidón usando como complemento 0, 1, 2 y 3% de aditivo.

Nivel del probiótico	Digestibilidad % x	D.E.
0	90.6723 ^c	6.24
1	91.2610 ^{bc}	5.80
2	92.2610 ^{ba}	5.69
3	92.2963 ^a	5.62

(a,b,c) Medias en la misma columna con distinta letra son diferentes ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y de acuerdo a las condiciones en que se realizaron estos experimentos es posible concluir lo siguiente:

. Los cultivos fungales evaluados ejercen efecto positivo sobre la digestibilidad *in vitro* de nutrientes ($P < 0.01$) siendo *A. niger* y *A.oryzae* (Amaferm) los que provocan mayores incrementos ($P < 0.01$) especialmente en la digestibilidad de la materia seca de fuentes fibrosas.

. Las fuentes menos degradables o de menor calidad son las más beneficiadas en la digestibilidad de la materia seca al utilizar como aditivos los cultivos fungales.

. El nivel de 3% es el óptimo para obtener un efecto probiótico en la digestibilidad.

REFERENCIAS

Alexopoulos C.J., 1979. Introductory Mycology. 3rd. Ed. John Wiley & Sons. N.Y. 632 p.

Akin D.E., Geoff L.R., Gordon R. & Hogan J.P. 1983. Rumen Bacterial and fungal degradation of *Digitaria pentasili* grown with or without sulphur. Appl. Environ. Microbiol. 46:738-748

Arambel M.J., Wiedmeyer R.D. & Walters J.L. 1987. Influence of donor animal adaptation to added yeast culture and/or *Aspergillus oryzae* fermentation extract on *in vitro* rumen fermentation. Nutrition Reports International. Vol. 35(3)

Bajracharya R. & Mudgett R.E. 1979. Solid-substrate fermentation of alfalfa for enhanced protein recovery. Biotechnol. Bioeng. 21:551-560

Bauchop T. 1979. Rumen anaerobic fungi of cattle and sheep. Appl. Environ. Microbiol. 38:148-157

Bauchop T. 1981. Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogenus. Appl. Environ. Microbiol. 42:1103-1110

Church D.C. 1984. Livestock feeds and feeding. 2nd ed. O & B. Books, Inc. Corvallis, Or. USA.

Dawson K.A. 1987. Effects of yeast culture supplements on the growth and activities of rumen bacteria in continuous culture. J. Animal Sci. (suppl. 1): 452

Gomez A.R., Dudas D. & Huber J.T. 1987. Effect of *Aspergillus oryzae* Amaferm and yeast on feed utilization by Holstein cows. J. Dairy Sci. 70(1) 218 (Suppl. 1)

Harrison G.A., Hemken R.W., Dawson A., Harmon R.J. & Barker K.B. 1987. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. J. Dairy Sci. 71:2967-2975

Huber J.T. 1988. Fungal additives for lactating cows. Depart. Anim. Sci. University of Arizona. Tucson, Az. Annual Report.

Lyons T.P. 1988. Yeast culture limits in the feed industry. Alltech's Fourth Annual Symposium on Biotechnology in the feed industry. Nicholasville, KY.

N.R.C. (National Research Council). 1988. Nutrient requirements of dairy cattle. Sixth revised edition. National Academy Press. Washington, D.C.

- Orpin C.G. 1975. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. J. Gen. Microbiol. 91:249-262
- Orpin C.G. 1981. Fungi in ruminal degradation. In: Agricultural Science Seminar: Degradation of plant cell-wall material. Agric. Res. Council. London, pp. 37-46
- Orskov E.R., Hughes-Jones M. & Eilman M.F. 1983. Studies on degradation and outflow rate of protein supplements in the rumen of sheep and cattle. Livestock Prod. Sci. 10:17
- Roussos S. 1981. Etude de l'hydrolyse de la cellulose par les moisissures cultivées en milieu solide. Rapport d'élève chercheur ORSTOM. Paris, France. 81 pp
- Roussos S. 1985. Croissance de *Trichoderma harzianum* par fermentation en milieu solide: Physiologie, sporulation et production de cellulases. Thèse d'Etat Université de Provence. 193 p.
- Steel G.D. & Torrie H.J. 1963. Two-staged technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Brit. Grad. Soc. 18:104
- Tilley M.M.A. & Terry R.A. 1963. Two-staged technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Brit. Grad. Soc. 18:104
- Van Horn B., Harris J.R., Taylor M.J., Bachman K.C. & Wilcox C.J. 1984. By-product feeds for lactating dairy cows: Effects of cottonseed hulls, sunflower hulls, corrugated paper, peanut hulls, sugarcane bagasse and whole cottonseed with additives of fat, sodium bicarbonate and *Aspergillus oryzae* product on milk production. J. Dairy Sci. 67:2922-2938
- Waldo D.R. 1973. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. J. Anim. Sci. 37:1062-1074
- Wiedmeyer R.D., Arambel M.J. & Walters J.L. 1986. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. J. Dairy Sci. 70:2063
- Windham W.R. & Akin D.E. 1984. Rumen fungi and forage fiber degradation. Appl. Environ. Microbiol. 48:473-481
- Zinn R.A. 1988. Probiotics in receiving diets for feedlot cattle. In: Proceeding of the Southwest Nutrition and Management conference. Temple AZ.

CEREMONIA DE CLAUSURA



Correspondió al comité organizador hacer los comentarios finales de este evento.

Ante una audiencia que en ningún momento decayó se clausuraron los trabajos del 1^{er} Seminario Internacional sobre biotecnología



PRODUCCION DE HONGOS COMESTIBLES SOBRE PULPA DE CAFE A NIVEL COMERCIAL

(*) Martínez-Carrera D., Morales P. y Sobal M.

RESUMEN

La producción de café constituye una industria muy importante económicamente, en más de cincuenta países de América, África y Asia. La pulpa de café es el subproducto mas importante del beneficio húmedo del café y constituye un grave problema de contaminación ambiental por los grandes volúmenes que se producen anualmente. El cultivo de *Pleurotus* sobre pulpa de café es un proceso biológico eficiente para el reciclaje y biodegradación de dicho subproducto. La planta productora de Hongos debe constar de áreas para la fermentación y pasteurización de la pulpa de café, así como para la inoculación, crecimiento y producción de los hongos. La pulpa de café fermentada aeróbicamente y pasteurizada es un buen sustrato para la producción de *Pleurotus*, aunque también puede secarse al sol y almacenarse para su uso posterior. Hasta ahora el rendimiento más alto reportado es de 1756.5 gr. de cuerpos fructíferos frescos de *Pleurotus* "florida" por cada nueve Kg. de pulpa de café húmeda. La pulpa de café residual puede utilizarse como alimento animal o fertilizante orgánico.

ABSTRACT

Coffee production is an economically important industry in more than fifty countries from America, Africa and Asia. Coffee pulp is the most important by-product from the wet coffee processing and causes environmental pollution problems due to the great amounts produced. The cultivation of *Pleurotus* on coffee pulp is an efficient biological process for recycling and degradation of such pulp. The mushroom farm must have an area for fermentation and pasteurization of coffee pulp, as well as areas for spawning and for mushroom development and production. Aerobically fermented and pasteurized coffee pulp is a good substrate for *Pleurotus* production.

(*) Instituto de Micología Neotropical Aplicada, A.C.
Apartado Postal 490 Xalapa, Veracruz 91000 México.

Likewise, coffee pulp can be sun dried and stored for later use. The highest yield reported so far is 1756,5 gr of fresh fruiting bodies of *Pleurotus "florida"* per 9 kg of fresh coffee pulp. Spent coffee pulp by *Pleurotus* cultivation can be used as organic fertilizer or animal feed.

INTRODUCCION

El probable centro de origen de las plantas del género *Coffea* se localiza en las tierras bajas de Etiopía, al noreste de África. Actualmente, una de las plantas más cultivadas en las zonas tropicales son las diferentes especies y variedades de dicho género. La producción de café, constituye una industria muy importante económicamente en más de cincuenta países de América, África y Asia.

El grano de café representa solamente el 55.4% del fruto en base seca, considerándose el resto como subproductos o residuos del beneficio húmedo del café. La pulpa de café, que representa el 28.7% en base seca, es el subproducto más importante del beneficiado y está formado por el epicarpio y parte del mesocarpio del fruto (Bressani, 1979). Millones de toneladas de pulpa se producen anualmente en todo el mundo, las cuales son poco o nada utilizadas, constituyendo un grave problema de contaminación ambiental. La mayoría de los estudios sobre este subproducto, se han orientado hacia el uso de la pulpa como alimento para rumiantes, cerdos, pollos y peces. Sin embargo, dichos estudios han demostrado que el valor de la pulpa de café es muy limitado, debido a los efectos tóxicos que producen la cafeína, lignina, polifenoles y potasio en los animales.

El presente trabajo trata sobre el cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus spp.*) empleando la pulpa de café como sustrato, el cual constituye un proceso biológico eficiente para el reciclaje y biodegradación de dicho subproducto. Este proceso no tan solo puede llevarse a cabo a escala comercial, sino también a nivel comunal o doméstico.

CONSTRUCCION DE LA PLANTA PRODUCTORA

La principal función de la planta es evitar cambios bruscos de temperatura, humedad y luz. El tipo de construcción dependerá de las condiciones climáticas de cada región. Más detalles sobre la construcción de una planta productora de *Pleurotus* a partir de la pulpa de café, pueden consultarse en un artículo previo del autor

(Martínez-Carrera, 1987). Se recomienda que la planta se construya lo más cerca posible del beneficio de café. Dicha planta debe dividirse en cuatro secciones a saber: en la parte exterior, 1) área de fermentación de la pulpa de café, 2) área de pasteurización; mientras que en la parte interior, 3) área de inoculación y 4) área de crecimiento y producción de los hongos.

En las secciones exteriores, la pulpa de café se fermenta aeróbicamente y posteriormente se pasteuriza. La pasteurización puede llevarse a cabo en tanques metálicos de 200 lt de capacidad.

Las instalaciones interiores pueden construirse en base a un diseño sencillo empleando plástico y madera para la elaboración de estructuras y paredes. Las ventanas son importantes para favorecer la aireación. Dentro de la planta, deben implementarse anaqueles de varios niveles, donde se colocarían las bolsas de plástico con la pulpa de café inoculada para el desarrollo y fructificación del hongo.

PREPARACION DEL INOCULO

La elaboración de inóculo es una parte importante en el cultivo de hongos comestibles. El sustrato a utilizar dependerá de su disponibilidad y costo en cada región. Para obtener buenos resultados, es necesario escoger el mejor sustrato y una cepa seleccionada. La producción de inóculo puede llevarse a cabo esterilizando semillas de diversas gramíneas, como son trigo, sorgo y centeno, en frascos medianos de boca ancha a 121°C durante 30 minutos. Después de su inoculación con un fragmento de la cepa seleccionada cultivada en placa de agar, el micelio colonizará completamente los granos en 2-3 semanas. El inóculo o "semilla" puede prepararse en un laboratorio especial anexo a la planta.

PREPARACION DEL SUSTRATO

Existen dos formas de emplear la pulpa de café para el cultivo de Xhongos. La primera consiste en drenar la pulpa de café fresca por 4-8 horas y después fermentarla, mientras que la segunda, consiste en secar al sol la pulpa fresca y drenada, para su uso posterior.

Fermentación. La pulpa de café debe ser apilada en montones piramidales de 1-1.2 m de altura, cubriéndola con un plástico para favorecer la fermentación y evitar la deshidratación. A través de este proceso, ciertas cantidades de azúcares libres, celulosa y hemicelulosa de la pulpa se degradan biológicamente. El contenido de

humedad de la pulpa debe ser del 60-80%. Un contenido mayor al 80% producirá compactación y consecuentemente fermentación anaerobia; mientras que menor al 60%, conducirla a una interrupción del proceso fermentativo en sus primeras etapas. En estas condiciones, la pila alcanzará temperaturas hasta de 50-60°C. La pila de pulpa debe removerse al segundo o tercer día, dependiendo de las condiciones ambientales, para favorecer una fermentación aerobia. La fermentación anaerobia debe evitarse, no tan solo porque es mucho menos eficiente que la aerobia, sino porque los microorganismos anaerobios consumen mayores cantidades de azúcares y como resultado producen cantidades mas altas de metabolitos secundarios, los cuales podrán ser tóxicos para *Pleurotus*. Finalmente, al quinto día, la pulpa de café se convierte en un sustrato homogéneo física y químicamente, con estructura y consistencia adecuada para el crecimiento del hongo (Martínez-Carrera y col., 1985).

Pulpa de café secada al sol y almacenada. Después del drenado, la pulpa de café expuesta al sol puede secarse uniformemente en un periodo de 4-6 días. Una vez secada y completamente libre de mohos para evitar contaminación posterior, puede almacenarse en bolsas de plástico y de esta manera utilizarse incluso después de un año. Para cultivar el hongo, la pulpa seca debe rehidratarse sumergiéndola en agua por 2-3 horas, quedando posteriormente lista para pasteurizarse (Soto y col., 1987).

PASTEURIZACION

Una vez fermentada o rehidratada, la pulpa de café debe pasteurizarse. Para ello, la pulpa debe colocarse dentro de cilindros de malla metálica y sumergirse en agua caliente a mas o menos 70°C, durante 15-30 minutos. Después de la pasteurización, la pulpa debe dejarse drenar por 30-40 minutos, hasta que su contenido de humedad sea de 70-80%.

INOCULACION

La pulpa de café pasteurizada debe dejarse enfriar sobre mesas dentro de la planta. Cuando el sustrato alcanza una temperatura de 29-30°C, se mezcla homogéneamente con el inóculo, previamente elaborado con las cepas seleccionadas en el laboratorio. La pulpa de café inoculada se introduce en bolsas de plástico de 50 X 70 cm. las cuales se colocan en los anaqueles de madera para el desarrollo del hongo. Cada bolsa debe contener 9-11 kg de pulpa inoculada, la cual quedará completamente colonizada por el micelio en 2-3 semanas.



Fig.1 : Cuerpos fructíferos de una cepa mexicana de *Pleurotus ostreatus*, obtenidos a partir de pulpa de café fermentada y pasteurizada

Fig.2 : Pulpa de café residual después de la obtención de cuatro cosechas de cuerpos fructíferos, durante el cultivo de *Pleurotus*.

Durante este periodo , se recomienda mantener una temperatura de 25-30°C.

PRODUCCION DE CUERPOS FRUCTIFEROS

Los primordios de fructificación o fases juveniles de los hongos comenzarán a aparecer 14-22 días después de la inoculación , dependiendo de las condiciones ambientales y de la cepa empleada. Los cuerpos fructíferos se desarrollarán en un periodo de 4-7 días y su producción también dependerá de la cepa empleada (Fig. 1). Hasta ahora, la producción más alta reportada es de 1756.5 gr de cuerpos fructíferos frescos de *Pleurotus* "florida", por cada 9 kg de pulpa de café en peso húmedo, lo que significa una eficiencia biológica de 175.82% (Martínez-Carrera, 1987). Una pequeña variación en la producción de cuerpos fructíferos, se observa empleando pulpa de café seca y rehidratada, la cual es poco significativa.

PULPA DE CAFE RESIDUAL

La pulpa residual puede considerarse como un subproducto del cultivo de hongos (Fig. 2). En la descomposición aproximada de la pulpa de café mediante el cultivo de *Pleurotus*, se ha calculado que cerca del 17% se convierte en cuerpos fructíferos , el 38% se libera como bióxido de carbono a través de la respiración , el 18% de agua se pierde por deshidratación o descomposición y la pulpa de café residual constituye alrededor del 27% (Martínez-Carrera, 1989). Algunos estudios han reportado que las altas concentraciones de cafeína en la pulpa de café, ocasiona efectos fisiológicos adversos en el metabolismo animal cuando ésta es empleada como forraje (Cabezas y col., 1979). Sin embargo, la cafeína parece ser eliminada y degradada mediante el cultivo de *Pleurotus*, ya que su contenido en la pulpa residual es nulo (Martínez- Carrera, 1989). Por estas razones, puede considerarse que dicha pulpa residual puede ser utilizada como alimento animal o como fertilizante orgánico, ya que ha sido degradada en forma significativa.

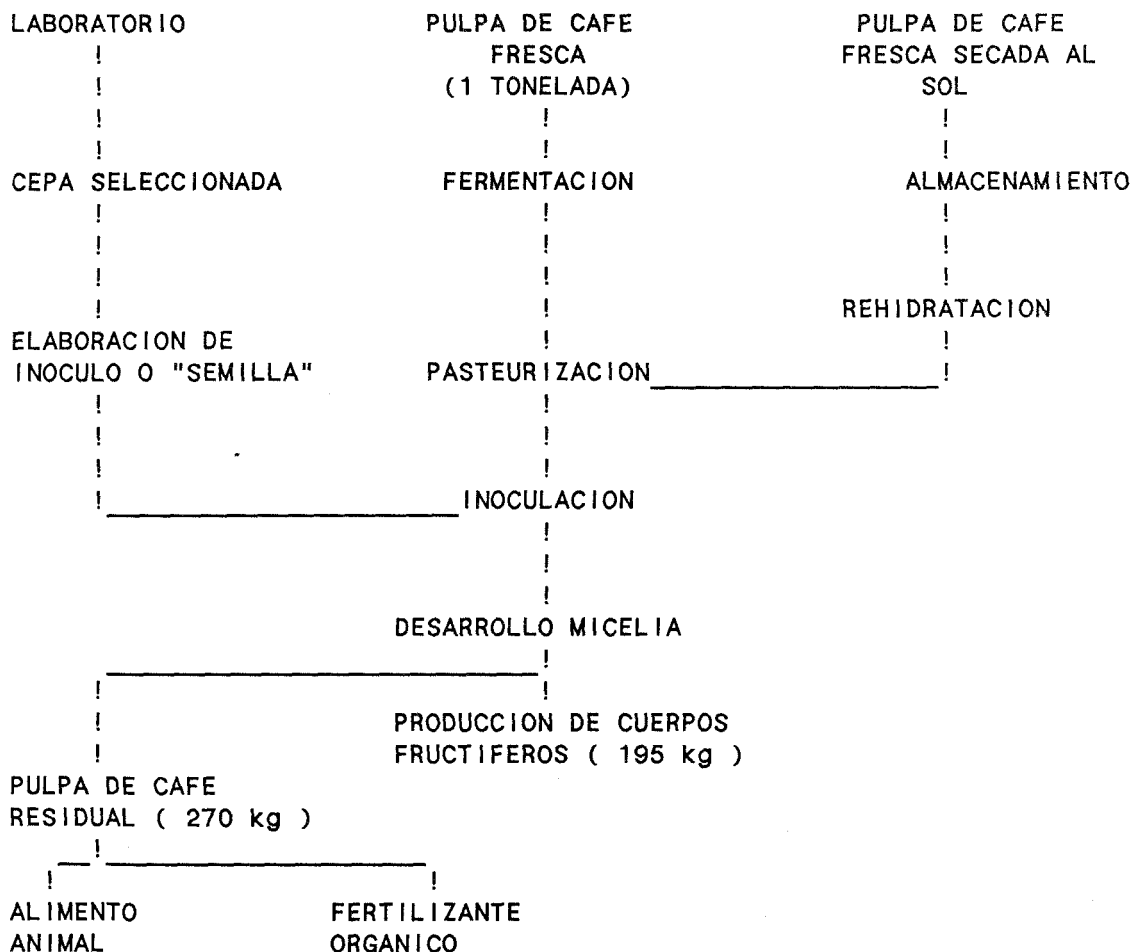


Fig. 3. Procesamiento de la pulpa de café para el cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus* sp.), con la obtención de cuerpos fructíferos frescos y alimento animal o fertilizante orgánico.

CONCLUSIONES

La pulpa de café constituye un buen sustrato para el cultivo de *Pleurotus*, ya que pueden obtenerse cantidades significativas de cuerpos fructíferos frescos, en cortos periodos de tiempo y en pequeñas áreas. La planta productora de hongos puede construirse en base a un diseño sencillo para una producción a bajo costo,

empleando materiales baratos como plástico y madera para la elaboración de estructuras y paredes. Bajo estas condiciones, los rendimientos más altos indican que pueden obtenerse hasta 195 kg de cuerpos fructíferos por tonelada de pulpa de café húmeda (Fig. 3). Además la pulpa de café residual, después del cultivo del hongo, puede ser utilizada como alimento animal o fertilizante orgánico. Esta tecnología, por su adaptabilidad, permite la producción de hongos a nivel doméstico, comunal, semi-industrial o industrial.

LITERATURA CITADA

Bressani R., 1979. Subproductos del café. In Braham J.E. y Bressani R. (Eds.). Pulpa de café, composición, tecnología y utilización. CIID. Bogotá.

Cabezas M.T., Flores A. y Egaña J.T. 1979. Uso de la pulpa de café en la alimentación de rumiantes. In Braham J.E. y Bressani R. (Eds.). Pulpa de café, composición, tecnología y utilización. CIID. Bogotá.

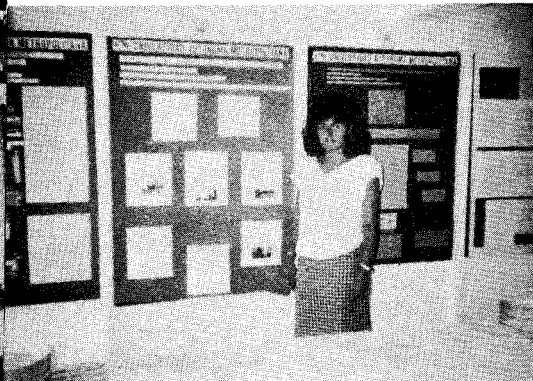
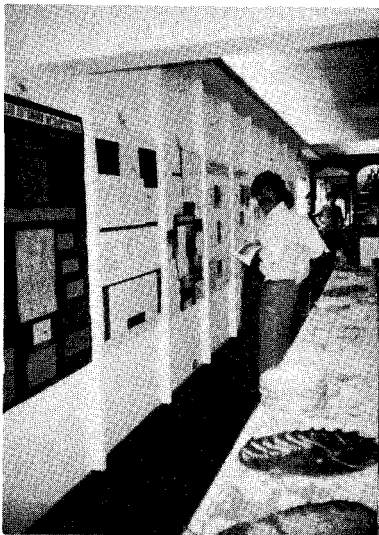
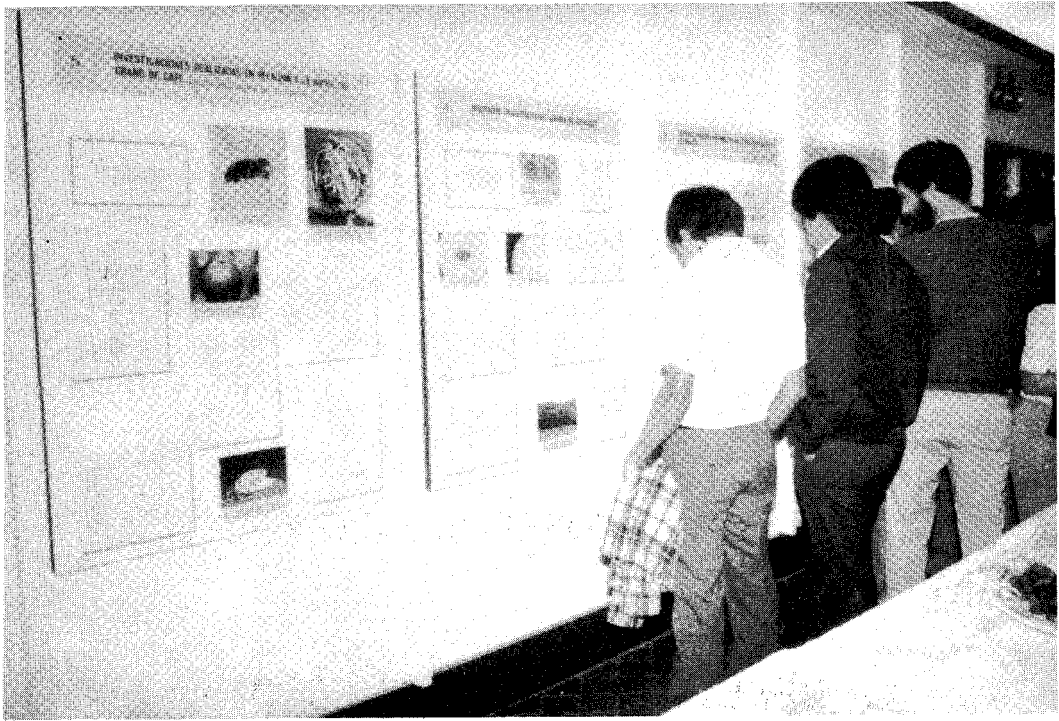
Martínez-Carrera D., 1987. Design of a mushroom farm for growing *Pleurotus* on coffee pulp. *Mush. J. Tropics*: 13-23

Martínez-Carrera D., 1989. Simple technology to cultivate *Pleurotus* on coffee pulp in the tropics. *Mushroom Science* 12: en prensa.

Martínez-Carrera D., Guzmán G. y Soto C., 1985. The effect of fermentation of coffee pulp in the cultivation of *Pleurotus ostreatus* in México. *Mushroom Newsletter for the Tropics* 6 (1): 21-28.

Soto C., Martínez-Carrera D., Morales P. y Sobal M., 1987. La pulpa de café secada al sol como una forma de almacenamiento para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic.* 3: 133-136.

SESION DE CARTELES



III PARTE

RESUMENES DE CARTELES

a) GENETICA Y FITOPATOLOGIA

FORMACION DEL CULTIVAR GARNICA (MUNDO NOVO 15 x CATURRA AMARILLO 13) DE *Coffea arabica* L.

Rivera F.A., García O.L. & Hernández S.

OBJETIVO

Obtención de una nueva variedad de porte bajo, elevada producción, baja producción de frutos vanos, buena calidad de la bebida y amplia adaptabilidad.

DESARROLLO

En 1960 se efectuó la cruce recíproca entre las variedades Mundo Novo 15 y Caturra amarillo 13; en 1963, se plantaron 159 cafetos híbridos, a los que se registró su producción en ocho ciclos de ellos se seleccionaron 11 plantas (F_1). En 1974, se plantaron 10,000 cafetos obtenidos de semilla de los híbridos seleccionados, originando la segunda generación filial (F_2) en la cual se eligieron 2,100 plantas que presentaron porte Caturra de éstos y en base a su producción se seleccionaron 152 cafetos.

En 1979 se establece el primer experimento comparando 18 selecciones de la tercera generación filial (F_3), los resultados de seis ciclos indican incremento del 21% al 30% en producción de café cereza de los tres mejores Garnica, en relación al progenitor de mayor producción. Con estos resultados y los obtenidos en un lote de observación y selección plantado en 1982, fueron seleccionadas 19 plantas para el estudio de la siguiente generación filial (F_4) que se inició en 1987 con el establecimiento de dos experimentos en diferentes condiciones ecológicas.

METAS

A corto plazo: Caracterización morfológica de las poblaciones Garnica sobre altura de planta, longitud de entrenudos, tamaño de fruto y semilla, porcentaje de frutos vanos, rendimiento,..., etc.

A mediano plazo: Validación regional de los Garnica más sobresalientes y establecimiento de nuevos lotes de multiplicación de semillas para su distribución comercial.

**PROPAGACION IN VITRO DE COFFEA ARABICA L.
A PARTIR DE SECCIONES DE HOJA**

**INMECAFE XALAPA
Departamento de Genética**

OBJETIVO

Optimizar la metodología para la propagación masiva de variedades mejoradas de cafeto a partir de secciones de hoja.

Material genético: Caturra Amarillo

Medio nutritivo: Sales inorgánicas de MS complementado con Tiamina, Inositol, Sacarosa y Cisteína. Se probó el efecto de Auxinas y Citocininas en diferentes concentraciones para la formación de callos y germinación de embriones. Para la formación de embriones se probaron diferentes concentraciones de sales.

RESULTADOS

Formación de callos. Esta fase se inició a las dos semanas de la siembra y la evaluación se realizó a las 8 semanas. Las combinaciones de Auxinas/Citocininas (2-4-D/BA): 3/3, 3/1, 1/10 fueron las de mejores resultados.

Formación de embriones. A las 14 semanas después del trasplante de callos se evaluaron los tratamientos. MS fue el mejor tratamiento el cual formó 200 embriones por sección de hoja.

Germinación de embriones. El mejor tratamiento fue el que contuvo AIB a 0.5 mg/l, presentando el 45% de germinación a las seis semanas del trasplante de embriones.

CONCLUSIONES

1.- Es factible obtener plantas de cafetos de 1.5 cm de altura a partir de secciones de hoja de 25 mm² cultivadas *in vitro* en un periodo de 7 a 8 meses.

2.- Cada sección de Hoja tiene un potencial de formación de 100 a 200 embriones.

3.- Esta técnica que comprende las fases de formación de callo y formación y germinación de embriones se ha aplicado con éxito a las variedades comerciales Typica, Bourbon y Mundo Novo de *C.arabica* y a selecciones de Catimor con resistencia a la roya del cafeto.

4.- Se ha verificado un comportamiento fenotípico normal en los cafetos obtenidos *in vitro* estudiados durante cuatro ciclos de cosecha.

5.- Se ha verificado la resistencia a la roya en cafetos obtenidos *in vitro* pertenecientes a la variedad Catimor.

CONTROL NATURAL DEL MINADOR DE LA HOJA DEL CAFETO EN MEXICO

Aranda E. D.

INTRODUCCION

El minador de la Hoja del cafeto *Leucoptera coffeella* (Guer-Men 1842) se halla presente en todas las áreas cafetaleras del país y es considerada como una de las plagas de mayor importancia del cultivo en México.

La situación es que el minador de la hoja se halla presente junto con un complejo parasitario que hasta antes de 1978 no había sido estudiado en sus aspectos básicos y fundamentales; no se sabía cuántas especies de parásitos se encuentran atacando al minador, cuáles son estas especies, cuáles son sus características biológicas, cuál es su grado de control sobre el huésped, o que importancia tienen en la regulación del minador, considerando sus diferentes factores de mortalidad natural y sus variaciones en el año.

OBJETIVO

Permitir mediante la relación de los estudios básicos necesarios, la comprensión global del control natural del minador de la hoja del cafeto en México y cubrir en especial forma los aspectos fundamentales de la taxonomía, biología, ecología y demografía del complejo parasitario existente en dicha especie-plaga.

RESULTADOS

CONTROL NATURAL:

Factores de mortalidad

- a).- Parasitismo
- b).- Mortalidad indeterminada (clima)
- c).- Reacción de resistencia en la planta
- d).- Observaciones de depredación larval
- e).- Inviabilidad de los Huevecillos
- f).- Complejo parasitario

TAXONOMIA DEL COMPLEJO PARASITARIO:

- 22 especies de parásitos *Hymenoptera*
- 19 especies de la familia *Eulophidae*
- 2 especies de la familia *Braconidae*
- 1 especie de la familia *Ichneumonidae*

Se elaboró una guía ilustrada para la identificación de los parásitos del minador de la hoja del cafeto en México.

BIOLOGIA:

Se conocen las diferentes características biológicas de los parásitos adultos y de sus estadios de desarrollo.

Parásitos adultos

- . Encuentro del huésped
 - especificidad
- . Aceptación del huésped
 - Selectividad por el estadio y tamaño del huésped
 - Hiperparasitismo
 - Superparasitismo
 - Parasitismo múltiple
 - Depredación por larvas
- Huésped adecuado
- . Manera y lugar para la oviposición
- . Proporción sexual

. Estados de desarrollo

- Huevos
- Larva
- Pupa

ECOLOGIA Y DEMOGRAFIA

- . Distribución de parásitos en México
- . Parasitismo en larvas de minador
 - Índice de parasitismo por especie
- . Observaciones de parasitismo en pupas de minador
- . Mortalidad-sobrevivencia de los parásitos
 - Mortalidad en crianza al estado adulto
 - Supervivencia de los parásitos
- . Tablas de vida de los parásitos

CONCLUSIONES

Para el control natural del minador de la hoja del café y de manera general, podemos decir que los parásitos son un factor importante para mantener las poblaciones del huésped durante largos periodos de tiempo en un nivel comparativamente bajo; es decir, otros factores como mortalidad larvaria, resistencia de la planta, depredadores, inviabilidad de huevecillos, ..., etc. son menores causas de muerte. Considerados los himenópteros parásitos, los cuales están siempre presentes y consiguen normalmente mantener al minador en niveles mas bajos actuando de esta manera como reguladores de la plaga.

NEMATODOS EN CAFETALES DEL CENTRO DE VERACRUZ

Regalado Ortiz A., Villanueva Marrufo A.E.

OBJETIVOS

Conocer la distribución de los géneros y poblaciones de nemátodos fitoparásitos en áreas cafetaleras del centro de Veracruz. Determinar el comportamiento de cafetos injertados para el control cultural de nemátodos. Determinar las dosis óptimas económicas de los nematicidas para el combate de los nemátodos.

ANTECEDENTES

Los nemátodos fitoparásitos se empezaron a detectar como problema del cultivo del café en México, alrededor de 1960 en las regiones de Córdoba y Huatusco en el estado de Veracruz.

El nemátodo *Meloidogyne incognita* es el más frecuente y abundante, causa nódulos en las raíces y se le conoce en algunos lugares como "nigua".

Otros géneros de nemátodos asociados con el cultivo del café que se han identificado, de menor importancia son: *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Xiphinema*, *Cricomemoides*, *Tylenchus*, *Rotylenchus*, *Paratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Trichodorus*, *Radopholus*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides* y *Psyllenchus*.

En el laboratorio de fitopatología del INMECAFE en el periodo comprendido de 1977 a 1988 se han analizado 1140 muestras de suelo y raíces provenientes de las regiones de Córdoba y Huatusco, Ver., de los cuales, resultaron positivas 958, lo que representa el 84% de las muestras de estas dos regiones.

RESULTADOS

Se ha determinado en el laboratorio de Fitopatología que el ataque de nemátodos del género *Meloidogyne* se presenta en tres niveles de población: el primer nivel fluctúa entre 1 a 500, segundo de 501 a 1,000 y tercero de 1,001 en adelante por cada 100 gramos de suelo.

Se ha evaluado el comportamiento de cafetos injertados empleando como vareta la variedad Mundo Novo y como patrón la variedad Robusta y se compararon con cafetos de pie franco variedad Mundo Novo.

Con respecto a Investigaciones sobre control químico desde 1976 se han evaluado nematocidas de diferente composición química a nivel de semillero, vivero y plantación establecida.

CONCLUSIONES

En todas las muestras analizadas de las regiones de Córdoba y Huatusco, Ver., se determinó que el nemátodo *Meloidogyne incognita* es la mas predominante.

En la evaluación de cinco cosechas, los cafetos injertados arrojaron más producción en comparación con los cafetos de pie franco de la variedad Mundo Novo.

De todos los nematocidas evaluados se determinó que el Nematicur 10% G (fenamifos) es el mas efectivo para el control de nemátodos a nivel de semillero, vivero y plantación establecida.

La dosis óptima económica obtenida del Nematicur 10% G (fenamifos) es de 36 gramos por vivero en maceta y 36 gramos por cafeto en producción.

BROCA DEL GRANO DE CAFE *HYPOTHENEMUS HAMPEI* Ferr. EN MEXICO

Alfonso E. Villanueva Marrufo

OBJETIVO

Obtener tecnología sobre la fluctuación poblacional, control químico, dosis de insecticidas, control manual de la broca del grano de café y efectos secundarios de insecticidas.

ANTECEDENTES

La broca del grano de café es originaria de Africa. En 1913 se introdujo al Continente Americano en semillas de café importadas del Continente Africano; hoy en día en el Continente Americano este insecto está presente en Brasil, Perú, Guatemala, Honduras, Jamaica, Paraguay, Bolivia, Ecuador, El Salvador y México.

En México, al 31 de diciembre de 1988, la broca del grano de café se encuentra dispersa en 498 comunidades de 21 municipios, atacando cafetales de 14,909 productores que en conjunto suman 59,328 hectáreas pertenecientes al estado de Chiapas y 217 hectáreas de un municipio del estado de Oaxaca.

Considerando la importancia económica de la cafeticultura en México y la seria amenaza que representa esta plaga, el Instituto Mexicano del Café, ha venido realizando investigaciones en relación a este insecto, sobre su dispersión, fluctuación poblacional, evaluación de insecticidas y sus dosis óptimas, control manual y efectos secundarios de plaguicidas.

RESULTADOS

En base a la fluctuación de la broca del grano de café se tiene que a mayor altitud, el porcentaje de frutos perforados es menor y a medida que disminuye ésta aumenta el porcentaje de frutos perforados, en base a esto se ha definido el método de combate más adecuado.

Con respecto a investigaciones sobre el control químico, desde 1983 a la fecha en el estado de Chiapas, se han evaluado 13 insecticidas de diferente composición química.

Después de seis años consecutivos de aplicar el insecticida endosulfan 35% CE, a la dosis de 800 centímetros cúbicos por hectárea y efectuando una, dos y tres aspersiones con intervalo de cuatro semanas en el año ; al realizar los análisis en el cromatógrafo de gases, no se han detectado residuos de este plaguicida en granos de café, lo cual indica que este producto puede seguir siendo utilizado para el control de la broca del grano de café *Hypothenemus hampei*, sin riesgo de afectar la calidad del café.

CONCLUSIONES

La broca del grano de café (*H.hampei*) es un insecto de notoria fluctuación durante el desarrollo de una cosecha y la evolución y grado de infestación varía bajo la influencia de los factores climáticos de la región de Soconusco.

De todos los insecticidas probados, el Thiodán 55% CE (endosulfan) es el más eficiente para el control de la broca del grano de café (*H.hampei*).

La dosis óptima económica obtenida del Endosulfan 35% CE es de 3 mililitros por litro de agua.

Con la práctica de la recolección manual de los frutos que quedaron adheridos en el cafeto o caldos en el suelo después de la cosecha y su inmersión en agua hirviendo durante 5 minutos, se reduce considerablemente el grado de infestación en la cosecha del ciclo siguiente.

Referente a los efectos secundarios del Endosulfan 35% CE, después de seis años consecutivos de su empleo, no se han detectado residuos de este plaguicida en granos de café.

COMBATE QUIMICO DE LA ROYA ANARANJADA DEL CAFETO
HEMILEIA VASTATRIX BERK Y BR. EN MEXICO

Regalado O.A., Villanueva M.A.E.

OBJETIVOS

Conocer la dispersión, el comportamiento y el desarrollo de la enfermedad, influenciado por factores climáticos. Determinar las dosis óptimas económicas de los fungicidas para el control de la roya anaranjada.

ANTECEDENTES

La roya del cafeto causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, es la enfermedad más importante del cafeto detectada por primera vez en México en el mes de Julio de 1981 en el estado de Chiapas. Actualmente se encuentra distribuida en 218,787 hectáreas que representa el 44.0% de la superficie total cultivada a nivel nacional afectando a 103,489 productores de 329 municipios de los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, Hidalgo, San Luis Potosí y Tabasco.

RESULTADOS

El Instituto Mexicano del Café desde antes que se detectara la roya en México puso en práctica las siguientes acciones: Capacitación de personal técnico y cafeticultores, divulgación, inspección de cafetales, combate químico e investigación y experimentación en torno a esta enfermedad. Las cuales se reforzaron una vez detectada la roya.

En relación a la epidemiología de la roya del cafeto en México a partir de 1982 se han realizado estudios con la finalidad de conocer el comportamiento de la enfermedad bajo diferentes condiciones del medio ambiente y de manejo del cultivo; en base a estos conocimientos se ha definido la estrategia de combate más adecuada.

Con respecto a investigación sobre combate químico desde 1981 a la fecha se han venido evaluando más de 40 fungicidas de diferente composición química.

Referente a los efectos secundarios del fungicida Triadimefón 25% PH se han determinado residuos de este plaguicida en granos de café,

empleado a la dosis de 3.3 gramos por litro de agua después de tres aspersiones.

CONCLUSIONES

La roya del cafeto en México presenta un comportamiento cíclico manifestándose su desarrollo en cuatro fases. Desarrollo lento (Junio-Agosto), Crecimiento acelerado (Septiembre-Diciembre), Máxima infección (Enero-Febrero), Decadencia (Marzo-Mayo).

De todos los fungicidas evaluados se determinó que el Oxícloruro de Cobre 50% P.H. es el más efectivo para el combate de la roya anaranjada del cafeto.

Actualmente la dosis óptima económica obtenida del Oxícloruro de Cobre es de 6.6 gramos por litro de agua.

Se ha determinado que cuando se emplea Triadimefón 25% P.H. a la dosis de 3.3 gramos por litro de agua, se pueden aplicar hasta tres aspersiones con intervalos de 30 días sin riesgo de detectar residuos en granos de café.

PRODUCCION DE BIOPESTICIDAS A NIVEL PLANTA PILOTO: PARA EL USO EN CULTIVO DE CAFE

Montero F.A., Roussos S. & Olmos A.

RESUMEN

La utilización de hongos filamentosos en el control de plagas y enfermedades de las plantas ha tenido un incremento significativo en los últimos años. Varias especies de hongos filamentosos son de gran ayuda en la lucha biológica; se estudió la producción de esporas de *Trichoderma harzianum* y *Bauveria bassiana*, dos hongos filamentosos de gran importancia, como antagonistas, poderosos en el control de hongos fitopatógenos (*Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, etc.) y de insectos (*Corchorus capsulari*, *Hibiscus cannabinus*, *Melanoplus sanguinipes*, etc.). Se llevó a cabo el estudio de la fisiología de esporulación y el escalamiento en la producción de esporas de un nivel laboratorio, a un nivel semi piloto en un esporulador de discos y a un nivel piloto en un fermentador estático tipo Zymotis. Los rendimientos de esporulación de *T. harzianum*, en zymotis, fueron de 5×10^{13} esporas lo que nos permite tratar al menos una hectárea de cultivo.

INTRODUCCION

Ciertos hongos tienen la propiedad de disminuir las poblaciones de insectos que destruyen los cultivos, este proceso se conoce como lucha biológica. En Florida, los acaridos del limonero son naturalmente vencidos por un hongo filamentoso (*Hirsutella thompsonii*). En Brasil, en los cultivos de soya una epizotia de *Nomuraea rileyi* (hongo filamentoso) mantiene a un bajo nivel la población de devastadores. Gracias a estos fenómenos naturales o inducidos es posible no emplear tratamientos con insecticidas químicos. En Brasil, 150,000 Has. de caña de azúcar azotadas por el *Cercopides* son tratadas cada año con un hongo (*Metaharzium anisopliae*). Podemos estimar que 5.4 toneladas de esporas de hongos son anualmente producidas en el mundo. Técnicas simples y económicas de producción de esporas han sido probadas, en granos de arroz, en botellas Roux, en soportes, en esporuladores de discos, etc. Estos hongos filamentosos entomopatógenos son, a priori, muy prometedores en los países

calientes y húmedos , que en su mayor parte están en vías de desarrollo como México.

OBJETIVOS

Optimizar las condiciones de cultivo para la producción masiva de esporas, estudiando la fisiología de esporulación a nivel laboratorio, la producción masiva a nivel planta piloto utilizando esporuladores de discos y en un fermentador estático tipo Zymotis.

META ESPECIFICA

Trabajos reportados indican que concentraciones de 5×10^{13} esporas de *T.harzianum* nos permite tratar una Hectarea de cultivo, y 2×10^{12} esporas para *B.bassiana*. Por lo que nuestra meta será alcanzar estas concentraciones.

RESULTADOS

1.- El escalamiento de producción de Biopesticidas realizado de matraces hasta Zymotis se llevó a cabo con éxito.

2.- En la última etapa del escalamiento no se trabaja bajo condiciones estériles ya que el manejo de los biopesticidas no es estéril.

3.- Se logró la producción de esporas necesarias, en un zymotis de 15 Kg, para el tratamiento de al menos una hectarea.

4.- Esta producción de esporas se hizo bajo condiciones controladas por lo que no existen problemas de contaminación al medio ambiente.

5.- El sustrato empleado es abundante y de bajo costo (bagazo de caña, harina de yuca, harina de plumas) y sales minerales agrícolas (fertilizantes).

Ficha de Operación No. 1.

Condiciones óptimas para la producción de conidiosporas de *T.harzialum* en un esporulador de discos de 4 litros.

Composición del medio de cultivo.

Harina de Yuca	40 g
KH_2PO_4	2 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	4 g
Urea	1 g
CaCl_2	1 g
Agar	15 g
Agua	1000 ml
pH	5.6

Cantidad de medio de cultivo para el esporulador de 4 lts. = 600 ml

Esterilización= Autoclave 40 min, a 110°C

Inoculación= 6×10^8 Conidiosporas de *T.harzialum*

Incubación= Temperatura de laboratorio (15-28°C)

Aereación 20 l/h de aire húmedo

Tiempo 6 - 7 días.

Recolección de conidiosporas = En 2 lts de agua adicionada de Tween 80.

Número total de esporas = 8.67×10^{11} conidiosporas/fermentador.

Rendimiento de esporulación= 3.61×10^{10} conidiosporas/gr.

Número de conidiosporas/cm² = 1.75×10^8 conidias/cm²

Ficha de Operación No. 2.

Condiciones óptimas para la producción de esporas de *T.harzianum* sobre soporte en un Zymotis con 21 Kg a 75% de humedad.

Composición del medio de cultivo.

Bagazo de Caña	80.0 g
Harina de Yuca	20.0 g
(NH ₄)SO ₄	0.2 g
Urea	1.3 g
KH ₂ PO ₄	2.5 g
Harina de Plumas	10.75 g

Agua (50% de humedad inicial) 100 ml

Esterilización = Autoclave 121°C durante 15 min.

Inoculación = 3×10^9 esporas

Incubación = 29°C durante 4 días.

Producción total de esporas = 5×10^{13} esporas/Zymotis

Índice de esporulación = 5×10^{10} esporas/gr de SPS.

FISIOLOGIA COMPARADA DE ESPORULACION DE HONGOS FILAMENTOSOS
Aspergillus, *Beauveria*, *Penicillium* y *Trichoderma*

Montero F.A., Roussos S., & Viniegra G.

RESUMEN

En algunos procesos de fermentación en Medio Sólido (FMS) se utilizan los microorganismos *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Beauveria bassiana*, *Penicillium roqueforti* y *Trichoderma harzianum*. Estos procesos se inician a partir de inóculos concentrados de esporas viables de hongos filamentosos; por lo que el objetivo de este trabajo es, definir composición de medios de cultivo y cinéticas de esporulación para la producción masiva de esporas.

Los experimentos se llevaron a cabo en matraces Erlen Meyer de 250 ml con 20 ml de medio de cultivo sólido de diferente composición en cuanto a: a) Fuente de carbono (10,14,24,40); b) Relación C/N; c) Cinéticas de esporulación. La inoculación de los medios se hizo con 1×10^7 esporas y se incubaron a temperatura ambiente.

Los mejores índices de esporulación (le = No. de esporas/gr de sustrato) se reportan para 14 días en matraces:

Cepa	(le)	Fuente de Carbono	C/N
<i>T.harzianum</i>	1.4×10^{10}	Harina de Yuca	14
<i>A.niger</i>	5.2×10^9	Harina de Yuca	24
<i>B.bassiana</i>	7.4×10^9	Harina de Yuca	24
<i>A.terreus</i>	9.9×10^9	Melaza	14
<i>P.roqueforti</i>	7.2×10^9	Melaza	24

b) TRATAMIENTO DE AGUAS DE LAVADO

DIGESTION ANAEROBICA Y ALGAS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Monroy O., Ramos A., Ramirez F., Noyola A., Guyot J.P.
Schetino B., Salazar M., Fuentes M. & Rodriguez D.

RESUMEN

Se presentan sistemas no convencionales de tratamiento de aguas residuales industriales que combinan reactores UASB, un estanque de algas y un digestor anaerobio seco. Los resultados obtenidos en experimentos separados y con aguas residuales diferentes a las de la industria cafetalera demuestran que estos tratamientos pueden aplicarse en esta industria. El digestor anaerobio elimina hasta un 80% de la materia orgánica del agua, las algas la oxigenan y pueden llevarla hasta la calidad exigida por la legislación ambiental. El digestor anaerobio seco puede eliminar hasta el 40% de la materia orgánica de los residuos sólidos. Como producto de la degradación anaerobia se produce un gas combustible (metano).

c) VALORIZACION DE LOS SUBPRODUCTOS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE CEPAS DE HONGOS FILAMENTOSOS CON
CAPACIDAD DE DEGRADAR LA CAFEINA PARA DETOXIFICAR LA PULPA DE CAFE

Aquiahuatl M-A., Roussos S. & Salas J-A.

Se aislaron y purificaron 250 cepas de hongos filamentosos de la región de Xalapa, Ver. y Soconusco Chis. en medios de cultivo semisintéticos a base de sales minerales y extracto de café (A), extracto de café adicionado de sacarosa (B) y pulpa de café (C). Los medios se complementaron con agar y estreptomycin (0.05g/l).

Se identificaron las cepas aisladas mediante la siembra en placa y en microcultivo en medio de papa dextrosa agar (PDA) y posterior observación macroscópica y microscópica de los cultivos, recopilándose la información en forma de fichas de identificación mediante la utilización de un sistema de computación de base de datos. También se hizo la selección de las mejores cepas que degradan cafeína en matraces agitados con medio de cultivo líquido a base de cafeína y sales minerales, determinándose la desaparición de cafeína por un método en HPLC.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que es posible encontrar cepas nativas con capacidad de degradar cafeína de la pulpa de café variando desde las que presentan poca actividad hasta las mejores degradadoras con capacidad de eliminar completamente la cafeína del sustrato; siendo los principales géneros identificados los correspondientes a *Aspergillus*, *Penicillium* y *Trichoderma*.

FISIOLOGIA Y BIOQUIMICA DE HONGOS FILAMENTOSOS QUE DEGRADAN LA CAFEINA

Sánchez A.R., Roussos S. y Viniegra G.

La pulpa de café se caracteriza por contener ciertas sustancias tóxicas tales como taninos, cafeína, ácido clorogénico y ácido caféico así como un alto contenido de fibra (alrededor de 37%), la cual sin ningún tratamiento es un ingrediente poco atractivo en alimentación animal.

Se estudió la fisiología de crecimiento y esporulación de 8 cepas de hongos filamentosos, aisladas en nuestro laboratorio y seleccionadas por su alta capacidad para degradar la cafeína de la pulpa de café en Fermentación Sólida (FS).

Se hicieron estudios de índice de esporulación, crecimiento apical, germinación en columnas empacadas con pulpa de café (a temperatura, humedad y aireación controladas) y se analizó la degradación de cafeína, los efectos de temperatura y pH inicial. Los resultados obtenidos nos permitieron seleccionar las cepas más eficientes y de mayor resistencia, así como optimizar las condiciones fisiológicas de crecimiento y esporulación de las mismas para una adecuada detoxificación de la pulpa de café en FS.

DECAFEINIZACION DE LA PULPA DE CAFE POR FERMENTACION EN MEDIO SOLIDO.

Nava G., Hannibal L., Raimbault M., Roussos S., & Trejo MR.

La pulpa de café representa un desecho agroindustrial muy abundante y de bajo valor nutricional, debido a la presencia de sustancias tóxicas como: cafeína, taninos y polifenoles. Su valor nutritivo se puede mejorar a través de una Fermentación en Medio Sólido (FMS), utilizando hongos filamentosos capaces de emplear la cafeína como fuente de nitrógeno y con alto crecimiento sobre la pulpa de café.

La pulpa de café seca molida y tamizada (malla 35/45), se empleó como sustrato (fuente de carbono y nitrógeno) para la FMS, adicionando al medio de cultivo una solución mineral sin nitrógeno. Se esterilizó a 121°C por 15 min. Se inoculó con una suspensión de esporas de 2×10^7 esp/g de sustrato, se utilizaron 2 cepas *Penicillium roqueforti* y *Aspergillus niger*. El medio inoculado con una humedad inicial del 70% y a un pH 4.3, se colocó en columnas de FMS y se incubó a 25 y 35°C respectivamente, con una aireación de 4 l/h/columna. Evaluándose la cinética de disminución de cafeína, el pH y humedad del medio de cultivo.

Se observó que *P.roqueforti* utiliza el 99.5% de cafeína mientras que *A.niger* no crece fácilmente en este medio, por lo que la degradación de cafeína es casi nula. Además se observó que la evolución del pH durante la FMS es un parámetro indicativo para seguir de manera indirecta la disminución de cafeína.

USO DE ENZIMAS COMERCIALES EN EL BENEFICIO HUMEDO DEL CAFE VARIEDAD ROBUSTA

Huerta S., Favela E., López R., Nava G., Olivares G.,
Roussos S., Viniegra G., Gutiérrez M.

En el beneficio húmedo del café se lleva a cabo una fermentación para eliminar la capa viscosa que rodea el grano del café, la cual de no ser eliminada casi completamente, provoca problemas de secado, manchado indeseable de la semilla y consecuentemente incrementos en los costos del proceso. Se han reportado en la literatura diversos estudios enfocados a entender la etapa fermentativa; por ejemplo, cual es la composición química del mucilago (pectina) y de que forma se puede acelerar el tiempo de fermentación con objeto de aumentar la productividad del fermentador. De la literatura se conoce que los microorganismos que eliminan la pectina presente en el mucilago (aproximadamente un 30%) producen un compuesto bioquímico (enzima) llamado pectinasa, que es el encargado de fraccionar la pectina.

En este trabajo se presentan resultados del uso de una enzima comercial en el beneficio húmedo del café variedad Robusta, del cual se tienen referencias que la etapa fermentativa dura hasta 72 hs. Se obtuvieron: La temperatura (60°) y pH (3.2) ptimos de la enzima con el fin de tener una referencia para conocer cual es el tiempo minimo posible de esta etapa y saber que factores son los más importantes. Se observó el efecto de la agitación en el sistema encontrándose que ésta favorece la eliminación del mucilago, reduciendo considerablemente el tiempo de fermentación. Se realizó una prueba a nivel de 5 Kg de grano en condiciones de operación cercanas a la industrial obteniéndose tiempos de fermentación de 24 Hs utilizando 1 Kg de enzima/tonelada de grano despulpado.

PRODUCCION DE ENZIMAS A PARTIR DE PULPA DE CAFE Y SU APLICACION EN EL BENEFICIO HUMEDO

Favela E., Huerta S., Roussos S., Olivares G.,
Nava G., Viniegra G. & Gutiérrez M.

Uno de los problemas más graves en el beneficio húmedo del café es la gran cantidad de subproductos, que debido a su tratamiento inadecuado, y en el peor de los casos, nulo, representa un grave problema de contaminación ambiental y deterioro de ecosistemas. Una alternativa interesante es el aprovechamiento de tales subproductos aumentando así su valor agregado. Desde hace varios años se han propuesto alternativas para el aprovechamiento de la pulpa de café (composta, biogás, alimentos, etanol, proteína de origen microbiano, extracción de compuestos, etc.).

Estudios preliminares realizados en nuestro laboratorio demostraron que la pulpa de café es un material adecuado para la producción de enzimas pectinolíticas (pectinasas) de origen fúngico. Es importante mencionar que el hablar de producción de pectinasas no es tan aleatorio como lo parece. Las pectinasas son de gran utilidad para aumentar la productividad y la eficiencia de la fermentación natural del café que se lleva a cabo para la desmucilagínación del grano. Por otra parte el uso de las pectinasas permite un control de calidad constante.

Las investigaciones realizadas en nuestro laboratorio indican la factibilidad de la producción y uso de tales enzimas en las instalaciones del beneficio húmedo, sin necesidad de inversiones elevadas.

**AISLAMIENTO, CINETICA DE CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE CUERPOS
FRUCTIFEROS DE *Pleurotus cornucopioides* (fr.) Gill, SOBRE
RESIDUOS DE *Agave sp.***

Porfirio Martínez Ortiz & María del Carmen Sánchez Hernández

Hongos del genero *Pleurotus*, son económicamente importantes por su valor alimenticio, sabor y posibilidades de industrialización. En México, la utilización de *Pleurotus ostreatus* como fuente protéica ha estimulado su industrialización. Este trabajo informa resultados de aislamiento, cultivo y producción de esporas de *P.cornucopioides* en pencas de *Agave sp.*. Este hongo conocido como "hongo de maguey", es muy apreciado para consumo humano en el estado de Tlaxcala, se aisló de fuente natural en la forma clásica, se hicieron siembras en composta de maguey fermentado para obtener inóculos de propagación ("semilla"). La semilla a su vez, fué sembrada en otra composta similar pero con variantes para obtener esporocarpos. De estos cultivos, resultaron esporocarpos con características macro y microscópicamente similares a las del hongo de fuente natural.

El empleo de medios sólidos de cultivo a base de corteza de maguey, comparado con los medios convencionales, es sustrato que normaliza la adaptación bioquímica de *P.cornucopioides*, cuando se produce sustrato y "semilla" a base de *Agave*. Los primeros estudios de cinética revelan que el pH del medio de corteza de maguey para *P.cornucopioides* está entre 6.5 y 7.5. *P.ostreatus* utilizado como testigo, crece mejor a un pH de 6.0-7.0.

IV PARTE

DIRECTORIO

Sr. Carlos Francisco Aguilar Fernandez
INMECAFE
Chilpancingo # 67
TELEFONO: 5 18 61
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Luis Alfonso Aguirre Romero
Zaragoza # 92
TELEFONO: 6 25 00
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Sr. Marco Antonio Andrade Galvez
Agroindustria Exp. de Cafe Andrade S.A. de C.V.
Direccion
Reforma # 9
TELEFONO: 6 21 72
Cosautlan de C., Veracruz
México

Sr. Jose Antonio Andrade Gandara
Agroindustria Exp. de cafe Andrade S.A. de C.V.
Produccion
Reforma # 9
TELEFONO: 6 71 72, 6 20 61 ext 2
Cosautlan de C., Veracruz
México

Sr. Jose Luis Andrade Gandara
Agrindustria Export. de Cafe Andrade S.A. de C.V.
Administracion
Julian Carrillo # 17, esq. Dr. Lucio
TELEFONO: 5 26 98, 5 82 51
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Marco Antonio Andrade Gandara
Agroindustria Export. de Cafe Andrade
Gerencia
Moctezuma # 20
TELEFONO: 6 10 30
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Q.F.B. Ma. de los Angels Aquiahuatl Ramos
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 331
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Biol. Eduardo Aranda Delgado
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Armando Arellano Lagunes
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Laura E. Arias Juarez
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 77 42
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sra. Alicia Armendariz
ORSTOM
México
Homero # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Sr. Luis E. Arriaza A.
Asociacion Nacional de Cafe (ANACAFE)
Junta Directiva
8° Av 2-65 Zona 10
TELEFONO: 362918
Guatemala
Guatemala C.A.

Dr. Richard Auria
ORSTOM
México
Homero # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Sr. Alfredo Ayala Aguilar
BECSSA
Ninos Heroes # 130
TELEFONO: 8 44 74
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Anton Baron Gaggiona
DIDEA del Tropico
Gerencia
J. Soto # 7
TELEFONO: 6 05 68, 6 19 32
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Ing. Marco Antonio Andrade Gandara
Agroindustria Export. de Cafe Andrade
Gerencia
Moctezuma # 20
TELEFONO: 6 10 30
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Q.F.B. Ma. de los Angeles Aquilahuatl Ramos
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 331
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Biol. Eduardo Aranda Delgado
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Armando Arellano Lagunes
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Laura E. Arias Juarez
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 77 42
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Antonio Cazares Camarena
NIRO- ATOMIZER de Mexico S.A. de C.V.
Food and Dairy
Newton # 7 Penthouse (México)
TELEFONO: 254 28 89
D.F., México
México

Sr. Emilio Cepeda Gomez
INMECAFE
Xico # 2, Col Modelo
TELEFONO: 7 13 70
Xalapa, 91040 Veracruz
México

Ing. Carlos Chazaro Masarez
Banco de Credito Rural Del Golfo S.N.C.
Creditos Agroindustriales
Clavijero # 10
TELEFONO:
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Antonio Contreras Jimenez
Inst. Nal. Inv. Forest. y Agrop.
Programa Cafe
Justino Sarmiento # 51-3
TELEFONO: 4 08 72
Xalapa, 91000 Veracruz
México

C.P. Sergio Cordoba Arista
Cafes del Tropico S.A. de C.V.
Contraloria
Lazaro Cardenas # 834
TELEFONO: 4 02 33
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Juan Cortez Jimenez
Universidad Veracruzana
Fac. Ciencias Químicas
Volcan de Colima # 15-A
TELEFONO: 5 54 60
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. David Coutino Abud
INMECAFE
Region Tapachula
4a Sur # 15
TELEFONO: 5 21 38
Tapachula, 30700 Chiapas
México

L.A.E. Veronica Croda Canton
Corp. Inte. ARCA S.A. de C.V.
Produccion
Rev. # 197-4
TELEFONO: 7 81 57
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Arturo Croda Lagunes
CRODA Consultores, S.C.
Díaz Miron # 2125
TELEFONO: 37 11 36
Veracruz, 91700 Veracruz
México

Ing. Mario De la Parra Hernandez
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Luc Cambrezy
ORSTOM
Xalapa
INEGI
TELEFONO: 5 57 60 32
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Lic. Rosalba Campos Perez
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Ernesto O. Carballo Montes de Oca
Banco de Credito Rural del Golfo S.N.C.
Area Tecnica
Priv. Ignacio de la Llave
TELEFONO: 7 13 20
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Dr. Antonio Carmona Alcantara
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 330
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Ing. Federico Carrillo Quintero
Cia. Nestle
Ejército Nacional # 453
TELEFONO: 2 60 99 44
México, D.F.
México

Ing. Arnaud Casanova
ORSTOM
México
Homer # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Ing. Jose M. Victor Casiano Juarez
INMECAFE
Servicios al Productor
Of. Galindo # 119
TELEFONO: 4 04 84
Xicotepec de Juarez, 73080 Puebla
México

Ing. Guillermo Castell Sosa
BAMBO de México F.I.R.A.
Zamora #34 2o. piso
TELEFONO: 8 59 60, 7 91 05
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sra. (Ita) Gladis Castillo Ponce
INIFAP
CONAFRUT
TELEFONO: 8 82 12
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Miguel Angel Castro Rosas
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Jose Arturo Diaz G.
INMECAFE
Asistencia Tecnica
Of. Galindo # 119
TELEFONO: 4 04 84
Xicotepec de Juarez, 73080 Puebla
México

Sr. Belisario Dominguez Mendez
INMECAFE
Km. 4.5, Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Esteban Escamilla Prado
Univ. Aut. de Chapingo
Centro Regional Huatusco
Carretera Fortin-Conejos Km 5
TELEFONO: 4 07 64
Huatusco, 94100 Veracruz
México

Ing. Manuel Escudero Reyna
Cafes del Tropico S.A. de C.V.
Lazaro Cardenas # 834
TELEFONO: 8 35 56
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sra.(ita) Alma Guadalupe Espinoza Garcia
Universidad Veracruzana
Fac. Ciencias Biologicas
Penuela, Veracruz
TELEFONO: 2 68 29
Cordoba, Veracruz
México

Sr. Francisco Espinoza Mejia
Universidad Veracruzana
Fac. de Ingenieria
Jones del Estadio
TELEFONO: 4 19 77
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Dr. Ernesto Favela Torres
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 338
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Sr. Mario Fernandez
BECSSA
Hidalgo # 53
TELEFONO: 8 98 53
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Mario Roberto Fernandez Alduenda
BECSSA
Gardenia # 20
TELEFONO: 8 23 60
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Dra. Ximena Florin Torres
Camino a San Pedro # 186
TELEFONO:
Mexico, D.F.
México

Ing. Vicente Fuentes Libreros
Cia. Nestle
A.T.P.C.
Enriquez # 35
TELEFONO: 6 17 25
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Dr. Alfonso Garcia Escobar
IICA-México
IICA-PROMECAFE-MEXICO
Ocampo # 190-101
TELEFONO: 32 85 75
Veracruz, Veracruz
México

M.en C. Miguel Garcia Gamboa
Univ. Veracruzana
Fac. Ciencias Químicas
Madero Nte. # 708
TELEFONO: 5 54 38
Orizaba, 94300 Veracruz
México

Ing. Leobardo Vidal Garcia O.
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sra.(ita) Ma. Teresa de Jesus Gomez Gordillo
Av. Martires 28 de Agosto # 183, Col Ferrer Guardia
TELEFONO:
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Francisco Martin Gonzalez Barbosa
INMECAFE
Region Oaxaca
Dalias # 321
TELEFONO: 5 20 22, 5 22 22
Oaxaca, 68000 Oaxaca
México

Ing. Octavio Gonzalez Castillo
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 338
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Sr. Arturo Gonzalez Gonzalez
INMECAFE
Km. 4.5 carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 70 19
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Hector A. Gonzalez Mesa
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Arturo Gonzalez Rosas
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Dr. Isabel Guerrero Legarreta
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 330
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Sr. Jose Ma. Gutierrez
BECSSA
Mercado Nacional
Hidalgo # 53
TELEFONO: 8 77 66
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Jose Carlos Gutierrez Carrillo
Banco Internacional S.N.C.
TELEFONO: 31 37 78
Veracruz, Veracruz
México

M. en C. Mariano Gutierrez Rojas
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 338
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Sr. Miguel Angel Guzman Cordoba
Liga de Comunidades Agrarias, Veracruz
Union de Productores de Cafe de Coatepec
Caoba # 9
TELEFONO: 5 73 90
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Tec. Laure Hannibal
ORSTOM
México
Homero # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Ing. Sergio Hernandez Acosta
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Bernardo Hernandez Hernandez
INMECAFE
Centro de Apoyo
Montes Pirineos # 25
TELEFONO:
Tamazunchale, 79960 San Luis Potosi
México

Sr. Alejandro Hernandez Jaen
Sistemas de Ingenieria Ambiental S.A. de C.V.
Av. Juarez # 1905-1
TELEFONO:
Puebla, 72000 Puebla
México

Sirenia Hernandez Miranda
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 78 31
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Esperanza Hernandez Timoteo
Escuadron 201 # 9-1
TELEFONO:
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Mario Alberto Laguna Martinez
Facultad de Economia Univ. Ver.
TELEFONO: 5 16 50
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Dr. Rolando Herrera
Univ. Aut. de Chapingo
Colegio de Posgraduados
Colegio de Posgraduados UACH
TELEFONO:
Chapingo, 56230 México
México

Sr. Jose Maria Leal Muller
Veracruz # 69
TELEFONO:
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Alfredo Huerta Diaz
INMECAFE
Programa Especial
Francisco Vasquez # 25
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sra.(ita) Martha Ruth Leon Escamilla
Sistemas de Ingenieria Ambiental S.A.de C.V.
Laboratorio
Av. Juarez # 1905-1
TELEFONO: 46 61 80, 42 42 26
Puebla, 72000 Puebla
México

M. en C. Sergio Huerta Ochoa
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 338
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Ing. Roberto Licon Franco
INMECAFE
Investigacion
Km 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO:
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Augusto Ibarra Castillo
Cafetaleros de Fortin
Beneficio
Av 3, Calle 5 # 362
TELEFONO: 4 04 59
Huatusco, 94100 Veracruz
México

Sr. Alfredo Lira Anda
Aplicaciones Tecnologias y Biotecnicas S.A. de C.V.
Administracion
Retorno 201 # 5
TELEFONO: 5 81 00 86
09090 D.F.
México

Ing. Hector Lopez Moctezuma
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sra.(ita) Montserrath Lozano Clark
Guadalupe Victoria # 20
TELEFONO: 91 233 1 01 60
Ayototxo de Gro., 73570 Puebla
México

Ing. Ruben Mandujano Barrios
Univ. Veracruzana
Fac. Ciencias Agricolas
Zona Universitaria
TELEFONO: 7 27 93
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Dr. Daniel Martinez Carrera
IMINAP
Magnolia # 53-A
TELEFONO:
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Alejandro Martinez Contreras
Cafetaleros de Fortin
Av. 3-calle 5 # 362
TELEFONO: 4 04 59
Huatusco, 94100 Veracruz
México

Sr. Juan Martinez Lobato
20 de Noviembre # 256
TELEFONO: 7 29 15
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Q.F.B. Porfirio Martinez Ortiz
Universidad Autonoma de Tlaxcala
CICB
Av Universidad # 1
TELEFONO: 2 08 18
Tlaxcala, Tlaxcala
México

Sra. Ma. Elena Martinez Roque
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 338
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Ing. Roberto Martinez Villegas
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Hector Mendez Lara
Maq. Agropecuaria
Av Lazaro Cardenas # 40
TELEFONO: 5 94 77
Xalapa, 91000 Veracruz
México

M. EN C. Oscar Monroy Hermosillo
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 369
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Sr. Humberto Morales Gazo
Asociacion Nacional del Cafe (ANACAFE)
29 Av-31-59- Zona 5
TELEFONO: 31 20 02
Guatemala
Guatemala C.A.

Sr. Jose Luis Montanez Herrada
FERTIMEX
Dept. Tecnico
Ruiz Cortinez # 536
TELEFONO: 5 33 44
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Jose Jorge Morales Olguin
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO:
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Felix A. Montero Julian
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 330
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

C.P. Martin Eduardo Moreno Ortega
PROMOR Agricola de Coatepec
Zaragoza # 92-B
TELEFONO: 6 29 11, 6 06 44
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Ing. M. Lorena Morales Bracho
Univ. Veracruzana
Fac. Ciencias Agricolas
Independencia Ote. # 51
TELEFONO: 5
Teocelo, 91615 Veracruz
México

Q.I. Ruben H. Moreno Ortega
PROMOR Agricola de Coatepec
Zaragoza # 92-B
TELEFONO: 6 00 44, 6 29 11
Coatepec, 91500 Veracruz
México

Dra Esperanza Morales de Leguizamon
Federacion Nacional Cafeteros Colombia
Biotecnología Industrial
Calle 26A No. 37-28
TELEFONO: 6760501
Bogota
Colombia

Sr. Jorge A. Muller G.
SPR de RI Las Araucarias del Mirador
Jacarandas # 12
TELEFONO: 8 54 49
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Francisco Javier Muñoz Quintana
CRODA Consultores
Consultures
Díaz Miron 2125
TELEFONO: 37 11 36
Pto. Veracruz, 91700 Veracruz
México

Biol. Sonia Navarro Urrutia
E.N.E.P.-Zaragoza
TELEFONO: 7 92 32 88 ext 233
México

Dr. Adalberto Noyola Robles
UNAM
Instituto de Ingeniería
Apdo. Postal 70-472
TELEFONO: 6 86 03 22 ext 330
04510 Ciudad Universitaria
México

Biol. Ma Eugenia Nunez Valdez
Abraham Gonzalez # 123-3
TELEFONO: 5 46 27 28
D.F., Mexico
México

Sr. Armando Obando Torres
INMECAFE
Construcción y Servicios
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 4 40 85
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Gustavo Alberto. Orozco Brancaceio
Cafes de Cordoba Isabel
Calle 13 # 505
TELEFONO: 2 38 33
Cordoba, Veracruz
México

Ing. Juan Jose Osorto
IICA- PROMECAFE
Apartado postal 55; 2200 Coronado
TELEFONO:
San José, Costa Rica
Costa Rica, C.A.

Ing. Jose Luis Ovando Cruz
SEDUE
Km. 0+700 Carr. Xalapa-Veracruz
TELEFONO:
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Miguel Angel Perez Hernandez
INMECAFE
Programa Mexico
Km. 4.5 carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Gonzalo Perez Ronzon
Univ. Veracruzana
Fac. Ing. Quím.
La Pergola s/n
TELEFONO: 7 66 33
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Miguel Pina Garcia
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Dr. Michel Portais
ORSTOM
México
Homeró # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Dr. Maurice Rimbault
Centré ORSTOM
Unité de Biotechnologie
B.P. 5045, 34032 Montpellier cedex
TELEFONO:
France

Lic. Ramon Ramos Niembro
INMECAFE
Km. 4.5 carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO:
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Jose Rangel Sanchez
INBIOTEC, A.C.
Araucarias # 7A
TELEFONO: 8 59 77
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. Alfonso Regalado Ortiz
INMECAFE
Obreros Textiles # 7
TELEFONO: 8 78 77
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Sabas Rico Martinez
Cafe de Cordoba Isabel S.A. de C.V.
Calle 13 # 505
TELEFONO: 2 38 33
Cordoba, Veracruz
México

Sr. Andres Rivera Fernandez
INMECAFE
Moctezuma # 114
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Biol. Maria de Jesus Rivososa
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Odon Rodriguez Aguilar
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. David Rodríguez Buendía
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 369
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Ing. Gerardo Rodríguez González
INMECAFE
Centro de Apoyo
20 de Noviembre # 21
TELEFONO: 2 00 10
Tamazunchale, San Luis Potosí
México

Q.F.B. Lorenzo Wilfrido Rodríguez Pérez
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 331
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Dr. Sevastianos Roussos
ORSTOM
México
Homero # 1804-404
TELEFONO: 5 57 60 32
Polanco, 11510 D.F.
México

Sr. Arnulfo Ruiz Arroyo
Dirección General de Agricultura
Plantaciones Industriales
J.J. Herrera esq. El Galván
TELEFONO: 8 95 06
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ing. José de Jesús Ruiz V.
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sra. (Ita) Blanca Salazar Avila
Hidalgo # 4
TELEFONO: 91 233 1 01 60
Ayototxo de Gro., Puebla
México

Ing. Oliverio Sánchez Acosta
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Lic. Arturo Sánchez Hernández
UAM-I
Calle 2 Norte # 572
TELEFONO:
Huatusco, 94100 Veracruz
México

Ing. Ana Rosalba Sánchez Valdez
UAM-I
Dpto. de Biotecnología
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 330
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Ing. Eugenio Sosol Valerio
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Ing. Reynaldo Soto Jimenez
S.A.R.H.
Convenio S.A.R.H.-CIRAD
Ruben Bouches # 10
TELEFONO: 7 08 06
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Q.F.B. Marco Vinicio A. Tejada Barraza
Univ. Veracruzana
Fac. Química
Coahuila # 2, Col. Progreso
TELEFONO: 5 45 05
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Ruth Tostado Cabrera
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 78 31
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Biol. Vicente Vazquez Torres
INMECAFE
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 67 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Sr. Mainor Vazquez y Vazquez
Asociacion Nacional del Cafe (ANACAFE)
Centro Regional de Investigacion
Edificio Etisa Zona 9
TELEFONO: 36 61 21
Guatemala
Guatemala C.A.

Sr. Pedro Verdeja Vazquez
INMECAFE
Operacion Regional
Andador 3 # 66, Pomona
TELEFONO: 8 55 75
Xalapa, 91000 Veracruz
México

Sr. Juan Villanueva Barradas
CIFAP
Veracruz
Ocampo # 190-101
TELEFONO: 32 85 75
Veracruz, Veracruz
México

Sr. Alfonso Villanueva Marrufo
INMECAFE
Fitopatologia y Entomologia
Km. 4.5 Carretera Xalapa-Veracruz
TELEFONO: 8 65 08
Xalapa, 91190 Veracruz
México

Dr. Gustavo Viniegra Gonzalez
UAM-I
Dpto. de Biotecnologia
Apdo. Postal 55-535
TELEFONO: 6 86 03 22 Ext 330
Iztapalapa, 09340 D.F.
México

Sr. Francisco Zempoalteca Teras
CONALEP Puebla II
54 Norte # 179
TELEFONO:
Puebla, 72000 Puebla
México

Dr. Jaime Zuluaga Vasco
Federacion Nacional Cafeteros Colombia
Seccion Quimica Industrial -CENICAFE
CENICAFE
TELEFONO: 96850-6631
Chinchina, Caldas
Colombia

*I Seminario Internacional
sobre Biotecnología en la
Agroindustria Cafetalera*

se terminó de imprimir en el mes de
abril de 1990 en los talleres gráficos de

Robles Hnos. y Asoc., Acueducto
402, 4-B, 14370 México, D.F.

Apoyo Editorial:

Sofía de la Mora Campos.

El tiro fue de 1 000 ejemplares.