

## EFFECTO DEL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus* SOBRE EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS. CHIRIQUÍ, PANAMÁ. 2004.

*Aracelly Vega*<sup>1</sup>; *Rosa E. Caballero*<sup>2</sup>; *José R. García*<sup>2</sup>;  
*Noboru Mori*<sup>3</sup>; *Pedro Guerra M.*<sup>4</sup>

### RESUMEN

Se evaluó el mejoramiento de la calidad nutricional de la paja de arroz (*Oriza sativa*); pulpa de café (*Coffea arabica*) y hoja de banano (*Musa sapientis*) por efecto de *Pleurotus ostreatus*. Los indicadores de calidad en sustratos frescos y residuos fueron: proteína disponible, lignina, celulosa, hemicelulosa, relación celulosa/lignina, digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y las diferentes fracciones fibrosas obtenidas por análisis enzimático. Los datos se analizaron mediante el modelo jerárquico con técnicas de muestreo aleatorio. Luego del ciclo de cultivo hubo cambios en los contenidos de lignina, celulosa, proteína disponible, contenido celular orgánico, pared celular orgánica, fracciones soluble e insoluble de la pared celular, DIVMS ( $P < 0.01$ ) y relación celulosa/lignina, ( $P < 0.05$ ). En la pulpa de café aumentó la proteína disponible ( $P < 0.05$ ), la DIVMS y el contenido celular orgánico ( $P < 0.01$ ); la lignina, celulosa, relación celulosa: lignina, pared celular orgánica y su fracción insoluble disminuyeron ( $P < 0.01$ ). La paja de arroz mostró disminución en el contenido de proteína disponible, pared celular orgánica y su fracción insoluble ( $P < 0.01$ ); y aumento en el contenido celular orgánico y fracción soluble ( $P < 0.01$ ). En la hoja de banano hubo disminución en la lignina, celulosa, proteína disponible ( $P < 0.05$ ) y hemicelulosa, pared celular orgánica y su fracción insoluble ( $P < 0.01$ ) y aumento en el contenido celular orgánico y fracción soluble ( $P < 0.01$ ). Se evidencia bioconversión por efecto del crecimiento del hongo. El mejoramiento de la calidad nutricional de la pulpa de café se observó en términos del grado de delignificación, aumento en la proteína disponible, contenido celular orgánico y la DIVMS.

**PALABRAS CLAVES:** *Pleurotus ostreatus*, paja de arroz, hoja de banano, pulpa de café, calidad nutricional.

<sup>1</sup> Licda. en Química. M.Sc. Docente Investigador. Laboratorio de Recursos Naturales. Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI). Panamá.

<sup>2</sup> Lic. en Química. Asistente de Investigación. Laboratorio de Recursos Naturales. Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI). Panamá.

<sup>3</sup> Ing. Zoot. Voluntario Senior, Especialista en Bromatología. Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA).

<sup>4</sup> Ing. Agr. Zoot., M.Sc. Mejoramiento Genético Animal. IDIAP. Centro de Investigación Agropecuaria Occidental (CIAOC). Gualaca, Chiriquí, Panamá.

## EFFECT OF *Pleurotus ostreatus* CULTIVATION ON THE NUTRITIONAL QUALITY IMPROVEMENT OF LIGNOCELLULOSIC SUBSTRATES. CHIRIQUÍ, PANAMÁ, 2004.

Nutritional quality improvement on rice straw, coffee pulp, and banana leaves after *Pleurotus ostreatus* growth was evaluated. Quality indicators both in fresh substrates and residues were: available protein, lignin, cellulose, hemicellulose, cellulose/lignin ratio, *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and fibrous fractions obtained after enzymatic fractionation. Data was analyzed by means of a hierarquic model and random sampling techniques. After mushroom growth changes in lignin, cellulose, available protein, organic cell contents, organic cell wall and its fractions, IVDMD ( $P<0.01$ ) and cellulose/lignin ratio ( $P<0.05$ ) were observed. Coffee pulp showed increase in the available protein ( $P<0.05$ ), IVDMD and organic cell contents ( $P<0.01$ ); also there was a decrease in lignin, cellulose, cellulose/lignin ratio, organic cell wall and its insoluble fraction ( $P<0.01$ ). For rice straw there was a decrease in the available protein, as well as, in the organic cell wall and its insoluble fraction ( $P<0.01$ ). Increase in the organic cell content and the soluble fraction ( $P<0.01$ ) was observed on this substrate. For banana leaves there was a decrease en lignin, cellulose and available protein ( $P<0.05$ ), as well as, in hemicellulose, organic cell wall and its insoluble fraction ( $P<0.01$ ). The same substrate showed increase in the organic cell content and the soluble fraction ( $P<0.01$ ). A bioconversion effect after mushroom growth was observed. Nutritional quality improvement for coffee pulp was observed in terms of the degree of delignification, increase in the available protein content, the organic cell contents and IVDMD.

**KEYWORDS:** *Pleurotus ostreatus*, rice straw, banana leaves, coffee pulp, nutritional quality.

### INTRODUCCIÓN

Los hongos comestibles tienen la capacidad de secretar y producir un amplio espectro de enzimas que les permite colonizar y degradar los residuos lignocelulósicos. Dentro de este amplio espectro se encuentran: las exo- $\beta$ -1,4-glucanasas (E.C.3.2.1.91), las endo- $\beta$ -1,4-giucanasas (E.C.3.2.1.4), las  $\beta$ -1,4-glucosidasas (E.C.3.2.1.21), las peroxidases de lignina (E.C.1.11.1.14), las peroxidases dependientes de manganeso (E.C.1.11.1.13) y las *p*-difenil-oxígeno-reductasas (E.C.1.10.3.2) (Buswell y col., 1996; Rajarathnam y col., 1998).

El material lignocelulósico bio-transformado puede presentar un aumento en su contenido de proteína y una disminución en su contenido de fibra, por lo que se ha propuesto su aplicación potencial como suplemento en la alimentación de rumiantes (Leifa y col., 2000; Cohen y col., 2002). Existen diversos criterios para evaluar si el sustrato residual puede utilizarse como un suplemento en la alimentación de rumiantes. Estos criterios son: la disponibilidad de nutrientes, la digestibilidad y la palatabilidad del sustrato residual (Van Soest, 1982).

Para la evaluación de estos criterios se utiliza la misma metodología que

se aplica a los forrajes convencionales. Los indicadores de calidad que se pueden aplicar para la valoración de un suplemento son: materia seca, cenizas, proteína, lignina, celulosa y hemicelulosa (Van Soest, 1982).

La digestibilidad se evalúa mediante técnicas *in vitro*, las que pueden ser de dos tipos: ensayos sobre digestibilidad verdadera, exponiendo el material a ensayar, a la microflora ruminal o ensayos de digestibilidad aparente (Van Soest, 1982). Finalmente, la palatabilidad supone ensayos de consumo con el animal entero (Van Soest, 1982; Adamovic y col., 1998; Hanza y col., 2003).

El análisis de las fracciones lignina, celulosa y hemicelulosa, se aplica en estudios de bioconversión de sustratos para estudiar la habilidad lignocelulolítica de los hongos. La lignina es un indicador negativo de la calidad de la fibra en los materiales vegetales con uso en nutrición animal. La relación celulosa/lignina se ha utilizado en dichos estudios como un indicador del grado de delignificación por efecto de organismos lignocelulolíticos (Wang y col., 2001).

El fraccionamiento enzimático de la fibra es alternativo al método de Van Soest (1982). Este método permite el fraccionamiento de la muestra en contenido celular y pared celular. A su vez, estas fracciones se descomponen en

pared celular orgánica y contenido celular orgánico. La pared celular se fracciona en contenidos soluble e insoluble (JLTA, 2000).

Respecto al indicador proteína, cabe resaltar que la fracción proteica potencialmente aprovechable por el ganado es aquella representada por la fracción que no está covalentemente asociada con la lignina (Van Soest, 1982). Por ello, es pertinente decidir sobre el mejoramiento de las cualidades de un desecho en función de los cambios en la proteína disponible y no sobre la base de cambios en la proteína total.

En Panamá se produce gran cantidad de desechos agroindustriales como la paja de arroz, la pulpa de café y la hoja de banano. Estos desechos no se aprovechan debido a la falta de información (Vega y col., 2003; CGR, 2001). Su utilización para el cultivo de hongos comestibles es una actividad que permite generar un valor agregado a las actividades agroindustriales, ya que se produce alimento para el consumo humano. Si, además se comprueba que el desecho biotransformado posee características químicas apropiadas para su utilización como suplemento en la alimentación de rumiantes, se habrá aportado a la ganadería de la región una alternativa novedosa.

Por lo anterior, el grupo de investigación del Laboratorio de Recursos

Naturales de la UNACHI, se planteó el objetivo de realizar una primera evaluación del mejoramiento de la calidad nutricional de sustratos lignocelulósicos por efecto del cultivo de una cepa certificada de *Pleurotus ostreatus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Cultivo de Pleurotus ostreatus*

Se utilizó la cepa *Pleurotus ostreatus* RN 8, la cual proviene del cepario del Laboratorio de Recursos Naturales de la Universidad Autónoma de Chiriquí, en donde se mantiene a  $23 \pm 1$  °C. en un medio de Papa Dextrosa Agar (PDA), con transferencia periódica. La elección de esta cepa se dio en función del conocimiento previo de la misma a nivel de producción (Vega y col., 2004).

Los sustratos utilizados fueron paja de arroz (*Oriza sativa*), pulpa de café (*Coffea arabica*) y hoja de banana (*Musa sapientis*), provenientes de diferentes cultivares de la provincia de Chiriquí, República de Panamá.

La preparación del inóculo y de los sustratos, las etapas de siembra, incubación y cosecha se realizaron de acuerdo a la metodología desarrollada por Guzmán y col. (1993) y Vega y col. (2004). Se aplicó el inóculo al 5% y se permitió el desarrollo de los cuerpos fructíferos en dos cosechas dentro de un período de 15 días.

### *Muestreo y análisis químico de los sustratos*

El muestreo de los sustratos se realizó en dos tiempos: sobre el sustrato fresco y sobre el sustrato residual, entendiéndose por estado residual al remanente, luego del crecimiento de los hongos. Dicho muestreo se realizó mediante el método de cuarteo con el fin de garantizar la representatividad de las sub-muestras. Para ello, las muestras de sustrato con mayor longitud se cortaron con tijeras en pedazos de 3 cm. Las muestras cortadas se mezclaron y se esparcieron en un plástico hasta formar un cuadrado. Se dividió este cuadrado en cuatro cuadrantes de los cuales se seleccionaron dos cuadrantes diagonalmente opuestos y se descartaron los dos cuadrantes restantes. Similarmente, los segmentos seleccionados se mezclaron y se repitió el mismo proceso hasta obtener sub-muestras del tamaño deseado. Las sub-muestras se secaron al aire y después fueron molidas.

Las sub-muestras de cada sustrato, tanto en el estado fresco como en el estado residual, se analizaron en términos de los siguientes indicadores de calidad: lignina, nitrógeno ácido detergente, celulosa y hemicelulosa, de acuerdo a la metodología para fraccionamiento de fibra de Japan Livestock Technology Association (JLTA, 2000). La proteína dis-

ponible se calculó por diferencia entre la proteína cruda obtenida del análisis Kjeldahl (AOAC, 1976) y la fracción nitrógeno ácido detergente, utilizando el factor 6.25 y se expresa como fracción o porcentaje de la proteína cruda (Chacón y col., 2004). Finalmente, se obtuvo la relación celulosa/lignina para cada estado, en cada sustrato estudiado, a partir de las observaciones generadas para las variables lignina y celulosa.

### **Digestibilidad**

Los ensayos de digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS) se realizaron de acuerdo a la metodología descrita por Tilley y Terry (1963). El fraccionamiento enzimático de la fibra se realizó de acuerdo a la metodología de la Japan Livestock Technology Association (JLTA, 2000).

### **Diseño experimental y análisis estadístico**

Los datos se analizaron mediante un modelo jerárquico con técnicas de muestreo aleatorio (Searle, 1971). Las variables lignina, celulosa, hemicelulosa, relación celulosa/lignina (C/L), proteína disponible, contenido celular orgánico (CCO), pared celular orgánica (PCO), fracción de alta solubilidad ( $O_a$ ) y fracción de baja solubilidad ( $O_b$ ), así como la digestibilidad *in vitro* de materia seca (DIVMS) se consideraron como variables de respuesta.

Cada variable se analizó con el modelo propuesto, tanto en el estado fresco como en el estado residual del sustrato. Posteriormente, el efecto del crecimiento del hongo sobre los parámetros o variables se estimó mediante la diferencia entre el estado fresco versus el estado residual (análisis diferencial) y, posteriormente, se procedió a analizarlas con el mismo modelo. Las diferencias entre las medias de los indicadores en los estados fresco y residual para cada sustrato se evaluaron a través de la prueba t (student) pareada. El modelo matemático propuesto fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \delta_j(\tau_i) + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = es la observación cuantificada de la variable dependiente de la k-ésima submuestra dentro de la j-ésima canasta o réplica perteneciente al i-ésimo sustrato

$\mu$  = es la media general

$\tau_i$  = es el efecto asociado al i-ésimo sustrato

$\delta_j$  = es el efecto de la j-ésima canasta (réplica) dentro del i-ésimo sustrato. Este es el término de error para probar los estratos

$\varepsilon_{ijk}$  = es el error aleatorio asociado a la k-ésima submuestra obtenida de la j-ésima canasta perteneciente al i-ésimo sustrato.  $\varepsilon_{ijk}$  es NID  $\sim \mu=0, \sigma^2$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 muestra los cuadros medios del análisis de varianza, de acuerdo al modelo jerárquico propuesto para las características químicas o indicadores de calidad de los sustratos frescos.

Tomando el efecto de la canasta asignada a cada sustrato como la fuente de error para probar la significancia entre sustratos, se observan diferencias reales en las variables de respuesta (características químicas o indicadores de calidad) para los sustratos frescos (Cuadro 1).

La variabilidad entre las canastas dentro de los sustratos resultó altamente significativa para la hemicelulosa ( $P < 0.01$ ), pero con ningún efecto significativo en las demás características químicas ( $P > 0.01$ ) en el estado fresco del sustrato. La variabilidad encontrada, a través de los coeficientes de variación (CV), indica que existió un buen control del error experimental, tomando en cuenta el tipo de muestreo y la naturaleza de las muestras. La elevada variabilidad de la relación celulosa/lignina es esperada para una relación matemática entre variables de respuesta.

**CUADRO 1. CUADRADOS MEDIOS TIPO III PARA CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS O INDICADORES DE CALIDAD DE LOS SUSTRATOS FRESCOS.**

F de V	CM						
	gl	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	C/L	gl	Proteína disponible
Sustrato	2	298.74	275.41**	612.95**	35.82**	2	2071.84**
Canasta (sustrato)	6	2.40 <sup>ns</sup>	9.28 <sup>ns</sup>	61.80	1.34 <sup>ns</sup>	6	18.19 <sup>ns</sup>
Error	8	0.69	4.06	6.86	0.68	9	19.60
Total	16	-	-	-	-	17	-
CV, %		6.68	6.52	14.24	22.49		6.00

C/L= relación celulosa/lignina; \*\* = diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ); ns = no hubo diferencia significativa.

El Cuadro 2 muestra los cuadros medios del análisis de varianza de acuerdo a modelo jerárquico propuesto para las características químicas o indicadores de calidad de los sustratos residuales. Se encontró variabilidad altamente significativa ( $P < 0.01$ ) entre sustratos residuales

para lignina, celulosa y hemicelulosa y proteína disponible, pero ningún efecto significativo para la relación celulosa/lignina. La variabilidad entre canastas dentro de cada sustrato fue altamente significativa ( $P < 0.01$ ) para celulosa y hemicelulosa; significativa ( $P < 0.05$ ) para proteína disponible, pero con

**CUADRO 2. CUADRADOS MEDIOS TIPO III PARA CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS O INDICADORES DE CALIDAD DE LOS SUSTRATOS RESIDUALES.**

F de V	CM							
	gl	Lignina	C/L	gl	Celulosa	Hemicelulosa	gl	Proteína disponible
Sustrato	2	37.45**	0.15 <sup>ns</sup>	2	258.69**	842.71**	2	402.32
Canasta (sustrato)	6	2.92 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	6	88.79*	145.19**	6	5.90
Error	7	3.07	0.34	7	5.74	1.17	9	1.53
Total	14	-	-	15	-	-	17	-
CV, %		15.84	25.99		10.70	12.08		1.77

C/L= relación celulosa/lignina; \*\* = diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ); \* = diferencia significativa ( $P < 0.05$ ); ns = no hubo diferencia significativa.

ningún efecto significativo para lignina y la relación celulosa/lignina ( $P > 0.05$ ). Los CV están dentro de los rangos permitidos, a excepción de la relación celulosa/lignina por las razones antes expuestas.

Después de un periodo de cultivo de 60 días (Cuadro 3), el efecto del crecimiento del hongo sobre los indicadores de calidad fue altamente significativo ( $P < 0.01$ ) en las variables lignina, celulosa y proteína disponible; y significativo para la relación celulosa/lignina ( $P < 0.05$ ). Además, existió una variabilidad altamente significativa ( $P < 0.01$ ) entre las réplicas (canastas) para las variables hemicelulosa y celulosa, pero ninguna variabilidad ( $P > 0.05$ ), para lignina, relación celulosa/lignina y proteína disponible. La diferencia entre el estado fresco y el residual elevó extremadamente la variabilidad (varianza del error) entre

las sub-muestras dentro de cada canasta reflejada a través de los CV.

Se encontró diferencias significativas entre los tres sustratos respecto al contenido de lignina, siendo la pulpa de café el sustrato que en estado fresco mostró el mayor contenido de la misma. Por otra parte, la pulpa de café y la paja de arroz presentaron un mayor contenido de celulosa que la hoja de banano ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, el contenido de hemicelulosa en la pulpa de café fue significativamente menor en comparación con la paja de arroz y la hoja de banano ( $P < 0.05$ ). Se observó una mayor relación celulosa/lignina en la paja de arroz que en la pulpa de café y la hoja de banano. La paja de arroz fue el sustrato que en estado fresco mostró el mayor porcentaje de proteína disponible (Cuadro 4).

**CUADRO 3. CUADRADOS MEDIOS TIPO III PARA LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS VARIABLES DE CALIDAD ENTRE SUSTRATOS FRESCOS VERSUS SUSTRATOS RESIDUALES.**

F de V	CM							
	gl	Lignina	C/L	gl	Celulosa	Hemicelulosa	gl	Proteína disponible
Sustrato	2	100.87**	11.50	2	247.14**	38.15 <sup>ns</sup>	2	665.20*
Canasta (Sustrato)	6	3.30 <sup>ns</sup>	0.54 <sup>ns</sup>	6	139.77*	260.20*	6	19.36 <sup>ns</sup>
Error	6	4.22	1.17	6	13.04	7.40	9	17.58
Total	13	-	-	14	-	-	17	-
CV, %		65.71	331.10		43.06	45.02		107.16

C/L= relación celulosa/lignina; \*\* = diferencia altamente significativa (P<0.01); \* = diferencia significativa (P<0.05); ns = no hubo diferencia significativa.

**CUADRO 4. MEDIAS AJUSTADAS Y ERROR ESTÁNDAR DE LAS VARIABLES DE RESPUESTA POR SUSTRATO EN ESTADO FRESCO.**

Sustrato	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Relación C/L	Proteína disponible
Paja arroz	5.74±0.63 <sup>a</sup>	33.91±1.24 <sup>a</sup>	26.80±2.94 <sup>a</sup>	6.20±0.43 <sup>a</sup>	89.92±1.81 <sup>a</sup>
Pulpa café	20.97±0.73 <sup>b</sup>	36.41±1.43 <sup>a</sup>	5.05±3.39 <sup>b</sup>	1.75±0.55 <sup>b</sup>	53.49±1.81 <sup>b</sup>
Hoja banano	11.75±0.63 <sup>c</sup>	23.15±1.24 <sup>b</sup>	19.10±2.94 <sup>a</sup>	1.98±0.47 <sup>b</sup>	78.09±1.81 <sup>c</sup>

Lignina, celulosa, hemicelulosa y proteína disponible están dadas en porcentaje.

Medias en cada columna seguidas de la misma letra no difieren entre sí (P>0.05).

A pesar de la existencia de distintas variedades de café, arroz y banano, se mantienen las tendencias en la variación de los indicadores de calidad. La pulpa de café es un sustrato de alto contenido de lignina y celulosa y relativamente bajo en hemicelulosa (Campabadal, 1987), lo cual concuerda con los resultados que aquí se presentan.

La literatura revisada al momento de realizar esta investigación, no muestra estudios correspondientes a

los contenidos de proteína disponible en desechos agroindustriales. Respecto a la hoja de banano, dicha literatura presenta datos sobre fibra cruda y no sobre fibra fraccionada (Muez y Pardo, 2001). Los resultados de esta investigación son similares a los obtenidos en otros trabajos (Zhang y col., 2002), en lo concerniente a los contenidos de lignina, celulosa y hemicelulosa en paja de arroz, tomando en cuenta las posibles diferencias en cuanto a la edad y a la variabilidad del material vegetal, entre otros factores.

Después de un período de 60 días de cultivo (Cuadro 5), el contenido de lignina en el residuo de la paja de arroz no presentó diferencias significativas respecto al mismo contenido en la hoja de banano ( $P>0.05$ ). Sin embargo, el contenido de lignina en la pulpa de café fue superior a la hoja de banano y paja de arroz en 52.59 y 42.24%, respectivamente ( $P<0.05$ ).

El contenido de celulosa en los residuos fue similar en todos los sustratos ( $P>0.05$ ), mientras que el contenido de hemicelulosa fue mayor en la paja de arroz que en la pulpa de café. La relación celulosa/lignina fue también similar en los tres residuos ( $P>0.05$ ). La proteína disponible fue mayor en el residuo de paja de arroz ( $P<0.05$ ).

Estos resultados muestran tendencias similares a los obtenidos en otros estudios en paja de arroz y cepas de *Pleurotus ostreatus* (Zhang y col., 2002), tomando en cuenta las variaciones metodológicas respecto al ciclo de cultivo, así como aquellas variaciones mencionadas anteriormente. Se excluye de esta comparación al indicador proteína disponible, pues en

la literatura revisada no se reportan variaciones en el contenido de proteína disponible por efecto del crecimiento de hongos comestibles sobre sustratos lignocelulósicos.

Después del período de cultivo se observó un aumento en el contenido de proteína disponible en la pulpa de café, mientras que se observó disminución en la hoja de banano y en la paja de arroz (Cuadro 6). Como se ha mencionado anteriormente, no existe en la literatura revisada, al momento de realizar esta investigación, reportes sobre los cambios en los contenidos de proteína disponible en un sustrato por efecto del cultivo de hongos comestibles que permita confrontar estos datos con la literatura.

La disminución en el contenido de proteína disponible puede originarse en el pre-tratamiento del sustrato. Puede darse el caso de que se produzcan cambios en las asociaciones covalentes entre el nitrógeno y la lignina, producto del tratamiento térmico de pasteurización. Estas asociaciones covalentes pueden, a su vez, disminuir la "porción" de proteína disponible. Un posible modelo para esta suposición es el siguiente:

**SUSTRATO FRESCO** → **CULTIVO DEL HONGO** → **SUSTRATO RESIDUAL**

(proteína disponible y no disponible)

(proteína disponible en el sustrato, proteína disponible del micelio y proteína que permanece como no disponible)

**CUADRO 5. MEDIAS AJUSTADAS Y ERROR ESTÁNDAR DE LAS VARIABLES DE RESPUESTA POR SUSTRATO RESIDUAL.**

Sustrato	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Relación C/L	Proteína disponible
Paja arroz	9.73±1.04 <sup>a</sup>	18.86±3.85 <sup>a</sup>	24.14±6.35 <sup>a</sup>	2.51±0.23 <sup>a</sup>	76.09±0.50 <sup>a</sup>
Pulpa café	13.84±0.70 <sup>b</sup>	29.11±3.85 <sup>a</sup>	2.60±4.92 <sup>b</sup>	2.11±0.15 <sup>a</sup>	60.63±0.50 <sup>b</sup>
Hoja banano	9.07±0.70 <sup>a</sup>	15.44±4.97 <sup>a</sup>	11.96±4.92 <sup>ab</sup>	2.24±0.15 <sup>a</sup>	73.04±0.50 <sup>c</sup>

Lignina, celulosa, hemicelulosa y proteína disponible están dadas en porcentaje.  
Medias en cada columna seguidas de la misma letra no difieren entre sí (P>0.05).

**CUADRO 6. MEDIAS AJUSTADAS Y ERROR ESTÁNDAR DEL DIFERENCIAL ENTRE EL ESTADO FRESCO DEL SUSTRATO Y EL RESIDUO RESPECTO A LAS VARIABLES DE RESPUESTA POR SUSTRATO.**

Sustrato	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa	Relación C/L	Proteína disponible
Paja arroz	-3.58±1.11 <sup>a</sup>	18.84±6.23 <sup>a</sup>	1.93±8.50 <sup>a</sup>	2.98±0.45 <sup>a</sup>	13.83±1.71 <sup>a</sup>
Pulpa café	7.16±0.86 <sup>b</sup>	7.31±5.57 <sup>a</sup>	7.43±7.60 <sup>a</sup>	-0.37±0.35 <sup>b</sup>	-7.14±1.71 <sup>b</sup>
Hoja banano	2.68±0.74 <sup>c</sup>	4.29±4.82 <sup>a</sup>	7.13±6.58 <sup>a</sup>	-0.26±0.30 <sup>b</sup>	5.05±1.71 <sup>c</sup>

Lignina, celulosa, hemicelulosa y proteína disponible están dadas en porcentaje.  
Medias en cada columna seguidas de la misma letra no difieren entre sí (P>0.05).

Si el tratamiento térmico promueve la formación de productos de Maillard (Van Soest, 1982) y otras asociaciones covalentes y la eficiencia en el uso de la lignina por parte de la cepa no es alta, la porción de proteína disponible inherente al sustrato puede disminuir. Por último, la contribución del micelio en el residuo es relativa.

Uno de los factores que puede incidir es el tiempo de cosecha, ya que el porcentaje de degradación puede variar de acuerdo al mismo. De acuerdo a lo anterior, se recomienda estudios más profundos respecto a la influencia del pre-tratamiento o de otros

factores sobre los contenidos de proteína disponible en los sustratos utilizados para el cultivo de hongos comestibles.

Se observó aumento en el contenido de lignina en la paja de arroz (Cuadro 6) luego del proceso de cultivo, el cual fue significativo (P<0.05) respecto a los diferenciales para los otros dos sustratos, produciéndose en éstos disminución en este contenido. La mayor de estas disminuciones se obtuvo en la pulpa de café (34%). Hanza y col. (2003) encontraron que diferentes cepas de *Pleurotus*, entre ellas *Pleurotus ostreatus*, no mostraron

disminuciones evidentes en los contenidos de lignina, pero si en los contenidos de celulosa y hemicelulosa al utilizar tuza de maíz como sustrato.

La disminución en el contenido de lignina en pulpa de café y hoja de banano (Cuadro 6) inciden positivamente en la calidad de este residuo desde la perspectiva de su posible aprovechamiento como suplemento en la alimentación de rumiantes. Por otra parte, todos los sustratos presentaron disminución en el contenido de celulosa y hemicelulosa ( $P > 0.05$ ).

Se observó aumento en la relación celulosa/lignina para la pulpa de café y la hoja de banano, mientras que para la paja de arroz, esta relación presentó una disminución significativa respecto a los otros dos sustratos ( $P < 0.05$ ). La relación celulosa/lignina se pueden tomar como indicador del grado de delignificación.

Los resultados obtenidos muestran que, producto del crecimiento del hongo, la pulpa de café y la hoja de banano presentaron mayores grados de delignificación que la paja de arroz (Cuadro 6). Sin embargo, las diferencias para la hemicelulosa no presentaron significancia ( $P > 0.05$ ) entre sustratos.

Los rumiantes están adaptados a fuentes de alimento ricas en fibra, pero ésta debe ser de calidad. Dicha calidad

se juzga, entre otros parámetros, por el grado de delignificación, pues la lignina, limita la disponibilidad de la celulosa, hemicelulosa y nitrógeno de la pared celular. En función de lo anterior, los resultados muestran un mejoramiento de la calidad de la pulpa de café en términos de la calidad de fibra y grado de delignificación.

El Cuadro 7 muestra la Prueba de t pareadas para las medias aritméticas (error estándar) del diferencial del sustrato fresco versus el sustrato residual en las variables de respuesta.

En la paja de arroz no se produjeron cambios significativos por efecto del cultivo del hongo en los contenidos de lignina, celulosa, hemicelulosa, ni en la relación celulosa/lignina ( $P > 0.05$ ). Se observó, sin embargo, una disminución altamente significativa en el contenido de proteína disponible. En la pulpa de café, se observó una disminución altamente significativa en el contenido de lignina y celulosa ( $P < 0.01$ ), mientras que el contenido de hemicelulosa no mostró cambios significativos ( $P > 0.05$ ). La relación celulosa/lignina presentó un aumento altamente significativo ( $P < 0.01$ ) y la proteína disponible presentó un aumento significativo ( $P < 0.05$ ). La hoja de banano presentó una disminución significativa en los contenidos de lignina, celulosa y proteína disponible ( $P < 0.05$ ), una disminución altamente significativa en el contenido de hemicelulosa, mientras que la relación celulosa/lignina no mostró cambios significativos.

**CUADRO 7. PRUEBA DE T PAREADA PARA MEDIAS ARITMÉTICAS (ERROR ESTÁNDAR) DEL DIFERENCIAL DEL SUSTRATO FRESCO VERSUS EL SUSTRATO RESIDUAL EN LAS VARIABLES DE RESPUESTA.**

Diferencia	Sustratos		
	Paja de arroz	Pulpa de café	Hoja de banano
dL, %	-2.987 ± 1.574 <sup>ns</sup>	7.332 ± 0.407	2.678 ± 0.888
dC, %	16.030 ± 8.299 <sup>ns</sup>	7.186 ± 0.741	4.292 ± 1.627
dH, %	5.430 ± 10.382 <sup>ns</sup>	5.226 ± 3.344 <sup>ns</sup>	7.133 ± 1.717
DC/L	2.680 ± 1.073 <sup>ns</sup>	0.376 ± 0.052	-0.263 ± 0.305 <sup>ns</sup>
dPD, %	13.83 ± 1.86	-7.14 ± 5.85	5.05 ± 4.14

dL=diferencial para lignina; dC= diferencial para celulosa; dH= diferencial para hemicelulosa; dC/L= diferencial para la relación celulosa/lignina; dPD= diferencial para proteína disponible.  
ns = no hubo diferencia significativa; \* = diferencia significativa (P<0.05); \*\* = diferencia altamente significativa (P<0.01).

El Cuadro 8 muestra los cuadros medios tipo III para el análisis enzimático de la fibra y digestibilidad de los sustratos frescos. Tomando el efecto de la canasta asignada a cada sustrato como fuente de error, para probar la significancia entre sustratos, se observa diferencias reales para PCO, O<sub>B</sub> y DIVMS a P<0.01 y para CCO a P<0.05 (Cuadro 8). Por otra parte, no se encontró variabilidad significati-

va en O<sub>A</sub> (P>0.05). El efecto de la canasta no resultó significativo en ninguno de los analitos (P>0.05). La variabilidad encontrada a través del CV, indica un buen control del error experimental y sus valores están dentro de los parámetros recomendados, excepto para O<sub>A</sub>. Esto es de esperarse, ya que la fracción de alta solubilidad se obtiene mediante una diferencia entre PCO y O<sub>B</sub>.

**CUADRO 8. CUADRADOS MEDIOS TIPO III PARA ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE LA FIBRA Y DIGESTIBILIDAD DE LOS SUSTRATOS FRESCOS.**

F de V	CM					
	gl	CCO	PCO	O <sub>A</sub>	O <sub>B</sub>	DIVMS
Sustrato	2	116.94*	282.47**	8.50 <sup>ns</sup>	316.69**	457.14**
Canasta (Sustrato)	6	2.90 <sup>ns</sup>	6.04 <sup>ns</sup>	11.27 <sup>ns</sup>	6.22 <sup>ns</sup>	39.17 <sup>ns</sup>
Error	9	16.94	6.89	6.20	2.43	16.68
Total	17	-	-	-	-	-
CV, %		18.87	3.81	263.19	2.29	12.91

CCO= contenido celular orgánico; PCO= pared celular orgánica; O<sub>A</sub>=fibra de alta solubilidad; O<sub>B</sub>= fibra de baja solubilidad; DIVMS= digestibilidad *in vitro* de materia seca. ns = no hubo diferencia significativa; \* = diferencia significativa (P<0.05); \*\* = diferencia altamente significativa (P<0.01).

Considerando el efecto de la canasta asignada a cada sustrato como la fuente de error, para probar la significancia entre sustratos, se observa diferencias reales para CCO, PCO,  $O_A$  y  $O_B$ , a  $P < 0.01$ , mientras que para DIVMS no se encontró diferencias sig-

nificativas entre sustratos (Cuadro 9). El efecto de la canasta asignada para  $O_B$  resultó altamente significativo ( $P < 0.01$ ) y significativo para PCO ( $P < 0.05$ ). Los CV estuvieron dentro de los límites permitidos excepto para  $O_A$ .

**CUADRO 9. CUADRADOS MEDIOS TIPO III PARA EL ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE LA FIBRA Y DIGESTIBILIDAD DE LOS SUSTRATOS RESIDUALES.**

F de V	CM					
	gl	CCO	PCO	$O_A$	$O_B$	DIVMS
Sustrato	2	412.32**	51.27**	164.73**	215.75**	54.75 <sup>ns</sup>
Canasta (Sustrato)	6	22.25 <sup>ns</sup>	14.51*	4.17 <sup>ns</sup>	6.32**	13.76 <sup>ns</sup>
Error	9	49.42	3.20	3.61	0.22	13.26
Total	17	-	-	-	-	-
CV, %		15.87	3.35	27.88	1.02	10.20

CCO= contenido celular orgánico; PCO= pared celular orgánica;  $O_A$ =fibra de alta solubilidad;  $O_B$ = fibra de baja solubilidad; DIVMS= digestibilidad *in vitro* de materia seca, ns = no hubo diferencia significativa; \* = diferencia significativa ( $P < 0.05$ ); \*\* = diferencia altamente significativa ( $P < 0.01$ ).

El efecto del cultivo de hongo fue aceptado como altamente significativo para todas las variables de respuesta ( $P < 0.01$ ). Existió una variabilidad significativa ( $P < 0.05$ ) entre las réplicas (canastas) para las variables  $O_A$  y  $O_B$  pero ninguna variabilidad para los demás indicadores (Cuadro 10). Las diferencias entre el estado fresco y el residuo elevaron extremadamente la variabilidad registrada a través de los CV excepto para  $O_B$ .

El Cuadro 11 muestra las medias ajustadas y el error estándar para el análisis enzimático de la fibra y digestibilidad *in vitro* por sustrato en estado fresco.

La pulpa de café es un sustrato conocido por su alto contenido de azúcares libres y nitrógeno, por lo cual es de esperar un alto contenido celular orgánico (Campabadal, 1987). La pulpa de café superó en 24.6% a la paja de arroz y en 49.9% a la hoja de banano en el contenido celular orgánico ( $P < 0.05$ ).

La hoja de banano presentó un mayor contenido de pared celular orgánica, un menor contenido de fracción soluble y mayor contenido de fracción insoluble. Sin embargo, los análisis de DIVMS muestran un porcentaje de digestibilidad del 40% superior al de la pulpa de café.

**CUADRO 10. CUADRADOS MEDIOS TIPO III PARA LAS DIFERENCIAS ENTRE SUSTRATOS FRESCOS Y RESIDUALES RESPECTO A LOS PARÁMETROS DE ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE LA FIBRA Y DIGESTIBILIDAD *in vitro*.**

F de V	CM					
	gl	CCO	PCO	O <sub>A</sub>	O <sub>B</sub>	DIVMS
Sustrato	2	635.93**	128.50**	121.97**	471.37**	724.00**
Canasta (Sustrato)	6	15.91 <sup>ns</sup>	9.12 <sup>ns</sup>	19.52*	10.86*	33.58 <sup>ns</sup>
Error	9	32.31	7.85	3.79	2.93	33.73
Total	17	-	-	-	-	-
CV, %		-25.28	18.11	-33.17	8.02	-142.65

CCO= contenido celular orgánico; PCO= pared celular orgánica; O<sub>A</sub>=fibra de alta solubilidad; O<sub>B</sub>= fibra de baja solubilidad; DIVMS= digestibilidad *in vitro* de materia seca; ns = no hubo diferencia significativa; \* = diferencia significativa (P<0.05); \*\* = diferencia altamente significativa (P<0.01).

**CUADRO 11. MEDIAS AJUSTADAS Y EL ERROR ESTÁNDAR PARA EL ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE LA FIBRA Y DIGESTIBILIDAD *in vitro* POR SUSTRATO EN ESTADO FRESCO (en porcentaje).**

Sustrato	CCO	PCO	O <sub>A</sub>	O <sub>B</sub>	DIVMS
Paja arroz	35.32±1.92 <sup>a</sup>	51.34±1.55 <sup>a</sup>	11.51±0.83 <sup>a</sup>	39.82±1.03 <sup>a</sup>	32.25±1.51 <sup>a</sup>
Pulpa café	45.88±1.92 <sup>b</sup>	52.26±1.55 <sup>ab</sup>	1.17±0.83 <sup>b</sup>	51.09±1.03 <sup>b</sup>	37.88±1.51 <sup>b</sup>
Hoja de banano	51.66±1.92 <sup>b</sup>	56.80±1.55 <sup>b</sup>	7.78±0.83 <sup>c</sup>	49.02±1.03 <sup>b</sup>	36.96±1.51 <sup>ab</sup>

Medias de columnas seguidas de la misma letra no difieren entre sí (P>0.05).

De acuerdo al Cuadro 12, la hoja de banano residual presentó el mayor contenido celular orgánico. El menor contenido celular orgánico se dio en la paja de arroz residual, sin embargo, la fracción soluble O<sub>A</sub> resultó ser mayor con respecto a los otros dos sustratos residuales (P<0.05).

Después de 60 días de cultivo (Cuadro 13) se obtuvo un aumento en

el contenido celular orgánico para todos los sustratos, siendo mayor este contenido en la hoja de banano que en la paja de arroz y la pulpa de café (P<0.05). Por otra parte, todos los sustratos presentaron una disminución en el contenido de pared celular orgánica, siendo menor esta disminución para la pulpa de café. Sin embargo, el aumento en la fracción soluble de la pared celular orgánica fue mayor para

la paja de arroz y la hoja de banano. Así mismo, la porción insoluble de la pared celular orgánica experimentó disminución en todos los sustratos, siendo

menor la disminución para la pulpa de café. Este sustrato mostró aumento en la DIVMS el cual mostró diferencia significativa respecto al cambio en el mismo parámetro para los otros sustratos.

**CUADRO 12. MEDIAS AJUSTADAS Y EL ERROR ESTÁNDAR PARA EL ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE LA FIBRA Y DIVMS POR SUSTRATO EN ESTADO RESIDUAL (en porcentaje).**

Sustrato	CCO	PCO	O <sub>A</sub>	O <sub>B</sub>	DIVMS
Paja arroz	-14.08±1.63 <sup>a</sup>	16.55±1.23 <sup>a</sup>	-9.21±1.80 <sup>a</sup>	25.76±1.34 <sup>a</sup>	4.92±2.36 <sup>a</sup>
Pulpa café	-19.41±1.63 <sup>a</sup>	10.39±1.23 <sup>b</sup>	-0.74±1.80 <sup>b</sup>	11.14±1.34 <sup>b</sup>	-16.31±2.36 <sup>b</sup>
Hoja banano	-33.96±1.63 <sup>b</sup>	19.46±1.23 <sup>a</sup>	-7.67±1.80 <sup>a</sup>	27.13±1.34 <sup>a</sup>	-0.81±2.36 <sup>ac</sup>

Medias de columnas seguidas de la misma letra no difieren entre sí (P>0.05).

**CUADRO 13. MEDIAS AJUSTADAS Y ERROR ESTÁNDAR DEL DIFERENCIAL ENTRE EL ESTADO FRESCO Y EL RESIDUO DE LAS VARIABLES DE RESPUESTA (ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE LA FIBRA Y DIGESTIBILIDAD *in vitro* DE MATERIA SECA) POR SUSTRATO (en porcentaje).**

Sustrato	CCO	PCO	O <sub>A</sub>	O <sub>B</sub>	DIVMS
Paja arroz	-14.08±1.63 <sup>a</sup>	16.55±1.23 <sup>a</sup>	-9.21±1.80 <sup>a</sup>	25.76±1.34 <sup>a</sup>	4.92±2.36 <sup>a</sup>
Pulpa café	-19.41±1.63 <sup>a</sup>	10.39±1.23 <sup>b</sup>	-0.74±1.80 <sup>b</sup>	11.14±1.34 <sup>b</sup>	-16.31±2.36 <sup>b</sup>
Hoja banano	-33.96±1.63 <sup>b</sup>	19.46±1.23 <sup>a</sup>	-7.67±1.80 <sup>a</sup>	27.13±1.34 <sup>a</sup>	-0.81±2.36 <sup>ac</sup>

Medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí (P>0.05).

En la paja de arroz (Cuadro 14) se presentaron aumentos altamente significativos en el contenido celular y en la fracción soluble y disminuciones altamente significativas (P<0.01) en la pared celular orgánica y fracción de baja solubilidad. La digestibilidad *in vitro* no mostró cambios por efecto del crecimiento del hongo.

La pulpa de café presentó aumentos altamente significativos (P<0.01) en el contenido celular orgánico y en la digestibilidad *in vitro* (Cuadro 14); no se produjeron cambios en la fracción soluble. Por otra parte, la pulpa presentó disminución altamente significativa en la pared celular orgánica y la fracción insoluble.

**CUADRO 14. MEDIAS ARITMÉTICAS Y ERROR ESTÁNDAR DE LA PRUEBA DE T PARA EL DIFERENCIAL DENTRO SUSTRATO ENTRE EL ESTADO FRESCO VERSUS ESTADO RESIDUAL POR INDICADOR DE CALIDAD.**

Diferencia en %	Sustratos		
	Paja de arroz	Pulpa de café	Hoja de banano
dCCO	-14.08 ± 2.14**	-19.41 ± 0.98**	-33.96 ± 2.70**
dPCO	16.03 ± 1.25**	10.39 ± 0.73**	19.45 ± 1.44**
dO <sub>A</sub>	- 9.20 ± 1.04**	- 0.74 ± 1.32 <sup>ns</sup>	- 7.67 ± 1.48**
dO <sub>B</sub>	25.76 ± 0.62**	11.14 ± 1.14**	27.13 ± 1.16**
dDIVMS	4.92 ± 2.53 <sup>ns</sup>	-16.31 ± 1.022**	- 0.81 ± 3.07 <sup>ns</sup>

dCCO = diferencial para contenido celular orgánico; dPCO = diferencial para pared celular orgánico; dO<sub>A</sub> = diferencial para fracción soluble; dO<sub>B</sub> = diferencial para fracción insoluble; dDIVMS = diferencial para digestibilidad *in vitro* de la materia seca; ns = no hubo diferencia significativa; \* = Diferencia significativa (P<0.05); \*\* = Diferencia altamente significativa (P<0.01).

De la misma forma, la hoja de banano presentó aumentos altamente significativos en su contenido celular orgánico y la fracción soluble de la pared celular orgánica. Por su parte, la digestibilidad *in vitro* de materia seca no presentó cambios significativos. La pared celular orgánica y la fracción insoluble presentaron disminución significativa.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con la metodología aplicada y los resultados del presente estudio se concluye lo siguiente:

- ◆ El proceso de bioconversión sobre los sustratos producto del cultivo del hongo fue observado en todos los sustratos en función de cambios observados en diferentes variables de respuesta.

- ◆ Este proceso es considerado positivo por su efecto sobre la calidad de los sustratos en función de la disminución del contenido de lignina, excepto para la paja de arroz. Para la pulpa de café se observó el efecto de delignificación en términos de los cambios en la relación celulosa/lignina.
- ◆ El proceso mejoró también la calidad de la pulpa de café en términos del aumento de la proteína disponible.
- ◆ De acuerdo a los resultados del análisis enzimático de la fibra, el efecto del proceso del cultivo del hongo incidió positivamente sobre la calidad de los sustratos.
- ◆ El proceso mejoró también la calidad de la pulpa de café en términos de la digestibilidad *in vitro* de materia seca.

## RECOMENDACIONES

- \* Evaluar los efectos de la temperatura de pasteurización sobre la calidad del sustrato.
- \* Elaborar diseños experimentales que permitan correlacionar las metodologías disponibles para la estimación de la digestibilidad, así como los rendimientos en la producción de hongos respecto al grado de bioconversión de los sustratos utilizados.
- \* Es necesario considerar otras cepas, otros materiales lignocelulósicos, el tamaño de partícula del sustrato, y el uso de diferentes partes del mismo material vegetal (tallos, hojas), así como la edad de los desechos lignocelulósicos.
- \* Utilizar los valores de proteína disponible y no de proteína cruda cuando se valora el mejoramiento de la calidad nutricional de un sustrato, por efecto del cultivo de hongos comestibles.
- \* La valoración de la calidad nutricional debe complementarse con la determinación de sustancias antifisiológicas presentes en los sustratos.

## Agradecimiento

El presente trabajo fue posible gracias a la colaboración de: Fundación Natura; Fideicomiso Ecológico de Panamá y Programa Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) a través del sub programa IV: Biomasa como fuente de productos químicos y energía.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADAMOVI'Ć, M.; BRUBI'Ć, G.; MILENKOVI'Ć, I.; JOVANOVI'Ć, R.; PROTI'Ć, R.; SRETENOVI'Ć, L.; SOTI'ĆEVI'Ć, L.J. 1998. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Animal Feed Science and Technology* 71: 357-362.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1976. *Official Methods of Analysis*. 12<sup>th</sup> ed. Washington D.C., USA.
- BUSWELL, J.A.; CLA, Y.J.; CHANG, S.T.; PEBERDY, J.F.; FU, S.Y.; YU, H.S. 1996. Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 12: 537-542.

- CAMPABADAL, C. 1987. Utilización de la pulpa de café en la alimentación de animales. Universidad de Costa Rica. Memorias del 3er Simposio Internacional sobre la utilización racional de los sub-productos del café. Guatemala. pp. 37-44.
- CHACÓN, O.; MORI, N.; BARROSO, U.; DELGADO, A.; DE GRACIA, M.; GUERRA, P.; CABALLERO, I.; GONZÁLEZ, R. 2004. Composición bromatológica y digestibilidad de los principales pastos de Panamá. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá. Agencia de Cooperación Internacional del Japón. Panamá. p. 52.
- COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. 2002. Biotechnological applications of potential wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58 (5): 582-594.
- CRG (Contraloría General de la República). 2001. Panamá en cifras. Dirección de Estadística y Censo. Panamá, Panamá.
- GUZMÁN, G.; MATA, G.; SALMONES, D.; SOTO-VELASCO, C.; GUZMÁN-DÁVALOS, L. 1993. El cultivo de hongos comestibles con especial atención a especies tropicales en esquilmos y residuos agroindustriales. IPN. México. pp. 75-91.
- HANZA, A.S.; MOHAMMADY, T.F.; MAJCHEACZYK, A. 2003. Evaluation of five oyster mushrooms species grown on corn stalks to be used as animal feed. Proceedings of the International Symposium on the horizons of using organic matter substrates in horticulture (608): 141-148.
- JLTA (Japan Livestock Technology Association). 2000. Technical Manual for Feed Analysis. Japan. pp.10-14.
- LEIFA, F.; PANDEY, A.; ZOCLO, C.R. 2000. Solid state cultivation-an efficient method to use agro-industrial residues. *Journal of Basic Microbiology* 40 (3): 187-197.
- MUEZ, M.A.; Pardo, J. 2001. La preparación del sustrato. *En La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Sánchez, J.E. y Royse, D. (eds). Limusa, S.A. México, D.F.
- RAJARATHNAM, S.; SHASHIREKHA, M.; BANO, Z. 1998. Biodegradative and biosynthetic capacities of Mushrooms: Present and Future Strategies. *Critical Reviews in Biotechnology* 18 (2/3): 91-236.
- SEARLE, S.R. 1971. Linear models. eds. John Wiley and Sons. New York, USA.

- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Journal of British Grassland Society 18: 104-111.
- VAN SOEST, P. 1982. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Books Inc. USA. pp. 81-84, 107-109.
- VEGA, A.; CABALLERO, R.E.; GUERRA, P. 2003. Caracterización química de desechos agroindustriales y efecto de la pasteurización para su utilización como sustratos en el cultivo de hongos comestibles. Ciencia Agropecuaria (Panamá) (14): 1-14.
- VEGA, A.; CABALLERO, R.E.; GARCÍA, J.R.; GUERRA, P. 2004. Utilización de materiales lignocelulósicos como sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Ciencia Agropecuaria (Panamá) (17): 17-30.
- WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. 2001. Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain. Bioresource Technology 78: 293-300.
- ZHANG, R.; LI, X.; FADEL, J.G. 2002. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. Bioresource Technology 82: 277-284.