

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**



**CRECIMIENTO MICELIAL Y ANÁLISIS NUTRIMENTAL DE LOS
CUERPOS FRUCTÍFEROS DEL GÉNERO *Pleurotus*
PRODUCIDOS EN PLANTA PILOTO EMPLEANDO DIFERENTES
SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

PRESENTA:

JARIM LEONARDO SAAVEDRA MOLINA

BAJO LA DIRECCIÓN DE LA:

DRA. MARÍA DEL CARMEN SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

Y LA CO-DIRECCIÓN DE LA:

DRA. MADAÍ ANGÉLICA GÓMEZ CAMARILLO

TUTOR:

DR. DANIEL MÉNDEZ ITURBIDE



Tlaxcala, Tlax., Febrero 2017.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Código: 505-RGE-04
 Publicación: Mayo 2016
 Revisión: 9001.2016 01

Jarim Leonardo Saavedra Molina
 CANDIDATO A MCSA
PRESENTE

En cumplimiento al artículo 52 fracción "d" del Reglamento General de Evaluación Académica, el comité de titulación ha revisado el trabajo de investigación titulado: **"Crecimiento micelial y análisis nutricional de los cuerpos fructíferos del género *Pleurotus* producidos en planta piloto empleando diferentes sustratos lignocelulósicos"**, realizado bajo la dirección de la Dra. María del Carmen Sánchez Hernández. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

- Dr. Daniel Méndez Iturbide
- MEF. Oscar G. Vázquez Cuecuecha
- MEF. María Eunise Marina Zamora Campos
- Dra. María del Carmen Sánchez Hernández
- Dra. Madafí Angélica Gómez Camarillo
- Dra. Aline López López
- Dra. Elizabeth García Gallegos

[Handwritten signatures on horizontal lines]

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"
 Ixtacuixtla, Tlax., 24 de enero de 2017

[Handwritten signature of Patricia Unión Huitrón]

MSP. Patricia Unión Huitrón
 COORDINADORA DE LA MCSA



CENTRO DE INVESTIGACIÓN
 EN GENÉTICA Y AMBIENTE
 MAESTRÍA EN CIENCIAS
 EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

c.c.p. Expediente



Documento exclusivo para uso de la dependencia responsable o autoridad correspondiente

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Dr. Bernabé Saavedra Herrera y Sra. Ana María Molina Atonal, por todas sus enseñanzas, por forjar los valores que me rigen hoy en día y por darme una vida llena de felicidad, cariño y por supuesto de gran apoyo para ver realizadas mis metas.

A la Srita. Martha Angélica Saldaña Ahuactzin

Por estar siempre a mi lado, en las buenas y en las malas, siendo el soporte y la fuerza para poder seguir adelante. Por su paciencia y sobre todo por la enorme alegría y felicidad que trae a mi vida.

A la Dra. María del Carmen Sánchez Hernández

Por ser parte sumamente importante de la realización de este proyecto de investigación, por sus grandes enseñanzas y por su gran amistad incondicional, que día con día forja una nueva visión del respeto, el compromiso y el trabajo duro.

A la Dra. Madaí Angélica Gómez Camarillo

Por el gran recibimiento a esta gran etapa de mi vida y por todas las facilidades para el ingreso a la Maestría en Ciencias en Sistemas del Ambiente y por ser un gran ejemplo de esfuerzo y dedicación.

Al Dr. Daniel Méndez Iturbide

Por aceptar ser parte del Comité Tutoral y asesorar, de una forma extraordinaria, la realización de este trabajo de investigación, además de sus grandes consejos de vida.

A la Universidad Autónoma de Tlaxcala

Por ser mi alma mater y por formar, a través de su gran plantilla académica, profesionistas con grandes capacidades para poder enfrentar dignamente el mundo laboral.

Al Centro de Investigación en Genética y Ambiente

Por ser una institución honorable, formada por un gran cuerpo académico, que orienta y fortalece las capacidades de sus estudiantes y que abre sus puertas a todo aquel que tenga la empatía para continuar con su formación profesional.

Al Centro de Investigación en Ciencias Biológicas

Por dar todas las facilidades para la utilización de sus instalaciones para poder llevar a cabo este trabajo de investigación.

A mis colegas y amigos del Centro de Investigación en Ciencias Biológicas

MC. Fernando García Palacios, MC. Victoria Conde Ávila y MC. Ángel González Márquez, por su apoyo, dedicación, empeño, compañerismo y sobre todo por la gran amistad que hemos forjado durante estos años.

Índice	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CRECIMIENTO MICROBIANO	1
1.2. <i>PLEUROTUS</i>	2
1.2.1. <i>Ciclo de vida de P. ostreatus</i>	3
1.2.2. <i>Propiedades bioquímicas de P. ostreatus</i>	5
1.2.2.1. <i>Glicógeno</i>	5
1.2.2.2. <i>Proteína intracelular</i>	5
1.2.3. <i>Propiedades nutrimentales del cuerpo fructífero de P. ostreatus</i>	5
1.2.4. <i>Sistema enzimático de P. ostreatus</i>	7
1.3. RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS	9
1.4. NATURALEZA QUÍMICA DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS.....	10
1.4.1. <i>Celulosa</i>	11
1.4.2. <i>Hemicelulosa</i>	11
1.4.3. <i>Lignina</i>	12
1.5. CULTIVO DE <i>P. OSTREATUS</i>	13
1.6. INCREMENTO DEL VALOR NUTRIMENTAL DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS POR <i>PLEUROTUS</i>	14
2. ANTECEDENTES	17
3. JUSTIFICACIÓN	20
4. OBJETIVOS	21
4.1. OBJETIVO GENERAL	21
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
5. HIPÓTESIS	22
6. MATERIALES Y MÉTODOS	23
6.1. CEPAS E INÓCULO.....	23
6.2. MEDIOS DE CULTIVO Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO	23
6.3. DETERMINACIONES EN LA FASE MICIAL DEL CRECIMIENTO DEL HONGO.....	24
6.3.1. <i>Velocidad de crecimiento radial y biomasa micelial</i>	24

6.4. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS	24
6.4.1. <i>Determinación del contenido de proteína intracelular</i>	24
6.4.2. <i>Determinación del contenido de glicógeno</i>	25
6.5. CULTIVO DE <i>PLEUROTUS</i>	26
6.5.1. <i>Preparación de la semilla</i>	26
6.5.2. <i>Pasteurización de los sustratos</i>	26
6.5.3. <i>Inoculación del sustrato y condiciones de incubación</i>	26
6.5.4. <i>Producción y cosecha de cuerpos fructíferos</i>	27
6.6. ANÁLISIS NUTRIMENTALES DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS DE <i>PLEUROTUS</i>	27
6.6.1. <i>Determinación de humedad</i>	27
6.6.2. <i>Determinación de cenizas</i>	28
6.6.3. <i>Determinación de proteínas</i>	28
6.6.4. <i>Determinación de lípidos</i>	30
6.6.5. <i>Determinación de carbohidratos totales</i>	30
6.6.6. <i>Cantidad de fibra dietética</i>	31
6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
6.8. DISEÑO EXPERIMENTAL	32
7. RESULTADOS	33
7.1. ANÁLISIS EN FASE MICELIAL	33
7.1.1. <i>Velocidad de crecimiento radial</i>	33
7.1.2. <i>Producción de biomasa micelial</i>	34
7.1.3. <i>Contenido de proteína intracelular</i>	35
7.1.4. <i>Contenido de glicógeno</i>	36
7.2. ANÁLISIS NUTRIMENTAL DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS DE <i>PLEUROTUS</i>	37
7.2.1. <i>Determinación de la composición nutrimental (g/100g en base seca) de los cuerpos fructíferos de <i>P. ostreatus</i> 26 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.</i>	37
7.2.2. <i>Determinación de la composición nutrimental (g/100g en base seca) de los cuerpos fructíferos de <i>P. ostreatus</i> 50 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.</i>	38

<i>7.2.3. Determinación de la composición nutrimental (g/100g en base seca) de los cuerpos fructíferos de P. pulmonarius 35 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.</i>	39
8. DISCUSIÓN	40
9. CONCLUSIONES.....	46
10. RECOMENDACIONES	47
11. LITERATURA CITADA.....	48

Índice de Tablas

Pág.

Tabla 1. Principales enzimas producidas por <i>P. ostreatus</i> crecido en diferentes sistemas de fermentación utilizando diversos sustratos	8
Tabla 2. Composición química de algunos residuos lignocelulósicos.	12
Tabla 3. Velocidad de crecimiento radial (mm/h) de diferentes cepas del género <i>Pleurotus</i> crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.....	33
Tabla 4. Biomasa micelial producida (g/cm ²) por diferentes cepas del género <i>Pleurotus</i> crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.....	34
Tabla 5. Cantidad de proteína intracelular (mg/g de biomasa producida) contenida en diferentes cepas del género <i>Pleurotus</i> crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.	35
Tabla 6. Cantidad de glicógeno (mg/g de biomasa producida) contenido en diferentes cepas del género <i>Pleurotus</i> crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.	36
Tabla 7. Determinación de la composición nutrimental (g/100 g en base seca) de los cuerpos fructíferos de <i>P. ostreatus</i> 26 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.	37
Tabla 8. Determinación de la composición nutrimental (g/100 g en base seca) de los cuerpos fructíferos de <i>P. ostreatus</i> 50 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.	38
Tabla 9. Determinación de la composición nutrimental (g/100 g en base seca) de los cuerpos fructíferos de <i>P. pulmonarius</i> 35 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.	39

Índice de Figuras	Pág.
Figura 1. Fases de crecimiento de <i>Pleurotus</i>	2
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Pleurotus</i>	4
Figura 3. Componentes de la pared celular vegetal.	10
Figura 4. Biodegradación de la lignina por hongos de pudrición blanca.	16

RESUMEN

Las especies de *Pleurotus* son capaces de colonizar y degradar una gran variedad de sustratos lignocelulósicos. Esto se debe a la capacidad de estos hongos para producir complejas enzimas lignocelulolíticas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el crecimiento micelial y la composición nutrimental de los cuerpos fructíferos de tres diferentes cepas del género *Pleurotus* desarrolladas sobre tres diferentes sustratos lignocelulósicos. Las cepas *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526 (proveniente de la colección de cultivos del ARS), *Pleurotus ostreatus* 50 (proveniente de la colección de cultivos del COLPOSMX) y *Pleurotus pulmonarius* 35 (proveniente de la colección de cultivos de la CHUHK) fueron utilizadas. La velocidad de crecimiento radial (u_r), biomasa micelial (bm) y la cantidad de glicógeno y de proteína intracelular, se evaluaron en la fase micelial del hongo crecido sobre los medios de cultivo, 1) agar extracto de paja de cebada (AEC), 2) agar extracto de paja de trigo (AET), 3) agar extracto de rastrojo de maíz (AERM) y 4) agar glucosa extracto de levadura (AGEL). Las propiedades nutrimentales fueron evaluadas en los cuerpos fructíferos producidos en diferentes sustratos, 1) paja de cebada, 2) paja de trigo y 3) rastrojo de maíz. Las cepas de hongos del género *Pleurotus* mostraron mayor velocidad de crecimiento radial, biomasa micelial y mayor contenido de glicógeno y proteína intracelular en el medio AERM. En el medio AGEL (el cual es un medio de composición conocida y glucosa como fuente de carbono), se observaron valores bajos de algunas las determinaciones en la fase micelial. Los cuerpos fructíferos producidos en rastrojo de maíz presentaron mayor cantidad de proteínas y carbohidratos para todas las cepas, particularmente *P. ostreatus* 50, que obtuvo la mayor cantidad de dichos nutrimento en este sustrato. Lo anterior demuestra que los medios de cultivo preparados a base sustratos lignocelulósicos, son adecuados para crecer y propagar estos organismos, particularmente el medio elaborado con rastrojo de maíz, debido a su composición rica en azúcares, lignina, celulosa y hemicelulosa. Asimismo, los cuerpos fructíferos del género *Pleurotus*, particularmente los producidos en rastrojo de maíz, representan un alimento de gran calidad que

puede ser incorporado a la dieta en sustitución de otros productos alimenticios con alto contenido de proteínas y carbohidratos y con bajos niveles de lípidos.

ABSTRACT

Pleurotus species are able to colonize a wide variety of lignocellulosic substrates. This is due to the ability of these fungi to produce enzymes. The aim of this work was to evaluate the mycelial growth rate and the nutritional composition of fruit bodies of three different strains of *Pleurotus* genus grown on three different lignocellulosic substrates. *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526 (from the ARS culture collection), *Pleurotus ostreatus* 50 (from the COLPOS-Puebla, MX culture collection) and *Pleurotus pulmonarius* 35 (from the CHUHK-China culture collection) were used. Radial growth rate (u_r), mycelial biomass (bm), glycogen content and intracellular protein were evaluated in the mycelial phase of growth from the fungi grown on the following culture media; 1) barley straw extract agar (AEC), corn stover extract agar (AERM), wheat straw extract agar (AET) and glucose-yeast extract agar (AGEL). Nutritional composition of *Pleurotus* fruit bodies cultivated on barley straw, corn stover and wheat straw were also determined.

All *Pleurotus* strains showed the greatest u_r , bm , glycogen content and intracellular protein in media prepared using AERM. AGEL (medium containing glucose as carbon source) showed the lowest mycelial growth parameters. Fruit bodies formed on corn stover had the highest protein and carbohydrate contents for all the tested strains. *P. ostreatus* 50 had the highest content in such components. These results show that lignocellulosic wastes-based agar media are more suitable for mycelial growth than a glucose-based agar medium and that *Pleurotus* fruit bodies cultivated on corn stover had the highest nutritional value compared to fruit bodies grown on wheat and barley substrates. *Pleurotus* fruit bodies cultivated on corn stover had a good quality nutritional value and can be incorporated for healthy diet in human consumption due to their low lipids content.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Crecimiento microbiano

En algunos sistemas biológicos, el crecimiento microbiano es el incremento ordenado de todos los constituyentes celulares que conducen a un aumento de masa y finalmente a un aumento de células. Para seguir el curso del crecimiento celular de microorganismos, es necesario hacer mediciones cuantitativas. El crecimiento puede ser medido en términos de dos parámetros, la masa celular y la velocidad de crecimiento, los cuales son expresados sobre un volumen fijo de medio de cultivo nutritivo (Fazenda, 2008).

Cuando se inocula un medio de nutrientes con micelio o una pequeña cantidad de otros microorganismos, éstos crecerán y se reproducirán, pudiendo distinguirse entonces una sucesión de fases caracterizadas por variaciones de la velocidad de crecimiento respecto al tiempo, las cuales son las siguientes:

1. Fase de adaptación: La velocidad de crecimiento es casi nula hasta el comienzo de la siguiente fase.
2. Fase exponencial: Se incrementa la velocidad de crecimiento y se mantiene constante.
3. Fase estacionaria: La velocidad de crecimiento es nula.
4. Fase de muerte: La velocidad de crecimiento es negativa.

La variación de la velocidad de crecimiento se obtiene calculando la pendiente de la fase exponencial. Esta velocidad de crecimiento de un microorganismo en un medio de cultivo representa la velocidad total de una serie de reacciones, en virtud de las cuales, un microorganismo puede sintetizar ciertas enzimas que tienen la capacidad de degradar algunos compuestos. Durante la fase exponencial, la velocidad de crecimiento es constante, de hecho es la única fase del crecimiento donde el incremento de la masa celular puede considerarse constante y el crecimiento se presenta de forma exponencial (Sánchez y Viniegra-González, 1996).

1.2. *Pleurotus*

Uno de los géneros de hongos comestibles que más se ha estudiado y cultivado durante los últimos años es *Pleurotus* debido a su facilidad de cultivo, potencial económico y calidad nutrimental. *Pleurotus* es un hongo que en su ambiente natural crece sobre el suelo, troncos o desechos agrícolas constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina (en porcentajes de 40-60, 15-50 y 10-30 respectivamente). Estos compuestos son degradados por dicho género para obtener así la principal fuente de alimentación para su crecimiento (Sánchez, 2009). Este hongo comestible “seta” presenta dos fases de crecimiento; una fase vegetativa que está representada por un crecimiento micelial (conjunto de hifas) y por una fase reproductiva (cuerpo fructífero o carpóforo) que está constituida por: estípite, himenóforo o laminillas y píleo (Sánchez, 1998) (figura 1). El micelio de este hongo puede crecer en una temperatura entre 15 y 35 °C, en un intervalo de pH entre 5,5 y 6,5 y humedad de 85 a 90% (Sánchez y Royse, 2001; Monterroso-Flores, 2007).

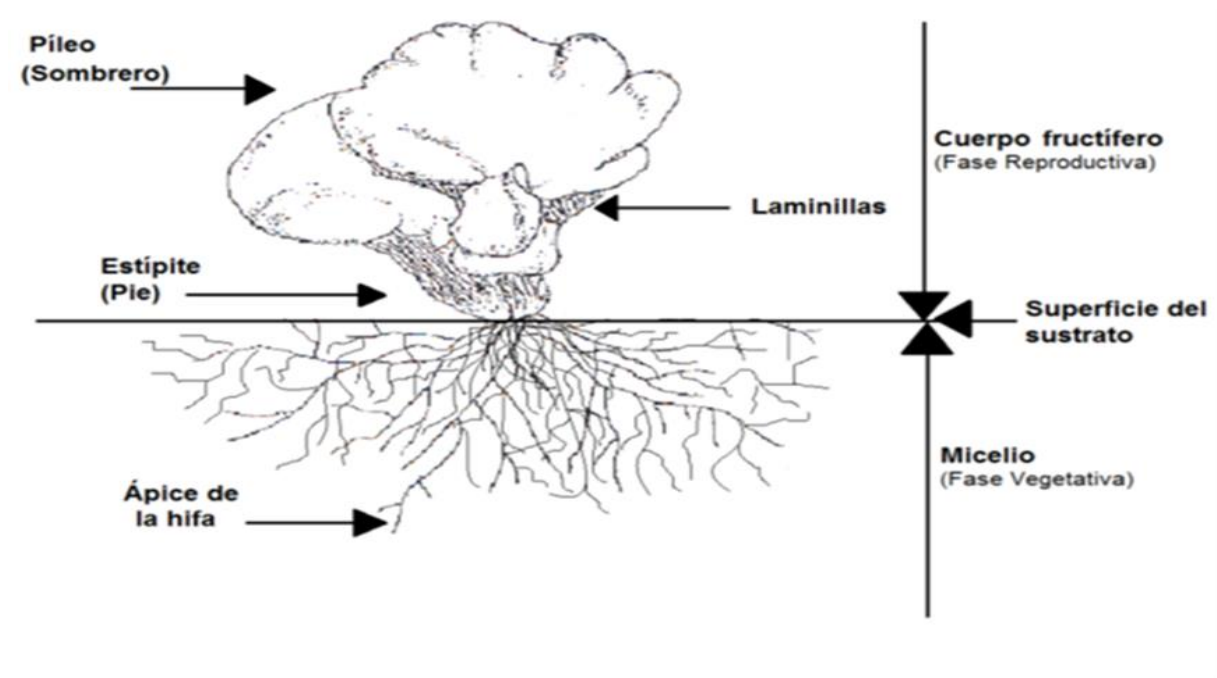


Figura 1. Fases de crecimiento de *Pleurotus*.

Fuente: Sánchez, 1998.

Morfológicamente, el cuerpo fructífero de *Pleurotus* se caracteriza por poseer píleo (ostra, concha, lengua u oreja) con una talla que va de 5 a 15 cm, de color gris, gris-café o gris pizarra. Dependiendo de las condiciones de crecimiento, los cuerpos fructíferos de las setas, desarrollan un micelio de diversas tonalidades cromáticas: blanco cremoso, café cremoso, café oscuro, gris, azul grisáceo o negro grisáceo (Cardona y Bedoya, 1996; Stamets, 2000).

Pleurotus es un hongo basidiomiceto saprófito, descomponedor del grupo de la podredumbre blanca, debido a la presencia de su sistema enzimático oxidoreductor como las lacasas, Mn-peroxidasas, veratril oxidasa, entre otras (Patel *et al.*, 2009; Díaz *et al.*, 2013). La diversidad del género *Pleurotus* abarca al menos 30 especies, destacando: *Pleurotus djamor*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus sajor-cajou*, *Pleurotus citrinopileatus* y *Pleurotus ostreatus*.

1.2.1. Ciclo de vida de *P. ostreatus*

El ciclo de vida de *Pleurotus* implica una sucesión de etapas que van desde la germinación de las esporas hasta la formación de cuerpos fructíferos. En condiciones adecuadas las esporas germinan y dan lugar al micelio (Moore-Landecker, 1996; Herrera y Ulloa, 1998; Valencia-del Toro, 2002). El crecimiento micelial puede ser analizado a través de la velocidad de crecimiento radial (u_r) y la cantidad de biomasa micelial (bm). La u_r es un parámetro que determina la rapidez con la que un organismo puede invadir un sustrato, se obtiene al calcular la pendiente del avance micelial respecto al tiempo de crecimiento, empleando la ecuación de la línea recta, de acuerdo a lo reportado por Sánchez y Viniegra-González (1996). La bm es la cantidad de masa celular producida por un organismo, se obtiene al filtrar el micelio del medio de cultivo, este micelio es pesado y secado a 60 °C por 24 horas, pasado este periodo de tiempo, es pesado nuevamente, para realizar una diferencia de pesos y obtener la cantidad de bm producida (Suárez-Segundo *et al.*, 2013).

En los basidiomicetos existen dos modelos sexuales: 1) el homotalismo: los que pertenecen a este grupo son auto compatibles, es decir la unión sexual puede efectuarse entre elementos de un mismo micelio y 2) el heterotalismo: son necesarios dos micelios para llevar a cabo la reproducción. El género *Pleurotus* está dentro de este último modelo. En este las basidiosporas con un núcleo germinan (micelio primario monocariótico) (fig. 2/A) y se fusionan dos micelios primarios compatibles, en los cuales hay un intercambio nucleico recíproco (plasmogamia) (fig. 2/B), formando el micelio secundario dicariótico con la presencia de fíbulas (fig. 2/C), la fusión nuclear (cariogamia) ocurre en los basidios, que se encuentran en las laminillas del cuerpo fructífero (fig. 2/D), posteriormente ocurre la meiosis, dando origen a células haploides (basidiosporas), que son expulsadas hacia el ambiente (fig. 2/E) (el número de cromosomas está representado con la letra n) (Olivier *et al.*, 1991) (figura 2).

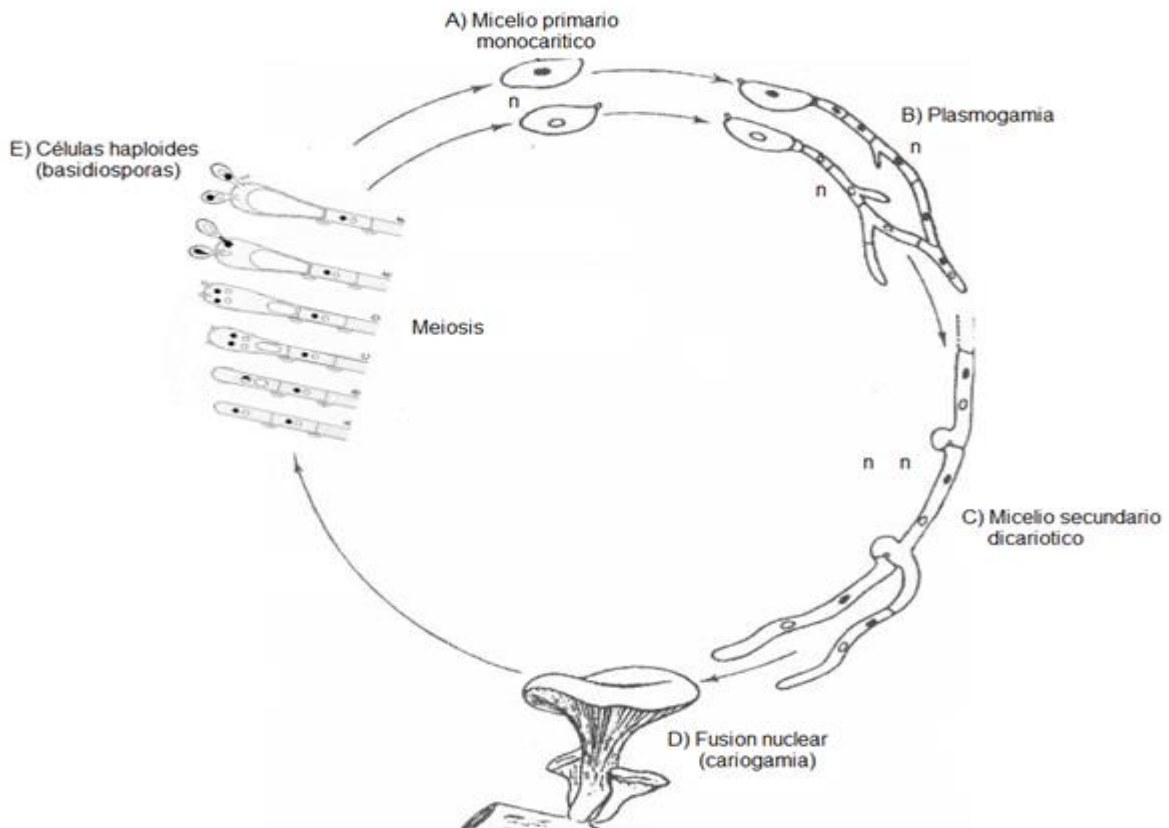


Figura 2. Ciclo de vida de *Pleurotus*.

Fuente: Olivier *et al.*, 1991.

1.2.2. *Propiedades bioquímicas de P. ostreatus*

1.2.2.1. *Glicógeno*

El glicógeno es el material de reserva energética de las células de los hongos y de los animales. Está formado por -D- glucopiranosas unidas por enlaces α -1,4 con ramificaciones cada 6 o 10 glucosas unidas mediante enlaces α -1,6. El glicógeno contenido en el micelio se encuentra en mayor cantidad en las hifas jóvenes (periferia de la colonia), ya que estas crecen por el ápice (punta de la hifa) y requieren dicha fuente de energía para su crecimiento, en comparación con las hifas maduras (zona central de la colonia) que presentan menor cantidad de glicógeno y muestran grandes cantidades de glucanos que proporcionan rigidez y protección a la pared celular de las hifas de acuerdo a lo reportado por Sánchez *et al.* (2004).

1.2.2.2. *Proteína intracelular*

Las proteínas tienen diversas funciones en las hifas como participar en el mantenimiento de su forma, protegerlas de sustancias extrañas, participar en la absorción de moléculas, transmitir señales al citoplasma, sintetizar y remodelar los componentes de la pared celular (Bowman *et al.*, 2006). El mayor contenido de proteínas se encuentra en la zona joven del micelio y es propio del crecimiento activo de las hifas que empleen estas proteínas, además del glicógeno para su crecimiento (González-Márquez *et al.*, 2015).

1.2.3. *Propiedades nutrimentales del cuerpo fructífero de P. ostreatus*

La alimentación humana es muy variada y depende de la región del mundo donde se encuentra, principalmente está constituida por proteína de origen animal, carbohidratos obtenidos a partir de tubérculos y cereales, lípidos, vitaminas y minerales; sin embargo, para su obtención, muy poco se ha tomado en cuenta la fuente a partir de hongos comestibles como *P. ostreatus*. Los hongos se han considerado como un alimento alternativo completo, debido a su contenido de

nutrientes, tanto para humanos como para animales. Los hongos comestibles y medicinales del género *Pleurotus*, *Lentinula* y diferentes especies de *Agaricus*, se han distribuido en supermercados y otros centros de venta, dadas sus propiedades nutritivas y nutracéuticas (Sánchez, 2010).

La biomasa de este hongo es fácilmente digerible, la quitina que contiene la pared celular provee de una fuente importante de fibra dietética. El carpóforo de *Pleurotus* se compone de un 90% de agua y 10% de materia seca (Morais *et al.*, 2000; Sánchez *et al.*, 2004) y es una excelente fuente de proteína (40-60%). El contenido energético va de 250 a 350 kcal/kg; sin embargo, depende de factores tales como la especie y el estado de desarrollo (Longvah y Deosthale, 1998). El contenido de aminoácidos en general (g/100g de proteína) es de aproximadamente un 34 a 47%. *P. ostreatus* contiene aminoácidos esenciales, siendo los principales la alanina, el ácido glutámico y la glutamina. El nivel de aminoácidos libres en los hongos comestibles es bajo (7.14-12.3 mg/g en peso seco) pero contribuye en las propiedades de sabor (Maga, 1981). El contenido de carbohidratos de los hongos varía con la especie y oscila entre 35 a 70% (Mau *et al.*, 2001), contienen un nivel alto de oligosacáridos y sólo un bajo nivel de azúcares solubles totales (Bano y Rajarathnam, 1988). Para el género *Pleurotus* se ha reportado entre un 57% y 14% de fibra cruda, de los cuales el 47% es fibra dietética. El nivel de ácidos grasos en los hongos es generalmente bajo, alrededor de 2-8%. El nivel de ácidos grasos poliinsaturados en comparación con ácidos grasos saturados es bastante alto, lo que constituye más del 75% del total de ácidos grasos, de los cuales los ácidos oleico y linoleico son los más representativos (Ribeiro *et al.*, 2009), mientras que el ácido palmítico es el principal ácido graso saturado. El contenido de lípidos en *Pleurotus* es alrededor de 3 al 5%, los ácidos grasos, principalmente insaturados, son de fácil digestión y de naturaleza hipolipidémica, por lo que este hongo se ha definido como un alimento libre de colesterol. Se han identificado 23 ácidos grasos, principalmente en el estípite que contiene desde mono, di y triglicéridos, esteroides y fosfolípidos. Los compuestos volátiles derivados de la acción enzimática a partir del ácido

oleico y linoleico son responsables en gran parte del aroma y sabor característico de este tipo de hongos (Rajarathnam y Bano, 1991). El contenido de vitamina B2 en los hongos en general es mayor que el que se encuentra en los vegetales, y en algunas variedades incluso tienen un nivel como la que se encuentra en el huevo y queso (Mattila *et al.*, 2001). Las setas contienen cantidades moderadamente altas de folatos en concentraciones que son de la misma magnitud como se encuentra en los vegetales. Contiene ácido fólico entre 30.0-14.12 mg/100 g de peso seco, además de riboflavina, niacina y folatos; las setas cultivadas también contienen pequeñas cantidades de vitamina B1 y trazas de vitaminas B12 y D2 (Mattila *et al.*, 2001). Para *Pleurotus* el contenido de tiamina se encuentra entre 4.8 y 7.8 mg/100g, riboflavina 4.7 a 4.9 mg/100g y niacina 55 a 109 mg/100g. El contenido de ácido ascórbico (vitamina C) se ha reportado hasta de 36 a 58 mg/100g y es una fuente importante de antioxidantes. Los hongos absorben todos los minerales que contiene el substrato donde son cultivados, por lo general contienen buena cantidad de fósforo y potasio, además de zinc, cobre, magnesio, hierro, manganeso y calcio, aluminio y sodio en menor cantidad (Ribeiro *et al.*, 2009).

1.2.4. Sistema enzimático de *P. ostreatus*

Los hongos ligninolíticos como *P. ostreatus* presentan un sistema enzimático único y no específico que funciona en el ambiente extracelular como se muestra en la tabla 1. Este mecanismo permite que estas enzimas sean catalíticamente activas sobre una gran diversidad de sustratos orgánicos. La enorme diversidad estructural de los contaminantes que son degradados por estos hongos, les confiere un uso potencial en la biorremediación (Christian *et al.*, 2005).

Tabla 1. Principales enzimas producidas por *P. ostreatus* crecido en diferentes sistemas de fermentación utilizando diversos sustratos

Enzima	Función	Sustrato	Sistema de fermentación	Referencia
Proteasas dependientes de metal	Coagulante de leche	Cuerpos fructíferos crecidos sobre rastrojo de paja	Fermentación sumergida	Lebedeva y Proskuryakov 2008
Serin proteasas	Coagulate de leche	Cuerpos fructíferos crecidos sobre rastrojo de paja	Fermentación solida	Lebedeva y Proskuryakov 2008
Celulasas	Biodegradación de celulosa	Aserrín, bagazo de caña de azúcar y paja de arroz	Fermentación solida	Khalil <i>et al.</i> 2011
Lacasas y Mn-peroxidadas	Biodegradación de hidrocarburos aromaticos policiclicos (HAP)	HAP	Fermentación sumergida	Patel <i>et al.</i> 2009
Lacasas	Biodegradación de lignina	Glucosa y extracto de levadura	Fermentación sumergida y sólida	Díaz <i>et al.</i> 2013; Velázquez <i>et al.</i> 2014
Esterasas	Biodegradación de ftalatos	Di octil y Butilbezil ftalato	Fermentación sumergida	Hwang <i>et al.</i> 2012

Estos hongos ligninolíticos, pueden degradar parcial o totalmente compuestos orgánicos persistentes con estructura análoga a la lignina. Por ello, la gran importancia en su aplicación industrial y en procesos de biorremediación de contaminantes recalcitrantes como plaguicidas, tintes, explosivos aromáticos (Sheremata y Hawari, 2000; Axtell *et al.*, 2000), hidrocarburos aromáticos policíclicos, (Asgher *et al.*, 2008), PCBs (Fernández-Sánchez *et al.*, 2001) así como nonifenoles, bisfenoles A y ftalatos (Hwang *et al.*, 2008). La biodegradación de estos compuestos se considera un proceso no específico, llevado a cabo por un sistema enzimático oxidativo extracelular (lacasas, esterasas Mn-peroxidadas) donde los compuestos son mineralizados a CO₂ (García y Torres, 2003).

1.3. Residuos lignocelulósicos

Los residuos lignocelulósicos incluyen a aquellos subproductos tanto de origen forestal y agrícola como industrial, cuyas aplicaciones dentro del sector productivo que las origina se limita a la naturaleza del subproducto, las prácticas tradicionales de la región, la disponibilidad del recurso económico y el conocimiento de su entorno; estos materiales poseen características químicas estructurales, entre las que sobresale su alto contenido de lignina y del cual reciben el término lignocelulósicos; este compuesto confiere, entre otras cosas la resistencia de la pared celular de la planta, dando forma, rigidez y estructura, protegiéndola de ataques microbianos (Marques, 2010). Cabe señalar, que en muchos de los casos, estos residuos son vistos como fuente de alimento para el ganado, tal es el caso de los generados por el sector agrícola y algunos subproductos agroindustriales, sirviendo como forraje durante época de secas; sin embargo, el aporte de sus nutrimentos está limitado por la capacidad del ganado para absorberlos ya que la lignina es un compuesto que obstruye el acceso a la celulosa, lo cual produce una difícil digestibilidad y por lo tanto un bajo aporte nutrimental para el ganado (Díaz-Godínez y Sánchez, 2002). Los residuos agrícolas derivados de cosechas son vistos como aquellos de mayor volumen y difícil control, tal es el caso de pajas y esquilmos; mientras que aquellos provenientes de la actividad forestal producto de la poda y extracción, son considerados como difíciles controlar y de amplia difusión (Navarro *et al.*, 1995), por tal motivo, propone la clasificación de residuos lignocelulósicos de acuerdo al sector productivo que los origina:

- Los derivados del sector primario, de actividades como la agricultura, ganadería y forestal; tales como, los esquilmos agrícolas, aserrín, viruta, corteza, astilla, etc.
- Los obtenidos del sector secundario y terciario, formado por residuos agroindustriales y urbanos, como los bagazos (caña de azúcar, agave, manzana), pulpa de café, té, etc.

Se estima que a nivel mundial se producen aproximadamente tres billones de paja derivada del cultivo de cereales, de los cuales cerca de 191 millones de toneladas son de rastrojo de maíz, 185 millones son de paja de trigo y 42 millones son pertenecientes a la de paja de cebada, todo esto de forma anual (FAO, 2006). En México se producen anualmente 45 millones de toneladas de rastrojos, de los cuales cerca del 84% corresponde tan solo a cuatro cultivos: maíz (56%), sorgo (16%), trigo (9.8%) y cebada (1.5%). Solo una pequeña cantidad de estos subproductos, ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina, son utilizados, el resto sigue siendo considerado como residuos (SAGARPA, 2014).

1.4. Naturaleza química de los residuos lignocelulósicos

Las características de los residuos lignocelulósicos dependen de la materia prima y del proceso que los origina; sin embargo, poseen características que los hacen similares, como lo es su composición química rica en celulosa, hemicelulosa y lignina (Saval, 2012). Estos residuos representan la mayor fuente de materia orgánica renovable de la biosfera, cuya estructura y composición química varía dentro de amplios rangos, lo cual determina su uso industrial y su posible aplicación en métodos biotecnológicos (Marques, 2010). La figura 3 muestra los constituyentes de la pared celular de estos materiales vegetales.

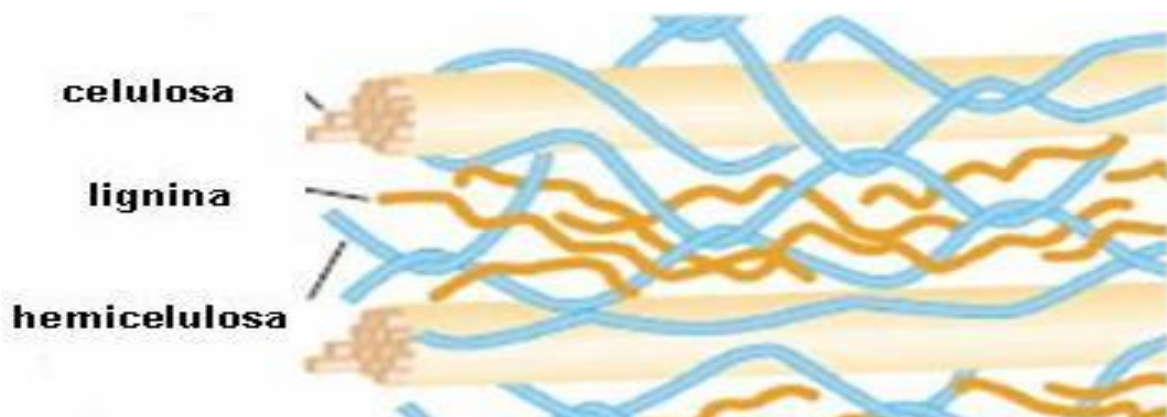


Figura 3. Componentes de la pared celular vegetal.

Fuente: <http://www.cerzosconicet.gov.ar/BoletinCERZOS/2009-16/sabia.htm>

1.4.1. Celulosa

La celulosa es el componente mayoritario de residuos como la madera y otras fibras vegetales, además de ser el compuesto más sencillo y abundante en la naturaleza, ya que constituye entre el 40 y 50% de la pared celular de la planta en estado de madurez (Espino, 2000; Delfín y Durán, 2003), confiriéndole estructura y soporte; posee cadenas poliméricas que al ser hidrolizadas liberan unidades de glucosa; se le encuentra asociadas con fibras hemicelulósicas, que son polímeros distintos a la glucosa, básicamente xilosas y manosas. Su estructura se encuentra compuesta por un polímero de residuos de D-glucosa unidos por enlaces α -1,4, cuya estructura consiste en cadenas de celulosa unidas por puentes de hidrógeno intermoleculares que forman agregados. En una molécula de celulosa se encuentran alrededor de 3000 unidades de glucosa, las cuales pueden encontrarse en estado amorfo o cristalino (Espino, 2000).

1.4.2. Hemicelulosa

Constituye el principal componente de las paredes celulares en las plantas, actuando como matriz de soporte para las microfibrillas de celulosa y estructuralmente son más complejas que esta última (Marques, 2010); se trata de un polímero heterogéneo constituido por diferentes polímeros de monosacáridos de cadenas de hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y pentosas (xilosa y arabinosa), cuya molécula predominante es el xiloglucano constituida por cadenas de unidades de D- glucosa con enlaces tipo β -1,4 con ramificaciones terminales de unidades de xilosa con enlaces del tipo α -1,6 cuyas moléculas se encuentran unidas por enlaces covalentes a la fracción proteica de la pared celular y por uniones de hidrógeno a las microfibrillas de celulosa aumentando significativamente la resistencia de células vegetales (Maynard *et al.*, 1981). La hidrólisis de celulosa y hemicelulosa depende de la estructura de la que forman parte, de los monómeros que las conforman y del tipo de enlace entre ellos (Hadar *et al.*, 1992).

1.4.3. Lignina

La lignina es un compuesto resistente a la degradación, posee una estructura reticular tridimensional de anillos aromáticos unidos por átomos de oxígeno, la cual obstaculiza el acceso de enzimas hidrolíticas hacia las fibrillas celulósicas. La biotransformación de lignina es un proceso fundamental en el ciclo del carbono, cuyo proceso metabólico es realizado por mecanismos oxidantes extracelulares (Delfín y Durán, 2003). Es el segundo polímero más abundante en el mundo vegetal, después de la celulosa, actúa como aglomerante de las fibras debido a su carácter hidrófobo siendo una de las moléculas orgánicas más recalcitrantes (Marques, 2010), por lo que se le atribuye la rigidez de las plantas y el desarrollo de mecanismos de resistencia al estrés y ataques microbianos.

La molécula de lignina está constituida por unidades de fenilpropano, alcoholes aromáticos, p-coumarílico, coniferil y sinapílico asociados con la celulosa y hemicelulosa de las plantas (Marques, 2010). La asociación existente entre la lignina y los polisacáridos de la pared celular, determina la rigidez y resistencia estructural de la planta, lo que está en función de la especie y edad de la misma.

Tabla 2. Composición química de algunos residuos lignocelulósicos.

Residuo	Contenido en porcentaje (%)			Referencia
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	
Paja de trigo	30.2	22.3	15.3	Ballesteros <i>et al.</i> 2006; González-Rentería <i>et al.</i> 2011.
Paja de cebada	35-40	20-30	8-15	García-Aparicio <i>et al.</i> 2007
Rastrojo de maíz	36.4	28.4	16.6	Olofsson <i>et al.</i> 2008; Martínez-Trejo <i>et al.</i> 2012.
Pasto elefante	38.2	24.7	13.5	Chacón-Hernández y Vargas-Rodríguez 2009.
Bagazo de caña	34.5	22.4	18.9	Jaramillo-Pineda <i>et al.</i> 2012.

1.5. Cultivo de *P. ostreatus*

El cultivo de hongos comestibles es un proceso biotecnológico que se encuentra en continua expansión, cuyas aplicaciones permiten la diversificación de procesos de importancia industrial, mismas que se ven reflejadas en las ganancias millonarias a nivel mundial, que de acuerdo con Martínez-Carrera (2007) superan los 3.6 billones de dólares en mercados internacionales provenientes de industrias farmacéuticas, alimenticias, cosméticas y de perfumería con mayor demanda en países como Japón y Estados Unidos (Chang y Miles, 2004). Algunos de estos hongos comestibles son del género *Pleurotus* los cuales poseen un gran potencial de conversión de desechos lignocelulósicos (Sánchez, 2010). Esta capacidad del género *Pleurotus* de colonizar dichos sustratos es una adaptación ecológica para desarrollarse y vivir en la naturaleza.

Por muchas razones, los hongos del género *Pleurotus* han sido intensamente estudiados y cultivados en diferentes partes del mundo. *Pleurotus* ocupa el segundo lugar en producción a nivel mundial, después del champiñón (*Agaricus bisporus*), dado que requiere de técnicas simples y de bajo costo para su cultivo, ya que necesita pocos nutrimentos en el sustrato para su desarrollo, es de fácil adaptación a los ambientes de cultivo y son importantes por su sabor y propiedades nutrimentales (Sánchez, 2010). *Pleurotus* requiere un tiempo de crecimiento más corto en comparación con otros hongos comestibles. El sustrato empleado en la producción de *P. ostreatus* no requiere esterilización, solo pasteurización, lo cual es menos costoso. Los materiales más comúnmente utilizados como fuente de carbono incluyen la paja de trigo, de avena, de centeno, de sorgo, tallos de planta de maíz, plantas, paja de arroz, bagazo de caña, entre otros (Miles y Chang, 1997; Stamets y Yao, 2002; Sánchez, 2010). *Pleurotus* demanda poco control en las condiciones ambientales para su producción y sus cuerpos fructíferos no son comúnmente atacados por enfermedades o pestes, y pueden ser cultivados de una forma simple y barata. El cultivo de este “hongo ostra” convierte un alto porcentaje del sustrato a cuerpos fructíferos, incrementando su rentabilidad (Sánchez, 2010).

1.6. Incremento del valor nutrimental de los residuos lignocelulósicos por *Pleurotus*

La estructura básica de los materiales vegetales consta de tres polímeros, cuya proporción relativa depende del origen del vegetal, de tal manera que la concentración de celulosa varía de un 30-50%, hemicelulosa de 19-45% y lignina de 15-35% (Segura *et al.*, 2007). Se han utilizado estos subproductos para la alimentación de los rumiantes; sin embargo, se ve limitado dicho uso debido a los altos niveles de lignina, que dificultan la digestión para el ganado. Muchos de estos residuos también contienen factores antinutricionales; tales como, taninos y saponinas, los cuales interfieren con la normal digestión, absorción y metabolismo del alimento (Wardlaw y Insel, 1995). Durante la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa, la lignina genera compuestos que inhiben el proceso de fermentación (Wyman *et al.*, 2005), por lo que se están utilizando especies del género *Pleurotus* que tienen la capacidad de degradar preferentemente la lignina, dejando intactas la hemicelulosa y celulosa, debido a la presencia de su completo sistema de enzimas ligninolíticas, lo que ha hecho a este tipo de hongos de especial interés en la biotecnología, debido a su posible utilización en los procesos de delignificación (Sánchez y Cardona, 2007) y dar un valor agregado a los residuos agrícolas.

En el proceso químico de degradación que ocurre durante este proceso (figura 4), las enzimas producidas por este hongo (lacasas, veratril oxidasas y manganeso peroxidasas) oxidan el polímero de la lignina, lo que genera radicales aromáticos (a). Estas están relacionadas con diferentes reacciones no enzimáticas, incluyendo el rompimiento del enlace éter C-4 (b), división del anillo aromático (c), ruptura de los enlaces C α - C β (d) y demetoxilación. Los aldehídos aromáticos liberados de la ruptura de los enlaces C α - C β de la lignina o sintetizados por los hongos (f, g) son los sustratos para la producción de H₂O₂ por la aril-alcohol oxidasa (AAO) en las reacciones cíclicas de reducción en donde también participan la enzima aril-alcohol deshidrogenasa.

Los radicales fenoxi (producidos de la ruptura de los enlaces C α - C β) (b) pueden volver a polimerizar la molécula de la lignina (h) si no se reducen por las oxidasas a compuestos fenólicos (i). Los compuestos fenólicos obtenidos pueden volver a reoxidarse por acción de lacasas o peroxidasas (j). Los radicales fenoxi pueden ser sometidos al rompimiento del enlace C α - C β (k), produciendo p-quinonas. Las quinonas de g y/o k contribuyen a la activación del oxígeno en el ciclo de las reacciones redox por la acción de las quinonas reductasas, lacasas y peroxidasas (l, m). Esto resulta en la reducción del hierro férrico presente en la madera (n), o por el radical superóxido o directamente por los radicales semiquinonas y su reoxidación con la concomitante reducción de H₂O₂ a los radicales libres hidroxilo (OH) (o). Este último es un oxidante muy fuerte que puede iniciar el ataque a la lignina (p) en las etapas iniciales de la descomposición de la madera, cuando los poros de tamaño pequeño de la pared celular intacta impiden la penetración de enzimas ligninolíticas. Entonces, el proceso de degradación de lignina comienza por el ataque de las enzimas descritas anteriormente (Sánchez, 2009).

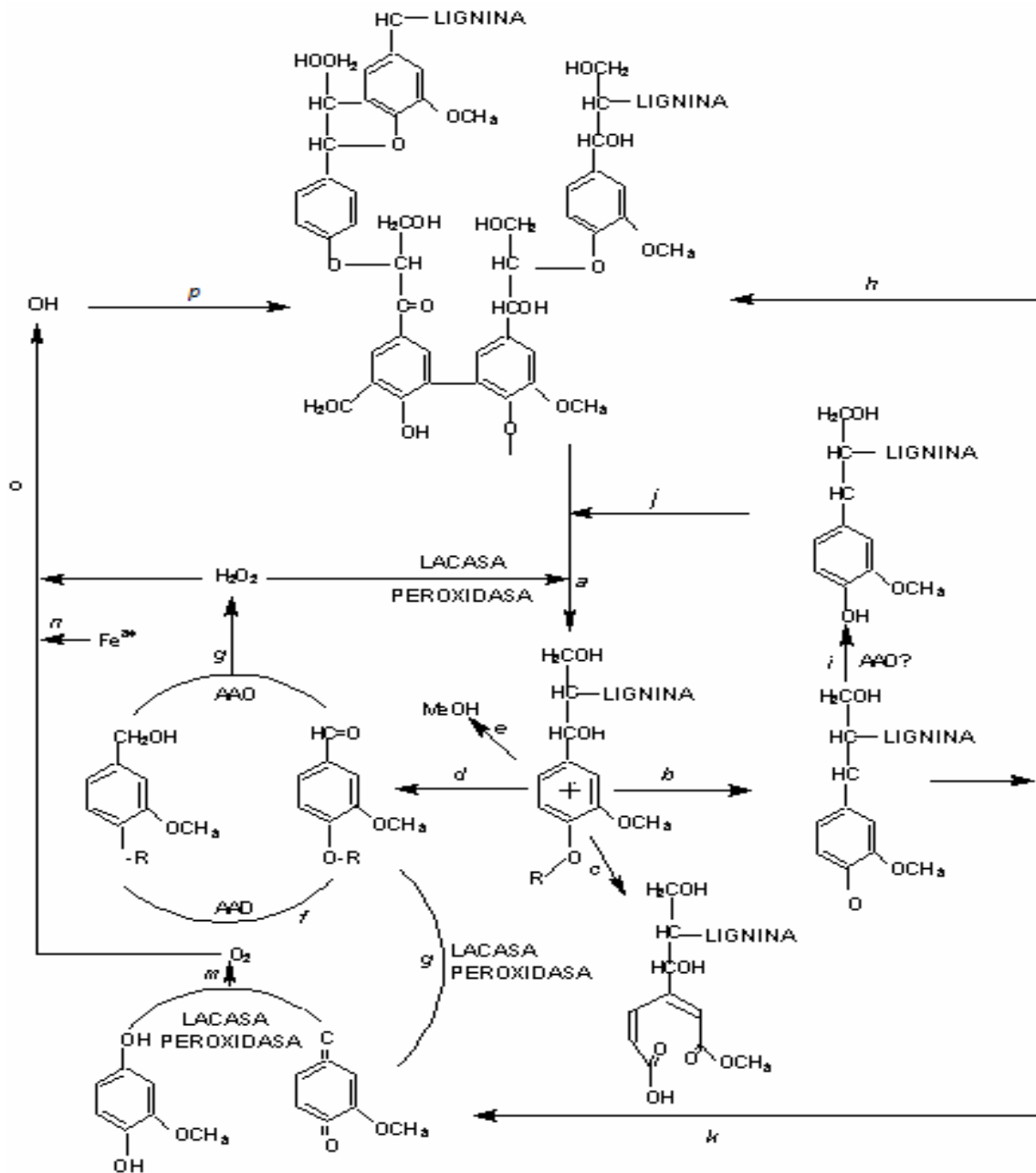


Figura 4. Biodegradación de la lignina por hongos de pudrición blanca.

Fuente: Sánchez, 2009.

El cultivo de *P. ostreatus* demuestra ser un método altamente eficiente para utilizar desechos considerados contaminantes y al mismo tiempo la obtención de un alimento de gran contenido nutricional.

2. ANTECEDENTES

Se han realizado diversos estudios sobre el crecimiento micelial y composición nutrimental de hongos comestibles como los del género *Pleurotus*, además de su gran capacidad de degradación de compuestos lignocelulósicos.

Sánchez y Viniegra-González (1996) determinaron la u_r de seis cepas diferentes de *Pleurotus* crecidas sobre diferentes medios de cultivo a base de almidón y glucosa como fuente de carbono, adicionados con diferentes concentraciones de 2-deoxi-D-glucosa (2-DG). El medio a base de glucosa, con concentraciones de 0.01 y 0.1 g l⁻¹ obtuvo los valores más altos de u_r en comparación con los medios de cultivo preparados a base de almidón, que con estas mismas concentraciones se inhibió el crecimiento micelial.

Sainos *et al.* (2006) evaluaron la velocidad de crecimiento radial de la fase vegetativa de *P. ostreatus* crecido sobre 5 diferentes medios de cultivo a base de extracto de paja de trigo mezclado con extracto de grano de trigo, con concentraciones de 100% de paja (M1), 75% de paja y 25% de grano (M2), 50% de paja y 50% de grano (M3), 25% de paja y 75% de grano (M4) y 100% de grano (M5). En dicho estudio *P. ostreatus* mostró una u_r de 490 $\mu\text{m}/\text{h}^{-1}$ en M3, el cual obtuvo el mayor valor en comparación con el resto de los medios, donde los valores más bajos se presentaron en los medios preparados con 100% de paja y grano de trigo.

Tlecuitl-Beristain *et al.* (2003) realizaron estudios de la cantidad de *bm* producida por *Aspergillus niger* crecido en medios de cultivo adicionados con glucosa o sacarosa, en diferentes concentraciones (40, 60, 80, 100 y 120 g/l). En todos los casos, la biomasa máxima producida (X_{max}) fue aumentando conforme al incremento en la concentración de glucosa o sacarosa, la X_{max} fue alcanzada a una concentración de 100 g/l en ambos medios, el mayor valor se mostró en el medio de cultivo con sacarosa (34.8 g/l) con respecto al medio de cultivo con glucosa (32.2 g/l). Los medios con concentración de 120 g/l de glucosa o sacarosa

presentaron valores alrededor del 10% más bajos que los medios con concentración de 100 g/l.

Suarez-Segundo *et al.* (2013) determinaron la cantidad de *bm* producida por *Fusarium oxysporum*, *Mortierella alpina*, *P. pulmonarius*, dos cepas de *P. ostreatus* (Po 37 y Po 83) y una cepa de *Pleurotus florida* crecidas sobre seis diferentes medios de cultivo, los cuales contenían diferentes concentraciones de di (2-etilhexil) ftalato (DEHF) y dibutil ftalato (DBF). De acuerdo con esto, reportaron que, en general, todas las cepas obtuvieron mayor cantidad de *bm* en los medios con glucosa, sin adición de DEHF o DBF, seguidas por el medio conteniendo DEHF. *P. florida* produjo la mayor cantidad de *bm* (225 mg/cm²), seguido por Po. 83 (200 mg/cm²) en los medios adicionados con glucosa.

En otros aspectos, se han realizado diversos estudios sobre la composición bioquímica de la fase micelial de *Pleurotus*.

Sánchez *et al.* (2004) estudiaron el contenido de glicógeno en el micelio de *P. pulmonarius* crecido sobre medio de cultivo con agar papa dextrosa (PDA). Según lo reportado, se realizaron estudios de dos zonas del micelio crecido en cajas Petri, la zona central de la colonia (ZCC) y la zona periférica de la colonia (ZPC), encontrando que el contenido de glicógeno intracelular de las hifas de la ZPC es dos veces más alto que el de las hifas de la ZCC (507 mg/g y 237 mg/g respectivamente).

Tellez-Tellez *et al.* (2003) reportaron la cantidad de proteína intracelular de la fase micelial de *P. pulmonarius* crecido sobre PDA. De acuerdo a dicho estudio se prepararon estos medios de cultivo en dos diferentes presentaciones, uno con membrana de celofán (CMC) y otro sin membrana de celofán (SMC). Los resultados muestran que la cantidad de proteína intracelular contenida en las hifas del medio PDA-SMC fue de 14.3 mg/g de biomasa producida, aproximadamente 7

veces más alto que lo reportado para el medio PDA-CMC, donde se presentó una cantidad de proteína intracelular de 1.9 mg/g de biomasa producida.

González-Márquez *et al.* (2015) reportaron el contenido de glucanos solubles e insolubles de la fase vegetativa de una cepa de *Lentinula edodes* crecido en medio agar glucosa extracto de levadura, adicionado con diferentes concentraciones de Di(2-etilhexil) ftalato (DEHF) (0, 750, 1200 y 1500 mg de DEHF/L). El mayor contenido de glucanos insolubles se presentó en el medio con 1200 mg de DEHF/L (355.628 mg/g de biomasa producida), mientras que el mayor contenido de glucanos solubles se presentó en el medio sin adición de DEHF (64.457 mg/g de biomasa producida).

Alam *et al.* (2008) realizaron el análisis bromatológico de cepas de *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor caju*, *Pleurotus florida* y *Calocybe indica*. Reportaron que estos hongos comestibles son ricos en proteínas (20 - 25%) y fibras (13 - 24%) y contenían una cantidad lípidos del (4 - 5%), el contenido de hidratos de carbono oscila desde 37 hasta 48%, todo lo anterior medido en base seca. En cuanto al contenido mineral (contenido total de ceniza) fue de 8-13%). El contenido de humedad de los hongos fue del 86-87.5%.

Patil *et al.* (2010) reportaron el valor nutrimental de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* producido sobre paja de soya, paja de arroz y paja de trigo, ya sea solas o en combinación en una proporción de 1:1 (p/p). El máximo contenido de proteínas, lípidos y cenizas totales se encontró en los cuerpos fructíferos producidos sobre paja de soya (24.66, 2.82 y 6.7%, respectivamente). En cuanto al contenido de humedad (89.88%) y carbohidratos totales (56.2%), se obtuvieron los mayores valores en los cuerpos fructíferos producidos sobre la combinación de paja de trigo con paja de arroz. Por último, el mayor contenido de fibra cruda (77%) se presentó en los carpóforos producidos sobre paja de arroz.

3. JUSTIFICACIÓN

La potencialidad de los residuos ligninocelulósicos como sustrato de cultivo y alimento animal, ha dado lugar a diferentes estudios dirigidos a incrementar el atractivo económico de estos sustratos. Una de las principales formas para lograr este incremento es emplear dichos residuos de manera sostenible para el cultivo de hongos comestibles. Para ello, existe una gran variedad de hongos como los del género *Pleurotus* que tienen la capacidad de degradar los componentes de los sustratos ligninocelulósicos, ya que metabolizan selectivamente la fracción de lignina, debido a su sistema enzimático poco específico, dejando un residuo de pudrición blanca, el cual se podrá degradar con mayor facilidad y tendrá mayor digestibilidad si es utilizado como forraje animal, además de obtener un producto alimenticio de gran calidad a partir de materia prima de fácil adquisición, convirtiendo este proceso en una industria redituable para los agricultores, que trae consigo grandes beneficios para el cuidado ambiental.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Evaluar el crecimiento micelial y la composición nutrimental de los cuerpos fructíferos de diferentes cepas del género *Pleurotus* desarrollado sobre tres diferentes sustratos lignocelulósicos.

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento micelial de *P. ostreatus* 26, *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 crecidos sobre agar extracto de paja de trigo, agar extracto de paja de cebada, agar extracto de rastrojo de maíz y agar glucosa extracto de levadura.
- Determinar la composición bioquímica de la fase micelial de *P. ostreatus* 26, *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 crecidos sobre agar extracto de paja de trigo, agar extracto de paja de cebada, agar extracto de rastrojo de maíz y agar glucosa extracto de levadura.
- Determinar la composición nutrimental de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 26, *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 crecidos sobre paja de trigo, paja de cebada y rastrojo de maíz.

5. HIPÓTESIS

P. ostreatus presentará diferente crecimiento micelial y distinta composición nutrimental de los cuerpos fructíferos al ser crecido sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Cepas e inóculo

Se utilizaron durante todos los experimentos 3 cepas diferentes de *Pleurotus*: *P. ostreatus* 3526 (Po-26) proveniente de Agricultural Research Service (ARS), *P. ostreatus* 50 (Po-50) de la colección de cultivos del Colegio de Postgraduados de Puebla, México., y *P. pulmonarius* 35 (Pp-35), proveniente de la Chinese University of Hong Kong Collection. Las cepas se desarrollaron en agar extracto de malta (AEM) (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) a 28 °C por 7 días y posteriormente se mantuvieron a una temperatura de 4 °C, resemebrándose cada mes.

6.2. Medios de cultivo y condiciones de crecimiento

El micelio obtenido de las cepas de *Pleurotus* fue sembrado sobre cuatro medios de cultivo sólido diferentes: 1) Agar extracto de paja de cebada (AEC), 2) Agar extracto de paja de trigo (AET), 3) Agar extracto de rastrojo de maíz (AERM) y 4) Agar glucosa extracto de levadura (AGEL). Todos los sustratos se obtuvieron de los cultivos de la zona agrícola ubicada en la comunidad de San Juan Nepopualco del municipio de Ixtacuixtla en el estado de Tlaxcala. El extracto a base de residuos lignocelulósicos se obtuvo agregando el sustrato en agua destilada en ebullición, en una proporción de 100 g/L respectivamente, durante 1 hora. Transcurrido este periodo de tiempo se filtró el contenido para obtener el extracto. Posteriormente se dejó enfriar y consecutivamente se le adicionó agar bacteriológico (MCD-LAB, Tlalnepantla, Edo. Méx. México) (20 g/L). Los medios de cultivo se ajustaron a un pH de 6.5 con hidróxido de sodio (NaOH) 1 M. Enseguida fueron esterilizados en autoclave (AESA, CDMX, México) a 120 °C por 20 min y vertidos en cajas Petri de 9 cm de diámetro. Los medios fueron inoculados y posteriormente incubados en una estufa de cultivo (Ríos-Rocha, CDMX, México) durante 7 días a 28 °C. (Sánchez y Viniegra-González, 1996).

6.3. Determinaciones en la fase micelial del crecimiento del hongo

6.3.1. Velocidad de crecimiento radial y biomasa micelial

El área micelial de cada colonia fue medida diariamente, del segundo al séptimo día de incubación, con un vernier digital (Mitutoyo, Kanagawa, Japón) seccionando la caja Petri en cuadrantes. La u_r fue calculada con la pendiente del radio contra el tiempo de crecimiento, analizados con la ecuación lineal ($y = mx + b$). Los datos obtenidos se reportaron en mm/h. La biomasa se obtuvo por el método de peso seco. Una vez que el micelio invadió la superficie del medio, se depositó en un matraz con capacidad de 250 ml agregándole 150 ml de agua destilada y se colocaron en autoclave (AESA, CDMX, México) hasta derretir el agar. Se filtró a través de un papel de filtro Whatman No. 4 previamente pesado. La biomasa retenida sobre el papel filtro se colocó en un horno (APSA, Iztapalapa, Edo. Méx., México) a 40 °C durante 24 horas, al día siguiente las muestras se analizaron por diferencia de peso y se reportaron en mg/cm² (Suarez-Segundo *et al.*, 2013).

6.4. Análisis bioquímicos

Para la realización de los análisis bioquímicos se obtuvo el extracto micelial (EM), separando el micelio del medio de cultivo con una espátula, el cual fue macerado utilizando un macerador de tejidos (PYREX, CDMX, México). Se adicionaron 3 ml de agua destilada, agregando 1 ml a la vez, hasta obtener un tejido completamente macerado. El EM se vertió en 3 tubos Ependorff que se colocaron en la centrifuga (SIGMA, San Luis, Misuri, USA) por 3 min a 15 000 rpm. El sobrenadante se empleó para realizar estudios de contenido de glicógeno y proteína intracelular (Sánchez *et al.*, 2004; González-Márquez *et al.*, 2015).

6.4.1. Determinación del contenido de proteína intracelular

Se determinó la cantidad de proteína por el método de Bradford (1976). A 100 µl de EM diluido en 860 µl de agua destilada se le agregaron 40 µl del reactivo de Bradford (Bio-Rad, CDMX, México). Se agitó en un vortex (Gene II, Scientific Industries, Inc., New York, USA) hasta alcanzar una coloración azul. Se leyó la

absorbancia a 595 nm en el espectrofotómetro UV-VIS (VELAB, CDMX, México) (Sánchez *et al.*, 2004; González-Márquez *et al.*, 2015). Se utilizó albúmina sérica bovina (BSA, SIGMA, San Luis, Misuri, USA) como proteína estándar.

6.4.2. Determinación del contenido de glicógeno

Para determinar la cantidad de glicógeno se realizó una extracción acuosa y alcohólica (alcohol 96%) del micelio macerado. Se determinó el contenido de azúcares totales por el método de Antrona (Sánchez *et al.*, 2004; González-Márquez *et al.*, 2015). A 1000 μ l de la dilución del EM se le agregaron 2 ml del reactivo de Antrona (SIGMA, San Luis, Misuri, USA). Se vertió la dilución en tubos Ependorff, los cuales se sumergieron en agua, previamente llevada a punto de ebullición durante 10 min. Se dejó enfriar y se hizo la lectura de la absorbancia a 625 nm en el espectrofotómetro (VELAB, CDMX, México). La cantidad de azúcares reductores del EM también fue cuantificada, empleando el método de DNS (ácido 3, 5 dinitrosalicílico). A 50 μ l de EM se le agregaron 2 ml de DNS y 950 μ l de agua destilada. La mezcla de reacción se vertió en tubos Ependorff que se llevaron a ebullición en baño María (SEV-Prendo, Puebla, México) durante 5 min. Después de ello, se detuvo la reacción pasando los tubos Ependorff sumergidos en el agua caliente a un recipiente con hielo. Al término de este proceso, se leyó la absorbancia a 575 nm en el espectrofotómetro UV-VIS (VELAB, CDMX, México). Se realizó una curva de calibración con concentraciones conocidas de glucosa (González-Márquez *et al.*, 2015) como punto de referencia para determinar la concentración de las muestras en ambos estudios. El contenido de glicógeno fue calculado realizando una diferencia entre el contenido de azúcares totales menos el contenido de azúcares reductores (Sánchez *et al.*, 2004; González-Márquez *et al.*, 2015).

6.5. Cultivo de *Pleurotus*

6.5.1. Preparación de la semilla

Para la preparación de la semilla se utilizó grano de trigo, previamente remojado durante 24 h. Transcurrido este periodo de tiempo se retiró el exceso de agua del grano y se colocaron 500 g de este en frascos de vidrio. Posteriormente se esterilizó en autoclave (AESA, CDMX, México) a 120 °C por 20 min. Enseguida se inoculó el grano de trigo con micelio de las cepas de *Pleurotus* estudiadas, colocando una capa de grano de trigo y una capa de micelio en bolsas de polipapel, previamente esterilizadas, dejando un globo de aire al interior al momento de cerrarlas. Las bolsas se incubaron a 25°C por 10 días hasta ser invadidas (Sánchez, 2010).

6.5.2. Pasteurización de los sustratos

La pasteurización se realizó por inmersión de los sustratos en agua caliente. Estos sustratos se molieron a una longitud aproximada de 6 cm. Posteriormente cada sustrato fue sumergido en agua caliente (75-80°C) durante 1 h. Al término de este periodo de tiempo se escurrió el sustrato, se dejó enfriar a temperatura de 30 °C y se inoculó con la semilla previamente preparada (Sánchez, 2010).

6.5.3. Inoculación del sustrato y condiciones de incubación

La inoculación del sustrato se llevó a cabo en un área estéril. Al sustrato previamente pasteurizado, escurrido y enfriado, se le agregó la semilla (al 10% del peso seco del sustrato) primeramente desmoronada, colocando una capa del sustrato y una capa de semilla en bolsas de plástico, hasta llegar a un peso de 5.5 kg por cada bolsa; estas fueron selladas e incubadas durante 15 días a 25 °C en oscuridad. Al cabo de la invasión total del micelio al sustrato, se hicieron perforaciones a las bolsas con el fin de proporcionar oxígeno al hongo (Sánchez, 2010).

6.5.4. Producción y cosecha de cuerpos fructíferos

Las bolsas se mantuvieron a temperatura y humedad óptima, además de otras condiciones que favorecieron la fructificación. Los cuerpos fructíferos se empezaron a formar en los bordes de las perforaciones de las bolsas. La madurez de los cuerpos fructíferos se alcanzó aproximadamente 4 semanas después de la inoculación del sustrato. Para la cosecha se empleó un cuchillo filoso y estéril. Se cortaron los cuerpos fructíferos desde la base del estípite, lo más cerca posible del sustrato para evitar dejar residuos del carpóforo que pudieron haber contaminado el área de fructificación (Sánchez, 2010).

6.6. Análisis nutrimentales de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus*

Los cuerpos fructíferos fueron macerados en un mortero, sin adición de agua, hasta obtener una mezcla homogénea que sirvió de muestra para la determinación del valor nutrimental.

6.6.1. Determinación de humedad

Se llevó un crisol al horno de secado (APSA, Iztapalapa, Edo. Méx., México) a 60 °C durante 12 h aproximadamente. Al sacar el crisol del horno se colocó inmediatamente en un desecador (SIMAX, AUXILAB, Navarra, España) y se mantuvo durante 15 min hasta obtener un peso constante. Pasados los 15 min, se pesó el crisol en la balanza analítica (VELAB, CDMX, México) y se registró el peso obtenido (Pc). Se pesaron 5 g del cuerpo fructífero (Ph) a analizar. Se introdujo nuevamente el crisol con el alimento en el horno de secado (APSA, Iztapalapa, Edo. Méx., México) a 60 °C durante 24 h. Al término de este periodo, se sacaron los crisoles con el alimento del horno y se pasaron al desecador (SIMAX, AUXILAB, Navarra, España) donde se mantuvieron por 15 min, tras lo cual se pesó y registró dicho peso obtenido (Pf) (AOAC, 2005).

Para calcular el porcentaje de humedad de las muestras se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{Ph - (Pf - Pc) \times 100}{Ph}$$

Donde:

Pc = Peso del crisol

Ph = Peso de la muestra

Pf = Peso del crisol con la muestra después del secado

6.6.2. Determinación de cenizas

Se pesó una cantidad de 0.5 g de la muestra homogeneizada en una cápsula previamente calcinada. Se colocó en la mufla (FELISA, Chalco, Edo. Méx., México) a 600 °C hasta obtener cenizas blancas o grisáceas, se enfrió en la mufla apagada y posteriormente se trasladó al desecador (SIMAX, AUXILAB, Navarra, España) para llevar a peso constante. Se pesó a temperatura ambiente (AOAC, 2005).

Los resultados se obtuvieron con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Donde:

m2: masa de la cápsula con las cenizas (g)

m1: masa de la cápsula con la muestra (g)

m0: masa de la cápsula vacía (g)

6.6.3. Determinación de proteínas

Se determinó la cantidad de proteína por el método Kjeldahl. Este método determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas. Este método se divide en 3 etapas: digestión, destilación y valoración.

Se pesaron 0.1 g de muestra y se introdujeron en un tubo de Kjeldahl. Se agregó 0.15 g de sulfato de cobre pentahidratado, 2.5 g de sulfato de potasio y 10 ml de

ácido sulfúrico concentrado (Pearson, 1993; Nollet, 1996). Se precalentó el digestor (SEV, Puebla, México) a una temperatura de 360°C. Posteriormente se colocaron los tubos en el portatubos del equipo Kjeldahl y se puso en el bloque de calentamiento. Previamente se colocó la unidad de evacuación de gases con las juntas colocadas sobre los tubos de digestión. Se calentó hasta la completa destrucción de la materia orgánica, es decir hasta que el líquido quede transparente, con una coloración azul verdosa (Pearson, 1993; Nollet, 1996). Los tubos se trasladaron a un lugar apropiado para enfriar.

En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se adicionaron 10 ml de ácido bórico 4% con indicadores (fenolftaleína 0.035 mg, rojo de metilo 6.6 mg, verde de bromocresol 3.3 mg). Se colocó el tubo de digestión con la muestra diluida y las sales disueltas en un volumen no mayor de 10 ml de agua destilada, en el aparato de destilación (SEV, Puebla, México). Se adicionaron 15 ml de NaOH 40% (p/v). Se tituló con HCl 0.1 N hasta el cambio de coloración de la muestra (Pearson, 1993; Nollet, 1996).

Los cálculos se realizaron con las siguientes ecuaciones:

a) Moles de HCl = Moles de NH₃ = Moles de N en la muestra

$$b) \% N = \left[\frac{NHCl \times \text{Volumen de ácido corregido}}{\text{gramos de muestra}} \right] \times \frac{0.014 \text{ g N}}{\text{mol}} \times 100$$

c) % Proteína = (% N) (Factor de corrección)

Donde:

NHCl = Normalidad del HCl en moles/1000ml.

Volumen del ácido corregido = (ml. del ácido estandarizado para la muestra) - (ml. de ácido estandarizado para el blanco).

0.014 = Peso atómico del nitrógeno en miliequivalentes.

6.6.4. Determinación de lípidos

Se determinó la cantidad de lípidos por el método de Soxhlet. En este método, las grasas de la muestra son extraídas con éter, en un equipo Soxhlet (SEV, Puebla, México) de extracción intermitente.

Se colocó un matraz bola de fondo plano a la estufa (Ríos-Rocha, CDMX, México) a 100°C, aproximadamente 2 h y se colocó en el desecador (SIMAX, AUXILAB, Navarra, España) hasta alcanzar peso constante. Se pesó 1 g de muestra sobre un trozo de papel filtro Whatman No. 4, el cual se enrolló y se colocó en un cartucho de celulosa, este último se cubrió con un algodón y se colocó el cartucho en el extractor (SEV, Puebla, México). Se conectó el matraz al extractor, en el que se encontraba el cartucho con la muestra, y posteriormente se conectó al refrigerante (SEV, Puebla, México). Se agregó el disolvente (acetona) por el refrigerante y se calentó el matraz con parrilla (SEV-Prendo, Puebla, México) a ebullición. Una vez extraída toda la grasa, se retiró el cartucho con la muestra desengrasada. Se secó el extracto en la estufa (SIMAX, AUXILAB, Navarra, España) a 100°C por 30 min. Se dejó enfriar y posteriormente se pesó (James, 1999).

Se realizaron los cálculos de porcentaje de extracto etéreo en la muestra con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracto etereo} = \frac{\text{Peso del matraz con grasa} - \text{Peso del matraz limpio}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

6.6.5. Determinación de carbohidratos totales

La cantidad de carbohidratos totales se determinó por el método de fenol-sulfúrico el cual es un método espectrofotométrico propuesto por Dubois *et al.* (1956).

Se preparó una solución de la muestra en agua, procurando que los carbohidratos se encuentren en el intervalo de sensibilidad del método (10-100 µg/ml). En tubos de ensayo, se colocó 1 ml de la solución o suspensión acuosa de la muestra. Se adicionaron 0.6 ml de una solución acuosa de fenol al 5%. Posteriormente se adicionaron 3.6 ml de ácido sulfúrico concentrado y se agitó la solución en el vortex (Gene II, Scientific Industries, Inc., New York, USA). El blanco se preparó adicionando la misma cantidad de reactivos, sustituyendo la cantidad de la muestra por agua destilada. Enseguida se dejó enfriar la mezcla a temperatura ambiente (aproximadamente 30 min.). Una vez terminado este periodo de tiempo se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS (VELAB, CDMX, México) a 480 nm (Dubois *et al.*, 1956).

Los cálculos se realizaron empleando la ecuación de la línea recta, donde se despejó "x", para determinar la concentración de carbohidratos contenidos en las muestras analizadas.

$$y = mx + b$$

Donde:

y = absorbancia

m = pendiente

b = ordenada

6.6.6. Cantidad de fibra dietética

Para calcular la cantidad de fibra dietética se sumaron los porcentajes obtenidos de humedad, cenizas, proteína, carbohidratos y lípidos y posteriormente se realizó una diferencia tomando como base 100 g de la muestra.

6.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo aplicando un análisis de varianza (ANOVA) de una vía utilizando el programa Graphpad Prism® version 5.0 con una prueba de intervalos múltiples (post-hoc) de Tukey con un alfa de 0.05. Este análisis se

aplicó para comparar las medias correspondientes a 3 réplicas por cada experimento.

6.8. Diseño experimental

En la presente investigación se utilizó un diseño experimental mixto con dos factores completamente aleatorizados y un factor de medidas repetidas.

.

7. RESULTADOS

7.1. Análisis en fase micelial

7.1.1. Velocidad de crecimiento radial

La cepa *P. ostreatus* 26 mostró mayor u_r en todos los medios a base de residuos lignocelulósicos sin presentar diferencia significativa entre estos, en comparación con el medio testigo (AGEL) que obtuvo el valor más bajo en este análisis. Sin embargo, las cepas *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 presentaron mayor u_r al ser crecidas en los medios AERM, AET y AGEL, mientras que en el medio AEC mostró el menor valor para este parámetro para ambos casos (tabla 3).

Tabla 3. Velocidad de crecimiento radial (mm/h) de diferentes cepas del género *Pleurotus* crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.

Cepa	Medio de cultivo			
	AEC	AERM	AET	AGEL
<i>P. ostreatus</i> 26	0.29 ± 0.01 ^a	0.3 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^a	0.22 ± 0.02 ^b
<i>P. ostreatus</i> 50	0.22 ± 0.02 ^b	0.28 ± 0.005 ^a	0.26 ± 0.02 ^a	0.24 ± 0.01 ^a
<i>P. pulmonarius</i> 35	0.22 ± 0.01 ^b	0.28 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.005 ^a	0.26 ± 0.01 ^a

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

7.1.2. Producción de biomasa micelial

La cepa *P. ostreatus* 26 no mostró diferencia significativa en la producción de biomasa micelial entre los medios de cultivo a base de residuos lignocelulósicos y el medio AGEL, siendo este último un medio óptimo de crecimiento de composición conocida. Por otra parte, las cepas *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 mostraron mayor producción de biomasa micelial en los medios AERM, AET y AGEL en contraste con el medio AEC donde se presentaron los valores más bajos de esta medición (tabla 4).

Tabla 4. Biomasa micelial producida (g/cm²) por diferentes cepas del género *Pleurotus* crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.

Cepa	Medio de cultivo			
	AEC	AERM	AET	AGEL
<i>P. ostreatus</i> 26	0.05 ± 0.002 ^a	0.06 ± 0.008 ^a	0.06 ± 0.007 ^a	0.05 ± 0.006 ^a
<i>P. ostreatus</i> 50	0.01 ± 0.002 ^b	0.1 ± 0.015 ^a	0.09 ± 0.003 ^a	0.1 ± 0.006 ^a
<i>P. pulmonarius</i> 35	0.01 ± 0.001 ^b	0.07 ± 0.002 ^a	0.06 ± 0.003 ^a	0.06 ± 0.01 ^a

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

7.1.3. Contenido de proteína intracelular

Las cepas *P. ostreatus* 26 y *P. ostreatus* 50 mostraron mayor cantidad de proteína intracelular al ser crecidas en el medio AERM, sin embargo estas cepas presentaron diferencia significativa en el resto de los medios de cultivo a base de residuos lignocelulósicos, mientras que en el medio AGEL se observaron las concentraciones más bajas de proteína intracelular para ambas cepas. En la cepa *P. pulmonarius* 35 no se observó diferencia significativa en ningún medio de cultivo. Por otro lado, esta cepa presentó los valores más bajos de esta determinación en comparación con las cepas *P. ostreatus* 26 y 50 para todos los medios de cultivo (tabla 5).

Tabla 5. Cantidad de proteína intracelular (mg/g de biomasa producida) contenida en diferentes cepas del género *Pleurotus* crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.

Cepa	Medio de cultivo			
	AEC	AERM	AET	AGEL
<i>P. ostreatus</i> 26	0.1 ± 0.002 ^b	0.16 ± 0.002 ^a	0.09 ± 0.001 ^b	0.05 ± 0.001 ^c
<i>P. ostreatus</i> 50	0.13 ± 0.002 ^b	0.19 ± 0.001 ^a	0.09 ± 0.001 ^b	0.07 ± 0.001 ^c
<i>P. pulmonarius</i> 35	0.07 ± 0.001 ^a	0.08 ± 0.001 ^a	0.07 ± 0.001 ^a	0.04 ± 0.002 ^a

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

7.1.4. Contenido de glicógeno

El contenido de glicógeno se presentó en mayor cantidad en el medio de cultivo AERM en todas las cepas del género *Pleurotus*, mientras que el medio testigo (AGEL) mostró las concentraciones más bajas de este nutrimento en las tres cepas analizadas. En la cepa *P. ostreatus* 50 se observó el mayor contenido de glicógeno en el medio AERM en comparación con el resto de las cepas y el resto de los medios de cultivo (tabla 6).

Tabla 6. Cantidad de glicógeno (mg/g de biomasa producida) contenido en diferentes cepas del género *Pleurotus* crecidas sobre medio agar a base de diferentes residuos lignocelulósicos.

Cepa	Medio de cultivo			
	AEC	AERM	AET	AGEL
<i>P. ostreatus</i> 26	84.3 ± 1.2 ^c	94.2 ± 0.98 ^a	89.5 ± 2.5 ^b	58.6 ± 1 ^d
<i>P. ostreatus</i> 50	92.4 ± 2.1 ^b	106.9 ± 3.4 ^a	91.9 ± 0.98 ^c	55.7 ± 2.4 ^d
<i>P. pulmonarius</i> 35	83.8 ± 2.2 ^c	89.9 ± 1.4 ^a	85.3 ± 0.5 ^b	51.3 ± 2 ^d

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

7.2. Análisis nutrimental de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus*

7.2.1. Determinación de la composición nutrimental (g/100g en base seca) de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 26 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.

Los cuerpos fructíferos de la cepa *P. ostreatus* 26, producidos sobre paja de cebada presentaron la mayor cantidad de humedad en su composición, seguidos por los producidos sobre paja trigo y por último los de rastrojo de maíz. Sin embargo, los cuerpos fructíferos producidos sobre rastrojo de maíz mostraron mayor cantidad de proteínas, significativamente más alta que la cantidad obtenida en los carpóforos producidos sobre el resto de los sustratos. Por otra parte, el contenido de carbohidratos y lípidos se mostró en mayor cantidad en las setas producidas en paja de cebada que a su vez presentaron el menor contenido de proteínas (tabla 7).

Tabla 7. Determinación de la composición nutrimental (g/100 g en base seca) de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 26 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.

Determinación	Sustratos lignocelulósicos		
	CEBADA	TRIGO	MAÍZ
Humedad	91.23 ± 0.31 ^a	91.16 ± 1.03 ^b	90.08 ± 0.74 ^c
Cenizas	7.49 ± 0.07 ^b	8.94 ± 0.04 ^a	7.26 ± 0.07 ^c
Proteína	46.3 ± 1.05 ^c	46.83 ± 0.81 ^b	51.11 ± 0.93 ^a
Carbohidratos	31.92 ± 0.35 ^a	27.94 ± 0.29 ^c	31.6 ± 0.31 ^b
Lípidos	6.28 ± 0.02 ^a	5.54 ± 0.01 ^b	4.12 ± 0.02 ^c
Fibra	7.51 ± 0.08 ^b	10.8 ± 0.12 ^a	5.91 ± 0.09 ^c

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

7.2.2. Determinación de la composición nutrimental (g/100g en base seca) de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 50 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.

El análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 50 mostró que en la producción sobre rastrojo de maíz se obtuvo la cantidad más alta en el contenido de proteínas, seguido por los cuerpos fructíferos producidos sobre paja de trigo y por último sobre paja de cebada. Contrario a esto, el contenido de carbohidratos se presentó en mayor cantidad en las setas producidas sobre paja de trigo, mientras que en el rastrojo de maíz se observó el menor contenido de este macronutriente, al igual que el contenido de humedad, lípidos y fibra dietética (tabla 8).

Tabla 8. Determinación de la composición nutrimental (g/100 g en base seca) de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 50 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.

Determinación	Sustratos lignocelulósicos		
	CEBADA	TRIGO	MAÍZ
Humedad	91.37 ± 0.53 ^a	91.05 ± 1.31 ^b	90.17 ± 0.31 ^c
Cenizas	7.07 ± 0.02 ^c	8.6 ± 0.06 ^a	7.42 ± 0.07 ^b
Proteína	40.13 ± 0.25 ^c	46.03 ± 1.09 ^b	53.21 ± 1.05 ^a
Carbohidratos	30.94 ± 0.16 ^b	32.51 ± 0.33 ^a	30.72 ± 0.35 ^c
Lípidos	5.91 ± 0.01 ^a	4.81 ± 0.03 ^b	4.07 ± 0.02 ^c
Fibra	6.95 ± 0.04 ^b	8.05 ± 0.1 ^a	4.57 ± 0.06 ^c

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

7.2.3. *Determinación de la composición nutrimental (g/100g en base seca) de los cuerpos fructíferos de P. pulmonarius 35 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.*

El análisis de la composición nutrimental de la cepa *P. pulmonarius* 35 mostró la mayor cantidad de cenizas, lípidos, fibra dietética y proteínas en los carpóforos producidos sobre paja de cebada, sin haber diferencia significativa en el contenido de este último macronutriente con los cuerpos fructíferos producidos sobre paja de maíz, que en contraste con los producidos sobre paja de cebada presentaron los valores más bajos en la cantidad de las dichas determinaciones. Por otro lado la cantidad de humedad y carbohidratos se mostró en mayor medida en las setas producidas sobre paja de trigo (tabla 9).

Tabla 9. Determinación de la composición nutrimental (g/100 g en base seca) de los cuerpos fructíferos de *P. pulmonarius* 35 producidos sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.

Determinación	Sustratos lignocelulósicos		
	CEBADA	TRIGO	MAÍZ
Humedad	91.04 ± 0.47 ^b	91.3 ± 1.24 ^a	90.39 ± 1.45 ^c
Cenizas	9.72 ± 0.05 ^a	7.82 ± 0.03 ^b	6.53 ± 0.09 ^c
Proteína	52.7 ± 0.15 ^a	46.21 ± 0.22 ^b	52.7 ± 0.65 ^a
Carbohidratos	22.7 ± 0.28 ^c	33.33 ± 0.25 ^a	32.6 ± 0.13 ^b
Lípidos	6.3 ± 0.01 ^a	5.83 ± 0.02 ^b	4.53 ± 0.03 ^c
Fibra	8.54 ± 0.22 ^a	6.81 ± 0.18 ^b	3.64 ± 0.08 ^c

Se muestran los valores de la media ± desviación estándar. Letras superíndices iguales no presentan diferencia significativa, letras superíndices diferentes presentan diferencia significativa. Nivel de significancia ($p \leq 0.05$).

8. DISCUSIÓN

El cultivo de hongos comestibles es un proceso biotecnológico en el cual se emplean diversos sustratos lignocelulósicos, ya que estos hongos tienen la capacidad para degradar dichos materiales a través de un complejo sistema enzimático para obtener su principal fuente de crecimiento. Actualmente, este podría ser el único proceso que combina la producción de alimentos ricos en proteína con la reducción de la contaminación ambiental (Sánchez, 2010).

En la presente investigación se midió el avance micelial de tres cepas diferentes de *Pleurotus*, crecidas en medio agar a base de residuos lignocelulósicos (MABRL), del segundo al séptimo día, para obtener la pendiente de crecimiento, donde se empleó una regresión lineal para poder reportar la u_r de forma objetiva (mm/h). La cepa *P. ostreatus* 26 crecida en el medio testigo (AGEL), presentó el menor valor de u_r (0.22 mm/h) en comparación con los medios de cultivo a base de residuos lignocelulósicos, donde el mayor valor se observó al ser crecida en AERM (0.3 mm/h), sin mostrar diferencia significativa en los medios AEC (0.29 mm/h) y AET (0.29 mm/h). Las cepas *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 presentaron mayor u_r en el medio AERM (0.28 mm/h en ambos casos), sin mostrar diferencia significativa al ser crecidas sobre los medios de cultivo AET y AGEL; sin embargo, en el medio AEC se presentaron los valores más bajos con 0.22 mm/h para las dos cepas.

Luna-Rodríguez (2007) estudió dos cepas de *Pleurotus* (CP50 y IE8) crecidas sobre cuatro diferentes tratamientos a base de extracto de paja de cebada, sin adición o suplementada con fuente de nitrógeno exógena (urea o sulfato de amonio) y un medio con sales minerales como testigo. Las u_r más altas se mostraron en los medios testigo, donde la cepa CP50 fue ligeramente mayor (0.67 mm/h) en comparación con la cepa IE8 (0.61 mm/h), seguidas por los medios con adición de urea, medio base y por último, con los valores más bajos, los medios con adición de sulfato de amonio para ambas cepas. Los resultados obtenidos en la presente investigación para el medio de cultivo AEC se mostraron

considerablemente más bajos, esto es debido a que el extracto empleado no fue adicionado con ninguna fuente de nitrógeno exógena.

Sastre-Ahuatzi *et al.* (2007) estudiaron el crecimiento micelial de cinco diferentes cepas de *P. ostreatus* (Po. 12, Po. 37, Po. 18, Po. 16 y Po. 26) crecidas en medio agar a base de glucosa y medio agar a base de almidón conteniendo diferentes concentraciones de 2-doxiglucosa (2-DG). La cepa *P. ostreatus* 26 obtuvo la mayor u_r siendo significativamente más alta en el medio a base de almidón que en el medio a base de glucosa (0.365 y 0.324 mm/h, respectivamente). En dicho trabajo de investigación, el incremento en la concentración de 2-DG, inhibió el crecimiento micelial en el medio a base de almidón. En el presente estudio, el crecimiento no se vio inhibido en ningún medio, ya que no fueron adicionados con fuentes externas de carbono. Los resultados fueron similares para la misma cepa (*P. ostreatus* 26) donde se mostró una u_r de 0.3 mm/h al ser crecida sobre el medio de cultivo AERM. Esto puede ser debido a una concentración equivalente de azúcares contenidos en éste medio, en comparación con el medio de cultivo a base de glucosa empleado por dichos autores.

En el presente estudio, la producción de biomasa micelial fue similar en todas las cepas crecidas en todos los medios de cultivo, sin mostrar diferencia significativa, excepto para las cepas *P. ostreatus* 50 y *P. pulmonarius* 35 crecidas en el medio de cultivo AEC donde se presentaron los valores más bajos (0.01 g/cm², para ambas cepas). El mayor valor se observó en la cepa *P. ostreatus* 50 crecida en los medios AERM y AGEL (0.1 g/cm², en los dos medios).

Súarez-Segundo *et al.* (2013) reportaron la producción de biomasa micelial de diferentes especies de *Pleurotus* (*P. ostreatus* 37, *P. ostreatus* 83, *P. pulmonarius* 35 y *P. florida*) en medio sólido conteniendo glucosa como fuente de carbono con diferentes concentraciones de DEHF. En dicha investigación *P. florida* mostró la mayor producción de biomasa micelial en el medio testigo (glucosa sin adición de DEHF) obteniendo un valor de 0.225 g/cm². En el presente trabajo de

investigación se empleó un medio de cultivo a base de glucosa como fuente de carbono, con adición de extracto de levadura, mostrando que la mayor producción de biomasa se obtuvo en la cepa *P. ostreatus* 50 crecida en este medio y en el preparado a base de rastrojo de maíz (0.1 g/cm², en ambos casos). Este resultado es considerablemente menor en comparación con lo reportado en dicho estudio.

Aguilar-Alvarado *et al.* (2015) evaluaron la cantidad de biomasa micelial producida por cinco cepas diferentes de hongos filamentosos crecidos en medio mineral con diferentes concentraciones de DEHF. En este estudio, al igual que en la presente investigación, la cantidad de biomasa micelial fue evaluada en cada placa después de haber invadido por completo el medio de cultivo y reportada en g/cm². Sin embargo, la diferencia entre los resultados de estos estudios es cuantiosamente alta, ya que de acuerdo a lo reportado por Aguilar-Alvarado, la mayor producción de biomasa fue de 250 g/cm², mientras en la presente investigación fue de 0.1 g/cm². Esto sugiere que el DEHF es una gran fuente de carbono y energía para estos organismos y que al degradarlo encuentran en este compuesto su principal fuente de crecimiento.

Sánchez y Viniegra-González (1996) reportaron la cantidad de biomasa micelial producida por varias cepas de *P. ostreatus* (Po. 3, Po. 4, Po. 7, Po. 37, Po. 52 y Po. 83) crecidas en diferentes medios de cultivo conteniendo glucosa como principal fuente de carbono, con adición de 2-DG en diferentes concentraciones. En dicho estudio, las mediciones correspondientes a la producción de biomasa micelial de *P. ostreatus* se realizaron al cabo de 10 días de incubación. En el presente estudio, la evaluación de la cantidad de biomasa micelial producida por diferentes cepas de *Pleurotus* se llevó a cabo después de 7 días de incubación, en diferentes medios a base de residuos lignocelulósicos. Los resultados obtenidos en ambos estudios presentan una considerable diferencia, donde la mayor cantidad de biomasa producida fue de la cepa *P. ostreatus* 7 crecida en medio de cultivo a base de glucosa sin adición de 2-DG (0.237 g/cm²) en la investigación de Sánchez y Viniegra-González, mientras que en el presente trabajo el mayor

resultado obtenido en medio de cultivo AGEL fue de 0.1 g/cm², lo cual sugiere que estos organismos presentan crecimiento micelial aún después de haber invadido por completo sus medios de cultivo.

Jean-Phillip (2005) reportó el contenido de proteína intracelular de seis cepas diferentes de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius* crecidos en PDA, donde se mostró una concentración de 0.198 mg/g para la cepa *P. ostreatus* 6689. Este resultado es semejante a lo observado en el presente trabajo de investigación, donde *P. ostreatus* 50 obtuvo la mayor concentración de proteína (0.19 mg/g) en el medio AERM. No obstante, de acuerdo a lo reportado por dicha autora, el valor obtenido por la cepa *P. ostreatus* 6689 se localiza en un nivel medio de concentración de proteína, siendo la cepa *P. pulmonarius* 5405 la que presentó el mayor contenido de proteína (0.259 mg/g) de las seis cepas estudiadas, mostrando una diferencia significativa entre este valor y el máximo reportado en el presente estudio. Lo anterior puede ser debido a que el PDA es un medio óptimo con concentraciones adecuadas de carbono para el crecimiento de estos organismos, mientras que en los medios a base de residuos lignocelulósicos sus concentraciones de azúcares varían dependiendo de las condiciones del sustrato.

De acuerdo a lo reportado en la investigación de González-Márquez *et al.* (2015) las hifas de la periferia de la colonia de *L. edodes* tienen mayor contenido de glicógeno que las hifas de la zona central. El glicógeno se encuentra en mayor medida en la zona joven o periferia de la colonia, ya que las hifas crecen por las puntas, usando glicógeno como principal activo de crecimiento. En el mencionado estudio *L. edodes* mostró mayor contenido de glicógeno al ser crecido en el medio AGEL sin adición de DEHF (30 mg/g de biomasa producida). En el presente estudio, las concentraciones de glicógenos son considerablemente mayores en todas las cepas crecidas en AGEL, que van del mínimo con 51.3 al máximo con 58.6 mg/g de biomasa producida; sin embargo, estos resultados obtenidos fueron los menores en comparación con los mostrados en las cepas crecidas en los medios de cultivo a base de residuos lignocelulósicos, donde la cepa *P. ostreatus*

50 presentó la mayor cantidad de glicógeno al ser crecida sobre el medio AERM (106.9 mg/g de biomasa producida). Esto indica que *L. edodes* presenta un crecimiento más lento en comparación con las cepas de *Pleurotus* empleadas en el presente estudio.

Los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* son considerados como alimentos funcionales, los cuales pueden proveer grandes beneficios a la salud, además estos hongos presentan una composición química la cual es atractiva desde el punto de vista nutrimental. Su valor nutrimental puede ser comparado con alimentos como el huevo, la leche y la carne (Sánchez, 2010).

Gupta *et al.* (2016) reportaron el contenido de macronutrientos (proteínas, carbohidratos y lípidos) de los cuerpos fructíferos de una cepa de *P. sajor-caju*, producidos sobre paja de trigo sola o tratada con diferentes concentraciones de lodos biogás de lodos residuales (BLR). En cuanto al porcentaje de proteína contenida se observó que con adición de BLR, se incrementó el contenido de este nutriente, yendo del menor valor obtenido en paja de trigo sin adicional (29.6%) hasta el máximo contenido mostrado en el medio adicionado con 20% de BLR (38.86%). Por otro lado, el contenido de carbohidratos y lípidos se vio afectado por la adición de este suplemento en todas las concentraciones, ya que el mayor contenido de estos nutrientes se presentó en los cuerpos fructíferos producidos en paja de trigo sin adición de BLR con un valor de 32.33 y 2.02% respectivamente. En la presente investigación se obtuvieron valores más altos de contenido de proteínas y lípidos de los cuerpos fructíferos de tres cepas diferentes de *Pleurotus* producidos sobre paja de trigo, sobrepasando el 45 y 5% de ambos macronutrientos respectivamente. La cepa *P. ostreatus* 26 mostró menor contenido de carbohidratos con 27.94%, situándolo por debajo del máximo contenido en la investigación previamente mencionada.

Gogavekar *et al.* (2014) estudiaron el contenido de humedad y cenizas de los cuerpos fructíferos de *P. sajor-caju* producidos sobre paja de arroz. De acuerdo a

lo reportado por este autor, el contenido de humedad de este hongo comestible es de 90 g/100g de hongo en base húmeda, mientras que el contenido de cenizas es de 6.8 g/100g de hongo en base seca. En el presente trabajo, el contenido de humedad superó los 90 g/100g, siendo los cuerpos fructíferos de la cepa *P. ostreatus* 26 producidos sobre rastrojo de maíz los que presentaron la menor cantidad de humedad con 90.08 g/100g. El mayor valor se presentó en los cuerpos fructíferos de la cepa *P. ostreatus* 50 producidos sobre paja de cebada (91.37 g/100g). El contenido de cenizas sobrepasó los 6.8 g/100g en todas las cepas producidas en los diferentes sustratos lignocelulósicos, excepto los cuerpos fructíferos de la cepa *P. pulmonarius* 35 producidos sobre rastrojo de maíz, los cuales obtuvieron el valor más bajo (6.53 g/100g de hongo en base seca).

Dundar *et al.* (2009) estudiaron el contenido de proteína de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, donde mencionaron que este valor depende directamente de la variedad de los sustratos que se destinen para su cultivo. De acuerdo a dicho autor, esta relación puede presentarse debido a las diferencias químicas y biológicas de cada sustrato. En este estudio emplearon cuatro diferentes sustratos (tallo de mijo, tallo de trigo, tallo de algodón y tallo de soya) donde se reportó el mayor contenido de proteína en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* producidos sobre tallo de soya (22.15 g/100g en base seca). En la presente investigación se emplearon tres diferentes residuos lignocelulósicos como medio de cultivo (paja de cebada, paja de trigo y rastrojo de maíz) donde el mayor contenido de proteína se mostró en los cuerpos fructíferos de la cepa *P. ostreatus* 50 producidos sobre rastrojo de maíz (53.21 g/100g en base seca), el cual presenta mayores valores en su composición química (lignina, celulosa y hemicelulosa) que el resto de los sustratos empleados.

9. CONCLUSIONES

- Los medios de cultivo preparados a base de residuos lignocelulósicos pueden ser empleados para crecer y propagar diferentes especies de hongos comestibles.
- El extracto de residuos lignocelulósicos representa una gran fuente de carbono, similar a los medios de cultivo comerciales preparados con concentraciones conocidas de este elemento.
- Los medios elaborados con rastrojo de maíz proporcionan mayor cantidad de nutrientes para el crecimiento de *Pleurotus*.
- Los cuerpos fructíferos producidos en rastrojo de maíz presentaron mayor cantidad de proteínas en todas las cepas, particularmente *P. ostreatus* 50 que obtuvo la mayor cantidad de dicho nutrimento al ser producida sobre este sustrato.
- Los carpóforos del género *Pleurotus* mostraron bajas concentraciones de lípidos en su composición nutrimental en todas las cepas.
- El incremento en la cantidad de proteínas y carbohidratos de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus*, disminuye el porcentaje de lípidos.

10. RECOMENDACIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos, se recomienda hacer análisis del contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa de los sustratos empleados, antes y después de la producción de los cuerpos fructíferos del género *Pleurotus*, con el fin de tener un dato real del porcentaje de degradación de dichos compuestos en los residuos lignocelulósicos.
- Se recomienda realizar análisis del extracto de los residuos lignocelulósicos para verificar la cantidad de azúcares retenidos en este y saber cómo afecta dicho contenido en el crecimiento micelial del hongo.
- Como el crecimiento de estos hongos no se ve inhibido por las concentraciones de lignina, celulosa y hemicelulosa contenida en los sustratos empleados, se recomienda emplear otros sustratos en los cuales se haya reportado mayor concentración de estos compuestos para determinar si estas concentraciones interfieren en la calidad nutrimental de los cuerpos fructíferos. Asimismo, emplear otras cepas de hongos comestibles para poder determinar si hay cepas que realicen el proceso de degradación de lignina con mayor facilidad.
- Se recomienda emplear sustratos suplementados con diversas fuentes de carbono y nitrógeno para evaluar la productividad y eficiencia biológica, además del contenido nutrimental de los cuerpos fructíferos producidos en sustratos con estas condiciones.

11. LITERATURA CITADA

- Abdel-Naieem I.M., Khalil, M. A., Abdel-Wahab A, I. Van Straalen, N. M., Ageba, M, F. 2014. Effects of fungicides and biofungicides on population density and community structure of soil oribatid mites. *Sci.Total Environ.* 412–420.
- Aguilar-Alvarado, Y., Báez-Sánchez, M. R., Martínez-Carrera, D., Ahuactzin-Pérez, M., Cuamatzi-Muñoz, M. y Sánchez, C. 2015. Micelyal growth and enzymatic activities of fungi isolated from recycled paper wastes grown on Di (2-ethylhexyl) phthalate. *Pol. J. Environ. Stud.* 24(5): 1897-1902.
- Alam, N., Amin, R., Khan, A., Ara, I., Shim, MJ. Woong Lee, M., Soo Lee T. 2008. Nutritional analysis of cultivated mushrooms in Bangladesh *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. *Mycobiology.* 36(4): 228-232.
- AOAC. 2005. Determination of ash of flour. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Washington, DC. USA.
- Asgher, M., Bhatti, H., Ashraf, M., Legge, R. 2008. Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system. *Biodegradation.* 19: 771-783.
- Axtell, C., Johnston, C.G. Bumpus, J.A. 2000. Bioremediation of soil contaminated with explosives at the naval weapons station Yorktown. *Soil Sediment Contamination* 9: 537-548.
- Ballesteros, I., Negro, M. J., Oliva, J. M., Cabañas, A., Manzanares, P. y Ballesteros, M. 2006. Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw. *Appl. Biochem. Biot.* 1(3): 496-508.

- Bano, Z., y Rajaratnam, S. 1988. Pleurotus Mushrooms. Part II. Chemical Composition, Nutritional Value, Post-harvest Physiology, Preservation and Role as Human Food. CRC Cr. Rev. Food, Sci. 27(2):87-158.
- Bowman, M. S., and Stephen J. Free, S. J. 2006. The structure and synthesis of the fungal cell wall. Bio Essays. 28:799–808.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 72(7): 248-254.
- Cardona, L.F., Bedoya, A. 1996. Producción de orellanas (*Pleurotus ostreatus*), deshidratadas y condimentadas. Trabajo de grado M.Sc. (Ciencia y Tecnología de Alimentos). Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 88.
- Chacón-Hernández, P. A., Vargas-Rodríguez, C. F. 2009. Digestibilidad y calidad del Pennisetum purpureum cv. King grass a tres edades de rebrote. Agro. Mesoam. 20(2):399-408.
- Chang, SH., Miles, P. 2004. Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC Press. 2:197-199.
- Christian, V., Shrivastava, R., Shukla, D., Modi, H.A., Vyas, B.R. 2005. Degradation of xenobiotic compounds by lignin-degrading white-rot fungi: enzymology and mechanisms involved. Indian J. Exp. Biol. 43: 301-312.
- Delfín, P., Durán, B. 2003. Biodegradación de residuos urbanos por *Pleurotus*. Rev. Interna. Cont. Amb. Universidad Nacional Autónoma de México 19:37-45.
- Díaz-Godínez, G., Sánchez, C. 2002. In situ digestibility and nutritive value of maize straw generated after *Pleurotus ostreatus* cultivation. Can J Anim Sci. 82: 617-619.
- Díaz, R., Téllez-Téllez M., Sánchez, C., Bibbins-Martínez, MD., Díaz-Godínez, G., Soriano-Santos, J. 2013. Influence of initial pH of the growing medium on the

- activity, production and genes expression profiles of laccase of *Pleurotus ostreatus* in submerged fermentation. Electron. J. Biot. 16 (4): 717-3458.
- Dubois M., Gilles, K. A., Hamilton J. K., Rebers, A., Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3): 350–356
- Dundar, A., Acay, H., Yildiz, A. 2009. Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. On mushroom yield, chemical composition and nutritional value. African J. Biot. 8(4): 662-666.
- Espino, S. 2000. Hongos en el tratamiento de desechos forestales para la obtención de biofertilizantes. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Durango. 48 pp.
- FAO-docrep, 2006. Perspectivas alimentarias – Análisis del mercado mundial. Consultado el 14 de mayo de 2016. Disponible en: www.fao.org/docrep/009/j7927s/j7927s02.htm
- Fazenda, M. L. y Seviour, R. 2008. Submerged culture fermentation of higher fungi: The Macrofungi. Adv. in Appl. Microbiol. 63:33-103.
- Fernández-Sánchez, J.M., Rodríguez, R., Ruiz-Aguilar, G., Álvarez, P.J.J. 2001. PCB Biodegradation in aged contaminated: Interactions between exogenous *Phanerochaete chrysosporium* and indigenous microorganisms. J Environ. Sci. Health 36: 1145-1162.
- García-Aparicio, M. P., Ballesteros, I., González, A., Oliva, J. M., Ballesteros, M. y Negro M. J. 2007. Effect of inhibitors released during steam-explosion pretreatment of barley straw on enzymatic hydrolysis. Appl. Biochem. Biot. 129, 278-288.
- García, A., Torres, R. 2003. Producción de enzimas lignolíticas por Basidomycetes mediante la técnica de fermentación en sustrato sólido. Rev. Colm. Biot. 4 (1): 56-64.
- Gogavekar, S. S., Rokade, S. A., Ranveer, R. C., Ghosh, J. S., Kalyani, D. C., y Sahoo, A. K. 2014. Important nutritional constituents, flavour components, antioxidant and

- antibacterial properties of *Pleurotus sajor-caju*. J. Food Sci. Technol. 51(8):1483-1491.
- González-Márquez, Ahuactzin-Pérez M., Sánchez C. 2015. *Lentinula edodes* growth on di (2-hethylhexil) phthalate-containing media: micelial growth and enzyme activities. Bioresources 10(4): 7898-7906.
- Gonzalez-Renteria, S.M., Soto-Cruz, N.O., Rutiaga-Quiñones, O.M., Medrano-Roldan, H., Rutiaga-Quiñones, J.G., y Lopez-Miranda, J. 2011. Optimización del proceso de hidrolisis enzimática de una mezcla de pajas de frijol de cuatro variedades. Rev. Mex. Ing. Quím. 10(1): 17-28.
- Guadarrama-Mendoza, P.C., Valencia del Toro, G., Ramírez-Carrillo, R., Robles-Martínez, F., Yáñez-Fernández, J., Garín-Aguilar, M.E., Hernández, C.G., Bravo-Villa G. 2014. Morphology and mycelial growth rate of *Pleurotus* spp. strains from the Mexican mixtec region. Braz. J. Microbiol. 45(3): 861-872.
- Gupta, A., Sharma, S., Kumar, A., Alam, P., & Ahmad, P. 2016. Enhancing nutritional contents of *Lentinus sajor-caju* using residual biogas slurry waste of detoxified mahua cake mixed with wheat straw. Front. Microbiol. 7:1529. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01529>
- Hadar, Y., Kerem, Z., Gorodecki, B., Ardon, O. 1992. Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom *Pleurotus*. Biodegradation (3): 189-205.
- Herrera, T., Ulloa. 1998. El reino de los hongos: Micología básica y aplicada. Fondo de cultura económica-UNAM. México.552.
- Hwang, S., Soon-Seok, K., Hyung, T., Hong-Gyu, S. 2008. Biodegradation of endocrine-disrupting phthalates by *Pleurotus ostreatus*. J. Microbiol. Biot. 18(4): 767-772.
- Hwang, S.S., Kim, H.Y., Ja, K.O., Song, H.G. 2012. Changes in the activities of enzymes involved in the degradation of butylbenzyl phthalate by *Pleurotus ostreatus*. J. Microbiol. Biot. 22 (2): 239-243.

- James C.S. 1999. Analytical Chemistry of Foods. Second Edition, ASPEN Publishers. New York.
- Jaramillo-Pineda, O, J., Gomez-Garcia M. A., Fontalvo-Azate, J. 2012. Remoción de los inhibidores de la fermentación etanólica usando membranas de polidimetilsiloxano (PDMS) por evaporación. Rev. Ion. 25(1)
- Jaramillo-Ruiz, D., Yepes-Marín, L., Hincapié-Llanos, G., Vázquez-Giraldo, M., Vélez-Acosta, L. 2011. Desarrollo de productos a partir de la Orellana (*Pleurotus ostreatus*). Rev. Inv. Apl. 2(5): 82-91.
- Jean-Philippe S.R. 2005. Antioxidant properties of some edible fungi in the genus *Pleurotus*. Master's Thesis, University of Tennessee, USA.
- Khalil, M.I., Hoque, M.M., Basunia, M.A., Alam, N., Khan, M.A. 2011. Production of cellulase by *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* in solid state fermentation of lignocellulosic biomass. Turk. J. Agr. Forest. 35: 333-341.
- Lebedeva, G. V., Proskuryakov, M. T., & Kozhukhova, M. A. 2008. Extraction and characterization of rennet-like enzyme from fruiting bodies of oyster mushroom. Izv. Vuz. Pishch. Tekh. 1:114-115.
- Lebedeva, G.V., Proskuryakov, M.T. 2009. Purification and characterization of milk-clotting enzymes from oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm). Applied Biochem. Microbiol. 45: 623-625.
- Longvah, T., Deosthale, Y. G. 1998. Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India. Food Chemistry. 63(3): 331-334.
- Luna-Rodríguez L. 2007. Estudio de la actividad lignocelulósica del hongo *Pleurotus ostreatus* sobre el rastrojo de cebada. Maestría en producción Agrícola. Colegio de posgraduados, Campus Puebla. URI: <http://hdl.handle.net/10521/1431>.
- Maga 1981. Mushroom Flavor. J. Agr. Food Chem. 29(1): 1-4.

- Marques, S. 2010. Valorización de diferentes cultivos lignocelulósicos para la fabricación de pasta de papel: Caracterización química, modificación estructural de sus constituyentes orgánicos durante los procesos de cocción y blanqueo y aplicaciones biotecnológicas. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Sevilla.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla & W. Martínez. 2007. México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. In: El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. en México. J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata & H. Leal (Eds.). ECOSUR-CONACYT, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7. 20 pp.
- Martínez-Trejo, G., Ortega-Cerrilla M. E., Landois-Palencia, L. L., Armando Pineda-Osnaya, A., Pérez-Pérez, J. 2012. Rendimiento productivo y las variables ruminales de corderos alimentados con rastrojo de maíz tratado con urea. *Rev. Mex. Cie. Agr.* 3(6): 1157-1170
- Mattila, P., Könkö, K., Eurola, M., Pihlava, J.M., Astola, J., Vahteristo, L., Hietaniemi, V., Kumpulainen, J., Valtonen, M., Piironen, V. 2001. Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agric Food Chem.* 49(5):2343-2348.
- Mau, J. L., Lin, H. C., Song S. F. 2001. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res. Int.* 35: 519–526.
- Maynard, L. A., J. K. Loosli, H. F. Hintz y R. G. Warner. 1981. *Nutrición Animal*. Ed. McGraw-Hill. México. 640.
- Miles, P., Chang, S. 1997. *Mushroom biology: Concise basics and current development*. World Sci. 5:88-92.

- Monterroso-Flores, O.G. 2007. Efecto de la suplementación de la caña de maíz (*Zea mays L.*) con nitrato de amonio, nitrato de potasio y urea en el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* (Cepa ECS- 152). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 46 p.
- Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of fungi. 4 Ed. Editorial Prentice Hall. USA.574.
- Morais, M.H., Ramos, A.C., Matos, N., Santos-Oliveira, E.J. 2000. Production of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on ligninocellulosic residues: Note. Food Sci. Technol. Int. 6:123-128.
- Navarro, P., Moral, H., Gómez, L., Mataix, B. 1995. Residuos orgánicos y agricultura. Universidad de Alicante. España 1:11-12.
- Navarro, P., Moral, H., Gómez, L., Mataix, B. 1995. Residuos orgánicos y agricultura. Universidad de Alicante. I.S.B.N: 84-7908-194-5. 155 pp.
- Nollet, M. L. 1996. Handbook of food analysis; M. Dekker, New York.
- Olivier, J.M., Laborde, J., Guibertau, J. and Poitou, N. 1991. La culture des champignons. Armand Colin. Paris.
- Olofsson, K., Bertilsson, M., Lidén, G. 2008. A short review on SSF - an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks. Biotechnol. Biofuels. 1(1):1-7.
- Patel, H, Gupte, A., Gupte, S. 2009. Biodegradation of fluoranthene by basidiomycetes fungal isolate *Pleurotus ostreatus* HP-1. Appl. Biochem. Technol. 157: 367-376.
- Patil, S. S., Ahmed, S. A., Telang, S. M., Baig, M. M. 2010. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (JACQ.:FR.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. Innov. Romanian Food Biot. 7: 66-76.
- Pearson, D. 1993. Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos. Acribia, S.A. Zaragoza. España.

- Rajaratnam, S., y Bano, Z. 1991. Biological utilization of edible fruiting fungi. In D. K. Marth. Handbook of Applied Mycology: Food and Feeds. Vol. 3. Marcel Dekke, New York: 241–292.
- Ribeiro, B., Pinho, P.G., Andrade P.B., Baptista, P., Valentao, P. 2009. Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. *Microchem. J.* 93: 29-35.
- SAGARPA, 2014. Producción sustentable de alimentos a través del manejo de residuos de cultivo. México, DF. Consultado el 17 de mayo de 2016. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2014B459.aspx>
- Sainos E, Díaz Godínez G, Loera O, Montiel González AM, Sánchez C. 2006. Growth of *Pleurotus ostreatus* on wheat straw and wheat-grain-based media: biochemical aspects and preparation of mushroom inoculum. *Appl. Microbiol. Biot.* 72: 812-815.
- Sánchez, C. 1998. Morphogenesis of mushroom fungi: ultrastructural, physiological and histological study of *Pleurotus* species. Tesis de doctorado. University of Manchester, U.K. 57 pp.
- Sánchez, C. 2009. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol. Adv.* 27(2): 85-194.
- Sánchez, C. 2010. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl. Microbiol. Biot.* 85(5):1321-1337.
- Sánchez, C. Téllez, M., Díaz, G., Moore, D. 2004. Simple staining detects ultrastructural and biochemical differentiation of vegetative hyphae and fruit body initials in colonies of *Pleurotus pulmonarius*. *Lett. Appl. Microbiol.* 38(6):483-487.
- Sánchez, J., Royse, D. 2001. La Biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. LIMUSA, México. Cap. VIII. 168-170.

- Sánchez, J.E. 2001. Crecimiento y fructificación. In: Sánchez, J.E., Royse, D.J. (eds) La Biología y el Cultivo de *Pleurotus ostreatus*. El Colegio de la Frontera Sur, México, D.F. 51-66.
- Sánchez, J. O., Cardona, C. A. 2007. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. *Bioresource Technol.* 99: 5270–5295.
- Sánchez, C., Viniegra-González, G. 1996. Detection of highly productive strains of *Pleurotus ostreatus* by their tolerance to 2-deoxy-D-glucose in starch-based media. *Mycological Res.* 100:455-461.
- Sastre-Ahuatzi, M., Téllez-Téllez, M., Díaz-Godínez, G., Montiel-González, A.M., Díaz, R., Sánchez C. 2007. Mycelial growth of strains of *Pleurotus ostreatus* developed on agar and its correlation with the productivity in pilot production. *Farm. Braz. J. Microbiol.* 38:568-572.
- Saval, S. 2012. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. *Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería A.C.* 16:14-46.
- Segura, F., Echeverri, R., Patiño, C. y Mejía, A. 2007. Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibras y del valor nutricional de forrajes y alimentos animales. *Vitae.* 14(1):72-81.
- SEMARNAT. 2009. Programa Nacional para la prevención y gestión integral de los residuos 2009-2012. México, DF. Pp.170. Consultado el 20 de junio del 2015. Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/programas/Documents/PNPGIR.pdf>
- Sheremata, T.W., Hawari, J. 2000. Mineralization of RDX by the white rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* to carbon dioxide and nitrous oxide. *Environ. Sci. Technol.* 34: 3384-3388.
- Stamets, P. 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. 3rd ed. Berkeley, CA: Ten Speed Press. 574.

- Stamets, P., Yao, C.D.W. 2002. MycoMedicinals: an informational treatise on mushrooms. Olympia, WA: MycoMedia Productions 27-30.
- Suárez-Segundo, J.L., Vázquez-López, D., Torres-García, J.L., Ahuactzin-Pérez, M., Montiel-Martínez, N., Tlecuil-Beristain, S., Sánchez, C. 2013. Growth of colonies and hyphal ultrastructure of filamentous fungi grown on dibutyl phtalate and di (2-ethylhexil) phtalate. Rev. Mex. Ing. Quím. 12:499-504.
- Téllez-Téllez, M., Díaz-Godínez, G., Sánchez, C. 2003. Physiology of a colony of *Pleurotus pulmonarius* grown on medium overlaid with a Cellophane membrane. Appl. Microbiol. Biotechnol. 63:212–216.
- Tlecuil-Beristain, S., Díaz-Godínez, G., Soriano-Santos, J., Romero-Gómez, S., y Sánchez, C. 2003. Effect of the initial concentration of glucose or sucrose on exopolygalacturonase production by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. Chimica. Oggy. 50-53.
- Valencia del Toro, G. 2002. Estudios sobre la expresión de color de los esporóforos de *Pleurotus* spp. Por apareamiento de neohaplontes compatibles y progenies monospóricas. Tesis de doctorado UNAM. México, D.F.
- Velázquez, L., Téllez-Téllez, M., Díaz, R., Bibbins-Martínez, M. D., Loera, O., Sánchez, C., Tlecuil-Beristain, S., Díaz-Godínez, G. 2014. Laccase isoenzymes of *Pleurotus ostreatus* grown at different pH in solid-state fermentation using polyurethane foam as support. Annu. Res. Rev. Biol. 4(16): 2566-2578.
- Wardlaw, G. M., e Insel, P. M. 1995. Perspectives in nutrition. 3rd ed. Mosby, St. Louis.
- Worrall J. 1999. Structure and dynamics of fungal populations. Syracuse. USA.
- Wyman, C., Dale B., Elander, R., Holtzapple M., Ladisch M., Lee, Y. 2005. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. Bioresource Technol. 96: 1959–1966.