

DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE INGENIERÍA

Doctorado

INCREMENTO EN LA DIGESTIBILIDAD DEL BAGAZO DE *AGAVE TEQUILANA*  
PARA SU USO COMO COMPLEMENTO ALIMENTICIO EN RUMIANTES.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

Doctor en Ingeniería en Biosistemas

Presenta

M. en C. Byanka Arizbeth Cruz Moreno

Dirigido por:

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez

Presidente

Dr. Juan Fernando García Trejo

Secretario

Dr. Luis Miguel Contreras Medina

Vocal

Dr. Ramón Gerardo Guevara González

Suplente

Dr. Juan Carlos Silva Jarquín

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Junio, 2026

México.

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

Este trabajo está hecho con todo mi corazón para mi familia.

**Agradecimientos:**

Gracias a Dios por permitirme continuar en esta vida.

Agradezco profundamente a la Dra. Feregrino por tener toda la paciencia y la disponibilidad para guiarme en este trabajo, su ejemplo ha sido inspiración en todos estos años. A cada uno de los miembros de mi comité por la oportunidad de aprender a su lado.

A mis papitos y mi hermanita que siempre creen en mí y me han rodeado de amor incondicional. Gracias por siempre alentarme y enseñarme a soñar en grande.

A mis compañeros y amigos Benito, Mark, Mónica y Paty, quienes, con su apoyo, compañía y sobre todo paciencia me hicieron más ligero el camino, gracias por siempre tenderme una mano amiga.

A mis amiguitas del camino Gilary, Nohelia y Lucia gracias por siempre estar ahí para reír, escuchar, apapachar y darme ánimos para continuar cuando las cosas se ponen difíciles.

A mis increíbles guías en el laboratorio Kari y Aurora este trabajo no se habría logrado sin todo el tiempo que dedicaron a enseñarme cada técnica, cada determinación, cada una de sus experiencias con paciencia y ánimo, mil gracias.

A mis hijos, la razón más grande de mi esfuerzo y dedicación. Ustedes son mi mayor inspiración y la motivación para no rendirme nunca, gracias por aguantar todos mis malos días, toda mi ausencia y todas las risas que nos faltaron por compartir. Cada logro mío les pertenece a ustedes.

A mi esposo, gracias por animarme a intentarlo todo, por toda tu ayuda, por tu paciencia, comprensión y amor. Por sostenerme en los momentos más difíciles, por creer en mí incluso cuando yo dudaba y nunca nunca dejarme caer. Este logro es también tuyo. Te Amo corazón gracias por todo.

Finalmente quiero agradecer a Secihti por la beca otorgada durante mi estadía en Doctorado.

Esta tesis lleva un pedacito de ustedes en cada página.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN .....	11
II.	ANTECEDENTES .....	12
2.1	La industria tequilera en México .....	12
2.2	Manejo y disposición del bagazo en México.....	13
2.3	Bagazo de agave: composición y limitantes nutricionales.....	14
2.4	Pretratamientos para residuos lignocelulósicos.....	15
2.5	Uso del hongo <i>Pleurotus djamor</i> como agente biotecnológico.....	21
2.6	<i>Pleurotus djamor</i> .....	22
2.7	Aplicación del bagazo tratado en la alimentación animal.....	23
2.8	Calidad de forrajes.....	24
2.9	Alimentación de rumiantes en México.....	25
III.	HIPÓTESIS .....	27
IV.	OBJETIVOS .....	27
V.	METODOLOGÍA .....	28
5.1	Objetivo 1: <i>Adecuación de una cámara de cultivo para hongos Macromicetos</i> .....	29
5.2	Objetivo 2: Llevar a cabo un pretratamiento por fermentación en estado sólido (FES).....	31
5.3	Objetivo 3: Determinación de la calidad del bagazo de Agave (Análisis químico proximal).....	38
5.4.1	Objetivo 4: Análisis Textura de los cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> .....	39
5.4.2.	Contenido total de metabolitos fenólicos y antioxidantes de los cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> .....	40
5.5	Objetivo 5. Análisis de contenido de lignina.....	41
5.6.	Cinética de degradación .....	46
5.7	Metabolitos secundarios no fenólicos de los cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> .....	47
5.8	Análisis estadístico.....	47
VI.	RESULTADOS Y DISCUSION .....	48

6.1 Adecuación de la cámara de cultivo.....	48
6.2. Pretratamiento sobre el bagazo de Agave tequilana con el hongo <i>Pleurotus djamor</i> .....	50
6.2.1 Impacto morfológico de los diferentes tratamientos sobre los cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> .....	50
6.2.2 Tiempo de desarrollo de los diferentes tratamientos sobre <i>P. djamor</i> .....	51
6.2.3 Peso fresco de <i>P. djamor</i> obtenido en los diferentes tratamientos.....	52
6.2.4 Eficiencia biológica.....	54
6.3 Análisis químico proximal (AQP).....	56
6.4 Análisis Textura de <i>P. djamor</i> sobre los diferentes tratamientos.....	59
6.5 Análisis de contenido de lignina en los diferentes tratamientos.....	59
6.5.1 Porcentaje de remoción de lignina.....	61
6.6 Análisis de digestibilidad.....	63
6.6.1 Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS en los tratamientos.....	63
6.6.2 Cinética de degradación <i>in vitro</i> de la MS de los diferentes tratamientos y el control.....	65
6.7 Contenido total de metabolitos fenólicos y antioxidantes.....	68
6.7.1 Metabolitos secundarios no fenólicos en los cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> .....	70
VII. CONCLUSIONES.....	74
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	75

- Índice de Tablas.

Tabla 1. Composición química del Bagazo de Agave y rastrojo de maíz.....	25
Tabla 2 .Contenido de sustrato.....	322
Tabla 3. Métodos para determinaciones de AQP.....	399
Tabla 4. Soluciones empleadas para el método de digestibilidad Daisy II - Incubator Ankom Techonology. ....	44
Tabla 5. Composición química de los sustratos puros y composición química de los sustratos con Pretratamiento fúngico.....	57
Tabla 6. Textura de <i>Pleurotus djamor</i> creciendo sobre 5 diferentes tratamientos.....	59
Tabla 7. Concentración promedio de lignina, celulosa y hemicelulosa en los diferentes tratamientos antes del pretratamiento. ....	60
Tabla 8. Concentración promedio de lignina, celulosa y hemicelulosa en los diferentes tratamientos del sustrato gastado. ....	61
Tabla 9. Porcentaje de remoción de lignina de los sustratos después del pretratamiento. ....	62
Tabla 10. Efecto de los tratamientos en la degradación de la MS de los sustratos gastados. ....	64
Tabla 11. Parámetros de la cinética de degradación de la MO in vitro de los tratamientos. ....	66
Tabla 12. Efecto de la tasa fraccional de paso ( $K_p/h$ ) en la degradabilidad efectiva de la MO.....	66
Tabla 13. Concentración media de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante.....	69
Tabla 14. Metabolitos secundarios no fenólicos de los cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> .....	72

• Índice de Figuras.

Figura 1 Composición del bagazo de agave, imagen realizada con IA.....	16
Figura 2. Efecto de un pretratamiento en la estructura de biomasa lignocelulósica. ....	16
Figura 3 Cuerpo fructífero de <i>Pleurotus djamor</i> , imagen generada con IA. ....	23
Figura 4. Diagrama de procesos, imagen generada con IA.....	28
Figura 5. Diseño de la cámara de crecimiento vista superior dorsal.....	30
Figura 6. Diseño de la cámara de crecimiento vista superior. ....	30
Figura 7. Diseño de la cámara de crecimiento vista superior, lateral.....	31
Figura 8. Diseño de los soportes para crecimiento. ....	31
Figura 9. Unidades de producción (UP) 4 por tratamiento. ....	34
Figura 10. Micelio de <i>P. djamor</i> creciendo en caldo PDA.....	36
Figura 11. Sustrato extendido para inoculación.....	377
Figura 12. Colonización y primordios presentes.....	388
Figura 13. Basidiocarpo o cuerpo fructífero de <i>P. djamor</i> .....	38
Figura 14. Analizador de textura textura (TA-HDi Model Texture Analyzer; TexturePro CT V1.6 Build). ....	40
Figura 15. Muestras secas y molidas de los tratamientos. ....	43
Figura 16. Impermeabilizado y pintura de la cámara de crecimiento. ....	499
Figura 17. Construcción de estufas de tipo industrial. ....	49
Figura 18. Cámara de crecimiento terminada, vista frontal. ....	49
Figura 19. Desarrollos anormales de los cuerpos fructíferos durante las pruebas en la cámara de crecimiento.....	5050
Figura 20. Cuerpos fructíferos de <i>P. djamor</i> al crecer sobre diferentes sustratos.....	500
Figura 21. Etapas del desarrollo (en días) de los tratamientos.....	52

Figura 22. Precocidad de los cuerpos fructíferos (en días) de <i>P. djamor</i> en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %. $n = 4 \pm$ desviación estándar (DE).....	52
Figura 23. El peso fresco de <i>P. djamor</i> en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %. $n = 4 \pm$ desviación estándar (DE). .....	54
Figura 24. Eficiencia biológica de <i>P. djamor</i> en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %. $n = 4 \pm$ desviación estándar (DE). .....	55
Figura 25. Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de la comparación del % Proteína en los sustratos, antes y después del crecimiento de <i>P. djamor</i> . .....	58
Figura 26. Diferencias significativas de la comparación del % NFE en los sustratos, antes y después del crecimiento de <i>P. djamor</i> . .....	58
Figura 27. Porcentaje de remoción de lignina en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %. $n = 4 \pm$ desviación estándar (DE). .....	63
Figura 28. Porcentaje de remoción de lignina, de los diferentes tratamientos con el tiempo. ....	64
Figura 1. Cinética de degradación de <i>M0</i> , de los diferentes tratamientos a través del tiempo (h)....	67

## RESUMEN

El bagazo de *Agave tequilana* se ha considerado una alternativa para la alimentación animal al producirse en grandes cantidades durante la elaboración del tequila y tener elementos nutritivos que pueden ser explotados. El bagazo cuenta con algunas características nutricionales importantes; como el contenido de proteína cruda (PC) que va de 11 a 14% y su valor de energía metabólica que oscila entre 3.3 y 3.4 Mcal/Kg MS. Sin embargo, su contenido de lignina es un problema ya que las bacterias del rumen no pueden digerirlo. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de un pretratamiento fúngico (*Pleurotus djamor*) con 4 concentraciones de bagazo 100, 90, 80 y 70% mezclado con rastrojo de maíz, ya que se ha observado que los pretratamientos disminuyen el contenido de lignina y aumentan la digestibilidad ruminal, por lo cual se realizó la evaluación por análisis químico proximal (AQP) del bagazo sin pretratamiento y bagazo tratado, observando un incremento en los porcentajes de digestibilidad que son el resultado de la disminución en el contenido de lignina. Se realizaron pruebas de digestibilidad in vitro y digestibilidad aparente de la materia orgánica (MO) y fibra detergente neutro (FDN) para comprobar los resultados.

Palabras claves: Digestibilidad, pretratamiento, fermentación sólida, forraje.

**Abstract.**

*Agave tequilana* bagasse has been considered an alternative for animal feed because it is produced in large quantities during tequila production and contains nutrients that can be exploited. Bagasse has some important nutritional characteristics, such as a crude protein (CP) content ranging from 11 to 14% and a metabolic energy value ranging from 3.3 to 3.4 Mcal/kg DM. However, its lignin content is a problem, as rumen bacteria cannot digest it. The present work aimed to evaluate the effect of a fungal pretreatment (*Pleurotus ostreatus*) with 4 concentrations of bagasse 100, 90, 80 and 70% mixed with corn stover, since it has been observed that pretreatments decrease the lignin content and increase ruminal digestibility, for which the evaluation by proximate chemical analysis (AQP) of the bagasse without pretreatment and treated bagasse was carried out, observing an increase in the digestibility percentages that may be a result of the decrease in lignin content. In vitro digestibility tests and apparent digestibility of organic matter (OM) and neutral detergent fiber (NDF) were carried out, observing that the percentage of lignin can be decreased and the percentage of digestibility increased.

Keywords: Digestibility, pretreatment, solid fermentation, forage.

## I. INTRODUCCIÓN

El bagazo de *Agave tequilana* es el residuo que resulta después de hornear y triturar la piña del Agave en el proceso para producir tequila, la cual es una bebida emblemática de México.

Se estima que por cada tonelada de agave procesado se generan entre 0.3 y 0.5 toneladas de bagazo, lo que ha resultado en la acumulación de miles de toneladas anuales de este residuo que suele ser desechado en vertederos o acumulado a cielo abierto, generando problemas ambientales como lixiviación de compuestos orgánicos, emisión de gases de efecto invernadero y proliferación de vectores patógenos.

Por lo cual la valorización del bagazo de agave como fuente alternativa de alimento para rumiantes representa una oportunidad estratégica tanto ambiental como económica, sin embargo, uno de los principales desafíos para su introducción efectiva en dietas animales es su baja digestibilidad, la cual se debe a su alto contenido de compuestos lignocelulósicos. Estos componentes limitan la degradación ruminal y, por tanto, reducen la disponibilidad de nutrientes esenciales para los animales. Por ello, es indispensable implementar un método que permita disminuir dichos niveles lignocelulósicos.

Este trabajo está enfocado en reintroducir el bagazo de *Agave tequilana* a la cadena productiva como recurso forrajero alternativo en la alimentación de rumiantes, evaluando un método biológico (fúngico) que permita el aumento en la digestibilidad del bagazo de agave. Esta propuesta busca reintroducir a la cadena productiva los residuos del agave, mejorar la sustentabilidad en la producción ganadera y producir el hongo comestible *Pleurotus djamor*.

La investigación comprende el análisis composicional del bagazo antes y después del tratamiento, la evaluación de la digestibilidad mediante técnicas *in vitro* y la evaluación nutricional del hongo comestible *P. djamor*.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 La industria tequilera en México

La agroindustria es considerada una actividad fundamental para la supervivencia del ser humano, sin embargo, debido al crecimiento acelerado de la población actual dicha actividad se realiza de manera lineal e intensiva generando a su vez miles de toneladas de residuos agrícolas (bagazos, pajas, rastrojos, etc), los cuales generalmente terminan depositados en vertederos o quemados al aire libre generando contaminación ambiental. Uno de esos casos es el bagazo de *Agave tequilana*, la cual es la especie con mayor importancia social, agroecológica y económica en México, su uso se remonta a la época prehispánica, actualmente su importancia económica se debe a la demanda mundial del tequila (Lozano Arias, 2024).

El tequila se define por la Nom-006- scfi-2012, como “una bebida alcohólica regional obtenida por destilación de mostos, preparados directa y originalmente del material extraído, en las instalaciones de la fábrica de un Productor Autorizado la cual debe estar ubicada en el territorio comprendido en la Declaración, derivados de las cabezas de *Agave tequilana* Weber var. azul, previa o posteriormente hidrolizadas o cocidas, y sometidos a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no..... El tequila es un líquido que puede tener color, cuando sea madurado, abocado, o añadido de un color específico”(Gómez-Cuevas et al., 2020).

Desde hace 30 años se ha convertido en una bebida de renombre que se exporta a nivel internacional con una producción récord en 2019, de más de 351 millones de litros. Varios factores contribuyeron a este importante desarrollo como el establecimiento de una Denominación de Origen (la primera otorgada en México), el 13 de abril de 1978, una internacionalización de la industria, un Consejo Regulador del Tequila que cuida la calidad y la autenticidad, y una Cámara Nacional de la Industria Tequilera que promueve esta bebida, sobre todo fuera del país.

La elaboración de tequila se lleva a cabo a gran escala con la tecnología más avanzada, principalmente en los estados que tienen la denominación de origen,

incidiendo también en los estados que producen mezcal a partir de *Agave tequilana Weber* (Gschaedler Mathis et al., 2017).

Durante los últimos 20 años la producción de tequila ha aumentado en 90% y por consiguiente el bagazo de agave, solo en 2024 fueron desechados 605 mil toneladas de bagazo de agave (CRT, 2025) y se espera que el crecimiento del mercado continúe debido a que la denominación de origen del tequila fue recientemente reconocida por la Unión Europea.

Si bien de manera tradicional el bagazo es utilizado como relleno para muebles, colchones, ladrillos, composta (Guzmán, 1997) o como combustible en hornos de leña no se le ha encontrado un uso ni una disposición definitiva por cual representa un problema ambiental.

Su pH ácido y su alto contenido de lignina han hecho complicada su inserción en líneas de producción de nuevos productos, así como difícil de utilizar como composta. Una gran ventaja de la utilización del bagazo del agave es la concentración geográfica del residuo; es decir, la mayor parte del bagazo está disponible en una pequeña área.

Dicho bagazo es potencialmente útil como materia prima para la producción de alimentos, forrajes, ensilaje, agricultura, medicina, energía, medio ambiente, textiles, cosméticos y estética, pero para ello es necesario disminuir los niveles del contenido de lignina (Acosta Sotelo, 2023; Crespo González et al., 2018a; Guzmán-Dávalos et al., 1987; Hüttermann A. et al., 2000).

## 2.2 Manejo y disposición del bagazo en México

En los últimos años, las mayores empresas tequileras han adoptado el proceso de compostaje o degradación biológica controlada como única forma de gestionar y eliminar el bagazo de agave, mezclándolo con diferentes materiales como son las vinazas, sólidos del proceso del tequila, elaborando así biofertilizantes, sin embargo, es poco atractivo debido a que dicho proceso demora de 6 a 12 meses en ser completado (Iñiguez et al., 2004; Iñiguez & J. Parra-Velasco, 2006).

Se han realizado, además, diversos estudios para encontrar el aprovechamiento de dicho residuo ya que sin tratamiento puede provocar contaminación por lixiviados a mantos freáticos, riesgos fitosanitarios y efectos negativos en la fertilidad de las tierras de cultivo (Crespo González, 2011). La mayor parte de estos estudios están enfocados en disminuir el tiempo de compostaje, así como su aprovechamiento (Acosta Sotelo, 2023; Crespo González et al., 2018b; Iñiguez et al., 2004; Iñiguez & J. Parra-Velasco, 2006), los resultados han sido poco alentadores, debido principalmente a que los altos costos no resultan sostenibles, redituables ni beneficiosos (Idarraga et al., 1999; M. R. Rodríguez, 2004), incluidas aquellas investigaciones enfocadas en el uso como alimento para rumiantes, (Delgadillo-Ruiz L. et al., 2015; Grabber, 2005; Iñiguez et al., 2001; Ramírez-Cortina C. R. et al., 2012).

La importancia de convertir los residuos agroindustriales en productos de valor agregado va en aumento, en 2019 el valor de mercado de los productos de desecho agrícolas alcanzó un máximo de USD 63,3 mil millones en la industria de bebidas (Beltrán-Ramírez et al., 2019). Por lo cual, la valorización de los residuos agroindustriales aumenta los ingresos por cosecha y mejora el sustento de la población local, al mismo tiempo que reduce los costos involucrados en la eliminación de los desechos y minimiza la huella de carbono (Lucarini et al., 2018; Singh et al., 2019).

### 2.3 Bagazo de agave: composición y limitantes nutricionales

La composición del bagazo de agave varía según el proceso industrial empleado, pero en general está compuesto principalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y azúcares, y niveles nutricionales cercanos al rastrojo de maíz, por lo cual podría ser utilizado en la alimentación animal (tabla 1).

Sin embargo, el contenido de lignina presente en el bagazo limita su digestibilidad ya que es un polímero de unidades de fenilpropano hidrófobo que permanece insoluble en todos los solventes y es bastante resistente a la degradación anaeróbica (Monties & Fukushima, 2001; Watanabe et al., 2003).

Es por esto, que el bagazo debe someterse a un pretratamiento que permita modificar su composición química y estructural y con ello facilitar el acceso de las enzimas celulasas sobre

la celulosa para obtener azúcares fermentables haciendo que la biomasa sea más accesible a la digestión (Kumari & Singh, 2018).

#### 2.4 Pretratamientos para residuos lignocelulósicos

Se han creado una amplia variedad de pretratamientos para residuos lignocelulósicos con el fin de separar la mayor parte de la lignina presente en este tipo de residuo (figura 1), estos tratamientos buscan aumentar el grado de disponibilidad de la biomasa para la enzima encargada de la hidrólisis (Madadi & Abbas, 2017).

Un pretratamiento efectivo debe ser económico, eliminar la mayor cantidad de lignina presente, incrementar la porosidad, reducir la cristalinidad de la celulosa, no debe producir residuos tóxicos y finalmente debe adaptarse al tipo de biomasa y producto final deseado (Banerjee et al., 2011; Sun & Cheng, 2002).

Existen varios tipos de pretratamiento de materiales lignocelulósicos: físicos (mecánico e irradiación), químicos (álcalis, ácidos, oxidativo y organosolventes), fisicoquímicos (extrusión, hidrotérmico, explosión de vapor, explosión de fibra de amoníaco [AFEX] y oxidación húmeda) y biológicos (microorganismos y enzimáticos), su eficiencia varía según la biomasa (Abraham et al., 2020). La elección del pretratamiento adecuado depende del producto final deseado.

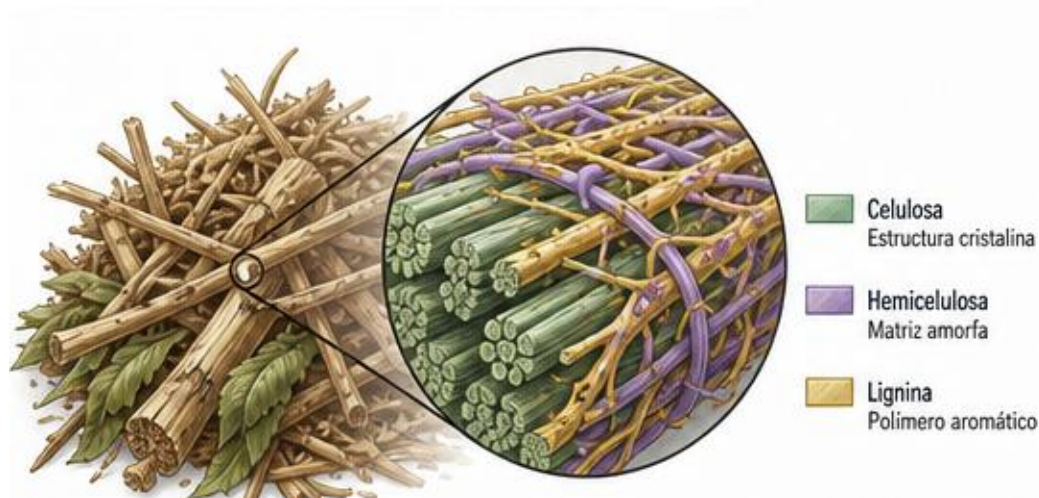


Figura 2. Composición del bagazo de agave, imagen realizada con IA.

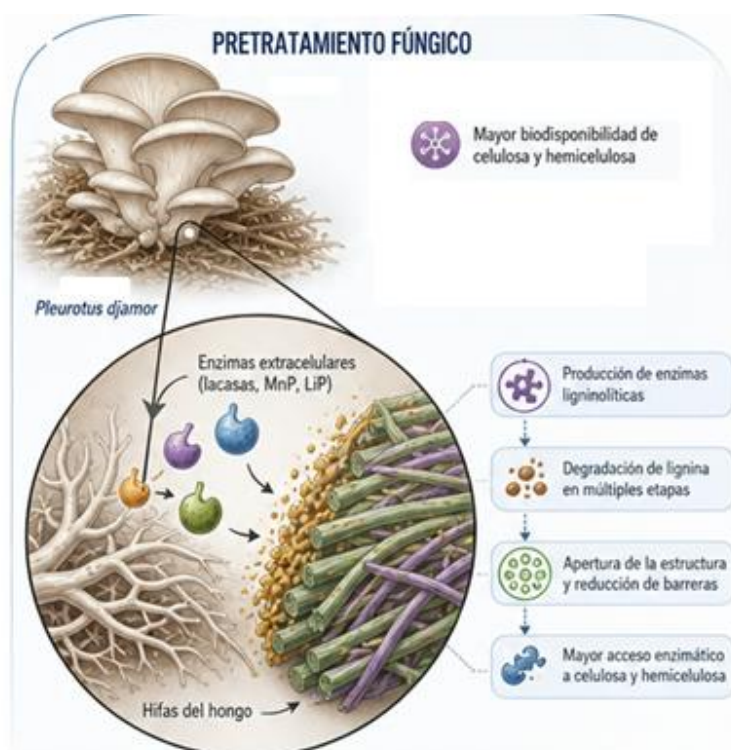


Figura 3. Efecto de un pretratamiento en la estructura de biomasa lignocelulósica, imagen realizada con IA.

### *Pretratamientos físicos*

#### Mecánico:

Los métodos de pretratamiento mecánico incluyen astillado, esmerilado, molienda etc. en los que se pueden utilizar diferentes herramientas. Tales pretratamientos mecánicos conducen a una reducción en el tamaño de las partículas a un polvo fino, aumentando así el área superficial de la celulosa y reduciendo su grado de cristalinidad, al mismo tiempo que disminuye el grado de polimerización de celulosas y hemicelulosas (Galbe & Zacchi, 2007; Taherzadeh & Karimi, 2008). Después de la trituración, se liberan compuestos orgánicos solubles debido a que las células se destruyen (Palmowski & Müller, 2000). Sin embargo, este tipo de pretratamientos no es rentable ya que requiere demasiada energía (Hendriks & Zeeman, 2009).

#### Extrusión

En este pretratamiento la biomasa se somete a calor, compresión y fuerza de cizallamiento, lo que provoca cambios estructurales y alteraciones químicas en las células de la biomasa al pasar por la extrusora (Zheng et al., 2014).

#### Irradiación:

La irradiación de microondas eleva la temperatura del agua intercelular hasta evaporarla, con lo cual se rompen los enlaces de hidrógeno haciendo que la estabilidad de las moléculas de lignocelulosa disminuya. Por su parte la celulosa es bastante estable a la radiación en comparación con el agua (Eskicioglu et al., 2007; P. Kumar et al., 2009; Pellerá & Gidaracos, 2017).

Sin embargo, el pretratamiento con microondas tiene varias desventajas, incluido el alto consumo de energía, los procedimientos de operación complicados y el estricto monitoreo de equipos (A. Singh & Bishnoi, 2012; Urbaniec & Grabarczyk, 2009).

### *Pretratamientos químicos*

Su modelo de acción depende del agente químico que se utilice (ácido, álcalis, oxidativo y organosolventes) así como de las condiciones de aplicación.

#### Ácido

Durante este pretratamiento la principal reacción que se produce es la hidrólisis de hemicelulosa, debido a la interrupción de las fuerzas de Van der Waals, rompiendo los enlaces de hidrógeno y los enlaces covalentes con lo cual se forman unidades pentosas solubles en agua lignina/fenólicos-carbohidratos.

Los ácidos comúnmente utilizados son ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, fosfórico, nítrico y acético. Las desventajas del pretratamiento ácido a bajas temperaturas son: que implica un reactivo corrosivo, con su correspondiente neutralización y su manejo es peligroso (Hendriks & Zeeman, 2009; Hernández-Salas J. M. et al., 2009; C. E., Wyman et al., 2005; Yang & Wyman, 2009; Zheng et al., 2014).

#### Alcalisis

Al utilizar un agente químico alcalino, la lignina es removida por solubilización dejando las celulosas existentes casi intactas. El mecanismo de acción de la hidrólisis alcalina induce a la hinchazón de las partículas orgánicas por acción de los aniones hidroxilo (OH<sup>-</sup>) con lo cual se rompen los enlaces éster intermoleculares que unen los xilanos de la hemicelulosa y la lignina (Hendriks & Zeeman, 2009; A. Singh & Bishnoi, 2013).

Los álcalis más utilizados son hidróxido de sodio, calcio (Ca (OH)<sub>2</sub>), potasio (KOH) y amoníaco con concentraciones entre 2-15% a temperaturas entre 70-121 °C (Karuppiah & Ebenezer, 2019; Rodrigues et al., 2016).

La combinación de tratamientos alcalinos con temperatura hace que la solubilización de la lignina sea más efectiva (Talebnia et al., 2010).

### Oxidativo

El pretratamiento oxidativo solubiliza la lignina y la hemicelulosa y aumenta el área superficial de la celulosa. Los óxidos más utilizados son ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ) pero también puede utilizarse la oxidación de Fenton, ozono y ozono combinado con  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{Fe}^{2+}$  (Abraham et al., 2020).

### Ozono

El proceso de ozonización consiste en hacer burbujear el ozono a través de la biomasa, que resulta en la ruptura eficiente de la pared celular y la liberación de compuestos orgánicos más solubles y fácilmente biodegradables. Tiene el potencial de degradar entre el 20 y el 60% de la lignina, mientras que la hemicelulosa es ligeramente afectada y la celulosa queda intacta (Sun & Cheng, 2002).

Aunque el proceso se lleva a cabo a temperatura ambiente y presión normal, este pretratamiento requiere una gran cantidad de ozono, por lo que los costos son altos (Elliott & Mahmood, 2007; P. Kumar et al., 2009).

### *Pretratamiento fisicoquímico*

#### Hidrotérmico

Durante el tratamiento con agua caliente (LHW), el sustrato lignocelulósico se calienta a una temperatura de entre 200–230 °C durante algunos minutos de esta manera las partículas de agua penetran en la biomasa, aumentando el área de contacto y eliminando con ello el total de hemicelulosas, entre el 35 y el 60 % de ligninas y entre el 4 y el 22 % celulosa (Mosier et al., 2005; C. E., Wyman et al., 2005).

Los materiales lignocelulósicos sufren cambios en sus estructuras causados por la acción del agua y las altas temperaturas, debido a que se acelera el proceso de hidrólisis, aumentando la degradación de la hemicelulosa y el área superficial debido a la hinchazón que provoca la presencia de calor y  $\text{H}_2\text{O}$  en la celulosa (Garrote G. et al., 2002).

### Explosión de vapor

Durante la explosión de vapor, la biomasa se expone a altas temperaturas temperatura de entre 160–260°C con presión de 7–50 bar para permitir que el vapor penetre en la estructura del sustrato durante unos minutos. Posteriormente se reduce la presión repentinamente permitiendo que las moléculas de agua escapen de manera explosiva. Este pretratamiento abre las células, aumenta la superficie, y mejora la digestibilidad de la biomasa

Una limitación de la explosión de vapor es la interrupción incompleta de la matriz de lignina-carbohidrato (Kumar P. et al., 2009).

### Afex (explosión de fibra de amoníaco)

AFEX es un pretratamiento fisicoquímico en el que la biomasa se expone a amoníaco líquido a una temperatura de entre 90–120 °C, durante un período de 30 min, seguido de la repentina reducción de la presión, con lo cual se reduce el contenido de lignina, aumenta el área superficial y celulosa y hemicelulosa se conservan bien, mostrando poca o ninguna degradación. Este pretratamiento no es efectivo para sustratos con alto contenido de lignina (R. Kumar & Wyman, 2009; Venkata S. P. B., 2013).

### *Pretratamientos biológicos*

Los métodos biológicos tienen como objetivo el tratamiento de la hemicelulosa y la lignina utilizando complejos enzimáticos hidrolíticos que pueden ser de origen bacteriano ó fúngico y poseen la capacidad de solubilizar los compuestos orgánicos presentes en la biomasa con un mínimo consumo de energía, sin cambios drásticos en la biomasa, por lo cual han cobrado relevancia como una alternativa sostenible (Sindhu et al., 2016).

En el caso de las enzimas bacterianas son muy favorecidos los complejos enzimáticos llamados celulosomas (Menon & Rao, 2012), los cuales mejoran considerablemente los procesos catalíticos por ser complejos enzimáticos los responsables de las reacciones catalíticas y no enzimas aisladas.

Las fuentes de enzimas hidrolíticas más citadas provienen de los hongos sobresaliendo el género *Trichoderma* y algunos basidiomicetos debido a que producen enzimas extracelulares que son muy estables y eficientes, sin embargo, son poco atractivos desde el punto de vista productivo debido a su velocidad de reacción (Wan & Li, 2012; V. Wyman et al., 2018).

### Fúngico

La capacidad de los hongos para degradar materiales lignocelulósicos se debe a su sistema enzimático único, ya que poseen dos tipos de sistemas enzimáticos extracelulares: el sistema hidrolítico, que produce hidrolasas para degradar polisacáridos y el sistema ligninolítico oxidativo, que degrada la lignina y abre los anillos de fenilo.

El pretratamiento fúngico degrada selectivamente la lignina, lo que permite la biodisponibilidad de la celulosa y hemicelulosa, actualmente se utilizan diversos hongos entre los que destacan *Trichoderma reesei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Oxysporus sp.*, *Auricularia aurícula*, *Pleurotus ostreatus*, *Schizophyllum commune*, causantes de podredumbre parda, blanca y blanda, siendo los hongos de podredumbre blanca los más eficaces (Amirta et al., 2006).

Los hongos de la pudrición blanca, particularmente *Pleurotus ostreatus* y otras especies del género *Pleurotus*, destacan por su capacidad para producir enzimas ligninolíticas como lacasas, manganeso peroxidasas (MnP) y lignina peroxidasas (LiP) y llevar a cabo la biodegradación de la lignina en múltiples etapas (Giardina et al., 2000).

En este caso se utilizó pretratamiento fúngico utilizando el hongo comestible *Pleurotus djamor*, este proceso es una alternativa biotecnológica con la cual podemos obtener alimentos con alto valor nutricional y comercial.

### 2.5 Uso del hongo *Pleurotus djamor* como agente biotecnológico

Los hongos basidiomicetos del género *Pleurotus sp.* son degradadores de madera que crecen de manera natural sobre árboles enfermos, tocones, piñas, etc (Alexopoulos C. J. & Mims C. W., 1979). Han sido ampliamente estudiados por su capacidad de degradar residuos lignocelulósicos mediante biodegradación fúngica selectiva, sin afectar la celulosa, lo cual

convierte al género en un agente biotecnológico ideal para el pretratamiento de forrajes de baja calidad (Bernabé-González T. et al., 2004; Philippoussis et al., 2001; Piña-Guzmán et al., 2016).

El proceso biotecnológico por el cual un hongo puede ser cultivado sobre estos residuos es conocido como fermentación en fase sólida (FES) (Fazenda et al., 2008). Realizar la fermentación sólida como pretratamiento permitirá degradar el contenido de lignina a bajo costo y mejorar la digestibilidad in vitro de la materia seca. Al mismo tiempo, el crecimiento fúngico incrementa el contenido proteico del sustrato debido a la biomasa micelial lo que convierte al bagazo tratado en un sustrato más digestible, y más nutritivo para rumiantes. Una vez que el hongo completa su ciclo de vida sobre el sustrato, este recibe el nombre de sustrato de hongos gastado SMS por sus siglas en inglés el cual es un subproducto que puede ser nuevamente utilizado para producir biofertilizantes, alimentos para animales, biocombustibles entre muchos otros (El-Ramady et al., 2022; Oliveira Vieira et al., 2022).

## 2.6 *Pleurotus djamor*

El uso particular de *Pleurotus djamor* tiene beneficios adicionales como la generación de hongos comestibles (setas rosas), la reducción del residuo, el reciclaje y valorización económica del bagazo.

*Pleurotus djamor* es un hongo comestible, de amplia distribución en América Latina conocido como seta rosa. Es considerada una especie tropical debido a su capacidad de crecer a temperaturas de hasta 33 °C, desarrolla cuerpos fructíferos gregarios con píleo y estípite de color rosa intenso a rosa pálido que se decolora con la edad. El píleo o sombrero tiene forma convexa, ligeramente deprimida al centro, liso con margen poco enrollado cuando es joven y liso al madurar, que miden entre 3 cm a 15 cm. El estípite es cilíndrico, excéntrico o lateral, corto o ausente especialmente cuando crece en racimos. El himenóforo es decurrente, con láminas delgadas y rectas, bastante apretadas de color rosa claro a beige. Es saprofito y crece tocones, arboles muertos y madera en general, posee un olor fúngico, carne suave y sabor agradable al paladar (Index Fungorum, 2025; Stamets, 2000).



Figura 4 Cuerpo fructífero de *Pleurotus djamor*, imagen generada con IA.

Se ha encontrado creciendo de forma silvestre en varios estados de nuestro país por lo que no representa un riesgo fitosanitario al ecosistema.

Además de poseer un agradable sabor, tienen un alto valor nutricional y nutracéutico debido a la presencia de numerosos compuestos bioactivos (Cruz-Moreno et al., 2023; Fogarasi et al., 2020; Martínez-Flores et al., 2021; Salmenes, 2017; Vega et al., 2022; Vega & Franco, 2013).

## 2.7 Aplicación del bagazo tratado en la alimentación animal

Se han realizado varios experimentos para utilizar el bagazo de *Agave tequilana* como complemento en la dieta de diferentes rumiantes como son cabras, ovejas, carneros y vacas utilizando diversos pretratamientos químicos que aumentan el porcentaje de digestibilidad. Sin embargo, los costos son elevados, el manejo es complicado, en el proceso aparecen productos que son dañinos a la nutrición del rumen y además no son económicamente viables. Los pretratamientos que reportan mejor beneficio y eficiencia incluyen hidrólisis alcalina y oxidación por peróxido de hidrógeno (Íñiguez et al., 2001; Patrick, 2000; Ramírez-Cortina C. R. et al., 2012; I. Rodríguez, 2005; Zamudio et al., 2009)

Por otro lado, los estudios de (Fonseca G. G. et al., 2009; Kutlu H. R. et al., 2000; Ramírez-Bribiesca J.E. et al., 2010; Villas-Boas S. G. et al., 2003), demostraron que el uso de residuos agroindustriales (rastroy de maíz, paja de cebada, paja de arroz) pretratados con hongos del género *Pleurotus* pueden ser utilizados como complemento en dietas de rumiantes.

## 2.8 Calidad de forrajes

La alimentación animal constituye uno de los componentes más caros en las explotaciones de producción animal, una alternativa para disminuir los costos de alimentación es el uso de forrajes de calidad (Espinoza-Ortega A. et al., 2007); la calidad de un forraje es determinada por la composición química (proteína cruda, humedad, cenizas, extracto etéreo, extracto libre de nitrógeno), el contenido de fibra (fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, lignina) y la digestibilidad. Se entiende por digestibilidad a la porción de alimento que una vez ingerido desaparece en el tracto digestivo o en un proceso de laboratorio y no es excretado, debido a la solubilización y trabajo de los microorganismos ruminales (Minson, 1990).

Conocer estos valores permite establecer el valor nutritivo que tiene un forraje y ayuda a formular dietas balanceadas para los animales (Bochi-Brum et al., 1999).

Las pruebas *in vitro* resultan menos laboriosas, costosas, rápidas y accesibles comparadas con las pruebas *in vivo*, y la cantidad de material orgánico degradado o disuelto esta correlacionado a los valores de digestibilidad *in vivo* por lo que los resultados pueden ser utilizados como índices en pruebas comparativas (Giraldo L. A. et al., 2007)

## 2.9 Alimentación de rumiantes en México

La alimentación de los rumiantes en México depende principalmente de pastos, los cuales muestran una irregular oferta dependiendo de la época del año, así durante las lluvias pueden resultar satisfactorios y durante la estación seca, su calidad y cantidad se ve seriamente afectada (Minson, 1990).

Cuando no se cuenta con los recursos suficientes para alimentar correctamente al ganado o bien el recurso energético es pobre se destaca la necesidad de suplementación estratégica utilizando recursos complementarios al pastoreo (Araque et al., 2000; Cobb, 2002). Existen diversos tipos de suplementos que son empleados en la alimentación de los rumiantes como heno, ensilaje, excretas de animales, sales minerales, alimentos balanceados comerciales y alimentos balanceados elaborados en las explotaciones agropecuarias (Tobía C. Vargas & Rojas A., 2000) Por lo que contribuir con un forraje alternativo incrementa las opciones de suplementos y contribuye a reducir los costos de alimentación.

Uno de los forrajes más utilizados como alimento en México es el rastrojo de maíz, su composición química posee valores cercanos a los valores del bagazo de agave (tabla 1) por lo que se espera que este último pueda ser integrado de manera satisfactoria como un forraje alternativo al terminar el pretratamiento con el hongo *P. djamor*.

Tabla 1. Composición química del Bagazo de Agave y rastrojo de maíz.

Parámetro	Bagazo	Rastrojo de maíz
Humedad (%)	5%	16.88%
Materia orgánica base seca (%)	88-95	80-85
Fibra (% MS)	77	83.12
Proteína %	10.30	5.78
Celulosa (% fibra seca)	31-56	
Hemicelulosas (% fibra seca)	11-24.5	

Cenizas %	15-17	11.34
Nitrógeno (% MS)	3	
Grasas (% MS)	1	
Minerales (% MS)	6	
Pectinas (%MS)	1	
Azúcares reductores (% MS)	7	
FDN	53.40	81.61
FDA	38.40	58.75
LDA (lignina)	11-19.5	12.68

---

(Íñiguez et al., 2001); Saucedo-Luna et al. 2011; Corona-González et al. 2016.

Este trabajo se centrará en el incremento de la digestibilidad del bagazo de *Agave tequilana* por medio del pretratamiento con el hongo comestible *P. djamor* para su uso como forraje alternativo en la dieta de rumiantes.

El uso de esta estrategia se alinea con los principios de la economía circular y la sostenibilidad agropecuaria, al transformar un residuo contaminante en un insumo productivo. Reduce los costos de alimentación animal en zonas donde la producción de agave es abundante y el acceso a forrajes convencionales es limitado. Y al mismo tiempo ofrece una alternativa de alimento para consumo humano.

### III. HIPÓTESIS

El pretratamiento fúngico con *Pleurotus djamor* sobre el bagazo de *Agave tequilana* disminuye los niveles de lignina, por lo que aumenta la digestibilidad en comparación con el bagazo no tratado, de manera que podrá ser utilizado como forraje alternativo para rumiantes.

### IV. OBJETIVOS

Determinar el procedimiento para reducir el nivel de lignina del bagazo de *Agave tequilana* utilizando el hongo *Pleurotus djamor* y con ello aumentar la digestibilidad para utilizarlo como forraje para rumiantes.

Objetivos específicos:

1. Adecuación de una cámara de cultivo para el desarrollo de hongos Macromicetos.
2. Llevar a cabo un pretratamiento por fermentación en estado sólido (FES) con *P. djamor* a 4 concentraciones de bagazo de agave 100%, 90%, 80% y 70%.
3. Determinar la composición bromatológica del bagazo de agave no tratado y tratado (sustrato gastado) para conocer el efecto del pretratamiento sobre las características nutricionales del sustrato.
4. Evaluar la textura de los cuerpos fructíferos de *P. djamor*, así como sus compuestos fenólicos para su posterior consumo.
5. Cuantificar el porcentaje de lignina disponible antes y después de aplicar el pretratamiento en bagazo de *Agave tequilana* con el hongo *Pleurotus djamor*.
6. Conocer el efecto del pretratamiento en la degradabilidad, cinética de degradación de la materia seca (MS) y materia orgánica (MO), *in vitro* del bagazo de *Agave tequilana* antes y después del pretratamiento con el hongo *Pleurotus djamor*.
7. Evaluar el contenido de compuestos fenólicos, compuestos no fenólicos y actividad antioxidante de los sustratos gastados.

## V. METODOLOGÍA

Los experimentos se realizaron en diversos campus de la Universidad Autónoma de Querétaro. El pretratamiento fúngico se realizó en las instalaciones del campus Amazcala, perteneciente a la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ-FI), localizado en Carretera Chichimequillas. s/n km. 1. El Marqués, Querétaro.

Las pruebas *in vitro* así como el análisis químico proximal se realizaron en el laboratorio de nutrición animal (UAQ-FCN) campus Juriquilla, Querétaro. Las determinaciones de compuestos fenólicos, taninos y actividad antioxidante se realizaron en el laboratorio de metabolitos y nanocompositos (UAQ- FI) campus Aeropuerto.

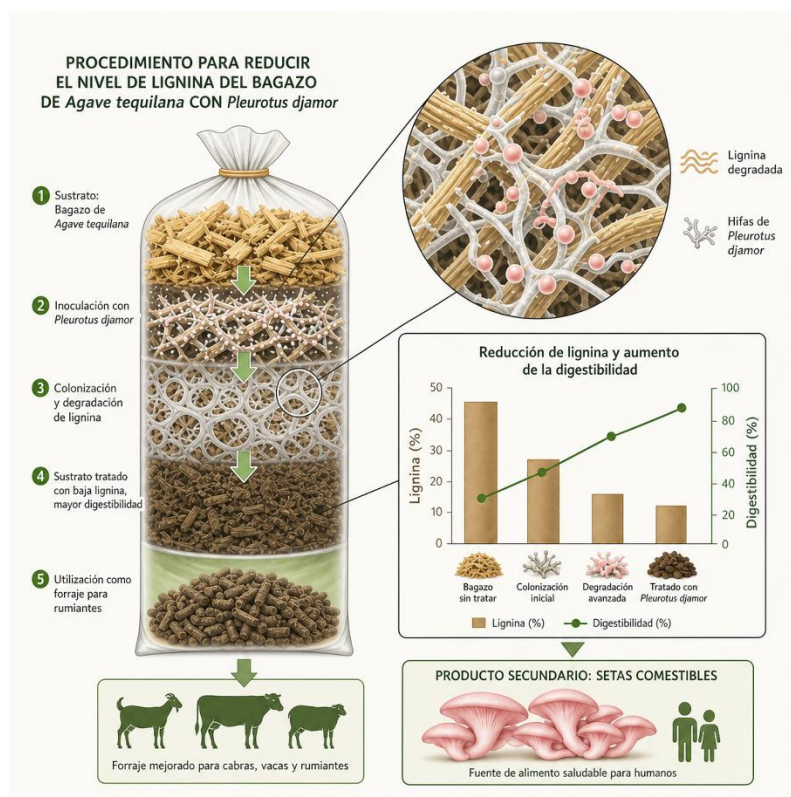


Figura 5. Diagrama general, imagen generada con IA.

*\*\*Para fines prácticos la metodología se ha descrito de manera que pueda desarrollarse cada objetivo.*

### 5.1 Objetivo 1: *Adecuación de una cámara de cultivo para hongos Macromicetos.*

Para llevar a cabo el cultivo se realizó el diseño para la adecuación de una cámara de cultivo de 50 m<sup>3</sup>, utilizando SketchUp software 2022. La cámara cuenta con las siguientes especificaciones:

- Riego automático por aspersion impulsada por bomba de ½ caballo de fuerza, programada por medio de un Timer Steren
- Sensor temperatura y humedad Elitech STC-1000Pro
- Sensor de temperatura y humedad a distancia Swich Bot
- Sensor de luz, temperatura, humedad y concentración de CO<sup>2</sup> (fabricado especialmente para el proyecto), arduino con microSD, sensor DHT22, reloj en tiempo real, sensor calidad de aire, pantalla LSD, bocina y luz led.
- Focos de luz cálida
- Ventilador
- Soportes de crecimiento fabricados en ptr cuadrado de ¼ (4.5largo, 2m de altura, 1.05 m de ancho).



Figura 5. Diseño de la cámara de crecimiento vista superior dorsal.

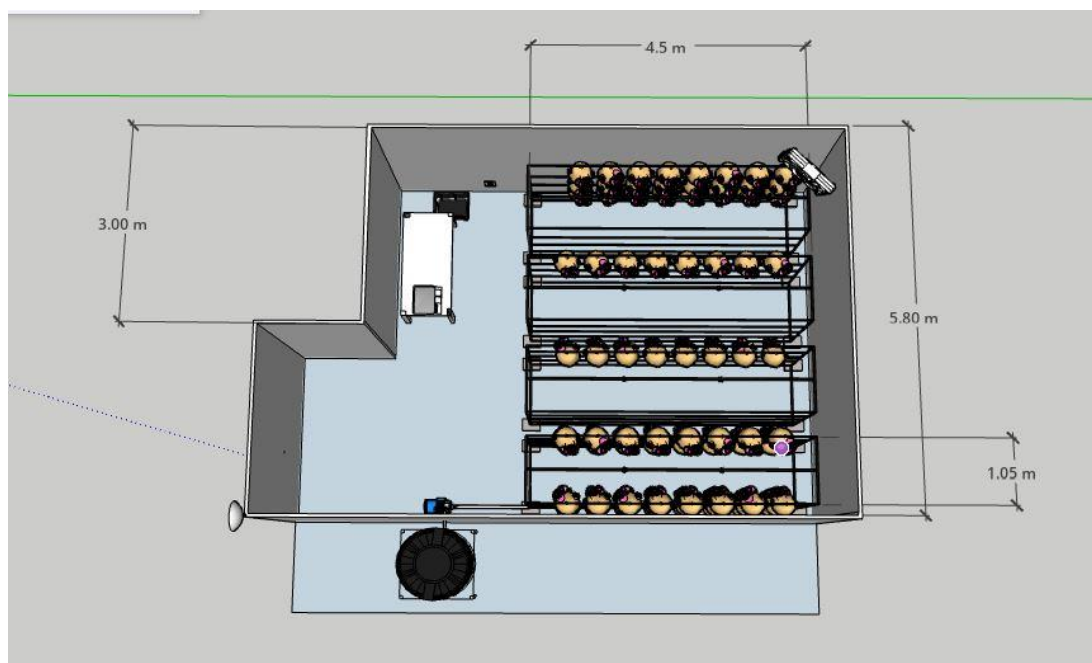


Figura 6. Diseño de la cámara de crecimiento vista superior.

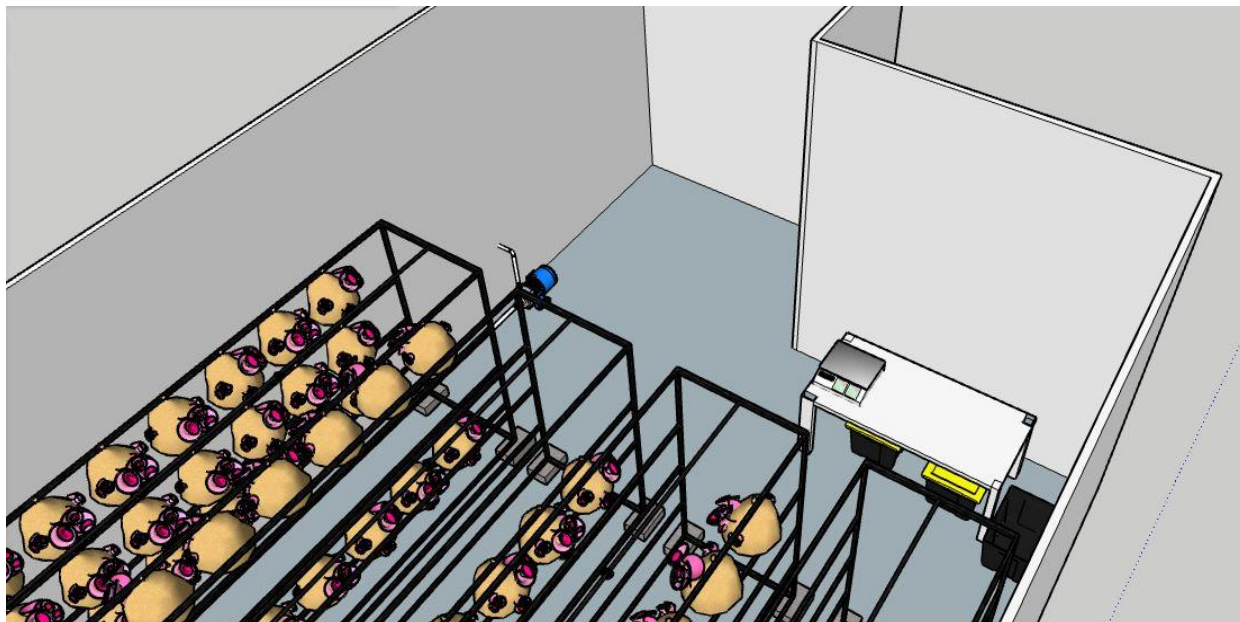


Figura 7. Diseño de la cámara de crecimiento vista superior, lateral.

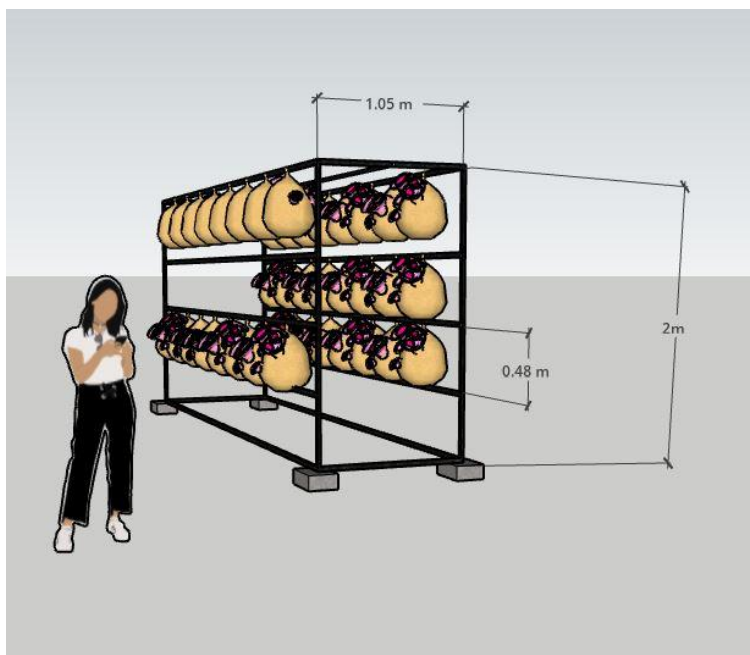


Figura 8. Diseño de los soportes para crecimiento.

## 5.2 Objetivo 2: Llevar a cabo un pretratamiento por fermentación en estado sólido (FES)

Para llevar a cabo el pretratamiento por FES sobre bagazo de *Agave tequilana* con el hongo *Pleurotus djamor* se llevará a cabo un montaje de cultivo, sobre una mezcla de sustrato compuesto por bagazo de *Agave tequilana* y rastrojo de maíz en cuatro diferentes porcentajes, replicando el modelo previamente establecido por (Cruz-Moreno et al., 2023) (tabla 2). Cada cultivo contará con 4 réplicas, teniendo como control rastrojo de maíz al 100% (T0) debido a que el rastrojo de maíz es uno de los forrajes más utilizados como alimento de rumiantes en nuestro país y al mismo tiempo es un excelente sustrato para el cultivo del género *Pleurotus* con valores de Eficiencia biológica (EB) que llegan a superar el 100%.

La eficiencia biológica de cada uno de los tratamientos se calculará como medida indirecta del pretratamiento sobre cada sustrato.

### **Variables Independientes:**

Sustrato: bagazo de agave al 70%, 80%, 90%, 100% complementado con rastrojo de maíz al 30%, 20%, 10% y 0% respectivamente.

Tabla 2 .Contenido de sustrato

Tratamiento	
T0	0 g bagazo de agave + 1000g rastrojo de maíz
T1	700g bagazo de agave + 300g rastrojo de maíz
T2	800g bagazo de agave + 200g rastrojo de maíz
T3	900g bagazo de agave + 100g rastrojo de maíz
T4	1000g bagazo de agave + 0g rastrojo de maíz

## **Variables dependientes**

### **BAGAZO:**

- Contenido de Lignina
- Evaluación química (análisis químico proximal)
- Digestibilidad (%)
- Eficiencia biológica
- Contenido nutracéutico (fenoles, ABTS, taninos, flavonoides, DPPH )

### **SETAS:**

- Peso en gramos
- Tiempo de crecimiento micelial (colonización)
- Tiempo de aparición de primordios (precocidad)
- Consistencia (texturometro)

Las unidades de producción (UP) están compuestas por 1k de sustrato en peso seco (figura 9). La preparación del inóculo y el tratamiento de los sustratos se realizó de acuerdo con (Sobal M. et al., 1993).



Figura 9. Unidades de producción (UP) 4 por tratamiento.

Se sembró cada UP a una proporción de 10% de inóculo previamente elaborado, con base al peso seco del sustrato en condiciones de esterilización. Una vez sembradas se trasladaron al área de incubación a temperatura ambiente.

El pretratamiento es de tipo biológico con el hongo *P. djamor* por fermentación en estado sólido (FES) para lo cual se llevaron a cabo los siguientes pasos:

#### *Obtención de esporas*

Para comenzar el proceso se llevó a cabo la obtención de esporas de setas *Pleurotus djamor*, primero se colocaron los sombreros sobre papel aluminio dentro de cajas Petri y se dejaron reposar 24hrs, transcurrido el tiempo se retiró el hongo del papel, quedando marcada la esporada en tono rosa, de dicha esporada se tomaron toques con ayuda de isopos limpios y se sumergieron caldo PDA previamente preparado y distribuido en 10 matraces Erlenmeyer de 100ml (figura 10), los cotonetes se agitaron para que las esporas se disolvieran en el líquido. De esta dilución, con ayuda de una pipeta, se tomó 1ml y se colocó en 10 cajas Petri con medio de cultivo PDH previamente preparadas (1 ml por caja). Las cajas se movieron ligeramente para distribuir homogéneamente las esporas en todo el medio. Las cajas se

incubaron a 32°C por 10 días hasta que se observó el desarrollo del micelio algodonoso. Todo este proceso se realizó en condiciones de esterilidad y utilizando guantes y cubrebocas en todo momento.

*Elaboración de inóculo:*

- Se selecciono semilla de sorgo la cual se limpió, lavo e hidrato por inmersión en agua durante 12 hrs, transcurrido el tiempo se escurrió el exceso de agua con ayuda de un colador y posteriormente se extendió sobre manta de cielo para esparcirle carbonato de calcio (3.5gr por kilogramo de semilla) y se mezcla homogéneamente.
- Posteriormente se colocaron en bolsas de polipapel de aproximadamente 1kg, llenando solo  $\frac{3}{4}$  partes de la bolsa y se sellaron con cinta para pegar.
- Una vez selladas se esterilizaron en autoclave, a 15 lb durante 60 min.
- Al terminar se dejaron enfriar a temperatura ambiente en una área aislada y desinfectada.
- Por otro lado, se tomaron las cajas Petri con micelio de 10 días de desarrollo en medio de cultivo.
- Se cortaron con una navaja flameada en fragmentos de aproximadamente 1cm<sup>3</sup>
- Con ayuda de pinzas se tomaron los cortes y se colocaron dentro de las bolsas con las semillas mezclando suavemente.
- Se dejo un poco de aire a la bolsa y se volvió a sellar.
- Estas bolsas se incubaron a 28°C en obscuridad hasta que el micelio cubrió totalmente la semilla; 16.86 +/- 3.7 días después, el inóculo primario estuvo listo y se utilizó para elaborar el inóculo secundario.
- El inóculo secundario se realizó vaciando un poco de inóculo primario a nuevas bolsas con semilla estéril, y nuevamente volvió a incubarse.
- El inóculo secundario fue el que se utilizó para las primeras pruebas en la cámara de cultivo.

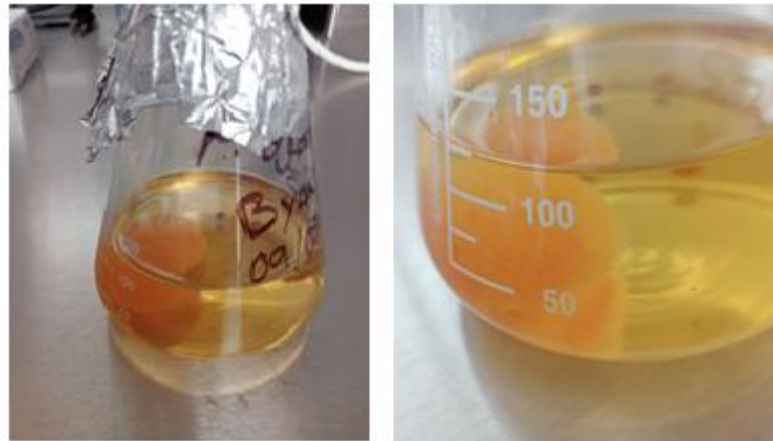


Figura 10. Micelio de *P. djamor* creciendo en caldo PDA

### *Cultivo*

#### 1. **Preparar sustrato:**

- Remojar el sustrato en agua durante 24 horas
- Realizar las mezclas de sustratos necesarias (en este trabajo se realizaron 4 tratamientos por lo que se realizaron 4 mezclas anteriormente descritas)

#### 2. **Esterilización:**

- Se debe agregar agua que cubra totalmente el sustrato y se lleva a ebullición durante 2hr.

#### 3. **Inoculación:**

- En una superficie limpia se extiende el sustrato para dejarlo enfriar hasta que la temperatura sea soportable al tacto, posteriormente se le agrega CaO (aproximadamente el 0.5 % del peso total del sustrato en peso seco) y se mezcla muy bien de manera que el pH se ajuste a 7.5 (figura 11).
- Después se agrega semilla con micelio de *P. djamor* (10% del peso total del sustrato seco) de manera uniforme, una vez que esta todo

perfectamente integrado se rellenan bolsas de plástico transparente de 70 x 50 cm.

#### 4. **Incubación:**

- Se colocan las bolsas en un lugar limpio y oscuro y a una temperatura de 20-25°C y humedad entre 50-70%, realiza cortes o perforaciones de aproximadamente 2cm de diámetro en las bolsas para permitir el intercambio gaseoso.
- Al cabo de 12 días aproximadamente el micelio colonizará el sustrato.
- Para mantener los rangos adecuados se programaron 2 riegos por aspersión de 1min de duración cada uno



Figura 11. Sustrato extendido para inoculación.

#### 5. **Fructificación:**

- Los primordios (figura 12) aparecen alrededor de los 15 días por lo que la humedad deberá permanecer entre el 80 y 85 % y tener buena ventilación.

Figura 12. Colonización y primordios presentes

- La temperatura ideal para la fructificación es de 21-33°C.
- Para mantener los rangos adecuados se programaron 3 riegos por aspersion de 1min de duración cada uno, así como el funcionamiento del



ventilador cuando la temperatura o el nivel de CO<sub>2</sub> excedía los rangos ideales.

#### 6. Cosecha:

- Los frutos llamados basidiocarpos se colectan cuando el racimo alcanza la talla deseada (figura 13).

Figura 13. Basidiocarpo o cuerpo fructífero de *P. djamor*.

7. **Recuperación:** Una vez que los basidiocarpos terminan su crecimiento, el sustrato es



recuperado, para ser secado al sol.

La colonización y la aparición de primordios, se reportó a partir de los días transcurridos desde la inoculación hasta la aparición de estos.

La eficiencia biológica (EB%) permite evaluar la producción midiendo el peso en fresco de las setas frescas entre el peso del sustrato seco por cien, en cada uno de los UP evaluados durante tres cosechas, ecuación 1, (Salmones et al., 1997).

$$EB = \frac{\text{Peso fresco de setas}}{\text{Peso seco sustrato}} * (100) \quad \text{ECUACIÓN 1}$$

### 5.3 Objetivo 3: Determinación de la calidad del bagazo de Agave (Análisis químico proximal)

Para determinar los componentes nutricionales aportados por cada tratamiento al hongo, se realizó un análisis químico proximal (AQP) por triplicado para cada tratamiento (sustrato), considerando las variables humedad, proteína, extracto etéreo, cenizas, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno (NFE). Los métodos se presentan en la Tabla 3.

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro.

Tabla 3. Métodos para determinaciones de AQP.

<b>Parámetro</b>	<b>método</b>	<b>Referencia</b>
Humedad	Diferencia de peso entre materia fresca y seca	(Latimer, 2019)
Extracto etéreo	Extracción en éter de petróleo y hexano	(Latimer, 2019)
Cenizas	Diferencia de peso entre materia fresca y calcinada	(Latimer, 2019)
Fibra Cruda	Digestión ácida y alcalina	(Latimer, 2019)
Proteína	Método Kjeldahl	(Nielsen, 2010)

Extracto libre de Nitrógeno (NFE)                      Cálculo de la diferencia en el contenido de las variables anteriores                      (Latimer, 2019)

---

#### 5.4.1 Objetivo 4: Análisis Textura de los cuerpos fructíferos de *P. djamor*

Una vez obtenidos los cuerpos fructíferos de *P. djamor*, se evaluó su textura según los diferentes tratamientos en los que se desarrollaron. Utilizando los cuerpos fructíferos recién cosechados, se midieron por triplicado la firmeza, la resistencia al corte y la resistencia a la fractura con el analizador de textura (TA-HDi Model Texture Analyzer; TexturePro CT V1.6 Build), figura 14.

El hongo *P. djamor* fresco se colocó en la plataforma de trabajo del analizador de textura con la siguiente configuración: Modo de prueba: medición de la fuerza de compresión; velocidad de prueba:  $1 \text{ mm s}^{-1}$ ; distancia de prueba: 3 mm.



Figura 14. Analizador de textura (TA-HDi Model Texture Analyzer; TexturePro CT V1.6 Build).

#### 5.4.2. Contenido total de metabolitos fenólicos y antioxidantes de los cuerpos fructíferos de *P. djamor*

Se evaluaron las concentraciones de fenoles totales, flavonoides y taninos, así como la actividad antioxidante mediante los métodos ABTS y DPPH, de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* de cada tratamiento. Para ello, se tomaron 0,2 g de cada muestra liofilizada, molida y tamizada, se añadieron 10 ml de metanol acuoso al 80%, se sonicaron durante 30 min, después se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min a 4 °C y se obtuvo el sobrenadante, modificado de (Cardador-Martínez et al., 2002). Este sobrenadante se almaceno en refrigeración a 4°C y se utilizó dentro de los 5 días posteriores para analizar el contenido fenólico total, flavonoides, taninos, DPPH y ABTS.

El contenido fenólico total de las muestras se determinó según el método colorimétrico de Folin Ciocalteu (Dewanto et al., 2002), con modificaciones. Las absorbancias se midieron a 760 nm y se utilizó ácido gálico como estándar de referencia. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico equivalente por g de hongo seco (mg GAE g<sup>-1</sup>).

El contenido de flavonoides se determinó según el método (Oomah et al., 2005), con modificaciones. Las absorbancias se midieron a 404 nm con una curva estándar de rutina. Los resultados se expresan en mg de equivalente de rutina por g de champiñón (mg g<sup>-1</sup>).

El contenido de taninos condensados se determinó según el método (Deshpande & Cheryan, 1987), realizando una curva de calibración de 1 mg mL<sup>-1</sup> de catequina. La absorbancia se midió a 492 nm. Los resultados se expresan en mg de equivalente de catequina por g de champiñón (mg g<sup>-1</sup>).

La determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH se realizó con una curva de calibración con Trolox. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 520 nm en diferentes tiempos hasta que la reacción se estabilizó; en este caso, la lectura utilizada se realizó a los 90 min. La actividad antirradical (% de inhibición) se calculó mediante el porcentaje de decoloración por DPPH utilizando la ecuación 2 (Brand-Williams et al., 1995)

$$\% \text{ Inhibición} = (1 - ((Absm - Blc) - (Blc/Ctrol))) * 100 \quad \text{ECUACIÓN 2}$$

La determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS se realizó según (Re et al., 1999), utilizando una curva de calibración con Trolox. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 734 nm. Los resultados se expresan en porcentaje de inhibición. La capacidad antioxidante ABTS se calculó mediante la ecuación 3.

$$\text{Inhibición \%} = \left( \frac{\text{Inicial abs} - \text{Final abs}}{\text{Inicial abs}} \right) * 100 \quad \text{ECUACIÓN 3}$$

### 5.5 Objetivo 5. Análisis de contenido de lignina

Para obtener los valores del contenido de lignina se realizó el análisis de Fraccionamiento de fibra del Bagazo de *Agave tequilana* antes y después de realizar el pretratamiento.

Por lo tanto, se determinaron las cantidades de lignina, celulosa y hemicelulosa de cada uno de los tratamientos (T0 a T4) más un control (Tctrl), compuesto por 100% bagazo de agave que fue esterilizado y tratado como el resto de los sustratos, pero sin ser inoculado con el hongo *P. djamor*.

Para ello, se colocó 0.5 g de muestra seca y molida (figura 15) en bolsas de filtro Ankom, previamente pesadas y etiquetadas. Estas bolsas se sellaron y se digirieron en el sistema ANKOM a 100 °C en 2 litros de solución de FDN y 50 ml de  $\alpha$ -amilasa termoestable durante una hora. Transcurrido este tiempo, se purgó el aparato, se añadieron 2 litros de agua y se realizaron dos enjuagues a 100 °C durante 5 minutos. Posteriormente, se dejaron secar durante 24 horas en una estufa a 100 °C y se pesaron. Para determinar la fibra detergente neutra (FDA), las bolsas se pesaron de nuevo y se reintrodujeron en el dispositivo ANKOM para su posterior digestión, esta vez en 2 litros de una solución compuesta por 40 g de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y 2 L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,00 N, a 100 °C durante 1 hora. Al finalizar, se secaron y pesaron de nuevo. Finalmente, para determinar el contenido de lignina se utilizaron 500 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 97% en un vaso de precipitados en el que se sumergieron las bolsas filtrantes durante 4 horas con agitación a intervalos y se repitió el proceso de enjuague, secado y pesado.

En cada una de estas etapas se calculó la diferencia de peso de la muestra, para determinar en su orden los porcentajes fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), fibra detergente lignina (FDL) y cenizas; a partir de estos valores se calcularon las fracciones de componentes de la fibra usando las ecuaciones 4 a 7

$$\% \text{ MATERIAL EXTRAÍBLE} = 100 - \% \text{FDN} \quad \text{ECUACIÓN 4}$$

$$\% \text{HEMICELULOSA} = \% \text{FDN} - \% \text{FDA} \quad \text{ECUACIÓN 5}$$

$$\% \text{CELULOSA} = \% \text{FDA} - \% \text{FDL} \quad \text{ECUACIÓN 6}$$

$$\% \text{LIGNINA} = \% \text{FDL} - \% \text{CENIZAS} \quad \text{ECUACIÓN 7}$$



Figura 15. Muestras secas y molidas de los tratamientos.

Para determinar la efectividad de cada tratamiento se evaluará a partir del porcentaje de remoción de lignina, así como el incremento en la digestibilidad, usando los resultados de la caracterización de los materiales antes y después de cada pretratamiento. El porcentaje de Lignina eliminado  $L_r$ , en cada pretratamiento se calculará mediante la ecuación 8:

$$L_r = \left( \frac{L_i - L_f}{L_i} \right) \times 100 \quad \text{ECUACIÓN 8}$$

En donde:  $L_i$  = % lignina antes del pretratamiento.

$L_f$  = % de lignina después del pretratamiento.

### 5.6 Objetivo 6: Análisis Digestibilidad

Las pruebas de digestibilidad se realizaron de acuerdo con el método incubación con Daisy II - Incubator Ankom Technology, el principio de este método es establecer condiciones de incubación semejantes a las condiciones *in vivo* con líquido ruminal.

Una vez concluido el pretratamiento se tomaron muestras de los bloques con micelio se secaron en estufa por 72 horas, se molieron y tamizaron en una malla de 1 mm. Posteriormente se tomaron 0.5g de muestra de cada tratamiento por triplicado y se colocaron en bolsas porosas (F57 ANKON Technology) las cuales fueron selladas con calor, etiquetadas (De Boever et al., 1997; Heredia-Nava D. et al., 2007). Para realizar la comparación se tomaron muestras de cada mezcla de sustrato sin pretratamiento, así como el sustrato control (Tctrol) siguiendo el mismo procedimiento.

Una vez preparadas las muestras dentro de sus bolsas se dejan secar durante 24hrs en una estufa de calor a 62 °C. Para iniciar la digestibilidad se prepararon 4 jarras de digestión con capacidad de 2 litros, a las cuales se le adiciona dos soluciones (A y B), compuestas por minerales, fuentes de nitrógeno y agentes reductores como se muestra en la tabla 4, en cada jarra de digestión se colocaron dos litros de soluciones con las siguientes proporciones: 1.330 L de solución A y 266 ml de solución B, se ajustó el pH a 6.8 y se agregaron 400 mL de líquido ruminal fresco.

La composición de las soluciones se observa en la tabla 4 (Daisy II - Incubator Ankom Technology):

Tabla 4. Soluciones empleadas para el método de digestibilidad Daisy II - Incubator Ankom Technology.

Solución	Reactivo	Cantidad g/l
Solución A	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10.0
	Fosfato de potasio monobásico	
	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.5
	Sulfato de magnesio	
	NaCl	0.5

Solución B	Cloruro de sodio	
	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.1
	Cloruro de calcio	
	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O Urea	0.5
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	15.0
	Carbonato de sodio	
	Na <sub>2</sub> S•9H <sub>2</sub> O	1.0
	Sulfuro de sodio	

A continuación, se colocaron 20 muestras (bolsitas) y un blanco (bolsa sin muestra sellada) por jarra de digestión, y se saturaron con CO<sub>2</sub> por 5 minutos para posteriormente colocarse en el digestor (DaisyII200/220 ANKON Technology®) previamente calentado a 39.2 ± 0.5°C.

Una vez que transcurran los tiempos establecidos se obtuvieron 3 muestras de cada tratamiento, se enjuagaron con agua fría y se guardaron en ultracongelador a -60°C para su posterior análisis.

Para trabajar con las muestras se secaron en estufa a 102 ± 2°C durante 4 horas y se registró su peso.

Posteriormente las muestras se llevaron al analizador de fibras (Ankom 200), usando la solución C (FND), siguiendo las indicaciones de Ankom Technology (2005).

Después de terminar el proceso en el equipo Ankom 200, las muestras se remojaron durante 5 minutos en acetona y se secaron, al evaporarse la acetona se colocaron en la estufa de aire forzado a 102 ± 2°C durante 4 horas.

A continuación, las muestras fueron pesadas nuevamente. La fórmula empleada para estimar la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) ecuación 9 y de la FND, se realizó de acuerdo con las especificaciones de Daisy II - Incubator Ankom Techonology:

$$DIVMS = 100 - (w_3 - (w_1 \times C_1) / (W_2)) \times 100 \quad \text{ECUACIÓN 9}$$

Dónde: W1=Peso de la bolsa

W2=peso de la muestra

W3 (peso de la muestra seca) = incubación

FDN C1 = Peso de la bolsa corregida (peso del blanco final/peso del blanco inicial)

Finalmente, las muestras se calcinaron a 550°C durante 4 horas en mufla, para determinar el contenido de cenizas y calcular la materia orgánica residual, la digestibilidad in vitro de la materia orgánica (DIVMO) se calculó por diferencia de peso entre la materia orgánica inicial menos la materia orgánica residual.

#### DESCRIPCIÓN DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Coefficiente de digestibilidad «*in vitro*» de la materia orgánica (% DMO)

Representa el porcentaje de un alimento consumido que no es eliminado y por tanto queda disponible dentro del animal para cumplir con las funciones de mantenimiento, producción y reproducción. Es un buen estimador de la energía disponible de un alimento. Se obtiene incubando «in vitro» la muestra en líquido ruminal a 37 °C, seguido de una digestión ácida con pepsina.

#### 5.6. Cinética de degradación

La cinética de degradación se determinó de acuerdo con el modelo descrito por (Orskov E.R. & McDonald I., 1979) ecuación 10, estimando el contenido de la fracción soluble o de rápida degradación, la fracción potencialmente degradable (b) y la tasa fraccional de degradación (c) en el tiempo (t).

$$Dg = a + b(1 - e^{-ct}) \quad \text{ECUACIÓN 10}$$

Donde:

Dg = Degradación del nutriente en el tiempo de incubación t (%)

a = Fracción soluble o rápidamente degradable (%)

b = Fracción potencialmente degradable (%)

c = Velocidad o ritmo de degradación de la fracción b (tasa/h)

t = Tiempo (h)

Calculándose a partir de estos parámetros el potencial de degradación y la degradación efectiva, considerando una tasa fraccional de paso de 0.02/h, 0.04/h, 0.06/h y 0.08/h, ecuación 11.

$$(a + b \left[ \frac{c}{c+kp} \right]) \quad \text{ECUACIÓN 11}$$

Donde:

$(a + b [c / (c + kp)])$  = degradación efectiva

a + b = degradación potencial

kp = tasa fraccional de paso (0.02/h, 0.04/h, 0.06/h y 0.08/h)

### 5.7 Metabolitos secundarios no fenólicos de los cuerpos fructíferos de *P. djamor*

La identificación de metabolitos de bajo peso molecular se realizó de la siguiente manera, se tomaron muestras liofilizadas y molidas a temperatura ambiente con metanol. Después, se mezclaron en un vórtex y se sonicaron durante 15 minutos. A continuación, se agitaron durante 3 horas y se centrifugaron durante 10 minutos a 12.000 RCF. El sobrenadante resultante se secó al vacío (Savant SC210A, Thermo Scientific) y se derivatizó añadiendo BSTFA + 1 % TCS, en un baño ultrasónico durante 30 segundos y agitando durante 1 minuto en un vórtex. Los extractos se filtraron a través de una membrana de PTFB de 0,45 µm y se analizaron mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) con el detector configurado a una energía electrónica de 70 eV y un rango de masas de 50-700 m/z. Para la separación, se utilizó una columna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm). La rampa de calentamiento se ajustó según (Figuroa-Pérez et al., 2014). Se utilizó helio como gas portador con un caudal de 1 ml min<sup>-1</sup> y una relación de concentración de 1:10. Los espectros de masas se compararon con la base de datos de referencia estándar del NIST (NIST 11) para

identificar metabolitos con una similitud superior al 80 %. El contenido relativo de cada compuesto se calculó mediante el porcentaje del área bajo la curva.

### 5.8 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con STATISTICA 7 y STATGRAPHICS, con un nivel de significación  $p < 0,05$ . Se utilizaron estadísticas no paramétricas: ANOVA de Kruskal-Wallis y LSD de Fisher para comparaciones múltiples de medias, y la prueba U de Mann-Whitney para comparaciones de medias antes y después del tratamiento.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

### 6.1 Adecuación de la cámara de cultivo

Se llevo a cabo la compra del material y los equipos necesarios para la adecuación de la cámara de crecimiento, se construyeron 4 soportes de crecimiento con PTR cuadrado, se realizó instalación de luz, agua y gas, las paredes se impermeabilizaron y se pintaron (figura 16), se construyeron 2 estufas de tipo industrial (figura 17) para esterilizar los sustratos y finalmente se instaló todo el equipo según las especificaciones mencionadas en la metodología para el objetivo 1 (figura 18). Se llevaron cabo tres pruebas de cultivo para verificar el correcto funcionamiento de la cámara (figura 19) hasta lograr resultados aceptables en cuanto a niveles de contaminación, forma, textura y biomasa de los cuerpos fructíferos, así como la eficiencia biológica utilizando como sustrato rastrojo de maíz. Una vez que se verifico que todos los equipos funcionaban correctamente y los resultados de las pruebas fueron aceptables se llevó a cabo el experimento.



Figura 16. Impermeabilizado y pintura de la cámara de crecimiento.



Figura 17. Construcción de estufas de tipo industrial.



Figura 18. Cámara de crecimiento terminada, vista frontal.

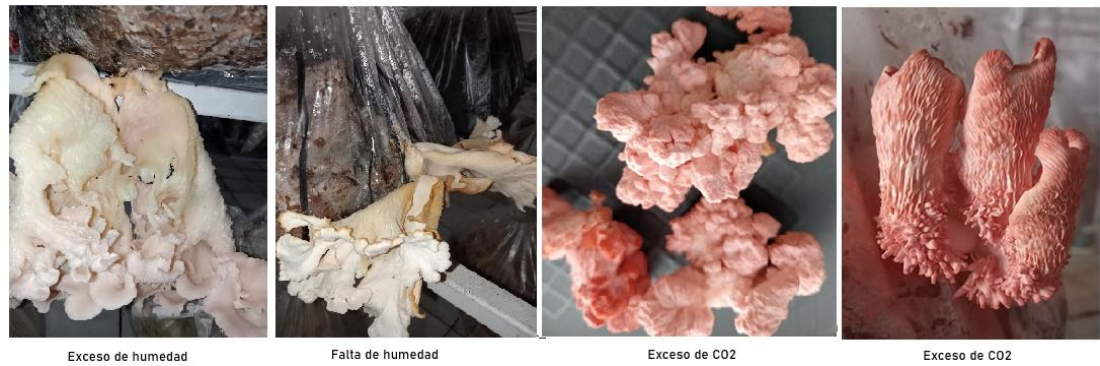


Figura 19. Desarrollos anormales de los cuerpos fructíferos durante las pruebas en la cámara de crecimiento.

## 6.2. Pretratamiento sobre el bagazo de *Agave tequilana* con el hongo *Pleurotus djamor*

### 6.2.1 Impacto morfológico de los diferentes tratamientos sobre los cuerpos fructíferos de *P. djamor*

El impacto morfológico de los diferentes tratamientos sobre los hongos se puede observar en la figura 20. El color, tamaño, forma y margen de los cuerpos fructíferos de *P. djamor* presentan diferencias notables entre tratamientos. Los cuerpos fructíferos obtenidos en T0 (100% maíz) son color rosa pastel con bordes ondulados, sombrero en forma de trompeta, son los de mayor tamaño, así como los de mayor biomasa.



Figura 20. Cuerpos fructíferos de *P. djamor* al crecer sobre diferentes sustratos.

El tratamiento T1 presenta cuerpos fructíferos rosa pastel, con bordes ondulados y sombreros lisos y grandes, los tratamientos T2 y T3 son de color rosa más vivo que el control, con bordes ondulados y sombreros lisos, pero en T3 puede verse una reducción en la biomasa. Finalmente, los cuerpos fructíferos en T4 son los más pequeños, con una tonalidad rosada profunda y bordes lisos, lo cual nos hace pensar que el bagazo de agave estimula la producción de compuestos responsables de la coloración del cuerpo fructífero, posiblemente por un efecto metabólico asociado al estrés o a la inducción de rutas secundarias.

De entre los 5 tratamientos el T2 mostró un mejor equilibrio entre biomasa, tamaño y coloración, generando fructificaciones abundantes con sombreros grandes, bien desarrollados y con una tonalidad rosa más intensa que en el tratamiento control (T0).

Mientras que, el tratamiento T4 (100% agave) fue el menos eficiente en términos de biomasa, generando cuerpos pequeños y escasos, aunque con la mayor intensidad de coloración observada. Por lo cual el agave puede mejorar ciertas cualidades estéticas del hongo, pero su uso exclusivo como sustrato limita el rendimiento productivo.

Estos resultados evidencian que la combinación adecuada de residuos lignocelulósicos puede mejorar tanto la cantidad como la calidad estética de *Pleurotus djamor*.

### 6.2.2 Tiempo de desarrollo de los diferentes tratamientos sobre *P. djamor*

La figura 21 muestra cómo cada tratamiento afecta el tiempo de desarrollo en cada etapa del hongo. En todos los tratamientos el proceso de colonización se realizó en el mismo periodo (12 días) por lo que no se presentaron desventajas ni ventajas en ninguna mezcla de sustratos al inicio del desarrollo.

Por otro lado, en la figura 22 puede observarse que los tratamientos con mayor proporción de bagazo de agave (T3 y T4) muestran tiempos más cortos tanto en la aparición de primordios (precocidad) como en el tiempo entre las últimas cosechas, mientras que los tratamientos T3 y T2 son los más eficientes y consistentes en tiempo para el desarrollo completo de *P. djamor*. Esto sugiere que el bagazo es un sustrato que puede optimizar el

cultivo de *P. djamor*, al reducir el tiempo en que aparecen los cuerpos fructíferos, por lo que el bagazo de agave es un sustrato viable y eficiente para el cultivo de *Pleurotus djamor* en términos de tiempo.

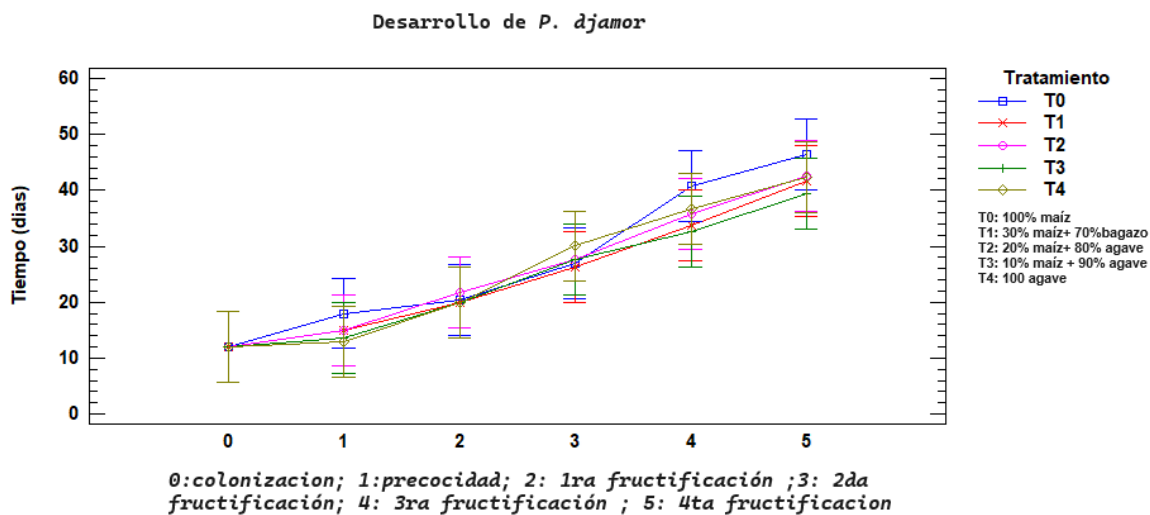


Figura 21. Etapas del desarrollo de *P. djamor* en los diferentes tratamientos (en días), ( $p < 0,05$ ),  $n = 4 \pm$  desviación estándar (DE).

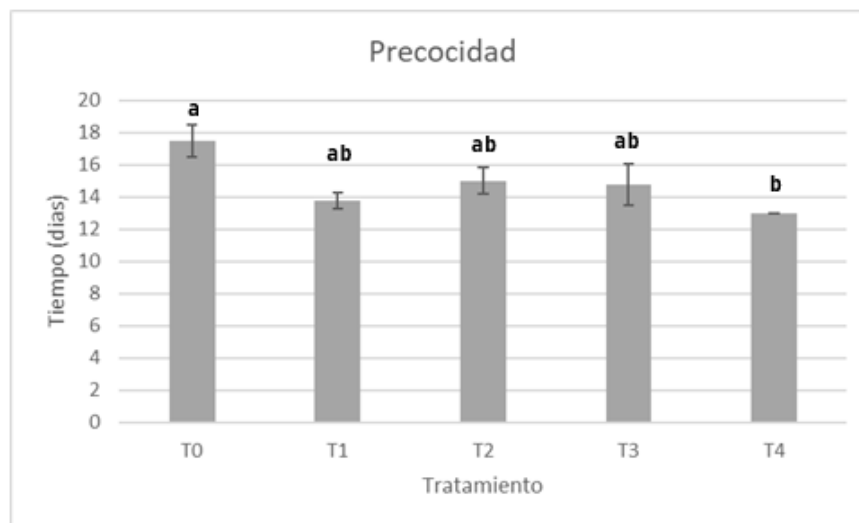


Figura 22. Precocidad de los cuerpos fructíferos (en días) de *P. djamor* en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %.  $n = 4 \pm$  desviación estándar (DE).

### 6.2.3 Peso fresco de *P. djamor* obtenido en los diferentes tratamientos

En la figura 23 se observa el peso fresco (gr) de *P. djamor* en cada uno de los tratamientos, se encontraron diferencias significativas en la producción de biomasa fresca de *Pleurotus djamor*. El T0 (100% maíz), presentó el mayor rendimiento con un promedio superior a 1000 g de biomasa fresca, superando significativamente a los demás tratamientos. Este resultado es consistente con lo reportado en la bibliografía la cual señala que el rastrojo de maíz es un sustrato altamente favorable para el desarrollo de *P. djamor*, posiblemente debido a su balance adecuado de nutrientes, buena relación C/N, y a su estructura física que facilita la aireación y colonización micelial (Gaitán-Hernández & Silva Huerta, 2016; Hernández-Cruz et al., 2024).

En la tabla es evidente que conforme aumentó la proporción de bagazo de agave en los tratamientos (T1 a T4), se observó una disminución progresiva en la producción de biomasa. Los tratamientos T3 y T4 se, mostraron los menores rendimientos (~350–400 g), con diferencias estadísticamente significativas respecto al tratamiento control. Esta reducción en el rendimiento podría ser resultado de rasgos característicos del bagazo de agave, como su elevado contenido en lignina y compuestos fenólicos, que pueden restringir el crecimiento del micelio (Ramírez-Bribiesca J.E. et al., 2010), además, su estructura densa, poco porosa que tiende al apelmazamiento retiene demasiada humedad y dificulta el intercambio gaseoso, los cuales son factores que influyen en el desarrollo, la fructificación del hongo y la competencia con hongos microscópicos por ende contaminación.

Los tratamientos T1 (70% bagazo) y T2 (80% bagazo), mostraron rendimientos igualmente variables (~500–700 g), sin diferencias estadísticas relevantes en relación con el control o a los tratamientos menos productivos. Esta respuesta podría ser resultado de un efecto diluido del rastrojo de maíz, que, a pesar de ser beneficioso, no consigue contrarrestar completamente las restricciones del bagazo de agave en altas concentraciones.

Por lo tanto, es conveniente utilizar el rastrojo de maíz en proporciones mayores al 30% para llevar a cabo una producción eficiente sobre el bagazo de agave en términos de producción de biomasa fresca, lo que sugiere que mezclas con menor proporción de bagazo

podrían ser estrategias viables para aprovechar este residuo agroindustrial sin comprometer el rendimiento del cultivo.

Estos resultados resaltan la importancia de la selección y proporción de los componentes del sustrato para optimizar la producción de *P. djamor*.

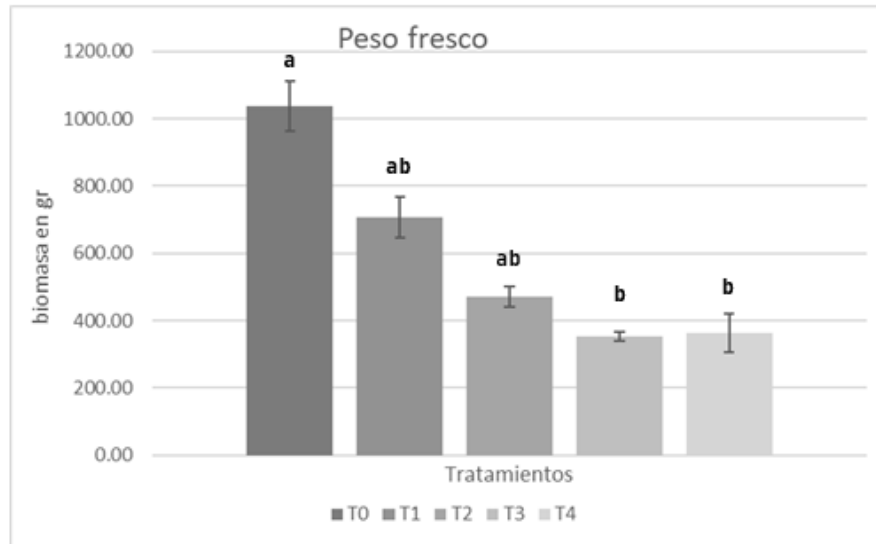


Figura 23. El peso fresco de *P. djamor* en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %.  $n = 4 \pm$  desviación estándar (DE).

#### 6.2.4 Eficiencia biológica

La eficiencia biológica (EB) mostrada por el crecimiento de *P. djamor* en los diferentes tratamientos presentan una disminución constante en los primeros cuatro tratamientos, siguiendo el patrón:  $T0 > T1 > T2 > T3$  (figura 24), mostrando diferencias significativas entre ellos ( $p < 0,05$ ). En el caso de T4, se observa un ligero aumento con respecto a T3, inferior a 1 punto; por lo tanto, el análisis estadístico no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos T3 y T4 ( $p > 0,05$ ).

El mayor valor de EB lo presenta T0 (103.7%) el cual es el sustrato control y es consistente con los valores descritos en la bibliografía (Vega & Franco, 2013) y demuestra que las condiciones de crecimiento fueron adecuadas. Además, T0 presentó

diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre T3 y T4, los tratamientos con los valores más bajos de EB. Estos resultados muestran que estos últimos tratamientos no son óptimos como sustrato para el cultivo de hongos en términos de Eficiencia biológica como ya se había mencionado anteriormente (Cruz-Moreno et al., 2023). Sin embargo, al suplementarse con rastrojo de maíz, pueden aumentar la producción de biomasa en más del 50 %, como lo demuestra T1.

Otros estudios realizados con residuos agroindustriales sugieren que las mezclas de sustratos aumentan la eficiencia biológica a valores superiores al 120%, ya que los hongos utilizan los diferentes nutrientes que estos contienen para su desarrollo. Por lo tanto, la producción y calidad de biomasa, así como la EB dependen en gran medida del contenido de nutrientes presentes en el sustrato (Baktemur et al., 2022; Bellettini et al., 2019; Cruz-Moreno et al., 2023; Daşdelen et al., 2022; Karmani et al., 2022; Mkhize et al., 2016; Roblero-Mejía et al., 2021).

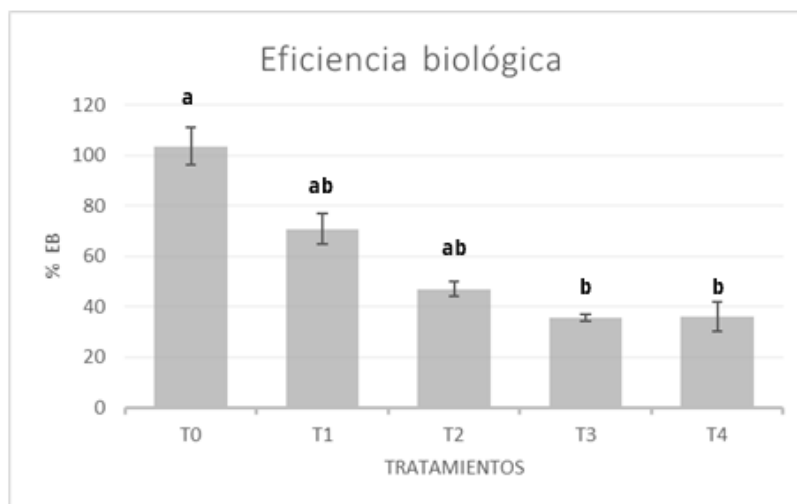


Figura 24. Eficiencia biológica de *P. djamor* en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %.  $n = 4 \pm$  desviación estándar (DE).

### 6.3 Análisis químico proximal (AQP)

El pretratamiento con *P. djamor* afectó el contenido de proteína y el extracto libre de nitrógeno (ELN) mostrado antes de la inoculación en comparación con el valor final (tabla 5). Las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se muestran en las figuras 25 y 26.

No se encontraron diferencias significativas en el T1 para la proteína ( $p > 0,05$ ). Según los resultados, el crecimiento de *P. djamor* en los tratamientos sin mezcla disminuyó el porcentaje de proteína en el sustrato, al igual que en el T2. Sin embargo, el T3 mostró un comportamiento opuesto, lo que significa que *P. djamor* aumentó la cantidad de proteína en el sustrato final.

Las mejoras en el valor nutritivo a través de la composición química (Tabla 4) de los sustratos mediante la fermentación sólida con *Pleurotus djamor* concuerdan con lo reportado por (Fonseca G. G. et al., 2009; Hamza A. S. et al., 2003; Kutlu H. R. et al., 2000; Montañez-Valdez O. D. et al., 2008; Ramírez-Bribiesca J.E. et al., 2010), quienes trabajaron con diferentes especies del género *Pleurotus* como pretratamiento para residuos agroindustriales como son el rastrojo de maíz, arroz, paja cebada, y trigo, los cuales reportaron un aumento en los niveles de proteína, minerales, ELN y carbohidratos.

Tabla 4. Composición química de los sustratos puros y composición química de los sustratos con Pretratamiento fúngico.

	Sustratos puros					Sustratos gastados				
	T0	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4
<b>Humedad</b> (% + DE)	7.54±0.09 <sup>a</sup>	6.84±0.12 <sup>ab</sup>	6.49±0.08 <sup>bc</sup>	4.97±0.19 <sup>c</sup>	6.66±0.03 <sup>ac</sup>	7.9±0.34 <sup>a</sup>	5.06±0.19 <sup>b</sup>	5.67±0.23 <sup>ab</sup>	5.51±0.02 <sup>ab</sup>	4.25±0.1 <sup>b</sup>
<b>Proteína</b> (% + DE)	4.54±0.03 <sup>a</sup>	7.62±0.314 <sup>ab</sup>	8.24±0.20 <sup>bc</sup>	7.25±0.04 <sup>ac</sup>	9.92±0.17 <sup>b</sup>	3.98±0.21 <sup>a</sup>	7.56±0.11 <sup>ab</sup>	7.99±0.08 <sup>bc</sup>	7.79±0.09 <sup>bc</sup>	8.46±0.09 <sup>c</sup>
<b>Fibra</b> <b>cruda</b> (% + DE)	32.45±0.12 <sup>a</sup>	33.17±0.10 <sup>a</sup>	35.19±1.85 <sup>ab</sup>	37.89±0.19 <sup>bc</sup>	33.65±0.13 <sup>ac</sup>	23.24±0.1 <sup>a</sup>	27.94±1.32 <sup>ab</sup>	31.06±0.38 <sup>b</sup>	30.8±0.3 <sup>b</sup>	30.71±0.4 <sup>ab</sup>
<b>Cenizas</b> (% + DE)	19.02±0.11 <sup>a</sup>	19.29±1.44 <sup>a</sup>	15.48±0.30 <sup>ab</sup>	15.14±0.09 <sup>b</sup>	17.91±0.07 <sup>ab</sup>	32.65±0.043 <sup>a</sup>	24.93±0.19 <sup>ac</sup>	21.06±0.13 <sup>b</sup>	23.02±0.15 <sup>bc</sup>	23.96±0.06 <sup>ab</sup>
<b>Extracto</b> <b>etéreo</b> (% + DE)	0.52±0.05 <sup>a</sup>	0.79±0.12 <sup>ab</sup>	0.76±0.06 <sup>ab</sup>	2.17±0.07 <sup>b</sup>	1.06±0.03 <sup>b</sup>	4.79±0.1 <sup>a</sup>	0.47±0.02 <sup>a</sup>	3.58±0.07 <sup>ab</sup>	0.38±0.01 <sup>ac</sup>	0.11±0.02 <sup>b</sup>
<b>ELN</b> (% + DE)	43.4±0.13 <sup>a</sup>	39.51±1.31 <sup>ab</sup>	37.75±1.92 <sup>ab</sup>	37.54±0.21 <sup>ab</sup>	37.45±0.17 <sup>b</sup>	32.54±0.58 <sup>a</sup>	39.19±1.57 <sup>b</sup>	36.09±0.25 <sup>ab</sup>	38±0.34 <sup>b</sup>	36.74±0.39 <sup>ab</sup>

En materia base seca y promedio por triplicado, las diferentes letras minúsculas indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Kruskal-Wallis al 95%, n = 4, DE = Desviación Estándar.

\*ELN: Extracto libre de nitrógeno.

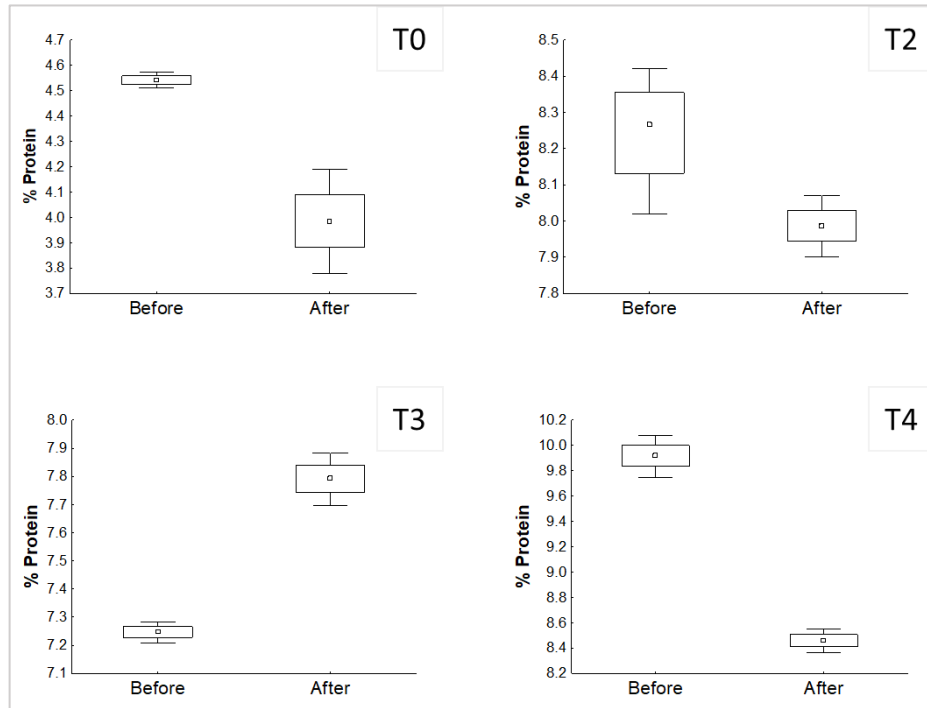


Figura 25. Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de la comparación del % Proteína en los sustratos, antes y después del crecimiento de *P. djamor*.

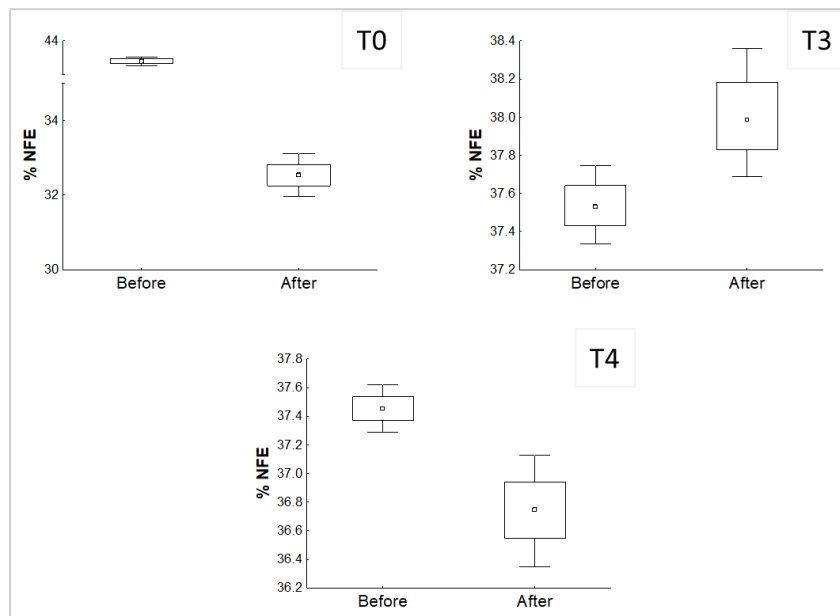


Figura 26. Diferencias significativas de la comparación del % NFE en los sustratos, antes y después del crecimiento de *P. djamor*.

#### 6.4 Análisis Textura de *P. djamor* sobre los diferentes tratamientos

Los tratamientos T2, T3 y T4 muestran un aumento en la firmeza de los cuerpos fructíferos en comparación con T0 y T1 (tabla 6), lo que sugiere que una mayor concentración de bagazo de agave desarrolla una textura más firme en los cuerpos fructíferos, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas. Al igual que en la fuerza de corte, no se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ), lo que sugiere una participación nula del sustrato.

Finalmente, no se encontraron diferencias significativas entre los tres primeros tratamientos en la fuerza de fractura, con una excepción entre T3 y T4 ( $p < 0.05$ ), lo que indica que el bagazo de agave proporciona a los cuerpos fructíferos una estructura más resistente.

Tabla 5. Textura de *Pleurotus djamor* creciendo sobre 5 diferentes tratamientos.

Tratamiento	Fuerza de firmeza (N ± DE)	Fuerza de corte (N ± DE)	Fuerza de fractura (N ± DE)
T0	0.47 ± 0.28 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.64 ± 0.95 <sup>a</sup>
T1	0.72 ± 0.67 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.19 <sup>a</sup>	2.61 ± 2.94 <sup>a</sup>
T2	0.84 ± 0.74 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.39 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.73 <sup>a</sup>
T3	0.91 ± 0.38 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.24 <sup>a</sup>	3.82 ± 1.09 <sup>ab</sup>
T4	0.91 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.17 <sup>a</sup>	7.06 ± 3.06 <sup>b</sup>

Las diferentes letras minúsculas indican las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, prueba estadística Kruskal-Wallis al 95%.  $n=3 \pm$  desviación estándar (DE).

#### 6.5 Análisis de contenido de lignina en los diferentes tratamientos

El contenido promedio de lignina, hemicelulosa y celulosa de los diferentes tratamientos se muestra en la tabla 7. El tratamiento 4 (100% bagazo) muestra el mayor contenido de lignina (31.6%) y al mismo tiempo, el menor contenido de celulosa y hemicelulosa, con diferencias estadísticamente significativas en comparación con los otros tratamientos ( $p < 0.05$ ). Esto concuerda con estudios previos que describen al bagazo de agave como un residuo lignocelulósico altamente recalcitrante, con alta proporción de lignina y una baja fracción de carbohidratos estructurales (Crespo

González et al., 2018a). La alta lignificación puede actuar como una barrera física y química para la colonización fúngica, limitando la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento de *Pleurotus djamor* lo que nos explica tanto el bajo porcentaje de eficiencia biológica (EB) como la menor cantidad de biomasa encontrada en el tratamiento T4.

El tratamiento T0, por otro lado, tiene el mayor contenido de hemicelulosa (42.01%), y menor contenido de lignina en comparación con T4, esta composición química favorece mayor eficiencia biológica y mayor producción de biomasa lo cual puede asociarse con una mayor degradabilidad del sustrato. El tratamiento T2, mostró el perfil lignocelulósico más equilibrado con niveles moderados de lignina (20.5 %) y los mayores valores de celulosa (24.29%) lo cual se ve reflejado como sustrato eficiente para el desarrollo del hongo *P. djamor*.

Los tratamientos T1 y T3 muestran valores similares, sin diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 6. Concentración promedio de lignina, celulosa y hemicelulosa en los diferentes tratamientos antes del pretratamiento.

<b>Tratamiento</b>	<b>Lignina</b> (% ± DE)	<b>Hemicelulosa</b> (% ± DE)	<b>Celulosa</b> (% ± DE)
T0	28.7±1.1 <sup>ab</sup>	42±2.09 <sup>a</sup>	14.06±0.14 <sup>ab</sup>
T1	20.2±1.7 <sup>ab</sup>	19.4±0.83 <sup>ab</sup>	23.4±0.78 <sup>ab</sup>
T2	20.5±0.73 <sup>b</sup>	19±3.97 <sup>ab</sup>	24.29±0.22 <sup>a</sup>
T3	19.9±0.16 <sup>ab</sup>	14.9±4.1 <sup>b</sup>	21.8±0.35 <sup>ab</sup>
T4	31.6±0.87 <sup>a</sup>	15.97±2.06 <sup>b</sup>	8.84±1.38 <sup>b</sup>

Las diferentes letras minúsculas indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística Kruskal-Wallis al 95%.  $n=3 \pm$  desviación estándar (DE).

El contenido promedio de lignina, hemicelulosa y celulosa de los sustratos gastados se muestra en la tabla 9, puede observarse que existe una disminución de lignina, celulosa y hemicelulosa en todos los tratamientos lo que demuestra una acción efectiva del hongo en la degradación de la biomasa. Esta reducción es consistente con el comportamiento degradativo típico de *Pleurotus* spp., que secreta enzimas ligninolíticas como lacasas y manganeso peroxidasas capaces de romper la matriz lignocelulósica (Sánchez, 2009; Elisashvili, 2012). Sin embargo, se observó que T4 sigue manteniendo el contenido más alto de lignina en el sustrato gastado (20.3%), lo cual indica una menor degradabilidad de este sustrato incluso después del proceso de cultivo.

Tabla 7. Concentración promedio de lignina, celulosa y hemicelulosa en los diferentes tratamientos del sustrato gastado.

<b>Tratamiento</b>	<b>Lignina</b> (% ± DE)	<b>Hemicelulosa</b> (% ± DE)	<b>Celulosa</b> (% ± DE)
T0	13.2±1.15 <sup>a</sup>	15.8±2.09 <sup>a</sup>	27.8±0.14 <sup>a</sup>
T1	14.4±1.72 <sup>ab</sup>	19 ± 0.83 <sup>a</sup>	21.7±0.78 <sup>ab</sup>
T2	18.60±0.73 <sup>ab</sup>	18.9±3.97 <sup>a</sup>	15.7±0.22 <sup>ab</sup>
T3	15.9±0.16 <sup>ab</sup>	17.7±4.1 <sup>a</sup>	19.2±0.35 <sup>ab</sup>
T4	20.3±0.87 <sup>b</sup>	16.2±2.06 <sup>a</sup>	1.5±1.38 <sup>b</sup>

Las diferentes letras minúsculas indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística Kruskal-Wallis al 95%.  $n=3 \pm$  desviación estándar (DE).

### 6.5.1 Porcentaje de remoción de lignina

El análisis del porcentaje de remoción de lignina (Tabla 9, figura 27) muestra que T0 logró la mayor remoción (54.01%), con diferencias estadísticamente significativas respecto a T2 (9.27%), que registró la menor remoción. Estos resultados demuestran que el rastrojo de maíz es un sustrato más accesible para la acción enzimática del hongo, lo cual puede explicar su mejor rendimiento productivo. Por el contrario, el bajo

porcentaje de remoción en T2 podría relacionarse con una menor eficiencia biológica, como se ha reportado en estudios donde se utilizan residuos agroindustriales con alta lignificación (Gaitán-Hernández & Silva Huerta, 2016).

Finalmente, estos resultados sugieren que la composición inicial del sustrato es un factor determinante en la eficiencia biológica del cultivo de *P. djamor*. Sustratos con bajo contenido de lignina y mayor proporción de celulosa y hemicelulosa favorecen la colonización y la producción de biomasa fúngica. Asimismo, aunque el pretratamiento FES permite una cierta remoción de lignina, su eficacia depende del tipo de residuo utilizado.

Tabla 8. Porcentaje de remoción de lignina de los sustratos después del pretratamiento.

<b>Tratamiento</b>	<b>% de remoción de Lignina (%± SD)</b>
T0	54.01±2.03 <sup>a</sup>
T1	28.71±13.9 <sup>ab</sup>
T2	9.27±0.4 <sup>b</sup>
T3	20.1±10.6 <sup>ab</sup>
T4	35.76±2.5 <sup>ab</sup>

Porcentaje de remoción de lignina en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %.  $n = 4 \pm$  desviación estándar (DE).

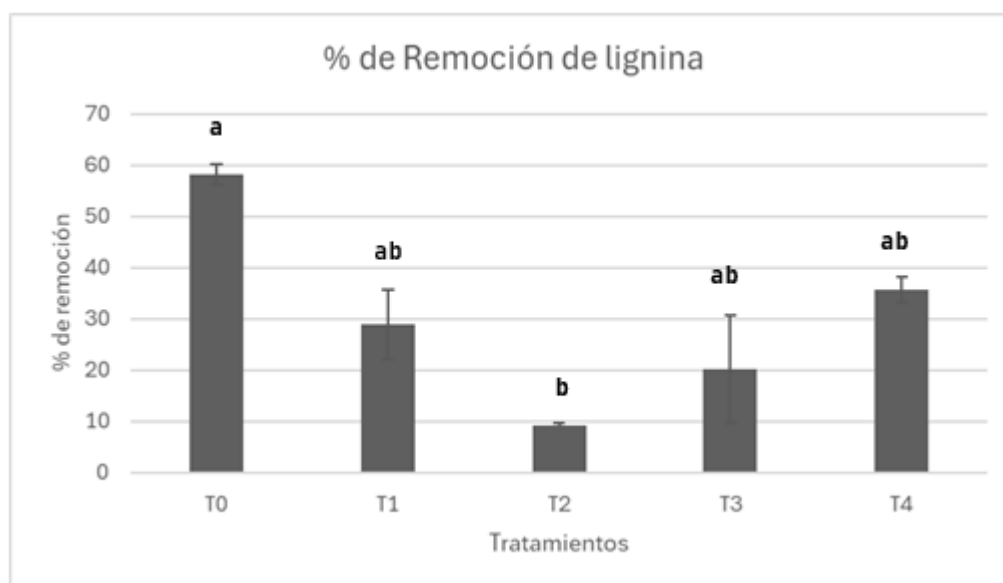


Figura 27. Porcentaje de remoción de lignina en los diferentes tratamientos. Las letras minúsculas diferentes indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística de Krus-Kal-Wallis al 95 %.  $n = 4 \pm$  desviación estándar (DE).

## 6.6 Análisis de digestibilidad

### 6.6.1 Digestibilidad *in vitro* de la MS en los tratamientos

En la tabla 10 y la figura 28 se presenta el efecto de la fermentación en estado sólido (FES) sobre los diferentes tratamientos (T1, T2, T3, T4) así como el tratamiento control que consiste en bagazo de tequila al 100% (TC) sin pretratamiento fúngico FES y el tratamiento testigo (T0), en la degradación de materia seca (MS). La FES aumento la degradación de la MS ( $P < 0.05$ ) de todos los tratamientos en comparación con el tratamiento control (TC), observando que según aumenta la concentración de bagazo de agave, el porcentaje de degradación disminuye, de tal modo que los porcentajes de degradación mostraron un comportamiento uniforme y paralelo, teniendo diferencias ( $P < 0.001$ ) desde el tiempo cero ( $T0 = 66.81\%$ ,  $T1 = 66.51\%$ ,  $T2 = 56.93\%$ ,  $T3 = 54.36\%$ ,  $T4 = 54.36\%$ ,  $TC = 53.29\%$ ) existiendo cerca 13 % de diferencia entre T1 y TC , lo que nos indica que pretratamiento (FES) modifica el porcentaje de degradación de la MS en el tiempo.

Tabla 9. Efecto de los tratamientos en la degradación (%) de la MS de los sustratos gastados.

tiempo	T0	T1	T2	T3	T4	TC
0	66.81 <sup>ab</sup>	66.51 <sup>ab</sup>	56.93 <sup>ab</sup>	56.73 <sup>ab</sup>	54.36 <sup>a</sup>	53.29 <sup>b</sup>
2	68.67 <sup>a</sup>	67.45 <sup>ab</sup>	56.20 <sup>ab</sup>	58.23 <sup>ab</sup>	56.19 <sup>ab</sup>	53.44 <sup>b</sup>
4	70.05 <sup>a</sup>	66.08 <sup>ab</sup>	53.93 <sup>b</sup>	57.89 <sup>ab</sup>	56.99 <sup>ab</sup>	53.62 <sup>b</sup>
8	69.74 <sup>a</sup>	67.93 <sup>ab</sup>	55.62 <sup>ab</sup>	58.38 <sup>ab</sup>	53.52 <sup>ab</sup>	53.52 <sup>b</sup>
12	71.11 <sup>a</sup>	68.88 <sup>ab</sup>	55.39 <sup>ab</sup>	59.31 <sup>ab</sup>	59.33 <sup>ab</sup>	53.77 <sup>b</sup>
24	71.69 <sup>a</sup>	69.08 <sup>ab</sup>	57.72 <sup>ab</sup>	60.78 <sup>ab</sup>	58.71 <sup>ab</sup>	54.08 <sup>b</sup>
36	72.74 <sup>a</sup>	69.88 <sup>ab</sup>	58.32 <sup>ab</sup>	61.64 <sup>ab</sup>	60.11 <sup>ab</sup>	53.86 <sup>b</sup>
48	75.57 <sup>a</sup>	75.52 <sup>a</sup>	60.88 <sup>ab</sup>	65.07 <sup>ab</sup>	62.05 <sup>ab</sup>	55.19 <sup>b</sup>
72	78.56 <sup>a</sup>	73.13 <sup>a</sup>	62.67 <sup>a</sup>	67.21 <sup>ab</sup>	63.11 <sup>b</sup>	61.55 <sup>b</sup>

Las diferentes letras minúsculas indican las diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos, prueba estadística Kruskal-Wallis al 95%.  $n = 3 \pm$  desviación estándar (DE).

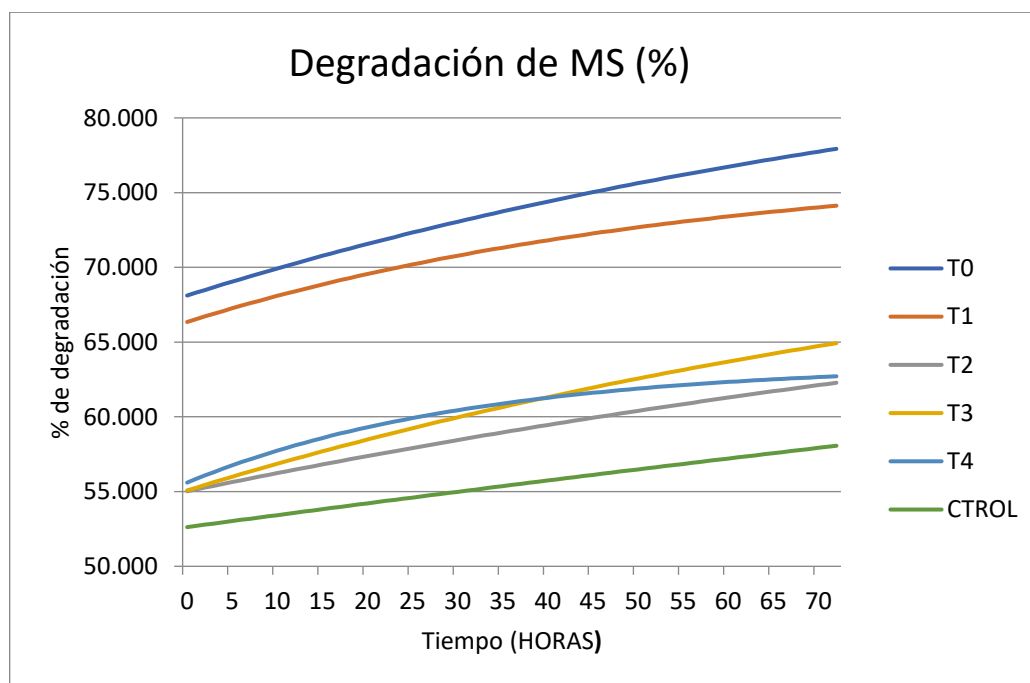


Figura 28. Porcentaje de degradación de MS, de los diferentes tratamientos a través del tiempo (h),  $n = 3$ .

Los resultados demuestran que el pretratamiento (FES) con *Pleurotus djamor* incrementa la digestibilidad *in vitro* significativamente ( $P < 0.05$ ) de la materia seca

(MS) en un  $14 \pm 3.6$  %, lo que coincide con investigaciones anteriores que indican aumentos parecidos en la digestibilidad *in vivo* de varios desechos agroindustriales tratados con hongos del género *Pleurotus*.

#### 6.6.2 Cinética de degradación *in vitro* de la MS de los diferentes tratamientos y el control

En la tabla 11 se muestran datos que indican que a medida que incrementa el porcentaje de concentración del bagazo de agave, hay una disminución gradual en la fracción soluble (a) ( $P < 0.001$ ) y la fracción potencialmente degradable (b) ( $P < 0.001$ ), todo esto sin que se presenten diferencias significativas en la tasa fraccional de degradación (c) ( $P > 0.05$ ). La degradación potencial disminuye conforme aumenta la concentración de bagazo de agave presentando diferencias estadísticas ( $P < 0.001$ ) entre los tratamientos.

Lo cual indica que la FES altera más la estructura que la velocidad de digestión de los sustratos. La caída de la fracción b puede deberse a la pérdida parcial de compuestos fácilmente biodegradables durante la colonización fúngica, lo cual ya ha sido informado en residuos agroindustriales sometidos a biotransformación (Villas-Boas S. G. et al., 2003). Por otro lado, aunque el tratamiento control presentó mayor degradación potencial (a+b) (93.22 %), no se reflejó en mayor digestibilidad efectiva, ya que no existe disponibilidad física de nutrientes. Por el contrario, los tratamientos con FES mejoraron significativamente la degradabilidad efectiva, como consecuencia de la ruptura de enlaces de lignina.

Tabla 10. Parámetros de la cinética de degradación de la MO in vitro de los tratamientos.

Tratamiento	a	b	c	Degradación potencial (%)	R <sup>2</sup>	EEM
T0	68.12	19.39	0.01	87.50	79.59	1.76
T1	66.34	10.85	0.02	77.19	54.55	2.54
T2	55.02	19.94	0.01	74.96	71.76	1.60
T3	57.08	20.65	0.01	77.73	94.33	0.85
T4	55.60	7.94	0.01	63.54	86.30	1.04
TC	52.62	40.60	0.00	93.22	45.96	2.40

Degradación potencial=  $a + b$ ; en donde;  $a$  = Fracción soluble y de rápida degradación (%);  $b$  = Fracción potencialmente degradable (%);  $c$  = Tasa fraccional de degradación.  $P < 0.001$ . EEM $\pm$  = Error estándar de la media. R<sup>2</sup> = Coeficiente de correlación.

Tabla 11. Efecto de la tasa fraccional de paso (Kp/h) en la degradabilidad efectiva de la MO.

Kp/h	0.02*	0.04*	0.06*	0.08*
T0	74.13	71.68	70.65	70.08
T1	71.40	69.64	68.79	68.29
T2	59.74	57.70	56.89	56.45
T3	63.49	60.87	59.77	59.17
T4	58.25	57.19	56.74	56.48
TCtrol	56.31	54.55	53.93	53.61

Degradabilidad efectiva=  $a + b(c/c + Kp)$ , donde;  $a$  = Fracción soluble y de rápida degradación;  $b$  = Fracción potencialmente degradable;  $c$  = Tasa fraccional de degradación; Tasas fraccionales de paso: \*;  $P < 0.001$ .

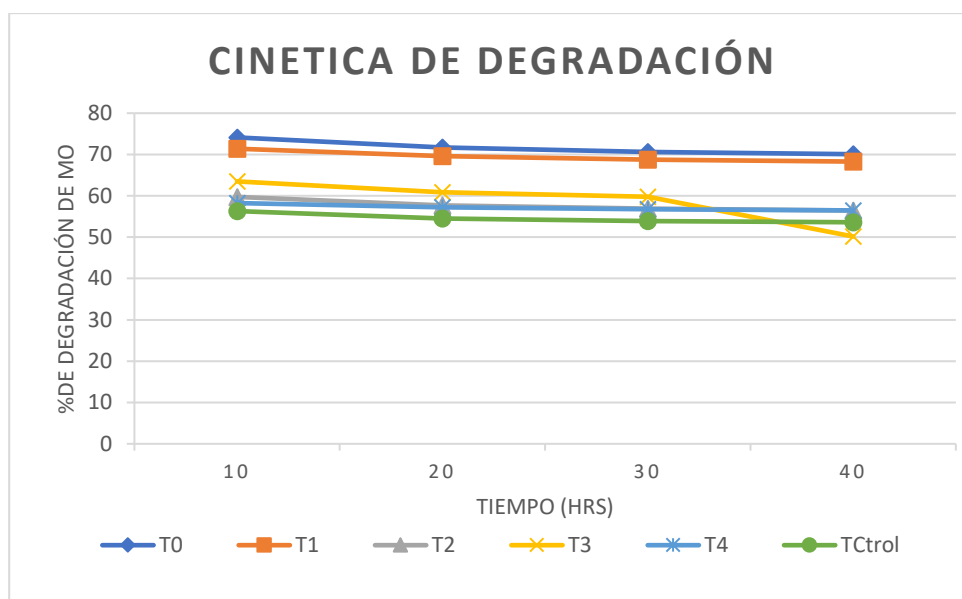


Figura 29. Cinética de degradación de M0, de los diferentes tratamientos a través del tiempo (h).

El comportamiento que se aprecia en los tratamientos señala que a mayor concentración de bagazo de agave se tiene menor porcentaje de degradación de la MS, ya que la alta lignificación y el contenido de compuestos fenólicos del bagazo restringen el proceso degradativo (Kutlu H. R. et al., 2000). Sin embargo, todos los tratamientos sometidos a FES superaron significativamente al control (TC), demostrando la capacidad del hongo *P. djamor* para convertir la lignocelulosa en material digestible.

La degradabilidad efectiva se observa en la tabla 12 y se calculó aplicando cuatro tasas fraccionales de paso: 0.02/h, 0.04/h, 0.06/h y 0.08/h, la digestibilidad se redujo al aumentar la proporción de bagazo de agave, por su alto contenido de lignina y compuestos fenólicos, aunque todos los tratamientos con FES superaron al control.

Actualmente la incorporación de paja de maíz enriquecida con *P. ostreatus* en la alimentación de corderos de engorde ha funcionado de manera positiva al rendimiento de crecimiento, demostrando la capacidad de este método para incrementar el valor nutricional de los forrajes lignocelulósicos. Sin embargo, no en todos los estudios se han observado efectos positivos en el consumo forrajes tratados con hongos del género *Pleurotus*, lo que indica que elementos como la especie de hongo, el tipo de sustrato, la cantidad incluida en la alimentación y las condiciones zootécnicas pueden afectar la

reacción de los animales a la inclusión de estos forrajes en su dieta. En conclusión, estos resultados refuerzan el uso de hongos ligninolíticos como una opción biotecnológica que permite el aprovechamiento de residuos agroindustriales en la alimentación animal (Fonseca G. G. et al., 2009; Kutlu H. R. et al., 2000; Ramírez-Bribiesca J.E. et al., 2010; Villas-Boas S. G. et al., 2003).

### 6.7 Contenido total de metabolitos fenólicos y antioxidantes

El contenido total de los compuestos fenólicos presentes en los tratamientos como en los cuerpos fructíferos de *P. djamor* se muestran en la tabla 13.

Los cuerpos fructíferos, el tratamiento T0 presentaron un contenido significativamente mayor de fenoles totales ( $5.41 \pm 0.92$  mg GAE  $g^{-1}$ ,  $p < 0.05$ ) en comparación con el resto de los tratamientos, los cuales oscilaron entre 0.94 y 1.19 mg GAE  $g^{-1}$ . En contraste, no se observaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de flavonoides ni de taninos entre los tratamientos, cuyos valores oscilaron entre 1.06 y 1.47 mg rutina  $g^{-1}$ , y entre 0.007 y 0.01 mg catequina  $g^{-1}$ , respectivamente.

Respecto a la actividad antioxidante, los mayores valores de inhibición del radical ABTS se observaron en los tratamientos T2 ( $55.72 \pm 22.64\%$ ) y T1 ( $53.53 \pm 22.28\%$ ), sin diferencias significativas entre ellos, aunque ambos superaron significativamente al T3 ( $24.32 \pm 5.62\%$ ). En cuanto a DPPH, el tratamiento T4 presentó la mayor capacidad antioxidante ( $61.83 \pm 12.16\%$ ), significativamente superior a T1 y T2 ( $p < 0.05$ ).

En los sustratos gastados, no se detectaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de fenoles, flavonoides o taninos entre los tratamientos, no obstante, se observaron concentraciones relativamente elevadas de flavonoides en todos los tratamientos (1.99–2.27 mg rutina  $g^{-1}$ ). La actividad antioxidante fue menor que en los cuerpos fructíferos. Aunque no se detectaron diferencias significativas para ABTS, el tratamiento T4 mostró la mayor inhibición de DPPH ( $30.25 \pm 0.64\%$ ,  $p < 0.05$ ), superando significativamente a T1 y T0.

Estos resultados sugieren que, si bien el contenido fenólico más alto se encontró en el tratamiento T0, la mayor actividad antioxidante (especialmente por el método

DPPH) se asoció con el tratamiento T4, lo cual indica la posible contribución de otros compuestos bioactivos distintos a los fenoles evaluados. Además, el sustrato gastado posee una actividad antioxidante importante, lo que resalta su potencial como alimento para rumiantes.

Tabla 12. Concentración media de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante.

<b>Tratamiento</b>	<b>Fenoles</b> (mg GAE g <sup>-1</sup> ± SD)	<b>Flavonoides</b> (mg rutin g <sup>-1</sup> ± SD)	<b>Taninos</b> (mg catechin g <sup>-1</sup> ± SD)	<b>ABTS</b> (Inhibición% ± SD)	<b>DPPH</b> (Inhibición % ± SD)
<b><i>P. djamor</i></b>					
T0	5.41±0.92 <sup>a</sup>	1.06±0.51 <sup>a</sup>	0.008±0.004 <sup>a</sup>	30.68±8.10 <sup>a,b</sup>	34.74±11.57 <sup>a,b</sup>
T1	1.19±0.87 <sup>b</sup>	1.32±1.02 <sup>a</sup>	0.007±0.004 <sup>a</sup>	53.53±22.28 <sup>a</sup>	25.87±9.61 <sup>b</sup>
T2	1.00±0.27 <sup>b</sup>	1.36±1.04 <sup>a</sup>	0.01±0.008 <sup>a</sup>	55.72±22.64 <sup>a</sup>	28.50±14.88 <sup>b</sup>
T3	0.94±0.23 <sup>b</sup>	1.47±1.00 <sup>a</sup>	0.01±0.009 <sup>a</sup>	24.32±5.62 <sup>b</sup>	37.76±13.36 <sup>a,b</sup>
T4	1.06±0.10 <sup>b</sup>	1.07±0.69 <sup>a</sup>	0.01±0.005 <sup>a</sup>	40.36±14.97 <sup>a</sup>	61.83±12.16 <sup>a</sup>
<b>Sustrato gastado</b>					
T0	0.97±0.28 <sup>a</sup>	1.99±0.18 <sup>a</sup>	0.004±0.001 <sup>a</sup>	20.23±7.55 <sup>a</sup>	11.43±0.92 <sup>a</sup>
T1	0.91±0.22 <sup>a</sup>	2.14±0.28 <sup>a</sup>	0.008±0.002 <sup>a</sup>	27.48±7.67 <sup>a</sup>	25.29±0.25 <sup>a,b</sup>
T2	1.18±0.13 <sup>a</sup>	2.26±0.09 <sup>a</sup>	0.005±0.001 <sup>a</sup>	18.49±22.64 <sup>a</sup>	18.55±2.5 <sup>a,b</sup>
T3	0.78±0.01 <sup>a</sup>	2.15±0.31 <sup>a</sup>	0.005±0.001 <sup>a</sup>	27.57±4.05 <sup>a</sup>	24.57±4.25 <sup>a,b</sup>
T4	1.22±0.21 <sup>a</sup>	2.27±0.17 <sup>a</sup>	0.008±0.000 <sup>a</sup>	27.88±3.48 <sup>a</sup>	30.25±0.64 <sup>b</sup>

### 6.7.1 Metabolitos secundarios no fenólicos en los cuerpos fructíferos de *P. djamor*

Los metabolitos no fenólicos presentes en los cuerpos fructíferos de *P. djamor* se muestran en la tabla 14. Entre ellos, se encontraron 4 aminoácidos esenciales (L-Valina, L-Leucina, L-Isoleucina, L,D-Fenilalanina) los cuales destacan el valor nutricional de los basidiomas de *P. djamor* y coincide con lo reportado por (Barros et al., 2008) y (Adebayo et al., 2021), estos compuestos pueden participar en rutas metabólicas relacionadas con la síntesis de metabolitos bioactivos. Además, se encontraron 5 aminoácidos no esenciales (L-Prolina, Alanina, L-Asparagina, Serina, Ácido glutámico) en todos los tratamientos (T0–T4) con lo cual se refleja la actividad metabólica del hongo asociada a mecanismos de adaptación fisiológica.

Por otro lado, se encontraron 4 ácidos grasos (Ácido linoleico, Ácido palmítico, Ácido butanoico, Ácido propanoico) dentro de los cuales el ácido linoleico fue el componente constante en todos los tratamientos, lo cual concuerda con estudios previos que indican que este ácido graso es característico los basidiomas del género *Pleurotus*, y está asociado con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Petraglia et al., 2023; R et al., 2015).

También se encontró una base nitrogenada (Pirimidina) presente en todos los tratamientos, dos ácidos dicarboxílicos (Ácido succínico y Ácido hexanodioico) y un oxiácido (Ácido fosfórico), cada uno de los cuales se expresan según el sustrato sobre el cual el hongo se desarrolla el hongo.

Por su parte, los ácidos palmíticos (T0,T2,T3,T4), butanoico (T0 y T1) y propanoico (T0-T4) que se encontraron podrían estar implicados en la regulación del crecimiento micelial y en la generación de aroma y sabor característicos del hongo.

La detección de compuestos nitrogenados como la pirimidina y la uridina en varios tratamientos indica la participación de rutas biosintéticas relacionadas con ácidos nucleicos. De igual manera, los ácidos dicarboxílicos como el ac. succínico, fumárico y hexanodioico son intermediarios del ciclo de Krebs, lo que evidencia un metabolismo aeróbico activo y eficiente en la generación de energía celular.

Finalmente, la presencia de ácido fosfórico y sus derivados en la mayoría de los tratamientos podría relacionarse con la fosforilación de moléculas orgánicas y con la regulación energética intracelular.

Tabla 13. Metabolitos secundarios no fenólicos de los cuerpos fructíferos de *P. djamor*.

<b>Tratamiento</b>	<b>Compuesto químico</b>	<b># CAS</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
T0,T1,T2,T3,T4	L-Valina	007364-44-5	5.77
T0,T1	Ácido Butanoico	055133-95-4	6.06
T0,T1,T2,T3,T4	L-Leucina	007364-46-7	6.77
T1,T2	Ácido fosfórico, tris-TMS	010497-05-9	6.84
T0,T3,T4	Glicerol	006787-10-6	6.84
T1,T2,T3,T4	L-Isoleucina	007483-92-3	7.17
T0,T1,T2,T3,T4	L-Prolina	007364-47-8	7.23
T0,T1,T2,T3,T4	Ácido succínico	040309-57-7	7.47
T0,T1,T2,T3,T4	Ácido Propanoico	038191-87-6	7.9
T0,T1,T2,T3,T4	Pirimidina	010457-14-4	8.0
T1,T2,T3,T4	Ácido fumárico	017962-03-7	8.11
T0,T1,T2,T3,T4	Serina	064625-17-8	8.49
T0,T1,T2,T3,T4	Ácido Butírico	007537-02-2	9.02
T1,T2	L-Homoserina, N, O-bis(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	1177129-58-6	10.20
T1,T2	Ácido málico, tris- TMS	038166-11-9	10.99
T0	Ácido succínico	038166-11-9	11.00
T4	2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid, trimethylsilyl ester	030274-77-2	11.14
T3,T4	Ácido Butanedioic, [(trimethylsilyl)oxy]-, bis(trimethylsilyl) ester	038166-11-9	11.38

T3	L-Methionine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	027844-10-6	11.53
T4	Alanina	002899-42-5	11.96
T0	Ácido hexanodioico	055520-93-9	11.75
T3	L,D-Fenilalanina	002899-42-5	12.02
T1,T2,T3,T4	Glutamic acid, N-(trimethylsilyl)-, bis(trimethylsilyl) ester, L	015985-07-6	13.47
T0	2,3,4-Trihydroxybutyric acid tetrakis(trimethylsilyl) deriv., (R*,R*)-	038191-88-7	12.18
T0	4-Hydroxyphenylethanol, di- TMS	321884-10-0	12.44
T0	Ácido glutámico	015985-07-6	13.48
T0,T3	N,O-Bis(trimethylsilyl)-L-phenylalanine	007364-51-4	13.55
T2,T4	L-Asparagina	055649-62-2	14.46
T2	a-Aminoadipic acid, triTMS	066434-50-2	15.22
T0,T1,T2,T3,T4	Ácido fosfórico	031038-11-6	16.27
T1	D-Ribo-Hexitol, 3-deoxy-1,2,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	034665-31-1	17.47
T1	Ácido Pentanedioico	038166-12-0	18.02
T0,T2,T3,T4	Ácido Palmítico	055520-89-3	20.56
T1,T2	Myoinositol TMS	002582-79-8	21.72
T0,T1,T2,T3,T4	Ácido Linoleico	056259-07-5	23.46
T1,T2,T3,T4	Uridina, 2',3',5'-tris-O-(trimethylsilyl)-	010457-16-6	29.30
T0,T1,T2,T3,T4	D-(+)-Trehalose, octakis(trimethylsilyl) ether	1000380-43-8	35.65

---

## VII. CONCLUSIONES

En esta investigación, se evaluó el efecto del pretratamiento biológico como etapa previa para el proceso de digestibilidad en rumen que obtuvo mejoras significativas y un promedio en el aumento de la digestibilidad  $14 \pm 3.6$  % en comparación con el control que no fue tratado con el hongo. Sin embargo, se requieren más investigaciones para optimizar su aplicación práctica y evaluar su impacto a largo plazo.

Por lo tanto, el uso del hongo *P. djamor* es una opción viable para combatir la acumulación de grandes cantidades de bagazo de agave transformándolo en un forraje alternativo para rumiantes y al mismo tiempo sus fructificaciones aportan elementos nutritivos para la nutrición humana.

En temas de productividad es posible reafirmar que el rastrojo de maíz es un sustrato óptimo en términos de productividad con valores de Eficiencia biológica mayores al 100%, pero las mezclas con bagazo de agave aportan características diferenciales de interés nutricional y funcional, en particular, el tratamiento T2 destaca como la opción más eficiente para maximizar el desarrollo de cuerpos fructíferos sin comprometer su apariencia ni consistencia de los cuerpos fructíferos, incorporando además un 80% de bagazo de agave en la mezcla de sustratos.

La selección del sustrato puede guiarse por el objetivo de producción, priorizando el rendimiento, la textura o el valor nutricional los intereses particulares del productor.

Por otro lado, a pesar de que el bagazo de agave es un residuo abundante y rentable de la industria tequilera, su empleo como medio de cultivo para *Pleurotus djamor* requiere estrategias de manejo, tales como el uso de mezclas con otros desechos agrícolas para obtener buenos porcentajes de producción.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abraham, A., Mathew, A. K., Park, H., Choi, O., Sindhu, R., Parameswaran, B., Pandey, A., Park, J. H., & Sang, B.-I. (2020). Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, *301*, 1–13.
- Acosta Sotelo, L. L. (2023). Bagazo y composta de bagazo de agave tequilero en suelos contrastantes: 1. Dinámica de degradación. *Biotecnica*, *25*(2), 90–100.
- Adebayo, E. A., Azeez, M. A., Alao, M. B., Oke, M. A., & Aina, D. A. (2021). Mushroom Nanobiotechnology: Concepts, Developments and Potentials. In *Microbial Nanobiotechnology. Materials Horizons: From Nature to Nanomaterials* (pp. 257–285). Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-4777-9\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-33-4777-9_9)
- Alexopoulos C. J., & Mims C. W. (1979). *Introductory Mycology* (3rd ed.).
- Amirta, R., Tanabe, T., Watanabe, T., Honda, Y., Kuwahara, M., & Watanabe, T. (2006). Methane fermentation of Japanese cedar wood pretreated with a white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. *Journal of Biotechnology*, *123*(1), 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.10.004>
- Araque, C., Arrieta, G., & Sandoval, E. (2000). Effect evaluation of multinutritional blocks with and without implant on liveweight gain on steers. *Revista Facultad de Agronomía*, *17*, 335–341.
- Baktemur, G., Kara, E., Yasar, M., Yilmaz, N., Ağçam, E., Akyildiz, A., & Taşkin, H. (2022). Yield, quality and enzyme activity of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) grown on different agricultural wastes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *50*(1), 12553. <https://doi.org/10.15835/nbha50112553>
- Banerjee, S., Sen, R., Mudliar, S., Pandey, R. A., Chakrabarti, T., & Satpute, D. (2011). Alkaline peroxide assisted wet air oxidation pretreatment approach to enhance enzymatic convertibility of rice husk. *Biotechnology Progress*, *27*(3), 691–697. <https://doi.org/10.1002/btpr.589>
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food. Chem. Tox.*, *46*, 2742–2747.
- Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., Júnior, A. M., & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*(4), 633–646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Beltrán-Ramírez, F., Orona-Tamayo, D., Cornejo-Corona, I., Luz Nicacio González-Cervantes, J., de Jesús Esparza-Claudio, J., & Quintana-Rodríguez, E. (2019). Agro-Industrial Waste Revalorization: The Growing Biorefinery. In *Biomass for Bioenergy - Recent Trends and Future Challenges*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83569>

- Bernabé-González T., Cayetano-Catarino M., Adán-Díaz A., & Torres-Pastrana M. A. (2004). Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* sobre diversos subproductos agrícolas de Guerrero, México. *Revista Mexicana de Micología*, 18, 77–80.
- Bochi-Brum, O., Carro M.D., Valdés, C., González, J. S., & López. S. (1999). In vitro digestibility of forages and concentrates: effect of diet on donor animals. *Archivos de Zootecnia*, 48, 51–61.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2002). Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6975–6980. <https://doi.org/10.1021/jf020296n>
- Cobb, D. (2002). La Revolución Ganadera. En: Ocho Notas de Desarrollo. *OCHO Notas de Desarrollo*, 76.
- Crespo González, M. R. (2011). *Proceso de compostaje de bagazo de agave tequilero a gran escala y uso de la composta para el cultivo del agave tequilana en contenedor*. [Doctoral]. Universidad de Guadalajara .
- Crespo González, M. R., González Eguiarte, D. R., Rodríguez Macías, R., Ruiz Corral, J. A., & Durán Puga, N. (2018a). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y FÍSICA DEL BAGAZO DE AGAVE TEQUILERO COMPOSTADO CON BIOSÓLIDOS DE VINAZA COMO COMPONENTE DE SUSTRATOS PARA CULTIVOS EN CONTENEDOR. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(3), 373–382. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.03.01>
- Crespo González, M. R., González Eguiarte, D. R., Rodríguez Macías, R., Ruiz Corral, J. A., & Durán Puga, N. (2018b). Caracterización química y física del bagazo de agave tequilero compostado con biosólidos de vinaza como componente de sustratos para cultivos en contenedor. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(3), 373–382. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.03.01>
- Cruz-Moreno, B. A., Pérez, A. A. F., García-Trejo, J. F., Pérez-García, S. A., & Gutiérrez-Antonio, C. (2023). Identification of Secondary Metabolites of Interest in *Pleurotus djamor* Using Agave tequilana Bagasse. *Molecules*, 28(2), 557. <https://doi.org/10.3390/molecules28020557>
- Daşdelen, O., Shimira, F., Kara, E., Baktemur, G., & Taşkin, H. (2022). Effects of different agricultural wastes on yield and quality in *Pholiota nameko* cultivation. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 6(4), 537–544. <https://doi.org/10.31015/jaefs.2022.4.6>
- De Boever, J. L., Cottyn, B. G., Vanacker, J. M., & Boucque, C. V. (1997). Potential of solubility, enzymatic methods and NIRS to predict in situ rumen escape protein. . *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 45(3), 291–306.
- Delgadillo-Ruiz L., Bañuelos V. R., Esparza I. L., Gutiérrez B. H., Cabral A. F. J., & Muro R. A. (2015). Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* , 11, 2099–2103.

- Deshpande, S. S., & Cheryan, M. (1987). Determination of phenolic compounds of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. . *J. Food Sci.*, *52*, 332–334.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(10), 3010–3014.  
<https://doi.org/10.1021/jf0115589>
- Elliott, A., & Mahmood, T. (2007). Pretreatment technologies for advancing anaerobic digestion of pulp and paper biotreatment residues. *Water Research*, *41*(19), 4273–4286.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.06.017>
- El-Ramady, H., Abdalla, N., Fawzy, Z., Badgar, K., Llanaj, X., Törös, G., Hajdú, P., Eid, Y., & Prokisch, J. (2022). Green Biotechnology of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* L.): A Sustainable Strategy for Myco-Remediation and Bio-Fermentation. *Sustainability*, *14*(6), 3667. <https://doi.org/10.3390/su14063667>
- Eskicioglu, C., Kennedy, K. J., & Droste, R. L. (2007). Enhancement of Batch Waste Activated Sludge Digestion by Microwave Pretreatment. *Water Environment Research*, *79*(11), 2304–2317. <https://doi.org/10.2175/106143007X184069>
- Espinoza-Ortega A., Espinosa-Ayala E., Bastida-López J., Castañeda- Martínez T., & Arriaga- Jordán C.M. (2007). Small-scale dairy farming in the highlands of central Mexico: technical, economic and social aspects and their impact on poverty. . *Experimental Agriculture*, *43*, 241–256.
- Fazenda, M., Seviour, R., Mcneil, B., & Harvey, L. (2008). Submerged culture fermentation higher fungi: the macrofungi. . *Advances in Applied Microbiology*, *63*, 33–92.
- Figuroa-Pérez, M. G., Rocha-Guzmán, N. E., Pérez-Ramírez, I. F., Mercado-Silva, E., & Reynoso-Camacho, R. (2014). Metabolite Profile, Antioxidant Capacity, and Inhibition of Digestive Enzymes in Infusions of Peppermint (*Mentha piperita* ) Grown under Drought Stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(49), 12027–12033.  
<https://doi.org/10.1021/jf503628c>
- Fogarasi, M., Diaconasa, Z. M., Pop, C. R., Fogarasi, S., Semeniuc, C. A., Fărcaș, A. C., Țibulcă, D., Sălăgean, C. D., Tofană, M., & Socaci, S. A. (2020). Elemental composition, antioxidant and antibacterial properties of some wild edible mushrooms from Romania. *Agronomy*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/agronomy10121972>
- Fonseca G. G., Gandra E. A., Sclowits L. F., Correa A. P. A., & Costa J. A. V. (2009). Protein enrichment and digestibility of soft rush (*Juncus effusus*) and rice residues using edible mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *World Journal of Microbiological and Biotechnology*, *25*, 449–456.
- Gaitán-Hernández, R., & Silva Huerta, A. (2016). Aprovechamiento de residuos agrícolas locales para la producción de *Pleurotus* spp., en una comunidad rural de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Micología* , *43*.
- Galbe, M., & Zacchi, G. (2007). Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production. In *Biofuels* (pp. 41–65). Springer Berlin Heidelberg.  
[https://doi.org/10.1007/10\\_2007\\_070](https://doi.org/10.1007/10_2007_070)

- Garrote G., Dominguez H., & Parajó J.C. (2002). Autohydrolysis of corncob: Study of non-isothermal operation for xylooligosaccharide production. *Journal of Food Engineering*, 52, 211–218.
- Giardina, P., Palmieri, G., Fontanella, B., Rivieccio, V., & Sannia, G. (2000). Manganese peroxidase isoenzymes produced by *Pleurotus ostreatus* grown on wood sawdust. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 376(1), 171–179.
- Giraldo L. A., Zoot, M. S., Lina A. Gutiérrez, & Claudia Rúa. (2007). Comparación de dos técnicas in vitro e in situ para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(3), 269–279.
- Gómez-Cuevas, K., Delgado-Cruz, A., & Palmas-Castrejón, D. (2020). Originalidad del tequila como símbolo de identidad mexicana. Percepción del turista-consumidor a partir de su exportación. *RIVAR*, 7(21), 59–80. <https://doi.org/10.35588/rivar.v7i21.4638>
- Grabber, J. H. (2005). How Do Lignin Composition, Structure, and Cross-Linking Affect Degradability? A Review of Cell Wall Model Studies. *Crop Science*, 45(3), 820–831. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.0191>
- Gschaedler Mathis, A. C., Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología, & Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (2017). *Panorama del aprovechamiento de los agaves en México*.
- Guzmán, P. M. (1997). Aguardientes de México: Tequila, Mezcal, Charanda, Bacanora, Sotol. *Bebidas Mexicanas*, 6(4), 37–40.
- Guzmán-Dávalos, L., Martínez Carrera, D., Morales, P., & Soto, C. (1987). El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el bagazo del maguey de la industria tequilera. *Scientia Fungorum*, 3(3), 47–49.
- Hamza A. S., Mohammady T. F., & Majcherczyk A. (2003). Evaluation of five oyster mushrooms species grow on corn stalks to be used as animal feed. In Aboud Hadid A. F. (Ed.), *Proceeding of the International Symposium on the Horizons of Using Organic Matter Substrates in Horticulture* (pp. 141–148). Acta Horticulturae.
- Hendriks, A. T. W. M., & Zeeman, G. (2009). Pretraetement to enhance the digestibility of lignocellulosic biomasse. *Bioresource Technology*, 100, 10–18.
- Heredia-Nava D., Espinoza-Ortega A., González-Esquivel C.E., & Arriaga-Jordán C.M. (2007). Feeding strategies for small-scale dairy systems based on perennial (*Lolium perenne*) or annual (*Lolium multiflorum*) ryegrass in the central highlands of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 39, 179–188.
- Hernández-Cruz, T. M., Legorreta-Castañeda, A. J., García-Gutiérrez, K., Carballo-Sánchez, M. P., Guerra-Sánchez, G., & Olicón-Hernández, D. R. (2024). Fungal pellets of *Pleurotus ostreatus* and *Rhizopus stolonifer* for biotechnological applications: Characterization and production optimization using Taguchi methodology. *Current Research in Biotechnology*, 7, 100226. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2024.100226>
- Hernández-Salas J. M., Villa-Ramírez, M. S., Veloz-Rendón, J. S., Rivera-Hernández, K. N., González-César, R. A., Plascencia-Espinoza, M. A., & Trejo-Estrada, S. R.

- (2009). Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane bagasse. *Bioresource technology*. *Bioresource Technology*, *100*, 1238–1245.
- Hüttermann A., Hamza A., Chet I., Majcherczyk A., Fouad T., & Badr A. (2000). Reciclaje de residuos agrícolas por hongos de podredumbre blanca para la producción de forraje para rumiantes. *Agro Food Ind. Hi-Tech* , *11*(6), 29–32.
- Idarraga, G., Ramos, J., Zúñiga V., Sahin T., & Young R. A. (1999). Pulp and paper from blue Agave waste from tequila production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*, 4450-4455.
- Index Fungorum* . (2025, May 15). [Http://Www.Indexfungorum.Org](http://Www.Indexfungorum.Org).
- Íñiguez, C. G., Acosta, T. N., Martínez, C. L., Parra, J., & González, O. (2004). Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 7. Compostaje de bagazo de agave y vinazas tequileras. *Rev. Internacional de Contaminación Ambiental* , *17*(2).
- Íñiguez, C. G., & J. Parra-Velasco, P. A. (2006). Utilización de subproductos de la industria tequilera. Evolución de algunos constituyentes de la mezcla de biosólidos de bagazo de agave durante el compostaje. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental, UNAM.*, *22*(2), 83–89.
- Íñiguez, C. G., Lange S. E., & Rowell R. M. (2001). Utilization of by-products from the tequila industry: Part 1: Agave bagasse as a raw material for animal feeding and fibreboard production. *Bioresource Technol*, *77*, 25–32.
- Karmani, M., Subramaniam, G., Sivasamugham, L. A., Cheng, W. H., & Wong, L. S. (2022). Effects of Different Substrates on the Growth and Nutritional Composition of *Pleurotus ostreatus*: A Review. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, *10*(3), 481–486. [https://doi.org/10.18006/2022.10\(3\).481.486](https://doi.org/10.18006/2022.10(3).481.486)
- Karuppiah, T., & Ebenezer, V. (2019). Anaerobic Digestion. In *Anaerobic Digestion* (Vol. 1, pp. 84–107). Bioresource Engineering.
- Kumar, P., Barrett, D. M., Delwiche, M. J., & Stroeve, P. (2009). Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *48*(8), 3713–3729. <https://doi.org/10.1021/ie801542g>
- Kumar P., Barrett D.M., Delwiche M.J., & Stroeve P. (2009). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research* , *48*, 3713–3729.
- Kumar, R., & Wyman, C. E. (2009). Effects of cellulase and xylanase enzymes on the deconstruction of solids from pretreatment of poplar by leading technologies. *Biotechnology Progress*, *25*(2), 302–314. <https://doi.org/10.1002/btpr.102>
- Kumari, D., & Singh, R. (2018). Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *90*, 877–891. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>
- Kutlu H. R., Gorgulu M., Baykal L., Ozcan N., & Buyucalaka S. (2000). Effects o *Pleurotus florida* inoculation of urea treatment of feeding value of wheat straw . *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *24*, 169–175.

- Latimer, G. W. . (2019). *Official methods of analysis of AOAC International*. AOAC International.
- Lozano Arias, C. J. (2024). El Tequila Como Fuente Económica en México. *Revista de Investigación Académica Sin Frontera: División de Ciencias Económicas y Sociales*, 41. <https://doi.org/10.46589/riasf.vi41.661>
- Lucarini, M., Durazzo, A., Romani, A., Campo, M., Lombardi-Boccia, G., & Cecchini, F. (2018). Bio-Based Compounds from Grape Seeds: A Biorefinery Approach. *Molecules*, 23(8), 1888. <https://doi.org/10.3390/molecules23081888>
- Madadi, M., & Abbas, A. (2017). Lignin Degradation by Fungal Pretreatment: A Review. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 8(2), 1–6.
- Martínez-Flores, H. E., Contreras-Chávez, R., & Garnica-Romo, M. G. (2021). Effect of Extraction Processes on Bioactive Compounds from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus djamor*: Their Applications in the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 31(3). <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01820-2>
- Menon, V., & Rao, M. (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 522–550. <https://doi.org/10.1016/J.PECS.2012.02.002>
- Minson, D. J. (1990). *Forage in Ruminant Nutrition*. .
- Mkhize, S. S., Cloete, J., Basson, A. K., & Zharare, G. E. (2016). Performance of *Pleurotus ostreatus* mushroom grown on maize stalk residues supplemented with various levels of maize flour and wheat bran. *Food Science and Technology*, 36(4), 598–605. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.08516>
- Montañez-Valdez O. D., García-Flores E. O., Martínez-García J. A., Salinas-Chavira J., Rojo-Rubio R., & Peralta J. G. (2008). Use of *Pleurotus pulmonarius* to change the nutritional quality of wheat straw. I. Effect on chemical composition. *Interciencia* , 33, 435–438.
- Monties, B., & Fukushima, K. (2001). Occurrence, Function and Biosynthesis of Lignins. In A. Steinbüchel & M. Hofrichter (Eds.), *Biopolymers Online*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol1001>
- Mosier, N., Wyman C., Dale B., Elander R., Lee Y. Y., Holtzapple M., & Ladisch M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96, 673–686.
- Nielsen, S. S. (2010). *Food Analysis* (4th.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1>
- Oliveira Vieira, V., Almeida Conceição, A., Raisal Barbosa Cunha, J., Enis Virginio Machado, A., Gonzaga de Almeida, E., Souza Dias, E., Magalhães Alcantara, L., Neil Gerard Miller, R., & Gonçalves de Siqueira, F. (2022). A new circular economy approach for integrated production of tomatoes and mushrooms. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2756–2765. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.058>

- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935–942. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2019>
- Orskov E.R., & McDonald I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal Agr Sci*, 92, 499–503.
- Palmowski, L. M., & Müller, J. A. (2000). Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 41(3), 155–162. <https://doi.org/10.2166/wst.2000.0067>
- Patrick, B. (2000). *Nutritive value of residues of the mushroom industry for ruminants. Master of Science*. Universidad Autónoma de Yucatán-University of Aberdeen.
- Pellera, F.-M., & Gidakos, E. (2017). Microwave pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(1), 352–365.
- Petraglia, T., Latronico, T., Fanigliulo, A., Crescenzi, A., Liuzzi, G. M., & Rossano, R. (2023). Antioxidant Activity of Polysaccharides from the Edible Mushroom *Pleurotus eryngii*. *Molecules*, 28(5), 2176. <https://doi.org/10.3390/molecules28052176>
- Philippoussis, A., Zervakis, G., & Diamantopoulou, P. (2001). Bioconversion of agricultural lignocellulosic wastes through the cultivation of the edible mushrooms *Agrocybe aegerita*, *Volvariella volvacea* and *Pleurotus* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(2), 191–200. <https://doi.org/10.1023/A:1016685530312>
- Piña-Guzmán, A. B., Nieto-Monteros, D. A., & Robles-Martínez, F. (2016). Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (*Pleurotus* spp.). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32(Residuos sólidos), 141–151. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.05.10>
- R, P. M., Mohammad, S., Sonika, P., Manjul, P., Deepshikha, & Mandvi, S. (2015). Characterization of *Pleurotus* sp. of mushroom based on phenotypic, biochemical and yield parameter. *African Journal of Microbiology Research*, 9(13), 934–937. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7334>
- Ramírez-Bribiesca J.E., Soto-Sánchez A., Hernández-Calva L. M., Salinas-Chavira J., Galaviz-Rodriguezs J. R., Cruz-Monterrosa R. G., & Vargas-López S. (2010). Influence of *Pleurotus ostreatus* spent corn straw on performance and carcass characteristics of feedlot Pelibuey lambs. *Indian Journal of Animal Sciences*, 80(8), 754–757.
- Ramírez-Cortina C. R., Alonso-Gutiérrez M. S., & Luc Rigal. (2012). Valorización de residuos agroindustriales del tequila para alimentación de rumiantes. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

- Roblero-Mejía, D. O., Aguilar-Marcelino, L., & Sánchez, J. E. (2021). Efecto de la variación del sustrato en la productividad de dos cepas de *Pleurotus* spp. *Scientia Fungorum*, *52*, e1377. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.52.1377>
- Rodrigues, C. I. S., Jackson, J. J., & Montross, M. D. (2016). A molar basis comparison of calcium hydroxide, sodium hydroxide, and potassium hydroxide on the pretreatment of switchgrass and miscanthus under high solids conditions. *Industrial Crops and Products*, *92*, 165–173.
- Rodríguez, I. (2005). *Evaluación del consumo del sustrato residual del basidiomiceto Pleurotus ostreatus en ovinos*. Universidad Autónoma de Yucatán. .
- Rodríguez, M. R. (2004). *Desarrollo y caracterización de sustratos orgánicos a partir de bagazo de agave tequilero* [Doctoral]. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo.
- Salmones, D. (2017). *Pleurotus djamor*, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico *Pleurotus djamor*, a mushroom with potential biotechnological application for the Neotropic. *Revista Mexicana de Micología* , *46*, 73–85.
- Salmones, D., Gaitán, R., Pérez R., & Guzmán G. (1997). Estudios sobre el género *Pleurotus* VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Revista Iberoamericana de Micología* , *14*, 173–176.
- Sindhu, R., Binod, P., & Pandey, A. (2016). RETRACTED: Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. *Bioresource Technology*, *199*, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.030>
- Singh, A., & Bishnoi, N. R. (2012). Enzymatic hydrolysis optimization of microwave alkali pretreated wheat straw and ethanol production by yeast. *Bioresource Technology*, *108*, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.084>
- Singh, A., & Bishnoi, N. R. (2013). Ethanol production from pretreated wheat straw hydrolyzate by *Saccharomyces cerevisiae* via sequential statistical optimization. *Industrial Crops and Products*, *41*, 221–226. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.036>
- Singh, R. P., Singh, P. K., Gupta, R., & Singh, R. L. (2019). Treatment and Recycling of Wastewater from Textile Industry. In *Advances in Biological Treatment of Industrial Waste Water and their Recycling for a Sustainable Future. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future* (pp. 225–266). [https://doi.org/10.1007/978-981-13-1468-1\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1468-1_8)
- Sobal M., Morales P., & Martínez-Carrerea D. (1993). Utilización de los rastrojos de haba y frijol como sustratos para el cultivo de *Pleurotus*. *Micología Neotropical Aplicada*, *6*, 137–141.
- Stamets, P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms: Vol. Berkeley*. (Ten Speed Press, Ed.; 3rd Edition).
- Sun, Y., & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review. *Bioresource Technology*, *83*, 1–11.

- Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2008). Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9), 1621–1651. <https://doi.org/10.3390/ijms9091621>
- Talebna, F., Karakashev, D. B., & Angelidaki, I. (2010). Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. *Bioresource Technology*, 101, 4744–4753.
- Tobía C. Vargas, & Rojas A. (2000). Evaluación de las excretas de pollos de engorde (Pollinaza) en la alimentación animal. *Agronomía Costarricense*, 24, 47–53.
- Urbaniec, K., & Grabarczyk, R. (2009). Raw materials for fermentative hydrogen production. *Journal of Cleaner Production*, 17, 959–962.
- Vega, A., De León, J. A., Miranda, S., & Reyes, S. M. (2022). Agro-industrial waste improves the nutritional and antioxidant profile of *Pleurotus djamor*. *Cleaner Waste Systems*, 2, 100018. <https://doi.org/10.1016/j.clwas.2022.100018>
- Vega, A., & Franco, H. (2013). Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. 24(1), 69–78. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000100009>
- Venkata S. P. B. (2013). Liquid AFEX Pretreatment and Enzymatic Hydrolysis of Switchgrass from Different Harvest and Storage Conditions. *Transactions of the ASABE*, 1511–1520. <https://doi.org/10.13031/trans.56.10026>
- Villas-Boas S. G., Esposito E., & Mendoca M. M. (2003). Bioconversion of apple pomace into a nutritionally enriched substrate by *Candida utilis* and *Pleurotus ostreatus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19, 461–467.
- Wan, C., & Li, Y. (2012). Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1447–1457. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.003>
- Watanabe, Y., Hirasaki, M., Tohnai, N., Yagi, K., Shunnosuke, A. B. E., & Tamai, Y. (2003). Salt shock enhances the expression of ZrATP2, the gene for the mitochondrial ATPase  $\beta$  subunit of *Zygosaccharomyces rouxii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(2), 193–195. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(03\)90125-3](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)90125-3)
- Wyman, C. E., Dale, B. E., Elander, R. T., Holtzapple, M., Ladisch, M. R., & Lee, Y. Y. (2005). Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresour. Technol.*, 96, 1959–1966.
- Wyman, V., Henríquez, J., Palma, C., & Carvajal, A. (2018). Estrategia de valorización de residuos lignocelulósicos mediante la producción de enzimas y biogás. *Bioresource Technology*, 247, 402–411.
- Yang, B., & Wyman, C. E. (2009). *Dilute Acid and Autohydrolysis Pretreatment* (pp. 103–114). [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-214-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-214-8_8)
- Zamudio, D., Pinos S., González, P., Robinson, D., García, O., & Montañez, J. (2009). Effects of Agave salmiana Otto Ex Salm-Dyck silage as forage on ruminal fermentation and growth in goats. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 1–11.

Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., & Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, 42, 35–53.









