

R-241

1983-87-2

REG. No. 080609914

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EFFECTO DE LA FERMENTACION AEROBIA DEL BAGAZO DE
AGAVE TEQUILERO EN LA PRODUCCION DEL HONGO
COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm.
Y *Pleurotus* var. " Florida "

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

LUIS VILLASEÑOR IBARRA

GUADALAJARA, JAL. NOVIEMBRE 1991



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente

Número 1152/90

SR. LUIS VILLASEÑOR IBARRA
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "EFECTO DE LA FERMENTACION AEROBIA DEL BAGAZO DE AGAVE TEQUILERO - EN LA PRODUCCION DEL HONGO COMESTIBLE Pleurotus ostreatus y Pleurotus sp. - FLORIDA" para obtener el titulo de Licenciado en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el Biol. Conrado Soto Velazco.



A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara Jal., 8 de Agosto de 1990

EL DIRECTOR

FACULTAD DE CIENCIAS ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS

EL SECRETARIO

M.V.Z. MIGUEL CARRBAJAL SORIA

c.c.p. El Biol. Conrado Soto Velazco; Director de Tesis.- Pte.
c.c.p. El expediente del alumno

clgr.

M. en C. CARLOS SEAZ ZARATE
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E.

Me permito informarle a usted de la manera más atenta, que --
después de revisar la tesis de LU S VILLASETOR IRARRA, titulada " EFECTO --
DE LA FERTILIZACIÓN ASOCIADA DEL NABIZO DE AGAVE TEQUILERO EN LA PRODUCCIÓN --
DE HORMONAS CORTICOSTEROIDES Pterodius astragali (Jacq. ex Fr.) Rom. y Pterodius --
Var. " RUBRIS", me existió algún inconveniente para el trámite --
S. DE LA TESIS misma, con el fin de continuar con los trámites necesarios --
para la obtención del título.

Agraduzco de antemano su atención y me es grato enviarle un
cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. a., 5 de noviembre de 1991.

~~RIOL. CO. RAYMUNDO VELASCO~~
~~DIRECTOR DE TESIS~~

Recibi
C/EL
6/Nov/91

A MI PADRES.....

Arcelia y José

A MI ESPOSA

Martha

A MIS HERMANOS....

Jesus, Jorge, Claudia,

Arturo, Margarita y Rosalina

A G R A D E C I M I E N T O S

A mi esposa la Biol. Martha Cedano Maldonado por brindarme todo su cariño, apoyo y estímulo para la posible realización del presente trabajo.

Al Biol. L. Salvador Vazquez Gonzalez por alentarme, que en paz descanse.

A la M. en C. Laura Guzmán Dávalos por la asesoría, las críticas y correcciones del escrito.

Al Biol. Conrado Soto Velazco por la dirección de este trabajo.

A los compañeros del Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica, por el apoyo brindado.

A la Biol. Ana Lilia Viguera, al Ing. Guillermo Elizalde Lopez, al Ing. Carlos Ramirez Serrano y al Dr. Igor Ramos por dedicar parte de su tiempo para la posible realización del presente trabajo.

A todos lo compañeros del Instituto de Botánica que de una u otra manera colaboraron en la realización del presente trabajo.

La presente tesis se realizó en el Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección del Biol. Conrado Soto Velazco y la asesoría de la M. en C. Laura Guzmán Dávalos, como parte del proyecto "Producción de alimento a partir del cultivo de hongos sobre residuos agroindustriales".

EFFECTO DE LA FERMENTACION AEROBIA DEL BAGAJO DE AGAVE TEQUILERO
EN LA PRODUCCION DEL HONGO COMESTIBLE Pleurotus ostreatus (Jacq. ex
Fr.) Kumm. Y Pleurotus var. "Florida".

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el efecto de la fermentación aerobia del bagazo de agave, utilizado en el cultivo de dos cepas del hongo comestible Pleurotus. El bagazo de agave tequilero se fermentó por espacio de 1, 5, 9, 11, 20, 30 y 40 días.

Se determinó que el bagazo de agave fermentado por 15 días y hasta 30 días es adecuado para su empleo en el cultivo; sin embargo, se obtuvo la máxima producción de hongos frescos y eficiencia biológica a los 20 días de fermentación con ambas cepas.

Pleurotus ostreatus presentó una eficiencia biológica de 78.16 % y Pleurotus var. "Florida" una eficiencia biológica de 84.43 %. Con bagazo de agave sin fermentar las eficiencias biológicas que se obtuvieron fueron más bajas y cercanas al 60 %. Asimismo la fermentación permite la eliminación de plagas y enfermedades.

Estos resultados abren la posibilidad de implementar comercialmente el cultivo del hongo comestible Pleurotus a partir del bagazo de agave tequilero fermentado en el Estado de Jalisco.

C O N T E N I D O

	PAGS.
I. INTRODUCCION	1
A) Cultivo de <u>Pleurotus</u> y otras especies.	
B) Bagazo de agave tequilero.	
C) Manejo de substratos para el cultivo de hongos.	
II. ANTECEDENTES	7
III. OBJETIVOS	10
IV. MATERIALES Y METODOS	11
V. RESULTADOS	16
VI. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES	23
VII. LITERATURA CITADA	28
VIII. APENDICE	31
A) Tablas y figuras.	

I. INTRODUCCION

Dentro de las innovaciones biotecnológicas que se han desarrollado en el presente, con miras a incrementar la producción de alimentos en México, es de interés resaltar el cultivo de diversas especies de hongos comestibles, a través de prácticas de cultivo sencillas y que a la vez permiten el aprovechamiento de grandes cantidades de desechos agrícolas y residuos agroindustriales (Chang y Hayes, 1978; Zadrazil y Kurtzman, 1978).

A este respecto, es conveniente señalar el valor nutricional de los hongos cultivados, ya que contienen del 30 al 50 % de proteínas en peso seco y del 3 al 5 % en peso fresco (Chang 1980, Chang y Miles 1984). Además presentan todos los aminoácidos esenciales y son especialmente ricos en lisina y leucina, de los que carecen la mayoría de los cereales.

En general los esquilmos agrícolas y los residuos agroindustriales son utilizados en la alimentación de rumiantes, o dejados en el campo para su biodegradación de forma natural e incorporación como abono orgánico, aunque la práctica más generalizada es la quema, que provoca una rápida incorporación en el suelo. En otros casos se han empleado para rellenar terrenos, fabricar materiales de construcción y en la elaboración de papel de segunda calidad (De la Torre, M., 1985)

Sin embargo la cantidad de residuos generados es usualmente, mucho mayor que la que puede ser utilizada eficientemente y el tirarlos ha sido la opción más barata y por tanto favorecida, con el consiguiente efecto nocivo, que da lugar a fuentes de contaminación, insalubridad y alteraciones del equilibrio ecológico.

Para el aprovechamiento por vía biológica de los residuos agroindustriales de tipo lignocelulósico, existen restricciones, como son el alto contenido de lignina y el grado de cristalinidad de la celulosa. La lignina es una macromolécula polifenólica que rodea a las fibras de celulosa y actúa como material cementante, por lo que impide el acceso de las enzimas a la celulosa y, de esta manera, funciona como una barrera que obstaculiza su degradación. La lignina debe transformarse a compuestos más sencillos para que pueda emplearse en el medio y así reciclarse de manera adecuada en los ecosistemas (De la Torre, 1985). Los hongos desempeñan un importante papel en la degradación de los desechos vegetales, ya que son los únicos microorganismos que descomponen y metabolizan eficientemente la lignina (Guzmán y Martínez-Carrera, 1985).

A) Cultivo del Pleurotus spp. y otras especies.

A pesar de que se conocen más de 2000 especies de hongos comestibles, tan sólo 25 se encuentran incluidas en la dieta humana

y únicamente 15 son cultivadas de manera industrial o semindustrialmente en el mundo (Chang, 1980). En México crecen de forma silvestre más de 200 especies de hongos comestibles (Guzmán, 1983), pero solamente dos especies se cultivan en nuestro país: el champiñón [Agaricus bisporus (Lange) Imbach] y el hongo "oreja" [Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kumm.] (Soto-Velazco et al., 1987; Guzmán y Martínez, 1985). Asimismo se han realizado cultivos experimentales con otros hongos como Volvariella bakeri (Murr.) Shaffer (Salmones, et al. 1988) y Lentinula edodes conocido como "hongo del encino" (Morales y Martínez-Carrera, 1990).

B) Bagazo de agave tequilero.

En Jalisco una de las actividades más prósperas es el cultivo del Agave tequilana Weber, el cual es la materia prima para la elaboración del tequila. Esta planta se cultiva en 9 municipios del estado, entre los que se encuentran: Tequila, Atotonilco, Amatitán, Arandas y Tepatitlán, entre otros. La agroindustria del tequila es el sostén de una cantidad considerable de trabajadores, tanto del campo como en las fábricas y en la comercialización del producto.

El cultivo del agave se realiza por medio de hijuelos, que requieren de 10-13 años para alcanzar su madurez. Después de ese tiempo están listos para cosecharse, por lo que se procede a cortar todas las hojas desde la base de la planta, dejando,

solamente la "piña" (tallo o cabeza del maguey). Las "piñas" se cuecen con vapor, para desdoblar y reducir los polisacáridos almacenados, a glucosa y fructuosa. Posteriormente las "piñas" se muelen y desgarran, para extraer el jugo, el cual contiene un gran porcentaje de azúcares simples concentrados. Este jugo se fermenta y se bidestila para obtener el tequila (Fig. 1) (Valenzuela-Zapata 1985).

El jugo del maguey tequilero representa solamente el 30 % del peso de la planta, el resto esta compuesto del residuo fibroso o bagazo, que cuando sale de la molienda contiene un 50 % de humedad, 20 % de cutícula y carnaza y entre un 3-4 % de azúcares residuales que no se logran extraer y quedan adheridos a la fibra. La cutícula es el componente de la cubierta impermeable de la pared celulósica del maguey, y esta formado de ácidos grasos. La carnaza es la cantidad de azúcares residuales del maguey. Químicamente el residuo esta compuesto de 41 % de celulosa, 30 % de lignina, 23 % de pentosanos y otros compuestos (Turrado-Saucedo, 1973).

Se calcula que para obtener un litro de tequila se desechan entre 55 y 60 kgr de bagazo y, con base a los datos de producción obtenidos en la Cámara Regional del tequila en 1989, se infiere que se generaron más de 330,000 toneladas métricas de bagazo en el estado de Jalisco. Sin embargo, no se le ha dado un uso adecuado a este substrato (Guzmán-Paredes, 1977).

C) Manejo de sustratos para el cultivo de hongos.

El cultivo de los hongos es una empresa relativamente fácil, si se poseen los conocimientos necesarios, que comprenden desde el manejo de cepas hasta la preparación adecuada del sustrato empleado. Cada vez que se intenta usar un nuevo sustrato, se debe buscar el tratamiento óptimo para su utilización en el cultivo de Pleurotus. Entre los principales sustratos empleados figuran las pajas, rastrojos, pulpas y bagazos, así como desechos forestales. El empleo de cada uno de estos subproductos en el cultivo, está condicionado, ante todo, por la disponibilidad y abundancia que se tenga de ellas en la región.

El sustrato desempeña un papel importante, semejante al del suelo en el caso de los vegetales; sin embargo, su preparación adecuada es aún más importante para el crecimiento de los hongos, ya que debe poseer características que permitan el crecimiento óptimo del micelio. La estructura física del sustrato debe facilitar la penetración del micelio, así como tener la capacidad de retención de agua para favorecer el nivel de humedad, requerido para el desarrollo del hongo; además debe tener los nutrimentos necesarios y en forma disponible, a partir de los cuales el hongo se nutrirá. Por otro lado, deberá estar libre de compuestos fácilmente aprovechables por otros organismos, que en determinado momento compitan con el micelio, como en el caso de azúcares simples (Chang y Quimio, 1982).

Una de las formas de lograr las características antes mencionadas es a través de un proceso fermentativo, en donde se presenta una sucesión de poblaciones microbianas. Estos organismos se desarrollan en el momento que se presentan condiciones favorables de humedad, temperatura y concentración de gases. En el inicio de la fermentación, durante la etapa mesofílica, se desarrollan hongos saprobios y bacterias productoras de ácido, los cuales utilizan rápidamente los carbohidratos de fácil degradación y los lípidos presentes, por lo que producen un aumento en la temperatura a causa de las oxidaciones exotérmicas, y se incrementa la concentración de bióxido de carbono y amoníaco. Al aumentar la temperatura por lo menos hasta 40 °C, los organismos mesofílicos son substituidos por hongos termófilos y bacterias, los cuales consumen los azúcares solubles restantes, hemicelulosa y lípidos; los actinomicetos presentes son capaces de degradar hemicelulosa y celulosa (Leal-Lara, 1985a y 1985b). Al agotarse los nutrimentos fácilmente aprovechables y la poca capacidad enzimática de la población de microorganismos dominante, la temperatura empieza a disminuir por lo que reaparecen las bacterias y los hongos mesófilos capaces de desdoblar compuestos más complejos, en esta etapa encontramos el substrato listo para el establecimiento del hongo Pleurotus.

II. ANTECEDENTES

Debido al período tan corto que existe desde que Martínez y colaboradores (1984) sugirieron el empleo de desechos agroindustriales para el cultivo de hongos comestibles, son relativamente escasos los trabajos publicados, respecto a los tratamientos más adecuados que se deben de dar a los substratos que se emplean en el cultivo de Pleurotus. Tomando como base la recopilación que realizó Guzmán y Salmenes en 1990 referente a los trabajos sobre cultivo de hongos en México, se establece una clara diferencia de los tratamientos más usados, que consisten básicamente en la fragmentación e hidratación de materiales secos (Guzmán y Salmenes, 1990). Sólo en uno de los trabajos incluidos se menciona el efecto de la fermentación en la producción de carpóforos de Pleurotus ostreatus, el cual se realizó en pulpa de café, que es un material rico en azúcares solubles (Martínez et al., 1985b). Martínez y colaboradores (1985a) mencionan que si no se realiza la fermentación, se puede provocar la infestación del substrato por plagas y enfermedades que afectarían de manera considerable los rendimientos, asimismo observaron un aumento significativo en la producción de fructificaciones de Pleurotus ostreatus.

Guzmán-Dávalos et al. (1987a) efectuaron estudios sobre el cultivo de Pleurotus en Jalisco, utilizando el bagazo de caña de azúcar fermentado por cinco días, en donde obtuvieron una eficiencia biológica del 49.08 %, a diferencia del bagazo no fermentado que fué de 30 %.

Otro trabajo que menciona un tratamiento fermentativo del substrato es el de Martínez y colaboradores (1985b) que empleó desechos de algodón para cultivar Volvariella volvacea; sin embargo, este tipo de fermentación no es con la finalidad de desdoblar azúcares, sino para modificar en parte la estructura de la fibra de algodón, por medio de la hidratación y favorecer un pH de 7.0 a 8.0 que es el adecuado para esta especie.

En vista del enorme potencial que representa el bagazo de agave tequilero, Guzmán-Dávalos et al. (1987b) y Guzmán-Dávalos y Soto-Velasco (1989) realizaron experimentos con la finalidad de determinar el aprovechamiento de este material en el cultivo del hongo comestible Pleurotus. Utilizaron el bagazo de maguey fresco, recién traído de las fábricas de tequila, del que obtuvieron una eficiencia biológica del 60 al 64.7 %, dependiendo de la cepa. Con estos resultados, mencionan que se puede llegar a producir cerca de 130 Kgr de hongos frescos por tonelada de substrato húmedo. Sin embargo, al tratar de usarlo a escala masiva, se tuvo el problema de una fuerte contaminación por mohos del género Trichoderma e invasión del substrato por moscas del género Drosophilla que

mermaron considerablemente la producción de hongos.

Por tal motivo, el presente trabajo pretendió estudiar el efecto de una fermentación aerobia del bagazo de maguey tequilero sobre la producción de hongos y la eliminación de plagas y contaminantes.

III. OBJETIVOS

- 1.- Cuantificar la producción y determinar la eficiencia biológica de Pleurotus ostreatus y Pleurotus var. "Florida" en bagazo de agave con diferentes días de fermentación.
- 2.- Conocer el periodo óptimo de fermentación del bagazo de agave, en que se obtiene la mayor eficiencia biológica.
- 3.- Establecer el tiempo máximo de fermentación del bagazo de agave, en que puede soportar un buen crecimiento las cepas de Pleurotus empleadas.
- 4.- Determinar de que manera afecta la fermentación aerobia al bagazo de agave tequilero, para la eliminación de plagas y enfermedades en el cultivo de Pleurotus ostreatus y Pleurotus var. "Florida".

IV. MATERIALES Y METODOS

En la figura 2 se esquematiza la metodología seguida en este trabajo.

1.- CEPAS UTILIZADAS.

Se emplearon dos cepas: Pleurotus ostreatus (IBUG-3) y Pleurotus var. "Florida" (IBUG-4). Dichas cepas se preservan en un medio Agar con Extracto de Malta (BIOXON) a temperatura de 4-5 °C, en el cepario de hongos de el Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara.

2.- ELABORACION DE INOCULO.

El inóculo se elaboró con granos de trigo, los cuales previamente se lavaron y esterilizaron por 40 minutos, en frascos de vidrio de boca ancha, a temperatura de 121 °C, siguiendo la metodología propuesta por Martínez et al. (1984). El trigo estéril se inocularon con fragmentos de micelio de las cepas mencionadas. Para estimular el desarrollo del micelio sobre los granos de trigo se incubaron a temperatura de 28-30 °C hasta que colonizó completamente los granos de trigo.

3.- OBTENCION DEL SUBSTRATO.

El bagazo de agave tequilero se obtuvo de una de las fábricas de tequila de la región de Tequila, Jalisco. Se transportó aproximadamente una tonelada de bagazo recién procesado por la fábrica a los patios del Instituto de Botánica. El residuo que se utilizó fue de la especie Agave tequilana Weber de la variedad azul que es la que más comunmente se cultiva en la región.

4.- FERMENTACION DEL BAGAZO DE AGAVE.

El bagazo de agave se fermentó de acuerdo al método descrito por Martínez et al. (1985a), formando una pila piramidal de aproximadamente 1.5 m de alto y 3 m de largo. Antes de apilarse el substrato, se aplicó agua hasta cerca de 75 a 80 %. Posteriormente se cubrió con un plástico de color negro para evitar la deshidratación del bagazo y mantener una temperatura adecuada de fermentación.

Para contrarestar la formación de un centro anaerobio y permitir la oxigenación de la parte interna de la pila de fermentación, el substrato se removió cada tercer día.

5.- TOMA DE LAS MUESTRAS FERMENTADAS.

Se tomaron muestras para su inoculación el 1, 5, 9, 11, 20, 30, y 40 días de fermentación del bagazo. Se registraron las temperaturas de la pila de fermentación, durante el tiempo que duró la toma de muestras.

6.- PASTEURIZACION DEL BAGAZO.

Con la finalidad de inhibir o eliminar el crecimiento de bacterias y hongos presentes en el sustrato y que podrían competir con el micelio de Pleurotus, cada muestra de sustrato con diferentes días de fermentación, se colocó en un canasto de malla de alambre que se sumergió en agua a 70-80 °C por espacio de 45 minutos, en un recipiente de metal con una capacidad de 200 lts. Posteriormente se drenó el exceso de agua y se colocó sobre una masa para su enfriamiento e inmediata inoculación con las cepas ya mencionadas.

7.- INOCULACION DEL BAGAZO.

El sustrato ya pasteurizado y a temperatura ambiente se inoculó con las cepas de Pleurotus ostreatus y Pleurotus var. "Florida" en bolsas de polietileno transparente de 40 X 60 cm y con 5 kg de peso cada una. La cantidad de inóculo que se empleó fue de 4 % en relación al peso del sustrato húmedo. De cada

muestra de bagazo fermentado y por cepa se hicieron 10 réplicas. Cada bolsa inoculada fue rotulada con los siguientes datos: número de la cepa, fecha de la inoculación del substrato y periodo de fermentación.

8.- INCUBACION DEL MICELIO EN EL SUBSTRATO.

Para permitir que el micelio invada todo el substrato las bolsas de polietileno con substrato inoculado se colocaron sobre camas metálicas en la sala de incubación, la cual se encuentra en penumbra y aislada de corrientes de aire.

9.- FORMACION DE PRIMORDIOS Y COSECHA.

Una vez colonizado el substrato, se prestó atención a aquellas bolsas en las cuales se inició el proceso de la fructificación, que se detectó por medio de la formación de primordios. En aquellas que se observó el inicio de la fructificación, se trasladaron al área de cosecha para favorecer el crecimiento inicial de los carpóforos. Se procedió a retirar la bolsa de polietileno y depositar el substrato en fructificación sobre literas de madera. La humedad relativa se mantuvo en 80 % la iluminación fué natural e indirecta. A cada bolsa se le colocó una etiqueta con los siguientes datos: número de la cepa, fecha de inoculación y fecha de aparición de

primordios. El riego fue por aspersión con agua corriente y la ventilación se realizó con un par de ventiladores que promovieron 2 a 3 recambios de aire por hora. Durante el experimento se tomó lectura de la temperatura ambiente máxima y mínima.

La cosecha se realizó cuando la mayoría de los cuerpos fructíferos de cada bolsa presentaron estado de madurez y antes de que empezaran a envejecer, lo que se nota cuando los bordes del pileo se enrollan. El peso obtenido para cada bolsa y por cosecha se anotó en tablas especiales de control.

10.- EVALUACION DE LA PRODUCCION.

La producción de hongos en cada uno de los sustratos o muestras fermentadas y por cepa se evaluó de acuerdo a la fórmula propuesta por Tchiepe y Hartman (1977), la cual es la más aceptada para evaluar la producción de hongos comestibles a nivel experimental y comercial. Se basa en la cantidad de hongos frescos producidos, en proporción a la cantidad de materia seca del sustrato empleado al momento de la inoculación, expresado en porcentaje; dicho concepto se le conoce con el término de eficiencia biológica (Chang, 1980). La materia seca del sustrato se determinó de manera convencional, secando una muestra de 100 gr en una estufa a 80°C durante 24 horas o hasta obtener un peso constante.

V. RESULTADOS

El bagazo de agave tequilero, tanto fresco como fermentado, presentó características muy diferentes de pH, temperatura, color y estructura. Las principales características se enlistan en la tabla 1, en la que se puede observar la variación del pH que fué de 3.5 en el primer día, con un aumento gradual hasta un valor máximo de 7.5 a 8.0 en el bagazo de agave con 40 días de fermentación. A los 20 días de fermentación el pH fué de 6.5 a 7.0, que es el que se considera óptimo para las especies de Pleurotus.

Con respecto a la temperatura que se registró en el interior de la pila de fermentación, ésta también tuvo un incremento considerable a partir de las 24 horas que se apiló el bagazo. La temperatura que se registró fué 35 °C al primer día, incrementándose a 47 °C el 5° día. Entonces inició un proceso de disminución hasta los 40 días que fué de 25 °C (Figura 3). El color del bagazo de agave fué de café amarillento desde el primer día de fermentación hasta el 10° día que cambió a café. Más tarde tomó un color café oscuro hasta el 40° día (Tabla 1).

Durante los primeros 15 días de fermentación el bagazo de agave presentó un fuerte olor a ácido acético, el cual disminuyó paulatinamente. A los 20 días no se apreciaba este olor, pero sí el de olor a tierra (Tabla 1). La estructura del bagazo fue laxa desde

el 20° día hasta el 40° día de fermentación donde además fue viscosa (Tabla 1).

En la tabla 2 se observan los resultados de producción de hongos frescos y eficiencia biológica de la cepa IBUC-4 que corresponde a Pleurotus var. "Florida". De las muestras empleadas la mayor eficiencia biológica y producción total de hongos frescos fué a los 20 días de fermentación. Dicha eficiencia biológica fué de 84 % y la producción alcanzó un total de 845 gr de carpóforos a lo largo de 5 cosechas, en un lapso de 95 días. La primera cosecha se obtuvo a los 28 días (Tabla 4). El pH del sustrato al momento de la inoculación fué de 6.5 a 7.0. El sustrato presentó una tonalidad de color café oscuro, con olor a tierra y su consistencia y estructura fueron adecuadas para el crecimiento del hongo.

Con el tratamiento de 30 días de fermentación se obtuvo una eficiencia biológica de 69 % y una producción de 691 gr de hongos frescos en 5 cosechas, (Tabla 2) en un lapso de 113 días, a partir de la inoculación. La primera cosecha se obtuvo a las 27 días (Tabla 4). El sustrato presentó una tonalidad de color café oscuro con olor a tierra, la consistencia fué buena y su estructura fué laxa.

En bagazo de agave con un día de fermentación se obtuvo una eficiencia biológica de 68 % y una producción de carpóforos de 683

gr, a lo largo de 3 cosechas en un lapso de 73 días (Tablas 2 y 4). Sin embargo, se observó una mayor infestación por mohos del género Trichoderma, así como la proliferación de moscas del género Drosophilla que fueron atraídas por el olor ácido del substrato. En algunos casos los mohos y las moscas invadieron la mayor parte del substrato inoculado, por lo que tuvieron que eliminarse las bolsas contaminadas o plagadas. El substrato como ya se dijo presentó un olor a ácido acético, con una tonalidad de color café amarillento y su consistencia y estructura fué buena.

A los 11 días de fermentación del bagazo de agave, se obtuvo una eficiencia biológica de 57 % y una producción de 568 gr de cuerpos fructíferos a lo largo de 4 cosechas, en un lapso 103 días a partir de la inoculación (Tabla 2 y 4). Hubo presencia de moscas del género Drosophilla, así como mohos del género Trichoderma, que se observaron en las paredes externas del substrato inoculado. El substrato presentó una tonalidad de color café y su consistencia y estructura fué buena.

Con el tratamiento de 5 días de fermentación se obtuvo una eficiencia biológica de 45 % y una producción de 451 gr. a lo largo de 5 cosechas, en un periodo de 98 días (Tablas 2 y 4). También se observó presencia de mohos del género Trichoderma, así como la proliferación de moscas del género Drosophilla, por lo que se tuvieron que eliminar algunas bolsas. Se presentó en el substrato una tonalidad de color café amarillento con un ligero olor a ácido

acético, su consistencia y estructura fué buena.

Con bagazo de maguey de 9 días de fermentación se obtuvo un 42 % de eficiencia biológica y una producción de hongos frescos de 424 gr obtenidos a lo largo de 3 cosechas, y en un lapso de 87 días, después de la inoculación (Tablas 2 y 4). Hubo también indicios de contaminación con Trichoderma y presencia de Drosophilla sp. El sustrato presentó una tonalidad de color café amarillento, con ligero olor a ácido acético y su consistencia y estructura fué buena.

La menor eficiencia biológica obtenida fué de 34 % que va en relación a la menor producción de hongos frescos que se obtuvo en el tratamiento de 40 días de fermentación y que fué de 345 gr en una sola cosecha. El sustrato perdió su consistencia y estructura original volviéndose obscuro y viscoso. Las bolsas inoculadas se contaminaron con mohos del género Trichoderma, por lo que se eliminaron todas las bolsas después de la primera cosecha.

Los resultados de producción y eficiencia biológica de la cepa de Pleurotus ostreatus (IBUG-8) se muestran en la tabla 3. A los 20 días de fermentación se obtuvo el mayor porcentaje de eficiencia biológica, el cual fué de 78 % y la mayor producción de hongos frescos, de 780 gr, de un total de 5 cosechas durante 79 días después de la inoculación (tabla 5). La primera cosecha se obtuvo a los 22 días. El sustrato presentó una tonalidad de color café

oscuro, con olor a tierra y su consistencia fué excelente. El pH del substrato al momento de la inoculación fué de 6.5 a 7.0. No se observó la presencia de plagas o enfermedades.

La siguiente eficiencia biológica mayor fué de 70 %, con una producción de 698 gr con el tratamiento de 30 días de fermentación, a lo largo de 5 cosechas (Tabla 3), en un periodo de 91 días (Tabla 5) y obteniéndose la primera cosecha a los 22 días. Se presentó en el substrato una tonalidad de color café oscuro y su consistencia fue buena. Como en el caso anterior no se detectó algún tipo de contaminación.

En el tratamiento con 11 días de fermentación se obtuvo una eficiencia biológica de 67 % y una producción de carpóforos de 666 gr obtenidos en 5 cosechas, a lo largo de 82 días (Tablas 3 y 5). Hubo presencia del moho Trichoderma. El substrato presentó una tonalidad de color café y su consistencia fué buena.

Empleando bagazo de agave con 9 días de fermentación se obtuvo una eficiencia biológica de 65 % y una producción de cuerpos fructíferos de 647 gr, en un total de 4 cosechas a lo largo de 109 días (Tablas 3 y 5). El substrato presentó una tonalidad de color café amarillento, con ligero olor a ácido acético y su consistencia fué buena.

Con bagazo de agave con un día de fermentación se obtuvo una eficiencia biológica del 65 % y una producción de 654 gr, en un lapso de 4 cosechas, en un tiempo de 100 días (Tablas 3 y 5). Se presentaron mohos del género Trichoderma, así como la proliferación de moscas del género Drosophilla, por lo que se eliminaron algunas bolsas. El substrato presentó una tonalidad de color café amarillento, con un fuerte olor a ácido acético, la consistencia fué buena y la estructura laxa.

El bagazo de agave con 40 días de fermentación dió una eficiencia biológica de 61 % a partir de cinco cosechas, que sumaron 607 gr de hongos frescos en un periodo de 123 días (Tablas 3 y 5). Se observó también presencia de mohos. El substrato perdió su consistencia y estructura original, volviéndose oscuro, viscoso y difícil de manejar por su alto contenido de agua.

La menor eficiencia biológica que se obtuvo fué de 58 % con el bagazo de cinco días de fermentación. Se produjeron cuatro cosechas en un periodo de 99 días que sumaron 581 gr. También hubo presencia de mohos del género Trichoderma, así como la proliferación de moscas del género Drosophilla. El substrato presentó una tonalidad de color café amarillento, con ligero olor a ácido acético, su consistencia fué buena y la estructura fué laxa.

La cosecha más temprana obtenida en el bagazo de agave tequilero, fué a los 20 días después de la inoculación en la cepa

IBUG-4 a los 20 días de fermentación del substrato. La más tardía se presentó también en la cepa IBUG-4, con 9 días de fermentación, a los 35 días después de la inoculación (tablas 4 y 5).

La máxima producción total se obtuvo en 5 cosechas, durante 95 días a partir de la inoculación y fué de 845 gr. La menor producción total obtenida de hongos frescos fué de 345 gr, también con la cepa IBUG-4, en una cosecha, y en un periodo de 21 días después de la inoculación (Tabla 2).

En general, para las dos cepas de Pleurotus, las primeras cosechas fueron siempre más elevadas en peso, disminuyendo paulatinamente en las subsiguientes (Tablas 2 y 3).

VI. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio revelan que los hongos Pleurotus ostreatus y Pleurotus var. "Florida" pueden crecer y desarrollarse en bagazo de agave tequilero fermentado aeróbicamente hasta por 30 días, presentándose la máxima producción de hongos frescos y la mayor eficiencia biológica a los 20 días de fermentación para las dos cepas (Tablas 2 y 3) (Fig. 4). Asimismo se observó que con el bagazo con 20 días de fermentación hubo una menor probabilidad de contaminación, ya que en este periodo, se consumieron todos los azúcares libres y carbohidratos fácilmente disponibles, lo cual se comprobó por la ausencia de mohos y plagas.

Otras de las cosas que se observaron en el bagazo de agave con 20 días de fermentación, fue un pH adecuado de 6.5 a 7.0, que es el pH óptimo para el crecimiento de las especies de Pleurotus, según Kurtzman y Zadrazil (1982). Por otro lado, la temperatura a los 20 días de fermentación fue más baja (39°C), en relación a la que se registró al 5° día de fermentación la cual fue de 47°C. Esto nos indica una disminución considerable en azúcares solubles, fuente de energía para otros microorganismos, que al desdoblarlos generan calor.

También se puede comprobar que la fermentación contribuye al ablandamiento de la fibra del bagazo de agave, permitiendo una mayor retención de agua, lo cual condujo a mantener una humedad adecuada para el crecimiento del micelio de Pleurotus. No así cuando se empleó el bagazo con 40 días de fermentación, en donde debido al exceso de humedad, se observó un crecimiento pobre del micelio, que tuvo como consecuencia una eficiencia biológica baja.

A medida que la fermentación avanza el substrato se va degradando paulatinamente, y con más de 30 días de fermentación, su consistencia y estructura original se pierden. Además los nutrimentos disponibles para bacterias y hongos inferiores van agotándose. A partir de los 30 días de fermentación la producción y eficiencia biológica de las cepas van cambiando en forma decreciente y es a los 40 días de fermentación, en donde ambos parámetros son muy bajos y comparables a los obtenidos con bagazo sin fermentar.

El bagazo de agave con pocos días de fermentación, para ambas cepas, propició el desarrollo de mohos del género Trichoderma y la proliferación de moscas de la fruta del género Drosophilla, los cuales compitieron con el micelio de Pleurotus, por lo que se desecharon algunas bolsas inoculadas. Estas plagas invadieron el substrato debido al alto contenido de azúcares, ya que al iniciarse el proceso fermentativo se liberan los azúcares más simples y éstos son convertidos en ácidos que atraen a ciertos insectos y provocan

la invasión del sustrato por los mohos, que se desarrollan en pH ácidos. Por lo tanto se recomienda no inocular el sustrato sin un proceso adecuado de fermentación.

A los 40 días de fermentación la cepa de Pleurotus var. "Florida" (IBUG-4) no alcanzó a producir cuerpos fructíferos para la segunda cosecha, probablemente porque el micelio que colonizó la parte interna del sustrato, al encontrarse en un medio anaerobio, debido a la alta cantidad de agua que puede retener el sustrato en este período fermentativo, se pudre o no se desarrolla adecuadamente. Otra causa podría ser la pérdida de nutrimentos necesarios para el buen desarrollo y crecimiento del hongo debido al período de fermentación tan largo. Por último, un factor importante es el cambio de pH a 8.0 en el sustrato, ya que cuando se presenta un aumento de éste se detiene el crecimiento del micelio (Kurtzman y Zadrazil, 1982).

Haciendo un análisis general del comportamiento de las cepas, podemos decir que en promedio la formación de primordios fué a los 20 días para Pleurotus ostreatus y de 25 días para Pleurotus var. "Florida". Para las dos cepas, las primeras cosechas fueron siempre apreciablemente más elevadas en peso, disminuyendo paulatinamente en las subsiguientes (Tablas 2 y 3). Se puede mencionar además que la cepa IBUG-8 produjo una mayor cantidad de carpóforos que la cepa IBUG-4, como se puede apreciar en las tablas 2 y 3.

Cabe mencionar que se observa una diferencia significativa entre la eficiencia biológica de un sustrato no fermentado y uno fermentado. Si comparamos los resultados de Guzmán-Dávalos et al. (1987), que obtuvieron 60.2 % con Pleurotus ostreatus y un 64.7 % con Pleurotus var. "Florida", en bagazo de agave sin fermentar en relación con los que se obtuvieron en este trabajo con bagazo de agave fermentado por 20 días y que fueron de 78.1 % con Pleurotus ostreatus y 84.4 % con Pleurotus var. "Florida", veremos un aumento considerable después del tratamiento.

En conclusión y con base a los resultados aquí presentados, se puede recomendar el uso del bagazo de agave para el cultivo de las especies de Pleurotus. Sin embargo, se debe de realizar un tratamiento de tipo fermentativo aerobio, con la finalidad de eliminar los azúcares residuales presentes en este sustrato, y a que si no se degradan actúan como atrayentes para moscas y mohos, causando considerables pérdidas en el cultivo. Por otro lado, la fermentación ayudó a que el bagazo absorbiera una mayor cantidad de agua que permitió al micelio desarrollarse adecuadamente; a excepción del bagazo con 40 días de fermentación que se sobresaturó y no permitió un adecuado crecimiento del micelio. El periodo de fermentación que se recomienda para el empleo del bagazo de agave es desde los 18 hasta los 30 días, los cual nos da un margen bastante amplio de hasta 12 días para realizar siembras periódicas a nivel comercial sin ningún detrimento en la producción de hongos, como ya se ha venido realizando en el Instituto de Botánica.

Extrapolando los resultados obtenidos teórica y potencialmente, pueden llegar a obtenerse hasta 425 kg de cuerpos fructíferos del hongo Pleurotus, por cada tonelada de bagazo de agave tequilero fresco. Si tomamos en cuenta que en el estado de Jalisco se producen alrededor de 300,000 toneladas de este bagazo, mediante su bioconversión con este hongo, se producirían cerca de 128,000 toneladas de hongos frescos que servirían de alimento para el consumo humano. Por lo que se contribuiría a solucionar parte de los problemas alimenticios de la población. Por otra parte el carácter rentable y la industrialización de este proceso, traería consigo la creación de nuevas fuentes de trabajo a nivel regional.

VII LITERATURA CITADA

- Chang, S.T., 1980. Mushrooms as human food. BioScience 30 (6) : 399-401.
- Chang, S.T. y P.G. Miles, 1984. A new look at cultivated mushrooms. Bioscience 34 (6): 358-362.
- Chang, S.T. y W.A. Hayes (Eds.) , 1978. The Biology and Cultivation of edible mushrooms. Academic Press, Nueva York.
- Chang, S.T. y T.H. Quimio (Eds.), 1982. Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods. The Chinese University Press, Hong Kong.
- De la Torre, M., 1985. Aprovechamiento de los esquilmos agrícolas y residuos agroindustriales. Ciencia y Desarrollo: Prospectiva de la Biotecnología en México . Fundación Barrios Sierra, CONACYT, México, D.F. 235-258.
- Guzmán-Dávalos, L., C. Soto-Velazco y D. Martínez-Carrera, 1987a. El bagazo de caña de azúcar como sustrato para la producción de Pleurotus en Jalisco. Rev. Mex. Mic. 3: 79-82.
- Guzmán-Dávalos, L., D. Martínez-Carrera, P. Morales y C. Soto, 1987b. El cultivo de los hongos comestibles (Pleurotus) sobre el bagazo del maguey en la industria tequilera. Rev. Mex. Mic. 3: 47-50.
- Guzmán-Dávalos, L., y C. Soto-Velazco, 1989. El cultivo de los hongos comestibles como una alternativa en el uso de los desechos agroindustriales de Jalisco. Tiempos de Ciencia (Universidad de Guadalajara) 15: 35-40.
- Guzmán, G., 1983. Capítulo "Cultivo de los hongos comestibles", en el artículo: Los hongos de la Península de Yucatán, II. Biotica 8: 71-88.
- Guzmán, G. y D. Salmenes, 1990. El cultivo de los hongos comestibles en México. Recopilación de los trabajos publicados desde 1966 a 1999. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz.
- Guzmán, G. y D. Martínez-Carrera, 1985. Planta productora de hongos comestibles sobre pulpa de café. Ciencia y Desarrollo 11 (65): 41-48.
- Guzmán-Paredes, C.M. 1977. Aprovechamiento de los residuos de fermentación de la industria tequilera como complemento de alimentos balanceados para ganado. Tesis profesional. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara, Guadalajara.

- Kurtzman, R.H. y F. Zadražil, 1982. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of Pleurotus mushrooms. In: Chang, S.T. y T.H. Quimio (Eds.). Tropical mushrooms. Biological nature and cultivation methods. Chinese Univ. Press, Hong Kong.
- Leal-Lara, H., 1985a. La utilización microbiológica de desperdicios lignocelulósicos. Potencialidades y perspectivas. Ciencia y Desarrollo: Prospectiva de la Biotecnología en México. Fundación Barrios Sierra, CONACYT, México, D.F. 93-114.
- Leal-Lara, H., 1985b. El cultivo del Champiñón y otros macromicetos comestibles. Ciencia y Desarrollo: Prospectiva de la Biotecnología en México. Fundación Barrios Sierra, CONACYT, México, D.F. 235-258.
- Martínez, D., G. Guzmán y C. Soto, 1985a. The effect of fermentation of coffee pulp in the cultivation of Pleurotus ostreatus in Mexico. Mushroom Newsletter for the Tropics 6 (1) : 21-28.
- Martínez-Carrera, D., S.T. Chang y S.N. Mok, 1985b. Cultivation of the edible mushroom Volvariella volvacea on three different compost in Hong Kong. Rev. Mex. Mic. 7: 229-238.
- Martínez, D., M. Quirarte, C. Soto, D. Salmones y G. Guzmán, 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 19: 207-219.
- Morales, P. y D. Martínez-Carrera, 1990. Cultivo de Lentinula edodes en México. Mic. Neotrop. Aplic. 3: 15-19.
- Salmones, D., D. Martínez-Carrera y G. Guzmán, 1988. Estudio comparativo sobre el cultivo de Volvariella bakeri y Volvariella bombycina en diferentes desechos agroindustriales. Biotica. 13: 1 y 2 : 7-16
- Soto-Velazco, C., D. Martínez, P. Morales y M. Sobal, 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.
- Tchierpe, H.J. y K. Hartman, 1977. A comparison of different growing methods. Mush. Jour. 60: 404-416.
- Turrado-Saucedo, J., 1973. Obtención de celulosa a partir de bagazo de desperdicio de la Industria Tequilera. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco.

Valenzuela-Zapata, A.G. 1935. The Tequila in Jalisco, México. Desert Plants 7: 65-70.

Zadrazil, F. and R.H. Kurtzman, 1978. The Biology of Pleurotus cultivation in the tropics. In: Tropical Mushrooms. Biological Nature and Cultivation Methods. Ed. Chang, S.T. and T.H. Quimio, Hong Kong: The Chinese University Press.

A P P E N D I C E

Tabla 1. Características del bagazo de agave tequilero.

Características	Días de Fermentación									
	1	5	9	11	20	30	40			
pH	3.5	4.0	5.0	5.0	6.5 - 7.5	7.0 - 8.0	7.5 - 8.0			
Color	Café amarillento	Café amarillento	Café amarillento	Café	Café obscuro	Café obscuro	Café obscuro			
Olor	Acido acético	Acido acético	Acido acético	Ligero a ácido acético	Tierra	Tierra	Tierra			
Estructura	No Laxa	No Laxa	No Laxa	No Laxa	Laxa	Laxa	Laxa y viscosa			

Tabla 2.- Producción de hongos frescos y eficiencia biológica de Pleuroctus var. "Florida" (IBUG-4) en Bagazo de agave tequilero fermentado.

Días de fermentación	Peso seco (Kg)	C o s e c h a s (gr)					Total (gr)	Eficiencia Biológica (%)
		1	2	3	4	5		
1	1.0	374	219	90	--	---	683	68
5	1.0	149	157	101	44	---	451	45
9	1.0	266	117	41	---	---	424	42
11	1.0	378	133	32	25	---	568	57
20	1.0	491	235	46	59	14	845	84
30	1.0	425	95	101	33	37	691	69
40	1.0	843	---	---	---	---	345	34

Tabla 3.- Producción de hongos frescos y eficiencia biológica de Pleurotus ostreatus (IBUG-8) obtenidos en bagazo de maguey tequilero fermentado.

Días de fermentación	Peso seco (gr)	C o s e c h a s (gr)					Total (gr)	Eficiencia Biológica (%)
		1	2	3	4	5		
1	1.0	392	158	72	32	----	654	65
5	1.0	348	157	42	24	10	581	58
9	1.0	433	77	88	49	----	647	65
11	1.0	389	138	78	50	11	666	67
20	1.0	377	150	114	83	56	780	78
30	1.0	358	127	81	91	41	698	70
40	1.0	401	143	53	5	4	607	61

Tabla 4. Cosechas de cuerpos fructíferos de la cepa IBUC-4 obtenidos en bagazo de agave tequilero y los promedios de tiempo en los que se presentaron.

Cosechas	Días de					Fermentación				
	1	5	9	12	20	20	20	20	20	21
*1	28	29	35	28	20	20	20	20	20	21
2	20	19	30	25	19	19	19	19	19	21
3	25	25	22	25	18	18	18	18	18	21
4	---	25	---	25	18	18	18	18	18	21
5	---	---	---	---	18	18	18	18	18	21
Total	73	98	87	103	95	95	95	95	95	21

* Después de la inoculación.

Tabla 5. Cosechas de cuerpos fructíferos de la cepa IBUG-8, obtenidos en bagazo de agave tequilero y los promedios de tiempo en los que se presentaron.

Cosechas	Días de Fermentación								
	1	5	9	11	20	30	40		
*1	27	31	32	27	22	22	21		
2	19	15	22	13	15	13	21		
3	23	19	26	19	17	18	20		
4	31	19	29	23	20	16	31		
5	---	15	---	---	11	26	30		
Total	100	99	109	82	79	91	123		

* Después de la inoculación.

FIG. 1 DIAGRAMA DE PRODUCCION DEL TEQUILA



FIG. 2 METODOLOGIA SEGUIDA EN EL PRESENTE TRABAJO

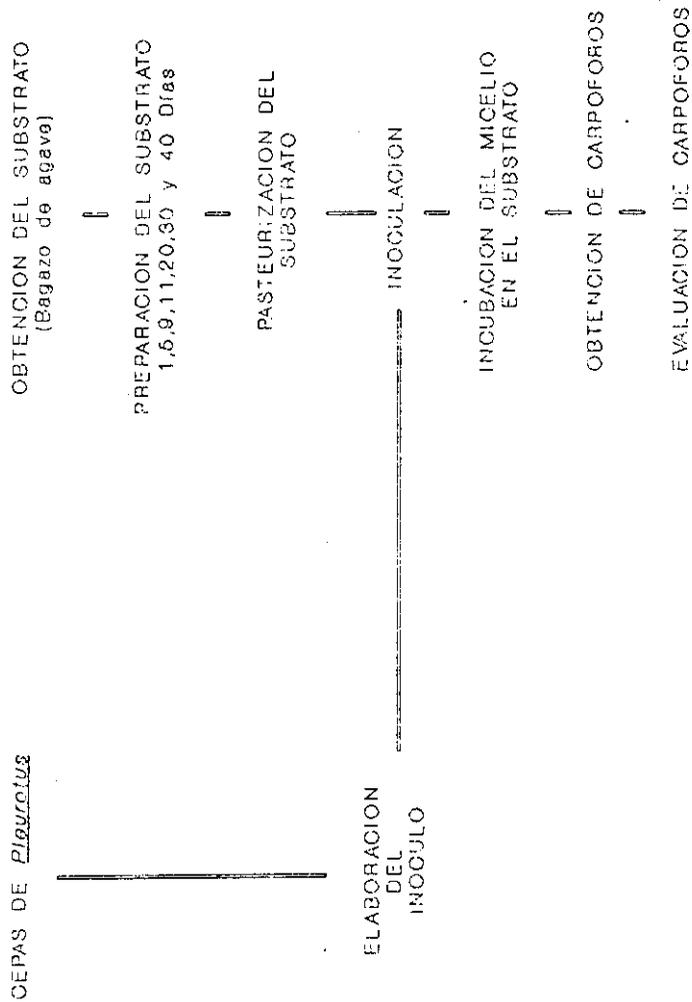


FIG. 3. TEMPERATURAS QUE SE REGISTRARON EN LA FERMENTACION DEL BAGAZO DE AGAVE

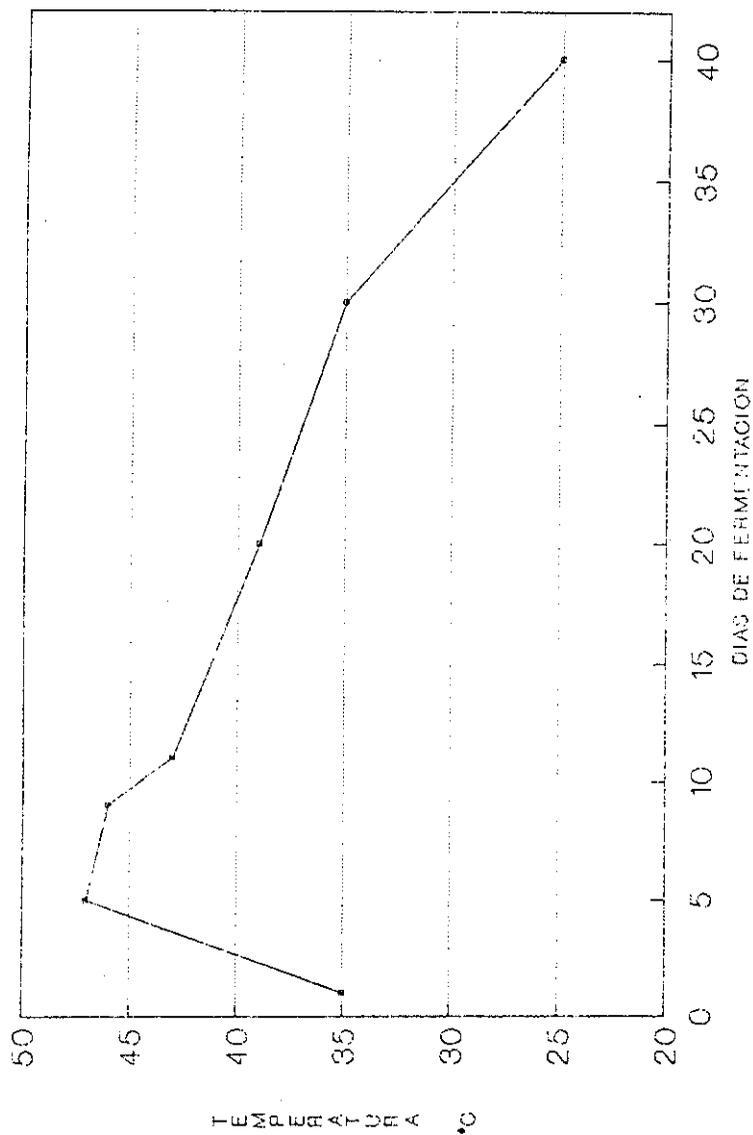


FIG. 4. EFICIENCIA BIOLÓGICA OBTENIDA
 CON DOS ESPECIES DE *PLEUROTUS* EN BAGAZO
 DE AGAVE TEQUILERO FERMENTADO

