

PRODUCTIVIDAD Y ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE *Pleurotus* spp. CRECIDOS SOBRE BAGAZO DE *Agave salmiana* COMO SUSTRATO ALTERNATIVO

PRODUCTIVITY AND PROXIMATE CHEMICAL ANALYSIS OF *Pleurotus* spp. GROWN ON *Agave salmiana* BAGASSE AS AN ALTERNATIVE SUBSTRATE

Montserrat **España-Rodríguez**¹, Edna María **Hernández-Domínguez**¹, Brianda Susana **Velázquez-De Lucio**¹,
Matilde **Villa-García**¹, Jorge **Álvarez-Cervantes**^{1*}

¹Universidad Politécnica de Pachuca, Carr. Pachuca-Cd. Sahagún km 20, Ex Hacienda de Santa Bárbara, Zempoala, Hidalgo, 43830 México. (jorge_ac85@upp.edu.mx).

RESUMEN

El bagazo de *Agave salmiana* es un subproducto de la elaboración de bebidas alcohólicas (pulque, mezcal), extracción de inulina o de agua miel, el cual puede aprovecharse para el cultivo de hongos comestibles. Con la hipótesis de que la característica química del bagazo de agave permite el crecimiento de *Pleurotus* spp. sin afectar valor nutricional; el objetivo de esta investigación fue estimar eficiencia biológica, tasa de productividad y obtener el análisis químico proximal de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus* crecidos sobre bagazo de *Agave salmiana* como sustrato alternativo al comercial. Para el estudio *Pleurotus* sp. se recuperó de crecimiento natural sobre *A. salmiana* y *P. ostreatus* de una cepa comercial; para el cultivo se utilizó bagazo del agave y paja de cebada como control. De los cuerpos fructíferos obtenidos se determinó la composición química proximal, eficiencia biológica y tasa productiva de ambos hongos, así como el análisis proximal del bagazo de agave antes y después del cultivo. Los datos se analizaron con la prueba de Student con probabilidad de error en $p \leq 0.05$. El hongo aislado de *A. salmiana* presentó características morfológicas propias del género *Pleurotus*. El bagazo de maguey pulquero presentó 0.52% de nitrógeno total y 3.28% de proteína cruda y estos valores aumentaron (0.59, 3.72%) después del cultivo. En *Pleurotus* sp. la eficiencia biológica y tasa productiva fue mayor ($p \leq 0.05$) en fibra de maguey (52.30%, 0.87% d⁻¹); mientras *P. ostreatus* resultó más productivo (59.69%, 0.99% d⁻¹) sobre paja de cebada. El análisis químico proximal de los hongos mostró valores favorables respecto a los valores de referencia del género *Pleurotus*; el contenido de proteína cruda de *P. ostreatus* fue 18.19% y 24.04% en *Pleurotus* sp. El bagazo de maguey pulquero mostró que posee características químicas que satisfacen y

ABSTRACT

Agave salmiana (Maguey pulquero) bagasse is a by-product of the production of alcoholic beverages (mezcal and pulque), extraction of inulin or the honey-water mead, which can be used for the cultivation of edible fungi. With the hypothesis that the chemical characteristic of agave bagasse allows the growth of *Pleurotus* spp. without affecting nutritional value, the objective of this research was to estimate biological efficiency, productivity rate and to obtain the proximate chemical analysis of *Pleurotus* sp. and *Pleurotus ostreatus* grown on *Agave salmiana* bagasse as an alternative to the commercial substrate. For the study, *Pleurotus* sp. was collected from natural growth on *A. salmiana* and *P. ostreatus* from a commercial strain; agave bagasse was used for cultivation, and barley straw as the control. From the fruiting bodies obtained, the proximate chemical composition, biological efficiency and productive rate of both fungi were determined, as well as the proximate analysis of the agave bagasse before and after cultivation. Data were analysed with Student's test with probability of error at $p \leq 0.05$. The fungus isolated from *A. salmiana* exhibited morphological characteristics typical of the *Pleurotus* genus. The agave bagasse presented 0.52% total nitrogen and 3.28% crude protein, and these values increased (0.59, 3.72%) after cultivation. In *Pleurotus* sp., the biological efficiency and productive rate was higher ($p \leq 0.05$) on maguey fibre (52.30%, 0.87% d⁻¹); while *P. ostreatus* was more productive (59.69%, 0.99% d⁻¹) on barley straw. The proximate chemical analysis of the fungi showed favourable values in regard to the reference values of the *Pleurotus* genus; the crude protein content of *P. ostreatus* was 18.19% and 24.04% in *Pleurotus* sp. The agave bagasse showed that it possesses chemical characteristics that satisfy and allow the development of the *Pleurotus* genus and it is suitable to be used as an alternative substrate.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0379-5588>

Recibido: enero, 2021. Aprobado: septiembre, 2021.

Publicado en *Agrociencia* 55: 569-581. 2021.

Key words: chemical composition, biological efficiency, fruiting, edible fungi, *Agave salmiana*, *Pleurotus ostreatus*.

permiten el desarrollo del género *Pleurotus*, y es apto para su uso como sustrato alternativo.

Palabras clave: composición química, eficiencia biológica, fructificación, hongos comestibles, *Agave salmiana*, *Pleurotus ostreatus*.

INTRODUCCIÓN

En el mundo existe una diversidad extensa de hongos comestibles; se estima un total de 1500 000 a 2 500 500 especies, de las cuales se conoce menos del 5% y la mayor parte de ellas no se ha identificado. En los hongos comestibles se reconoce su contenido energético y calidad nutricional alta, facilidad de producción y distribución. En 2013, se estimó un promedio de 4.78 kg per cápita de hongos consumidos al año. Los países asiáticos son los productores principales, seguidos de Europa y América (Sánchez y Royse, 2017). Alrededor del mundo se cultivan unas 30 especies de hongos, pero pocas dominan el mercado actual. Los más cultivados son el champiñón (*Agaricus bisporus*), el shiitake (*Lentinula edodes*) y las setas (*Pleurotus* spp.) (Andrade *et al.*, 2012).

Los hongos comestibles figuran como alimentos funcionales debido a sus características nutricionales y actividad específica dentro del organismo. Además, sirven como fuente de ingreso económico que apoya el desarrollo de las comunidades rurales, las cuales tienen participación clave en la recolección, venta y consumo. *Pleurotus* spp. incluye a los hongos comestibles con demanda mayor a nivel mundial en la actualidad, por su aporte nutricional, su valor económico alto y su periodo de crecimiento corto. El género pertenece a la clase *Basidiomycota*, los cuales crecen en sustratos lignocelulósicos no compostados y producen micelios blancuzcos característicos (Barba *et al.*, 2019).

Para su cultivo es necesario que los sustratos posean un gran aporte de lignina, hemicelulosa y celulosa, para permitir el crecimiento micelial. Algunos subproductos agroindustriales (bagazo de agave, caña y pajas o rastrojos) son ricos en carbono, carbohidratos, nitrógeno, minerales, vitaminas, entre otros polímeros; lo cual favorece su uso. Además, el sustrato adecuado debe contar con disponibilidad y continuidad, ser de fácil acceso, manejo, transporte y tener costo asequible (Kamthan y Tiwari, 2017).

INTRODUCTION

There is an extensive diversity of edible fungi in the world; an estimated total of 1 500 000 to 2 500 500 species, out of which less than 5% are known and most of them have not been identified. Edible fungi are recognized for their energy content and high nutritional quality, ease of production and distribution. In 2013, an average per capita of 4.78 kg of fungi consumed per year was estimated. Asian countries are the main producers, followed by Europe and America (Sánchez y Royse, 2017). Around the world, about 30 species of fungi are cultivated, but few dominate the current market. The most cultivated are button mushrooms (*Agaricus bisporus*), shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) (Andrade *et al.*, 2012).

Edible fungi are listed as functional foods due to their nutritional characteristics and specific activity inside the human body. In addition, they serve as a source of economic income that supports the development of rural communities, which play a key role in the collection, sale and consumption. *Pleurotus* spp. are among the edible fungi currently in greatest demand worldwide, due to their nutritional value, high economic value and short growing period. The genus belongs to the *Basidiomycota* class, which grow on non-composted lignocellulosic substrates and produce characteristic whitish mycelia (Barba *et al.*, 2019).

For their cultivation, it is necessary that the substrates have a high contribution of lignin, hemicellulose and cellulose, to allow mycelial growth. Some agro-industrial by-products (agave bagasse, sugarcane and straw or stubble) are rich in carbon, carbohydrates, nitrogen, minerals, vitamins, among other polymers, which favours their use. In addition, the appropriate substrate must be continuously available, easily accessible, manageable, transportable and affordable (Kamthan and Tiwari, 2017).

The most commonly used are wheat and rice straws, sawdust, hardwood chips, sugarcane bagasse, cottonseed hulls, corn cobs, rice and wheat bran (Kazemi *et al.*, 2016). However, another substrate with potential characteristics for fungi cultivation is the bagasse from *Agave* (Heredia-Solís *et al.*, 2017). Among its main advantages is its annual availability, high fibre and nitrogen content (Delgadillo *et al.*, 2015).

Los más utilizados son las pajas de trigo y arroz, aserrín, astillas de madera dura, bagazo de caña de azúcar, cascos de semilla de algodón, mazorcas de maíz, arroz y salvado de trigo (Kazemi *et al.*, 2016). Sin embargo, otro sustrato con características potenciales para el cultivo de hongos es el bagazo de *Agave* (Heredia-Solís *et al.*, 2017). Entre sus ventajas principales está la disponibilidad anual, contenido alto de fibra y nitrógeno (Delgadillo *et al.*, 2015).

Con la hipótesis de que la característica química del sustrato de *A. salmiana* permitiría el crecimiento de hongos *Pleurotus* spp., el objetivo de este estudio fue estimar la productividad (eficiencia biológica y tasa productiva) y obtener el análisis químico proximal de hongo *Pleurotus* sp. y una cepa de *Pleurotus ostreatus* crecidos sobre bagazo de *Agave salmiana* como sustrato alternativo al comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Las cepas que se usaron para el presente trabajo se obtuvieron en el estado de Hidalgo; *Pleurotus* sp. recuperada de maguey pulquero (*A. salmiana*) ubicado en el municipio de Chilcuaatla (20° 20' 00" N 99° 14' 00" O), y *P. ostreatus* donada por un productor.

Aislamiento y purificación de las cepas

El aislamiento de *Pleurotus* sp. de *A. salmiana*, se realizó con el corte de fragmentos del carpóforo (2.0 cm²), los cuales se sometieron a una serie de lavados en agua destilada (5 min), alcohol al 70% (3 min), agua destilada (1 min), hipoclorito al 10% (2 min) y agua destilada (1 min), en este último paso se eliminó el exceso de agua.

La siembra se realizó en cajas Petri con medio de cultivo de agar papa-dextrosa (PDA, BIOXON) y se incubó a 28 °C hasta que el micelio del hongo cubrió el medio. La cepa de *P. ostreatus* comercial se recibió pura y conservada en medio PDA y se propagó con el mismo método. Cada 28 d se realizó resiembra periódica de las dos cepas en medio PDA.

Caracterización macroscópica y microscópica

Las cepas en medio PDA se examinaron en sus características cualitativas, para registrar color, textura, densidad y presencia de micelio aéreo (Sobal *et al.*, 2007). Además de un análisis microscópico con técnicas de micro cultivo (Rojas, 2011).

With the hypothesis that the chemical characteristics of the *A. salmiana* substrate would allow the growth of *Pleurotus* spp. fungi, the objective of this study was to estimate the productivity (as biological efficiency and production rate) and to obtain the proximate chemical analysis of *Pleurotus* sp. fungi and a strain of *Pleurotus ostreatus* grown on *Agave salmiana* bagasse as an alternative to the commercial substrate.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

The strains used for this work were obtained in the state of Hidalgo; *Pleurotus* sp. was collected from maguey (*A. salmiana*) located in the municipality of Chilcuaatla (20° 20' 00" N 99° 14' 00" W), and *P. ostreatus* was donated by a producer.

Isolation and purification of strains

The isolation of *Pleurotus* sp. from *A. salmiana* was made by cutting fragments of the carpophore (2.0 cm²), which were washed repeatedly in distilled water (5 min), 70% alcohol (3 min), distilled water (1 min), 10% hypochlorite (2 min) and distilled water (1 min), in this latter step the water excess was eliminated.

Inoculation was done in Petri dishes with potato-dextrose agar culture medium (PDA, BIOXON) and incubated at 28 °C until the mycelium of the fungus covered the medium. The commercial *P. ostreatus* strain was received pure and preserved on PDA medium and propagated by the same method. Periodic inoculations of the two strains on PDA medium were performed every 28 d.

Macroscopic and microscopic characterization

The strains on PDA medium were examined for their qualitative characteristics, to record colour, texture, density and presence of aerial mycelium (Sobal *et al.*, 2007). In addition to a microscopic analysis with microculture techniques (Rojas, 2011).

Seeding procurement

Wheat and sorghum seeds were used to propagate *Pleurotus* spp. and *P. ostreatus* strains. The seeds were washed 3 times and hydrated in distilled water for 12 h, the water excess was drained,

Obtención de semilla

Para la propagación de las cepas de *Pleurotus* spp. y *P. ostreatus* se utilizó semilla de trigo y sorgo. Las semillas se lavaron 3 veces e hidrataron en agua destilada por 12 h, se drenó el excedente de agua, y 150 g se envasaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Cada matraz se llevó a esterilización en autoclave por 15 min, y se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Las cepas de las muestras en estudio se inocularon en condiciones asépticas y se incubaron a 28 °C hasta que el micelio de las cepas cubrió las semillas.

Preparación del sustrato

La paja de cebada se remojó en agua destilada por 3 h y se sometió a pasteurización por 2 h en temperaturas entre 80 y 90 °C. El bagazo de *A. salmiana* se le lavó con agua destilada y secó a 55 °C durante 3 d, transcurrido el tiempo se siguió el mismo proceso que con la paja. Al término de la pasteurización los sustratos se dejaron enfriar y se drenó el agua.

Inoculación del sustrato

En bolsas de polietileno transparentes de 25×35 cm se añadieron 500 g de sustrato con una humedad del 75% y 150 g de semilla inoculada. El aire se extrajo y se cerraron las bolsas con cordel; se realizaron perforaciones múltiples con un bisturí estéril. Las bolsas se incubaron a 28 °C en oscuridad, hasta que el micelio cubrió al sustrato.

Crecimiento, fructificación y cosecha

Al brotar los primordios las bolsas se transfirieron a un área aislada y acondicionada; ventilada, libre de contaminantes, con características óptimas de temperatura, luz y humedad para el crecimiento de los cuerpos fructíferos. Durante el desarrollo de las setas se regó las bolsas con agua destilada 2 veces por día. Una vez que se presentó la fructificación se realizó la cosecha periódica de los hongos a través de cortes con un bisturí a los 30 y 60 d de cultivo.

Evaluación de la cosecha

Después de la cosecha de los hongos en estudio se analizó la eficiencia biológica (EB) y la tasa de productividad (TP) con las estimaciones de Vega y Franco (2013).

La EB se determinó con la fórmula siguiente:

$$EB(\%) = \frac{P_f}{P_s} \times 100\% \quad (1)$$

and 150 g were packed into 250 mL Erlenmeyer flasks. Each flask was autoclaved for 15 min and allowed to cool at room temperature. The strains of the study samples were inoculated under aseptic conditions; they were incubated at 28 °C until the mycelium of the strains covered the seeds.

Substrate preparation

The barley straw was soaked in distilled water for 3 h and subjected to pasteurization for 2 h at temperatures between 80 and 90 °C. The *A. salmiana* bagasse was washed with distilled water and dried at 55 °C for 3 d, after that time the same process was followed as with the straw. At the end of pasteurization, the substrates were allowed to cool, and the water was drained.

Substrate inoculation

In 25×35 cm transparent polyethylene bags, 500 g of substrate with 75% of moisture content and 150 g of inoculated seed were added. Air was removed and the bags were closed with string; multiple punctures were made with a sterile scalpel. The bags were incubated at 28 °C in the dark until the mycelium covered the substrate.

Growth, fruiting and harvesting

When the primordia sprouted, the bags were transferred to an isolated and conditioned area; ventilated, free of contaminants, with optimal temperature, light and ambient humidity for the growth of the fruiting bodies. During fungi development, the bags were watered with distilled water twice a day. Once fructification occurred, the fungi were periodically harvested by cutting them with a scalpel at 30 and 60 d of cultivation.

Harvest evaluation

After harvesting the fungi under study, the biological efficiency (EB) and productivity rate (TP) were analysed using the estimates of Vega and Franco (2013).

The EB was determined with the following formula:

$$EB(\%) = \frac{P_f}{P_s} \times 100\% \quad (1)$$

where:

P_f = weight of fresh fungus;

P_s = weight of dry substrate.

Whereas the TP was determined as:

donde:

P_F = Peso del hongo fresco;

P_S = Peso del sustrato seco

En tanto que la TP se determinó por medio de:

$$TP = \frac{EB(\%)}{D} \quad (2)$$

donde:

D = Número de días totales del proceso de fructificación.

Análisis químico proximal de los hongos

Los cuerpos fructíferos de los hongos se deshidrataron a 55 °C por 2d y se molieron. Las determinaciones realizadas fueron humedad (H) (método 930.15), nitrógeno total (NT) y proteína cruda (PC) (método 955.04 adaptado), extracto etéreo (EE) (método 920.39) y cenizas (C) (método 942.05), de acuerdo con el manual de la AOAC (1990).

Materia Seca (MS)

La cantidad de materia seca se determinó con la ecuación siguiente a partir de la relación con los valores de contenido de humedad de las muestras.

$$MS (\%) = 100\% - H(\%) \quad (3)$$

Materia Orgánica (MO)

La estimación de MO fue a partir del porcentaje de MS resultante en (3) y cenizas de las determinaciones para cada sustrato.

$$MO (\%) = MS (\%) - C(\%) \quad (4)$$

Caracterización fisicoquímica del sustrato degradado

El bagazo se lavó y luego deshidrató a 55 °C durante 3d. El sustrato postcosecha se recolectó en porciones aleatorias de las bolsas, y deshidrató a 55 °C por 2d. Estas variables se determinaron: humedad (H) cenizas (C), proteína cruda (PC), nitrógeno total (NT) y extracto etéreo (EE), todas con base en materia seca y siguiendo los métodos en AOAC (1990).

Análisis estadístico

Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Los resultados se analizaron con ANDEVA de una sola vía; y las medias

$$TP = \frac{EB(\%)}{D} \quad (2)$$

where:

D = Number of total days of the fruiting process.

Proximate chemical analysis of fungi

The fruiting bodies of the fungi were dehydrated at 55 °C for 2d and ground. The determinations were humidity (H) (method 930.15), total nitrogen (NT) and crude protein (PC) (method 955.04 adapted), ethereal extract (EE) (method 920.39) and ash (C) (method 942.05), according to the AOAC manual (1990).

Dry matter (MS)

The amount of dry matter was determined with the following equation from the relationship with the humidity content values of the samples.

$$MS (\%) = 100\% - H(\%) \quad (3)$$

Organic matter (MO)

The estimation of MO was based on the percentage of MS resulting in (3) and ash from the determinations for each substrate.

$$MO (\%) = MS (\%) - C(\%) \quad (4)$$

Physicochemical characterization of the degraded substrate

Bagasse was washed and then dehydrated at 55 °C for 3d. The post-harvest substrate was collected in random portions from the bags and dehydrated at 55 °C for 2d. These variables were determined: humidity (H) ash (C), crude protein (PC), total nitrogen (NT) and ethereal extract (EE), all on a dry matter basis and following the methods in AOAC (1990).

Statistical analysis

All tests were performed in triplicate. The results were analysed with one-way ANOVA; and statistically significant means were compared with the Student's test (t , $p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Fungi of the *Pleurotus* genus are characterized by their growth on wood and lignocellulosic substrates.

estadísticamente significativas se compararon con la prueba de Student (t , $p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hongos del género *Pleurotus* se caracterizan por su crecimiento en madera, y en sustratos lignocelulósicos. Sin embargo, también se les encontró en otras fuentes no convencionales como las pencas de maguey. Los hongos se desarrollan sobre las hojas a ras de suelo, cerca de la base de éstas y sobre la cavidad de los agaves agotados (Heredía-Solís *et al.*, 2017).

En este estudio, el hongo aislado de *A. salmiana* presentó características morfológicas propias del género. El cuerpo fructífero de *Pleurotus* sp. que se utilizó para el aislamiento de la cepa creció en *A. salmiana* (Figura 1).

Las muestras presentaron un micelio aéreo abundante, blanquecino, con textura aterciopelada o algodonosa (Figura 2).

La observación microscópica de los especímenes mostró la estructura típica del grupo de los *Basidiomycota* al cual pertenece el género *Pleurotus*, sus hifas se encuentran septadas, son de aspecto áspero, con la presencia de un solo núcleo (Figura 3). Lo cual coincide con descripciones de estructuras microscópicas de otros *Pleurotus* spp. que presentan hifas septadas, haploides monocarióticas, esporas cilíndricas a elipsoides, además de tener paredes delgadas y lisas (Tamboli *et al.*, 2018).



Figura 1. *Pleurotus* sp. recuperado de *Agave salmiana* del municipio de Chilcuautila, Hidalgo.

Figure 1. *Pleurotus* sp. collected from *Agave salmiana* in the municipality of Chilcuautila, Hidalgo.

However, they have also been found in other non-conventional sources such as maguey stalks. The fungi develop on leaves at ground level, near the base of the leaves and on the cavity of exhausted agaves (Heredía-Solís *et al.*, 2017).

In this study, the fungus isolated from *A. salmiana* presented morphological characteristics typical of the genus. The fruiting body of *Pleurotus* sp. that was

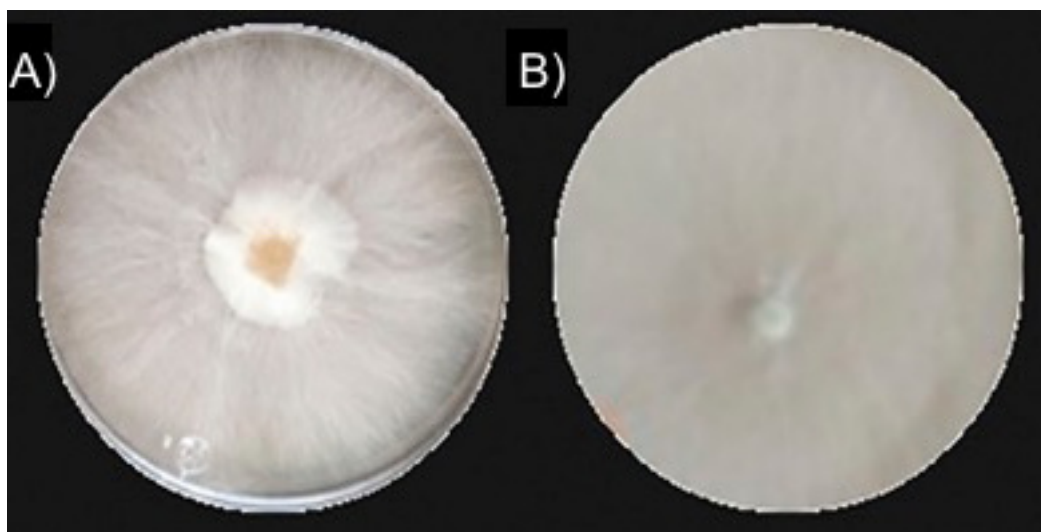


Figura 2. Cuerpo micelial de *Pleurotus* sp. (A) y *Pleurotus ostreatus* (B) cultivados en medio PDA.

Figure 2. Mycelial body of *Pleurotus* sp. (A) and *Pleurotus ostreatus* (B) grown on PDA medium.

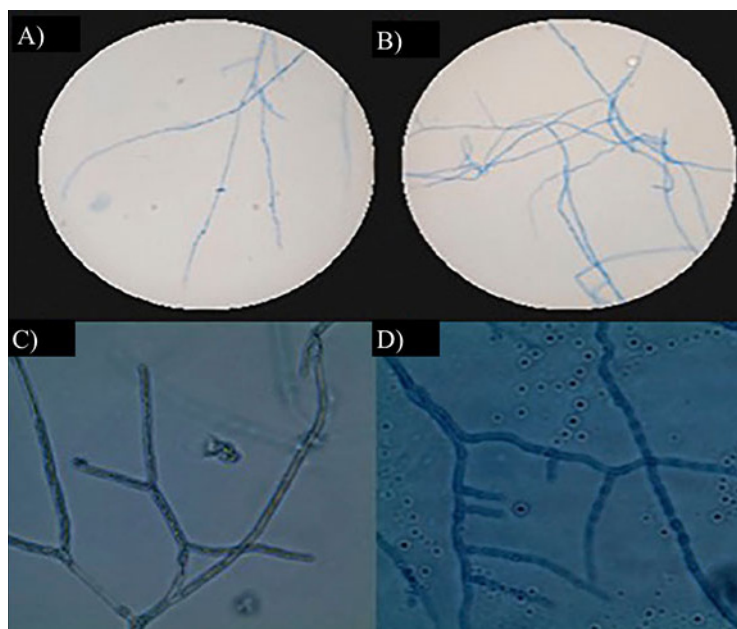


Figura 3. Estructuras microscópicas *Pleurotus* sp. (A, C) y *P. ostreatus* (B, D) aumento 40X y contraste de fases.
Figure 3. Microscopic structures *Pleurotus* sp. (A, C) and *P. ostreatus* (B, D) 40X magnification and phase contrast.

La composición fisicoquímica del bagazo de maguey en estudio presentó porcentajes de H de 13.42 y 6.51% (Cuadro 1). Heredia-Solís *et al.* (2014) y Heredia-Solís *et al.* (2017) encontraron H de 7.30 y 7.36% en bagazo de *A. salmiana*. Los porcentajes de C, EE y PC fueron similares a los informes previos. En referencia a C el intervalo es 6.58-12.93%; EE, entre 0.84-1.85% y PC de 3.17-3.32% (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

Los residuos de agave después del período de cultivo (60d), mostraron diferencias en su composición química respecto al sustrato inicial. Los cambios son notables debido a la interacción que existe entre la cepa y el sustrato. Además, la especie del hongo, el sustrato seleccionado y los nutrientes tienen un papel fundamental sobre los resultados de los análisis químicos. El bagazo de maguey pulquero cuenta con una composición química que permite el uso por este tipo de hongos, de lo cual existe evidencia para el género (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

La invasión del tipo de semilla que se utilizó en la obtención del inóculo primario ocurrió en tiempos diferentes. En trigo se necesitaron de 10 a 12 d y en sorgo de 12 a 16 d (Cuadro 2). Para la elaboración de los inóculos secundarios se usó trigo como semilla con el fin de optimizar el proceso. Este cereal tiene

used for isolation of the strain grew on *A. salmiana* (Figure 1).

The samples showed abundant aerial mycelium, whitish, with a velvety or cotton texture (Figure 2).

Microscopic observation of the specimens showed the typical structure of the group *Basidiomycota* to

Cuadro 1. Caracterización fisicoquímica (% MS) del bagazo de *A. salmiana* antes y después de la inoculación de los hongos.

Table 1. Physicochemical characterization (% DM) of *A. salmiana* bagasse before and after fungi inoculation.

% MS	Bagazo de maguey	Bagazo de maguey después del cultivo
H	13.42 a	6.51 b
C	9.03 a	12.92 b
EE	1.20 a	7.15 b
NT	0.52 a	0.59 a
PC	3.28 a	3.72 a

H: humedad; C: cenizas; EE: extracto etéreo; NT: nitrógeno total; PC: proteína cruda. Medias con letra diferente indican diferencia estadística en la prueba de Student (t ; $p \leq 0.05$). ♦ H: humidity; C: ash; EE: ethereal extract; NT: total nitrogen; PC: crude protein. Means with different letters indicate statistical difference in the Student's test (t ; $p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Tiempo de propagación del micelio de *Pleurotus* spp. y *Pleurotus ostreatus* sobre los medios inoculantes.**Table 2. Propagation time of *Pleurotus* spp and *Pleurotus ostreatus* mycelia on inoculant media.**

Cepa	Semilla	Tiempo de propagación micelio (d, días)
<i>Pleurotus</i> sp.	Trigo	12
	Sorgo	16
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Trigo	10
	Sorgo	12

vigor nutricional mayor debido a su contenido de almidones, que son cadenas de ruptura sencilla; además, su contenido de lignina y celulosa, junto con su capacidad de absorción de agua, favorece el crecimiento del micelio de hongos comestibles (Suárez y Holguín, 2011). Aunque el sorgo se encuentra entre los mejores cereales para la elaboración de los inóculos, tiene rendimiento menor que el trigo (Ríos *et al.*, 2010; Arana-Gabriel *et al.*, 2014).

El tiempo de fructificación (7-11 d) durante la experimentación (Cuadro 3) fue similar a los resultados de Ríos *et al.* (2010) en donde los primordios se presentaron entre los 10-12 d, y la fructificación dependió de la semilla utilizada y del metabolismo sobre los sustratos. Estos factores hacen normales las variaciones temporales durante las cosechas.

El esporocarpo de *P. ostreatus* presentó una coloración beige con tonos grisáceos, con tallos firmes, píleo convexo y de tamaño prominente, aroma agradable y característico de las setas (Figura 4a). En *Pleurotus* spp. (Figura 4b) se apreció una coloración blanca, con tallos firmes y sombreros de gran tamaño en forma convexa. Las características anteriores son típicas para el género, que de acuerdo con Gaitán-Hernández *et al.* (2006) son píleo típico en forma de “oreja” y estípite en colocación más lateral que céntrica. Sin embargo, se encontraron diferencias en las características organolépticas entre ambos. A pesar de que ambas cepas corresponden al género *Pleurotus*, según Barba *et al.* (2019) factores como el clima, tipo de sustratos, la procedencia y la especie de las cepas pueden ser determinantes en las disimilitudes.

El tiempo de cultivo fue de 60 d, en los cuales se obtuvieron los resultados sobre eficiencia biológica (EB) y tasa de productividad (TP) para cada hongo en cada sustrato probado. Los resultados de la EB

which the *Pleurotus* genus belongs, their hyphae were septate, rough in appearance, with the presence of a single nucleus (Figure 3). This matches the descriptions of microscopic structures from other *Pleurotus* spp. that present septate hyphae, monokaryotic haploid, cylindrical to ellipsoid spores, in addition to thin and smooth walls (Tamboli *et al.*, 2018).

The physicochemical composition of the maguey bagasse under study presented H percentages of 13.42 and 6.51% (Table 1). Heredia-Solís *et al.* (2014) and Heredia-Solís *et al.* (2017) found H of 7.30 and 7.36% in *A. salmiana* bagasse. The percentages of C, EE and PC were similar to previous reports. In regard to C, the range is 6.58-12.93%; EE, between 0.84-1.85% and PC of 3.17-3.32% (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

The agave residues after the cultivation period (60d), showed differences in their chemical composition compared to the initial substrate. The changes are remarkable due to the interaction between the strain and the substrate. In addition, the species of fungus, the selected substrate and nutrients, all have a fundamental role on the results of the chemical analysis. The agave bagasse has a chemical composition that allows the use by this type of fungi, as there is evidence for the genus (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

The invasion of the type of seed used to obtain the primary inoculum occurred at different times. In wheat, 10 to 12 d and in sorghum, 12 to 16 d were required (Table 2). For the elaboration of secondary inoculums, wheat was used as seed in order to optimize the process. This cereal has greater nutritional vigour due to starch content, which are single-break chains. In addition, lignin and cellulose content, together with water absorption capacity,

Cuadro 3. Periodo de fructificación de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus*.**Table 3. Fruiting period of *Pleurotus* sp and *Pleurotus ostreatus*.**

Cepa	Sustrato	Tiempo de la fructificación (d, días)
<i>Pleurotus</i> sp.	Fibra de maguey	7
	Paja de cebada	11
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fibra de maguey	11
	Paja de cebada	9

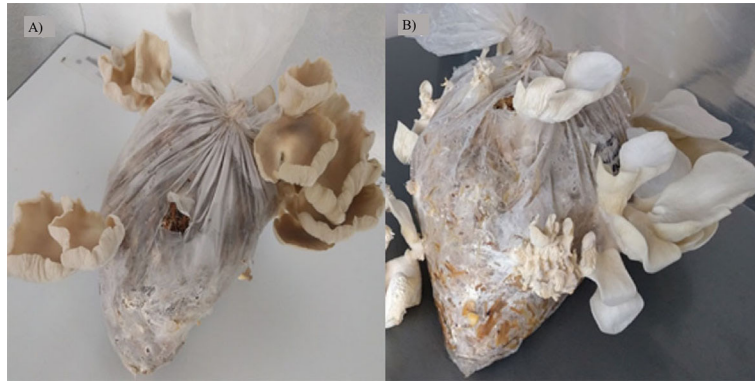


Figura 4. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (A) y *Pleurotus* sp. (B).
Figure 4. Fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* (A) and *Pleurotus* sp. (B).

para los hongos en estudio presentaron un porcentaje similar en los sustratos utilizados y entre ellos, que se mantuvo de 48 a 59%. En el caso de *Pleurotus* spp. la EB fue mayor en fibra de maguey (con 52.3%); mientras *P. ostreatus* obtuvo 59.69% en paja de cebada, la TP respectiva a esos valores de EB fue 0.87% d⁻¹ y 0.99% d⁻¹, en *Pleurotus* spp. y *P. ostreatus* (Cuadro 4).

En este estudio los porcentajes obtenidos en EB resultaron intermedios respecto a los de referencia comercial, de acuerdo con el sustrato usado y la TP máxima correspondiente (0.87% d⁻¹ para la fibra de maguey y 0.99% d⁻¹ para la paja de cebada), por lo que se puede sugerir su uso como sustrato para el cultivo de la seta. Además, se debe considerar que en este trabajo el bagazo de maguey no fue suplementado

favour the growth of edible fungal mycelia (Suárez y Holguín, 2011). Although sorghum is among the best cereals for inoculum processing, it attains lower fungi yields than wheat (Ríos *et al.*, 2010; Arana-Gabriel *et al.*, 2014).

Fruiting time (7-11 d) during the experiment (Table 3) was similar to the results of Ríos *et al.* (2010), where primordia were present between 10-12 d, and fruiting depended on the seed used and the metabolism on the substrates. These factors make those temporal variations during harvests appear as normal.

The *P. ostreatus* sporocarp exhibited a beige coloration with greyish tones, firm stems, convex pileus and prominent size, a pleasant aroma and characteristics of oyster mushrooms (Figure 4a). In *Pleurotus* spp. (Figure 4b), a white coloration was observed with firm stems and large convex caps. The above characteristics are typical for the genus, which according to Gaitán-Hernández *et al.* (2006) are the typical “ear-shaped” cap and stipe in lateral rather than centric placement. However, differences in organoleptic characteristics were found between the two. Although both strains correspond to the *Pleurotus* genus, according to Barba *et al.* (2019) factors such as climate, type of substrates, origin and species of the strains can be determinant in the dissimilarities between the two.

The cultivation time was 60 d, in which the results on biological efficiency (EB) and productivity rate (TP) were obtained for each fungus on each substrate tested. The EB results for the fungi under study showed a similar percentage in the substrates used and among them, ranging from 48 to 59%.

Cuadro 4. Eficiencia biológica (EB) y tasa de productividad (TP) de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus* crecidos en sustratos diferentes.

Table 4. Biological efficiency (EB) and productivity rate (TP) of *Pleurotus* sp. and *Pleurotus ostreatus* grown on different substrates.

Cepa	Sustrato	EB%	TP (% d ⁻¹)
<i>Pleurotus</i> sp.	Fibra de maguey	52.30a	0.87a
	Paja de cebada	48.61a	0.81a
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fibra de maguey	55.69b	0.92b
	Paja de cebada	59.69b	0.99b

EB: eficiencia biológica; TP: tasa de productividad. Medias con letra diferente indican diferencia estadística en la prueba de Student (t ; $p \leq 0.05$). ♦ EB: biological efficiency; TP: productivity rate. Means with different letters indicate statistical difference in the Student's test (t ; $p \leq 0.05$).

(Romero-Arenas *et al.*, 2018). Los valores de la EB y sus diferencias, se asume que son producto del sustrato utilizado, así como de la disponibilidad de componentes metabólicos que dicho sustrato ofrece al hongo. Aún así, el uso de combinaciones de materia orgánica puede mejorar la productividad. Más aún, las setas pueden mantener una buena calidad si se optimiza la eficiencia biológica, a partir de una EB mínima del 30% y se aprovechan los subproductos agrícolas. Lo anterior con el fin de reducir costos y hacer posible una productividad mayor (crecimiento del cultivo), además de obtener una mejor relación beneficio-coste en la producción (Romero *et al.*, 2010).

El análisis químico proximal de los hongos obtenidos resultó favorable en referencia al género del hongo (Cuadro 5). Entre sus características *Pleurotus* spp. poseen contenido proteico y de fibra altos; debido a que el agua es su componente mayoritario el contenido de grasas es bajo en estos hongos (Lelley, 2017). Para *Pleurotus* hay documentados porcentajes de H desde 85 hasta 92% (Deepalakshmi y Mirunalini, 2014); en este estudio, el contenido de humedad de los hongos analizados se encontró dentro de este intervalo. Khan *et al.* (2008) estimaron 86.5% de H para *P. ostreatus*, un porcentaje muy similar al 87.46% de este estudio. Respecto a cenizas, la OECD (2013) indicó valores de 5.0 a 13.4% para *P. ostreatus*; lo más frecuente es hallar datos que oscilen alrededor del 7%. Valencia *et al.* (2018) encontraron 7.9% en cultivos sobre paja de cebada.

Cuadro 5. Análisis químico proximal de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus*.
Table 5. Proximate chemical analysis of *Pleurotus* sp. and *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies.

%	<i>Pleurotus</i> sp.	<i>Pleurotus ostreatus</i>
H	86.89 a	87.46 a
C	7.26 b	5.23 a
EE	2.55 b	1.20 a
NT	3.85 b	2.9 a
PC	24.04 b	18.19 a

H: humedad; C: cenizas; EE: extracto etéreo; NT: nitrógeno total; PC: proteína cruda. Medias con letra diferente indican diferencia estadística en la prueba de Student (t ; $p \leq 0.05$). ♦ H: humidity; C: ash; EE: ethereal extract; NT: total nitrogen; PC: crude protein. Means with different letters indicate statistical difference in the Student's test (t ; $p \leq 0.05$).

In the case of *Pleurotus* spp. the EB was higher in agave bagasse fibre (with 52.3%); while *P. ostreatus* obtained 59.69% in barley straw, the corresponding TP for those EB values was 0.87% d⁻¹ and 0.99% d⁻¹, in *Pleurotus* spp. and *P. ostreatus* (Table 4).

In this study, the percentages obtained in EB resulted intermediate regarding those of commercial reference, according to the substrate used and the corresponding maximum TP (0.87% d⁻¹ for maguey fibre and 0.99% d⁻¹ for barley straw), so its use as a substrate for oyster mushroom cultivation may be suggested. In addition, it should be considered that in this work the agave bagasse was not supplemented (Romero-Arenas *et al.*, 2018). The EB values and their differences are assumed to be a product of the substrate used, as well as the availability of metabolic components that this substrate offers to the fungi. Regardless, the use of combinations of organic matter can improve productivity. Moreover, oyster mushrooms can maintain a good quality if the biological efficiency is optimized, starting from a minimum EB of 30% and taking advantage of agricultural by-products. The above in order to reduce costs and enabling higher productivity (culture growth), in addition to obtain a better benefit-cost relation in the production (Romero *et al.*, 2010).

The proximate chemical analysis of the fungi obtained was favourable in reference to the fungus genus (Table 5). Among their characteristics, *Pleurotus* spp. have high protein and fibre content; because water is their major component, the fat content is low in these oyster mushrooms (Lelley, 2017). For *Pleurotus*, there are documented H percentages from 85 to 92% (Deepalakshmi and Mirunalini, 2014); in this study, the humidity content of the evaluated oyster mushrooms was within that range. Khan *et al.* (2008) estimated 86.5% H for *P. ostreatus*, a percentage very similar to the 87.46% in this study. Regarding ash, OECD (2013) indicated values from 5.0 to 13.4% for *P. ostreatus*; most frequently, data ranging around 7% are found. Valencia *et al.* (2018) found 7.9% in cultures grown on barley straw.

The amount of crude protein (PC) is one of the most important properties for fungi. Due to this, fungi are booming in the food industry worldwide. In global terms, the *Pleurotus* genus can contain between 17 and 25% of PC (Lelley, 2017). In this study, the PC content for *P. ostreatus* was 18.19% and 24.04% in *Pleurotus* spp., while Nieto and Chegwin

La cantidad de proteína cruda (PC) es una de las propiedades más importantes para los hongos. Gracias a ésta, es que los hongos tienen auge en la alimentación a nivel mundial. En términos globales el género *Pleurotus* puede contener entre 17 y 25% de PC (Lelley, 2017). En este estudio el contenido de PC para *P. ostreatus* fue de 18.19% y un 24.04% en *Pleurotus* spp., en tanto que Nieto y Chegwin (2010) estimaron valores de 3.47 a 8.02% para algunas especies de *Pleurotus* y atribuyeron las diferencias al sustrato utilizado. De modo que la diferencia puede deberse al inóculo; o a la cantidad de celulosa y nitrógeno presentes en el sustrato inicial. En este estudio la semilla de trigo aportó nutrición al inóculo y enriqueció el sustrato. En primer lugar, definió el desarrollo del micelio en una etapa temprana, y permitió que los hongos tuvieran la capacidad de crecer en un material no convencional, el cual posee poca concentración original de nitrógeno.

De acuerdo con Lelley (2017) la MS representa entre 10 al 12% en *Pleurotus*, debido a su alto contenido de proteínas. En este estudio se obtuvo 12.54 y 13.12% en *P. ostreatus* y *Pleurotus* sp. Estos resultados también fueron mayores comparados con lo informado por Valencia *et al.* (2018) quienes obtuvieron un 11.2% para *P. ostreatus* y 9.3% en *Pleurotus* spp. Esos autores utilizaron carrizo (*Arundo donax*) triturado, como sustrato no convencional, adicional a los más tradicionales, como paja de avena o cebada y rastrojo de maíz. A partir de ello es posible inferir que la cepa utilizada y las diferencias en la composición química de los sustratos influyen directamente en la composición nutricional de los hongos obtenidos en cultivo.

Las características químicas que se obtuvieron de las cepas de *Pleurotus* en este estudio se mantienen dentro de lo documentado para el género. Las diferencias que se observaron se pueden atribuir a factores distintos en la producción, tanto intrínsecos como extrínsecos, como humedad, temperatura, origen de la muestra, edad, especie, y sustrato. Al sustrato se atribuye la aportación de componentes metabólicos y nutrientes para el desarrollo del hongo, y se asume que su composición repercute de forma significativa en las características nutricionales y organolépticas del hongo (Nieto y Chegwin, 2010).

CONCLUSIONES

El bagazo de maguey pulquero demostró que posee características químicas que permiten y

(2010) estimated values from 3.47 to 8.02% for some *Pleurotus* species and they attributed the differences to the substrate used. Therefore, the differences may be due to the inoculum, or to the amount of cellulose and nitrogen present in the initial substrate. In this study, wheat seed provided nutrition to the inoculum and enriched the substrate. First, it defined mycelial development at an early stage, and allowed the fungi to have the ability to grow on a non-conventional material, which originally has little nitrogen concentration.

According to Lelley (2017) MS represents between 10 to 12% in *Pleurotus*, due to its high protein content. In this study, 12.54 and 13.12% were obtained in *P. ostreatus* and *Pleurotus* sp. These results were also higher compared to what was reported by Valencia *et al.* (2018) who obtained 11.2% for *P. ostreatus* and 9.3% in *Pleurotus* spp. Those authors used crushed reed (*Arundo donax*), as a non-conventional substrate, additional to the more traditional ones, such as oat or barley straw and corn stubble. Hence, it is possible to infer that the strain used and the differences in the chemical composition of the substrates directly influence the nutritional composition of the fungi obtained in cultivation.

The chemical characteristics obtained from the *Pleurotus* strains in this study are within the reported values for the genus. Differences observed can be attributed to factors variation in production, both intrinsic and extrinsic, such as humidity, temperature, origin of the sample, age, species, and substrate. To the substrate is attributed the contribution of metabolic components and nutrients for the fungi development, and it is assumed that substrate composition has a significant effect on the nutritional and organoleptic characteristics of the fungi (Nieto y Chegwin, 2010).

CONCLUSIONS

The bagasse from *Agave* exhibited chemical characteristics that allow growth and meet the requirements for the *Pleurotus* genus development, without modifying the chemical and nutritional properties of these edible mushrooms, regarding their commercial values.

A. salmiana bagasse can be considered as an alternative, non-conventional substrate, which also contributes to the ecological management for

cumplen los requerimientos para el desarrollo del género *Pleurotus*, sin modificar las propiedades químicas y nutricionales de los hongos, respecto a los valores comerciales.

El bagazo de *A. salmiana* se puede considerar una alternativa de sustrato no convencional, la cual además contribuye a la gestión ecológica de la producción de *Pleurotus* spp. por el uso de un residuo abundante como sustrato que agrega valor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Politécnica de Pachuca por las facilidades para la realización de esta investigación en los laboratorios del Departamento de Biotecnología.

LITERATURA CITADA

- Andrade G, R. H., G. Mata, y J. E. Sánchez. 2012. La producción iberoamericana de hongos comestibles en el contexto internacional. In: Sánchez, J.E. y G. Mata (eds). Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica. El Colegio de la Frontera Sur. Chiapas, México. pp: 9-19.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Washington. D. C. 69-88, 312.
- Arana-Gabriel, Y.; C. Burrola-Aguilar; R. Garibay-Orijel, y S. Franco-Maass. 2014. Obtención de cepas y producción de inóculo de cinco especies de hongos silvestres comestibles de alta montaña en el centro de México. Rev. Chapingo Ser. Cienc. For. Ambient. 20: 213-226. DOI: 10.5154/r.chs-cfa.2014.04.017
- Barba B. M., F. Assumpção F., H. Aparecida M., G. Lopes T., S. Ávila, P. Silveira H., A. Maccari A., and R. R. Hoffmann. 2019. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. Saudi J. Biol. Sci. 26:633-646. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.12.005
- Deepalakshmi K., and S. Mirunalini. 2014. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. J. Biochem. Tech. 5:718-726.
- Delgadillo R. L., R. Bañuelos V., E. L. Esparza I., H. Gutiérrez B., F. J. Cabral A., y A. Muro R. 2015. Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. Rev. Mex. Cienc. Agríc 11:2099-2103. DOI: 10.29312/remexa.v0i11.778
- Gaitán-Hernández R., D. Salmones., R. Pérez M., y G. Mata. 2006. Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz, México. 56 p.
- Heredia-Solís A., E. Esparza-Ibarra, L. Romero-Bautista, F. Cabral-Arellano, y R. Bañuelos-Valenzuela. 2014. Bagazos de *Agave salmiana* y *Agave weberi* utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*. RICS. 1:104-110.
- Heredia-Solís A., R. Bañuelos-Valenzuela, y E. L. Esparza-Ibarra. 2017. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre sustratos de *Agave salmiana* y *Agave weberi*. Biotecnol. Sust. 2:31-36. <https://revistas.uaz.edu.mx/index.php/biotecnologiaysust/article/view/226> (Consultado: enero 2020).
- Pleurotus* spp. production; because an abundant residue can be used as a substrate adding production value.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Universidad Politécnica de Pachuca for providing the laboratory facilities at the Departamento de Biotecnología in order to accomplish this research.

—End of the English version—



- Romero, O., M. Huerta, M. A. Damián, A. Macías, A. M. Tapia, J. F. C. Parraguirre, y J. Juárez. 2010. Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L. cv. Roatan) deshidratada en relación con otros sustratos agrícolas. *Agron. Costarricense*. 34: 53-63. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242010000100005 (Consultado: marzo 2020).
- Romero-Arenas O., M. A. Valencias-De Ita, A. Rivera-Tapia, I. Tello-Salgado, O. A. Villarreal Espinosa-Barros, y M. A. Damián-Huato. 2018. Capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* utilizando alfalfa deshidratada como suplemento en diferentes sustratos agrícolas. *ASyD*. 15: 145-160. <http://www.scielo.org.mx/pdf/asd/v15n2/1870-5472-asd-15-02-145-en.pdf> (Consultado: marzo 2020).
- Sánchez J., E., y D. J. Royse. 2017. Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países iberoamericanos. In: Sánchez J. E. y D. J. Royse (eds). *La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas Pleurotus spp.* El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. pp: 17-25.
- Sobal M., D. Martínez-Carrera, P. Morales, and S. Roussos. 2007. Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. *Micol. Apl. Int*, 19: 15-23. https://www.researchgate.net/publication/26484161_Classical_characterization_of_mushroom_genetic_resources_from_temperate_and_tropical_regions_of_Mexico (Consultado: febrero 2020).
- Suárez A., C., y H. M. Holguín. 2011. Evaluación de medios de cultivo sintéticos y cereales para la producción de semilla de setas comestibles. *Rev. Colomb. Cienc. Hortíc*. 5: 130-140. DOI: 0.17584/rcch.2011v5i1.1259
- Tamboli E., A. Bhatnagar, and A. Mishra. 2018. Alpha-amylase inhibitors from mycelium of an oyster mushroom. *Prep. Biochem. Biotechnol*. 48: 693-699. DOI: 10.1080/10826068.2018.1487849
- Valencia I. M. A., M. D. Castañeda A., M. Huerta L., y O. Romero-Arenas. 2018. Carrizo silvestre (*Arundo donax*) como sustrato alternativo en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Scientia Fungorum*. 48: 15-22. DOI: 10.33885/sf.2018.48.1231
- Vega A., y H. Franco. 2013. Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. *Inf. Tecnol*. 24: 69-78. DOI: 10.4067/S0718-07642013000100009

