

USO DEL BAGAZO DE *Agave spp* Y HOJAS DE MAÍZ PARA CULTIVAR EL HONGO *Pleurotus ostreatus*¹

[WASTE PULP FROM *Agave spp* AND CORN LEAVES USED TO GROWTH THE MUSHROOM *Pleurotus ostreatus*]

Jasciel Chairez-Aquino, José Raymundo Enríquez-del-Valle[§], Judith Ruíz-Luna, Gisela Virginia Campos-Ángeles, Rosalva Martínez-García

Instituto Tecnológico del Valle Oaxaca (ITVO), Nazareno; Xoxocotlán, Oax., C.P. 71230. [§]Autor para correspondencia: (jenriquezdelvalle@yahoo.com)

RESUMEN

En Oaxaca, México, se producen 2.95 millones de litros de la bebida mezcal y generan 23.5 miles de t de fibra residual (bagazo), que conviene aprovechar como sustrato para el crecimiento de hongos comestibles. Se propuso un experimento con cinco tratamientos para evaluar el uso de bagazo de *Agave* y hojas secas de *Zea mays*, solos o combinados como sustrato para inocular y cultivar hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Las unidades experimentales fueron bolsas de polipapel transparentes (60 x 40 cm) con 2 kg de alguno de los sustratos pasteurizados-inoculados con el hongo. Los cultivos se incubaron durante 18 días en oscuridad y posteriormente 43 días bajo iluminación difusa, durante los cuales la invasión micelial, rendimiento de cuerpos fructíferos y eficiencia biológica se evaluaron. Los hongos inoculados en sustratos con mayores proporciones de bagazo de agave colonizaron este sustrato en 17 días. El hongo en sustrato de bagazo de *Agave*, en las mezclas de bagazo-hojas secas de maíz, y en sustrato de hojas secas de maíz, produjo 500.24, 531.67-617.83 y 752.37 g de cuerpos fructíferos, respectivamente. Cultivar hongos de *Pleurotus ostreatus* es una alternativa para usar el bagazo de agave acumulado en las inmediaciones de las destilerías de mezcal.

Palabras clave: *Agave angustifolia*, *Zea mays*, cultivo de hongos comestibles, sustratos.

ABSTRACT

In Oaxaca, Mexico, 2.95 million liters of the beverage mezcal are produced and 23.5 thousands of metric ton of waste pulp are generated, which could be used as substrate to growth edible mushroom. For that reason, the growth of the edible mushroom (*Pleurotus ostreatus*) inoculated in substrates containing waste pulp from *Agave* and dry corn leaves (*Zea mays* L.), alone or mixed was evaluated in an experiment with five treatments. The experimental units were transparent bags of polypaper (60 x 40 cm) containing 2 kg of pasteurized substratum, inoculated with the mushroom. Crops were incubated for 18 days at dark and after 43 days under diffused light, in which the micelial invasion, the yield of fructification bodies and the biological efficiency were evaluated. The mushroom inoculated in agave waste pulp completely

¹ Recibido: 27 de enero de 2015.

Aceptado: 14 de mayo de 2015.

colonized this substrate in 17 days and produced 500.24 g of fructification bodies which was less than the 531.67 to 617.83 g of fructifications bodies obtained in the mushroom inoculated in the bagasse- corn leaf mixtures, and the 752.37 g obtained in the substratum of corn leaves. Growing of edible mushroom of *Pleurotus ostreatus* is an alternative for use the residual fibers of agave accumulated in the surrounding areas of the mescal distilleries.

Index words: *Agave angustifolia*, *Zea mays*, growth of edible mushroom, substrates.

INTRODUCCIÓN

La elaboración de mezcal es la segunda actividad agroindustrial más importante que se realiza en el estado de Oaxaca, e involucra a siete distritos: Sola de Vega, Miahuatlán, Yautepec, Tlacolula, Ocotlán, Ejutla y Zimatlán (Ramales *et al.*, 2002), en donde anualmente se producen 2.95 millones de litros, que representan el 66% de la producción nacional (SAGARPA *et al.*, 2004) y generan 23.5 miles de t de fibra residual (bagazo), Una planta de maguey mezcalero *Agave angustifolia* se cosecha entre los siete a nueve años de cultivo, de la que se obtiene una piña (tallo y base de las hojas en roseta) que pesa 80.87 kg con 21.16% de azúcares reductores totales, en base a peso fresco (Cruz-García *et al.*, 2013).

En el proceso artesanal se usan en promedio 10 kg de materia prima de agave y se generan aproximadamente de 6-8 kg de bagazo húmedo por cada litro de la bebida (SAGARPA *et al.*, 2004). El bagazo de agave es una fibra de color café, con olor característico a mezcal. Está compuesto de celulosa (59.3%), lignina (17.2%) y hemicelulosa (15.4%), que le confiere características de gran resistencia a la degradación por los microorganismos presentes de manera natural en el ambiente (Platt *et al.*, 1984).

Este material que se acumula sin tratar en las inmediaciones de las destilerías, contamina el ambiente; además, ocurre la proliferación de roedores, insectos plaga, bacterias y hongos microscópicos. Parte del bagazo de maguey se le utiliza como combustible en las destilerías, otra parte se suele mezclarlo con abono orgánico y tierra arcillosa, para elaborar adobes. Sin embargo, en los usos anteriores sólo se ocupa el 10% del bagazo. También es común que el bagazo parcialmente descompuesto se distribuya en los campos de cultivo. Se considera que este recurso que tiene un costo de adquisición, se podría utilizar para obtener otros productos que beneficien a las comunidades campesinas.

Los hongos del género *Pleurotus* son basidiomicetos de pudrición blanca, con alto valor nutricional, propiedades terapéuticas y diversas aplicaciones biotecnológicas. *Pleurotus ostreatus* tiene la capacidad de crecer en material vegetal pues sintetiza enzimas que degradan grandes polímeros como celulosa, lignina y hemicelulosa (Martínez- Carrera. 1984; Manjarrés *et al.*, 2010), por lo que Guzmán *et al.* (1993) y Romero *et al.* (2010) consideran a la biotecnología de hongos comestibles como una opción con amplias perspectivas para producir alimentos de alto valor calórico a partir de esquilmos y residuos agroindustriales.

Por lo anterior, la presente investigación tuvo el objetivo de evaluar el cultivo de *P. ostreatus* al inocularlo en bagazo de agave sólo o combinado con hojas secas de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el cepario y la planta piloto de producción de hongos comestibles del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO), en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, a los 17° 00' de latitud Norte, 96° 46' de longitud Oeste y 1650 msnm (INEGI, 2001). La cepa de *P. ostreatus* estaba conservada en cajas Petri de 90 x 10 mm, de vidrio, estériles, con medio de extracto de malta y agar (EMA) (BIOXON, EUA) e incubados a 25 °C en el laboratorio de hongos comestibles e identificada en el herbario etnomicológico “Teofilo Herrera” del ITVO. Después de 20 días de incubación en el medio citado, el micelio producido se inoculó en 100 g de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) esterilizadas en autoclave contenidas en frascos de vidrio de 15 cm de alto x 8 cm de diámetro y 753 cm³ de capacidad; y estos cultivos se incubaron por 18 días en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente de 18 a 25 °C.

El bagazo de maguey se obtuvo en una destilería de mezcal, en la comunidad de San Baltazar Chichicapam, Ocotlán de Morelos, Oaxaca. Las hojas secas de maíz se colectaron posterior a la cosecha de mazorcas en una parcela de la misma comunidad. El bagazo fue lavado en tres ocasiones sucesivas con agua potable y posteriormente fue inmerso durante 20 h en una solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3%, para eliminar los azúcares adheridos a las fibras y reducir condiciones propicias para la proliferación de microorganismos no deseados.

Las hojas secas de maíz sólo se sometieron a un lavado previo con agua potable y cortaron en segmentos que no sobrepasaron los 10 cm de longitud, para facilitar su invasión por el micelio. Los sustratos ya lavados, se sometieron por separado a pasteurización para eliminar algunos microorganismos: hongos y bacterias, que competirían con el hongo de interés; además, éste proceso propició la hidratación del sustrato. La pasteurización consistió en sumergir por separado estos materiales en agua a temperatura 80 °C, durante 60 min. El material pasteurizado se colocó en una mesa estéril donde se enfrió y escurrió el exceso de agua. Se prepararon cinco sustratos: 1) bagazo de agave (BA); 2) Hojas secas de maíz (HM); 3) 50% BA- 50% HM; 4) 75% BA- 25% HM; 5) 25% BA- 75% HM.

Posteriormente, se metieron 2 kg de sustrato en cada bolsa de polipapel de 60 x 40 cm previamente esterilizadas en autoclave a 121°C durante 15 min. La inoculación del sustrato se realizó en condiciones asépticas proporcionadas por una cámara de aire filtrado de flujo laminar horizontal y el uso de mecheros de alcohol. En cada bolsa de polipapel con alguno de los sustratos, se distribuyeron uniformemente 120 g de inóculo (semilla de trigo con micelio del hongo) y se cerró herméticamente la bolsa.

La unidad experimental fue una bolsa con sustrato y se tuvieron siete repeticiones por sustrato. Los sustratos inoculados se ubicaron en un recinto de 3×3 m y 2.7 m de altura, muros de mampostería y techado de lámina galvanizada, en donde se incubaron durante 18 días en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente de 21 a 26 °C. Transcurrido este tiempo de incubación las bolsas se colocaron colgantes en estructuras de madera y estuvieron expuestas a radiación solar difusa, entre 11 y 12 h por día. Cuando se observó el surgimiento de primordios (generación de puntos de crecimiento) a través del abultamiento del micelio, a las bolsas se realizaron cortes longitudinales de 2 a 5 cm en los lugares que coincidían con los primordios para así favorecer el intercambio gaseoso y el crecimiento de los cuerpos fructíferos.

Durante el crecimiento y desarrollo de cuerpos fructíferos, se aplicaron mediante un atomizador tres riegos al día, con agua previamente esterilizada en autoclave a 121 °C, durante 15 min. La cosecha de cuerpos fructíferos maduros se realizó cuando el borde del píleo estaba totalmente extendido y exponiendo sus láminas que liberaban esporas. Se realizaron cosechas en tres fechas, a los 23, 41 y 61 días posteriores a la inoculación del sustrato. A partir de la inoculación del sustrato y hasta la primer cosecha, se evaluó la invasión micelial (porcentaje de sustrato colonizado). Y en cada una de las tres cosechas se determinó el rendimiento (g) y la eficiencia biológica (EB) (el cociente del peso de los hongos frescos dividido entre el peso seco del sustrato, expresado en porcentaje).

El experimento se estableció según un diseño completamente al azar. Los datos se sometieron a análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Para la rutina de análisis estadístico se utilizó el programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ya que el bagazo de agave y de las hojas secas de maíz tienen de 14 a 17% de lignina, que es un componente utilizado selectivamente como alimento por los hongos *Pleurotus* spp. (Manjarrés *et al.*, 2010) en el presente trabajo, el micelio de *P. ostratus* se adaptó y colonizó totalmente el volumen de cualquiera de los sustratos entre 17 y 18 días posteriores a la inoculación. Los análisis de varianza (Cuadro 1) mostraron que los cinco sustratos tuvieron efectos diferentes significativos ($P \leq 0.05$) en el rendimiento de cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* obtenidos en cada uno de las tres cosechas realizadas.

Cuadro 1. Análisis de varianza de la producción de cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*.

		<u>Cuadrados medios y significancia</u>				
		1er cosecha	2a cosecha	3er cosecha	Total	EB
F.V.	G.L.					
Tratamiento	4	9085.1893*	8405.736**	7780.269**	71681.158**	4792.095**
Error	30	2799.2732	1273.697	1014.038	3289.494	74.001
Total	34					

F.V.= fuentes de variación; G.L.= grados de libertad; *= $P \leq 0.05$; **= $P \leq 0.01$; EB= eficiencia biológica.

En los sustratos de hojas de maíz, mezclas de hojas de maíz- bagazo de agave, y bagazo de agave el hongo alcanzó mayor, intermedio y menor rendimiento de cuerpos fructíferos, respectivamente. En todos los sustratos se observó que en la primer cosecha se obtuvo entre el 44 y el 50% del rendimiento, en la segunda cosecha se obtuvo entre 30 y 33% del rendimiento y en la tercer cosecha ocurrió entre 17 y 22% del rendimiento total (Cuadro 2), lo cual coincide con datos reportados por Bernabé-González *et al.* (2004), quienes al cultivar una cepa de *P. pulmonaris*, se registró que en las primeras dos cosechas se obtuvo entre el 72 y el 87% de la producción total.

En la primera, segunda y tercer cosechas y el total de las tres, se observó que en el sustrato de sólo hojas secas de maíz, se obtuvieron rendimientos de 332.01, 247.7, 172.61 y 752.37 g de cuerpos fructíferos, cantidades que fueron respectivamente 1.37, 1.48, 1.89 y 1.50 veces y

significativamente diferentes (Tukey, 0.05) a los rendimientos obtenidos en el hongo inoculado en el sustrato de bagazo de maguey. En los hongos inoculados en las mezclas de hojas de maíz y bagazo de agave se observó una tendencia a obtener mayores rendimientos de cuerpos fructíferos conforme se aumentó la proporción de hojas de maíz en la mezcla de sustrato (Cuadro 2).

Cuadro 2. Producción de cuerpos fructíferos en las tres cosechas realizadas, total y eficiencia biológica.

Sustrato		Rendimiento (g) y (% del total) de cuerpos fructíferos				EB
%BA	%HM	Cosecha 1	Cosecha 2	Cosecha 3	Total(g)	(%)
100 -	0	242.10 (48.4) b	167.12 (33.4) b	91.02 (18.2) b	500.24 c	65.4 d
0 -	100	332.06 (44.1) a	247.70 (33.0) a	172.61 (23.0) a	752.37 a	131.6 a
50 -	50	270.93 (50.1) ab	176.54 (32.7) b	93.83 (17.3) b	541.30 bc	82.6 c
75 -	25	264.16 (49.6) ab	162.13 (30.4) b	105.39 (20.0) b	531.67 bc	74.3 cd
25 -	75	307.74 (50.0) ab	190.36 (31.0) b	119.72 (19.0) b	617.83 b	99.9 b
DMS		82.03	55.33	49.37	88.92	13.1

En cada columna medias con letras iguales no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05). BA= Bagazo; HM=hojas de maíz; EB= eficiencia biológica; DMS= Diferencia mínima significativa.

La eficiencia biológica (EB), se expresa como el peso fresco de los cuerpos fructíferos entre el peso seco del sustrato, multiplicado por 100 (Stamets, 1993) que indica la eficiencia del hongo en producir biomasa fresca por unidad de materia seca de sustrato (Martínez-Carrera, 1984). *Pleurotus ostreatus* ha sido cultivado en diversos materiales lignocelulósicos en que se obtienen variaciones de EB: pajas de trigo (EB= 129.3%), pajilla de frijol (EB= 82.9%), rastrojo de maíz (EB= 81.0%), hoja de plátano deshidratada (EB= 123.3%) (Romero *et al.*, 2010). En el presente trabajo, el análisis de varianza (Cuadro 1) mostró que el tipo de sustrato tuvo efectos altamente significativos ($P \leq 0.01$) sobre la eficiencia biológica de *P. ostreatus*.

Los hongos inoculados en el sustrato de hojas secas de maíz y la mezcla con mayor proporción de este mismo material (hojas secas de maíz 75% - 25% bagazo de agave) tuvieron 131.6% y 99.9% de EB, respectivamente, cantidades que fueron estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha=0.05$); así mismo, la EB de los hongos inoculados en las hojas de maíz fue superior y significativamente diferente a los 65.4% de EB que tuvieron los hongos inoculados en el bagazo de maguey mezcalero y a los 74.3 a 99.9% de EB que tuvieron los hongos inoculados en las diversas mezclas de bagazo de maguey con hojas secas de maíz (Cuadro 2).

La EB de los hongos inoculados en el bagazo de agave mezcalero fue superior 60% de EB obtenida en una cepa de *Pleurotus* sp. inoculada en bagazo de agave tequilero (Martínez-Carrera, 1984), estas diferencias podrían explicarse mediante una hipótesis a ser comprobada, a la condición diferente de los bagazos resultantes del proceso de elaboración de las bebidas destiladas, pues en el proceso de elaboración artesanal de mezcal en Oaxaca, las fibras son sometidas al proceso de cocción y están presentes durante la fermentación de los azúcares e incluso durante la destilación, condiciones que consecutivamente debilitan las estructuras lignocelulósicas y facilitan la invasión micelial. Mientras que en el proceso industrial de elaboración del tequila, las fibras están presentes durante la etapa de cocción de las piñas, pero el bagazo es separado de los azúcares antes de que estos sean sometidos a fermentación.

CONCLUSIONES

El bagazo de maguey mezcalero es un material adecuado en su uso como sustrato para el cultivo del hongo *P. ostreatus*, lográndose una mejor producción y eficiencia biológica si se combina con hojas secas de maíz en una mayor proporción. Por lo que, su uso en el cultivo de hongos comestibles puede reducir notablemente la acumulación actual de las fibras residuales del agave (bagazo) en las agroindustrias del mezcal.

LITERATURA CITADA

- Bernabé-González, T., M. Cayetano-Catarino, A. Adán-Díaz y M. A. Torres-Pastrana. 2004. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero, México. *Revista Mexicana de Micología* 18: 77-80.
- Cruz-García, H., J.R. Enríquez-del Valle, V.A. Velasco-Velasco, J. Ruíz-Luna, G.V. Campos-Ángeles, D.E. Aquino-García. 2013. Nutrimientos y carbohidratos en plantas de *Agave angustifolia* Haw. y *Agave karwinskii* Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 1161-1173.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos. 1993. El Cultivo de hongos comestibles con especial atención a especies tropicales y subtropicales. IPN. México D.F. 245 p.
- INEGI. 2001. Anuario estadístico del estado de Oaxaca. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, D.F. 640 p.
- Manjarrés, K., A. Castro y E. Rodríguez. 2010. Producción de lactasa utilizando *Pleurotus ostreatus* sobre cáscaras de plátano y bagazo de caña. *Revista Lasallista de Investigación* 7(2): 9-15.
- Martínez-Carrera, M. 1984. Perspectiva sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 19: 207-219.
- Platt, M. W., Y. Hadar and I. Chet. 1984. Fungal activities involved in lignocelluloses degradation by *Pleurotus*. *Appl. Microbiol Biotecnology*. 20: 150-154.
- Ramales, O., C. Martin y R. M. Barragan. 2002. Industria del mezcal y la economía oaxaqueña. *In: Observatorio de la Economía Latinoamericana*. pp: 4-7.
- Romero, O., M. Huerta, M. A. Damian, A. Macias, A. M. Tapia, J. F. C. Paraguirre y J. Juárez. 2010. Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L. cv. Roatán) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. *Agronomía Costarricense* 34: 53- 63.
- SAGARPA, Gobierno del Estado de Oaxaca y Consejo Oaxaqueño del Maguey y Mezcal A.C. 2004. Diagnóstico de la cadena productiva del sistema producto maguey-mezcal. Oaxaca, México. 213 p.
- SAS Institute. 1999. SAS/STAT User's guide volume 2 version 8.0. SAS Institute Inc. Cary, N.C. USA. pp. 130- 185.
- Stamets, P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushroom. Ed 10. Speed Press. California. pp: 55-57.