

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y**  
**AGROPECUARIAS**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**EFECTO DEL CRECIMIENTO DE LOS HONGOS *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD DEL RASTROJO DE MAÍZ.**

TRABAJO QUE CON EL CARACTER DE  
T E S I S  
P R E S E N T A

**BIÓL. CONRADO SOTO VELAZCO**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS DE LA  
NUTRICIÓN ANIMAL

Director: M. en C. Juan Taylor Preciado

Asesor: Ph. D. Rogelio Orozco Hernández

Zapopan, Jalisco, octubre de 1998

30/10/98  
P/OZ  
ANEXO  
ed. 2



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y GROPecuARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

H. COMISIÓN DE POSGRADO  
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

PRESENTE.-

Por este conducto nos permitimos enviar la **VERSIÓN FINAL** de la **TESIS** que desarrolló el pasante: Conrado Soto Velazco cuyo título es:

**Efecto del crecimiento de los hongos *Pleutotus ostreatus* y *P. pulmonarius* sobre la composición química y digestibilidad del rastrojo de maíz.**

Trabajo dirigido por: **M. en C. Juan Taylor Preciado**

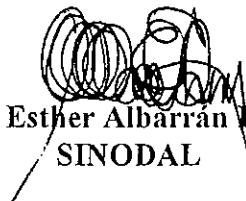
Asesorado por: **Dr. Rogelio Orozco Hernández**

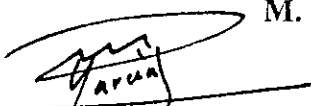
Los que suscriben la presente avalan esta versión, la cual fue revisada en forma colegiada y reúne los requisitos metodológicos necesarios para su impresión y defensa.

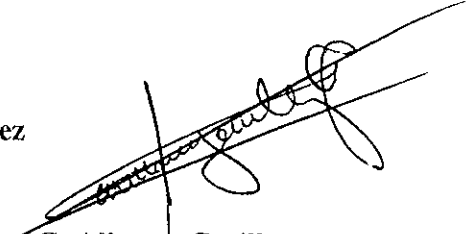
**A T E N T A M E N T E**

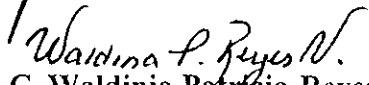
**“PIENSA Y TRABAJA”**


Las Agujas, Nextipac, Mpio. de Zapopan, Jal., a 8 de octubre de 1998

  
M. en C. Esther Albarrán Rodríguez  
SINODAL

  
M. en C. Pedro García López  
SINODAL

  
M. en C. Alberto Casillas  
SINODAL

  
M. en C. Waldinia Patricia Reyes  
Velázquez  
SINODAL

  
M. en C. María de Lourdes Isaac Virgen  
SINODAL

La presente investigación se desarrolló en el Departamento de Producción Animal y el Departamento de Botánica y Zoología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara bajo la Dirección del M. en C. Juan Taylor Preciado y la Asesoría del Ph. D. Rogelio Orozco Hernández

## **DEDICATORIA**

***Esta Tesis está dedicada con mucho respeto y cariño a:***

***Biól. Isela Alvarez Barajas y nuestros pequeños primordios: Uriel, Edgar y Andrea,  
quiénes me apoyaron con su presencia y entusiasmo durante el desarrollo de este trabajo.***

***A mis padres: Nazario Soto Hernández y Dolores Velazco de Soto, por su incansable labor.***

***A mis hermanos: Lydia, Maura, Silvia, Ricardo, Maribel y Minerva (y sus asociados).***

***Al Señor José Alvarez Chávez y Sra. Ma. Creencia Barajas Ponce por su estímulo y aprecio.***

***Al Dr. Gastón Guzmán Huerta  
Investigador Nacional Emérito***

'Como los hongos, no se encontrarían otros seres  
que fuesen a un tiempo  
tan encomiados y tan detestados  
de profanos y de sabidos,  
del vulgar y del prestante.

Porque son buenos para todo,  
para lo mejor y para lo peor  
para las sabrosas digestiones y las lentas agonías,  
para el pincel del artista y  
para el encarnizamiento destructor del ignorante.

Antes de caer en podredumbre  
son como esplendidas flores:  
la doble imagen de la vida y de la belleza,  
la de la muerte y la de la nada  
vienen a superponerse en su efímero  
ciclo vital'

ROGER SEJMY  
'LES CHAMPIGNONS'  
1948

## AGRADECIMIENTOS

Al M. en C. Juan Taylor Preciado por la dirección del presente trabajo, así como las observaciones realizadas durante el desarrollo de la presente investigación. Al Dr. Rogelio Orozco Hernández por la asesoría brindada y el tiempo dedicado al análisis de los resultados. Así mismo, se hace un reconocimiento al Dr. Manuel Palma de la Universidad de Colima y a la Q.F.B. Yolanda Partida Ortiz del Depto. de Salud Pública, por haber proporcionado los borregos empleados en este estudio.

A la M. en C. Laura Guzmán Dávalos por el apoyo recibido durante su gestión como Jefe del Departamento de Botánica y Zoología. A la Dra. Irma Elizondo Jefe del Departamento de Producción Animal por las facilidades otorgadas para el desarrollo del experimento. A la M. V. Z. Hortencia Verdín Sánchez por su colaboración en la utilización de los corrales. Al M. en C. Gerardo Estrada por su asistencia y asesoría en el manejo de los borregos y los estudios de digestibilidad.

Al M. en C. Pedro García López se le agradece las sugerencias, comentarios y la discusión en los estudios de digestibilidad. Al M. en C. Ramón Rodríguez y al Biól. Sergio Fausto por su ayuda en algunas de las etapas del presente estudio. Al Ing. Eduardo Salcedo por el traslado de los borregos. Al Dr. Jacinto Bañuelos por el apoyo brindado en la presentación del documento final.

A los C. M. en. C. Esther Albarran, M. en C. Waldina Patricia Reyes, M. en C. Lourdes Issac Virgen, M. en C. Alberto Casillas y al M. en C. Pedro García López por las opiniones vertidas al presente documento. Finalmente un agradecimiento al M. en C. Mario Alberto Ruíz López , a la M. en C. Lucía Barrientos, M. en C. Francisco Zamora, M. en C. Armando Arías García, Biól. Isela Alvarez y Cesar Trejo Robles que de alguna forma contribuyeron en el estudio.

## CONTENIDO

RESUMEN	iii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
JUSTIFICACIÓN	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS PARTICULARES	9
HIPÓTESIS	10
MATERIAL Y MÉTODOS	11
I. Cultivo de <i>Pleurotus</i>	11
a. Molienda del Rastrojo.	11
b. Pasteurización.	11
c. Obtención de inóculo o "semilla".	11
d. Inoculación del rastrojo de maíz.	12
e. Incubación y fructificación de los hongos.	12
II. Evaluación del rastrojo de maíz residual del cultivo de hongos.	13
1. Caracterización química del Rastrojo de maíz.	13
2. Prueba de digestibilidad <i>in situ</i> .	13
3. Prueba de digestibilidad <i>in vitro</i> (DIVMS)	15
RESULTADOS	17
1. Efecto del hongo <i>Pleurotus</i> sobre la degradación del rastrojo de maíz.	17
2. Efecto de <i>Pleurotus</i> , sobre la composición químico proximal del rastrojo de maíz.	17
3. Digestibilidad <i>in situ</i>	27
a). Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca.	27
b). Digestibilidad <i>in situ</i> de la Fibra Detergente Neutro (DISFDN).	35
c). Digestibilidad <i>in situ</i> de la Fibra Detergente Ácido (DISFDA).	39
d). Digestibilidad <i>in situ</i> de la proteína (DISP).	43
2. Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca.	47



	ii
DISCUSIÓN	49
CONCLUSIONES	56
BIBLIOGRAFÍA	57
APENDICES	62

## RESUMEN

Se estudió al rastrojo de maíz una vez utilizado en el cultivo comercial de dos especies de *Pleurotus*: *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*. Se encontró que los hongos disminuyen la materia seca del rastrojo hasta en un 70 %; así mismo se incrementa el porcentaje de proteína cruda hasta un 140 % con la cepa de *P. ostreatus* y de 56 % con la de *P. pulmonarius*. Por otra parte la fracción de FDN disminuye de 81.46 % en el rastrojo testigo a 41.82 % en el rastrojo colonizado con la cepa de *P. ostreatus* y 39.2% con la de *P. pulmonarius*. En el caso de la FDA se encontró un aumento a los 25 días de colonización del rastrojo con ambas cepas, en relación al rastrojo testigo de 40.48 % a 50.29 % con *P. ostreatus* y de 52.33 % con *P. pulmonarius*; a los 60 días de colonización la FDA disminuyó a valores de 29.12 % y 34.75 % respectivamente. En cuanto a la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz, se encontró que el mayor porcentaje de digestibilidad se obtiene con el propagado durante 60 días con la cepa de *P. ostreatus* y un período de fermentación en rumen de 48 horas, En general se puede decir que los mejores porcentajes de digestibilidad se obtuvieron a las 48 horas de fermentación en rumen y con 60 días de crecimiento del micelio de ambas cepas sobre el rastrojo de maíz. La mejor digestibilidad de la FDN se obtuvo con la cepa de *P. ostreatus* con rastrojo propagado durante 60 días y un período de fermentación en rumen de 72 horas. La mayor digestibilidad de la FDA se obtuvo con la cepa de *P. pulmonarius* en el rastrojo de maíz propagado durante 60 días y un período de fermentación en rumen de 72 horas. En cuanto a la digestibilidad de la proteína cruda esta fue de 63.7 % con la cepa de *P. ostreatus* con 60 días de propagación sobre el rastrojo de maíz y 48 horas de fermentación en rumen y de 61.64 % con la cepa de *P. pulmonarius* con 25 días de propagación en el rastrojo y 48 horas de fermentación en rumen. La digestibilidad *in vitro* del rastrojo de maíz en este caso se obtuvieron los resultados más altos con la cepa de *P. pulmonarius* con 25 y 60 días de propagación en el rastrojo de maíz con 68.12 % y 59.79 % respectivamente. Con base en lo resultados obtenidos, se puede concluir que el crecimiento del micelio de ambas cepas sobre el rastrojo de maíz, proporcionan una mayor digestibilidad de los componentes del rastrojo, así mismo es necesario considerar el tiempo de colonización sobre el rastrojo, con la finalidad de obtener un mayor rendimiento en los porcentajes de digestibilidad. El rastrojo residual del cultivo de *Pleurotus* puede ser considerado como una opción en dietas para animales, sin embargo es necesario realizar pruebas *in vivo* que ayuden a determinar el comportamiento animal y ganancia de peso.

## INTRODUCCIÓN

El sol es la fuente de energía más importante para el planeta tierra, la cual es fijada por las plantas en forma de biomasa a través de la fotosíntesis, según cálculos más de 100 millones de toneladas de carbono por día son convertidas de  $\text{CO}_2$  en azúcares orgánicos ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ), que más tarde son transformados en celulosa, hemicelulosa, lignina, proteínas, grasas, etc. (8).

La celulosa y hemicelulosa son fuentes potenciales de energía renovable, que junto con la lignina se encuentran en todo el reino vegetal, sin embargo, son compuestos complejos e insolubles y de difícil degradación. Los únicos organismos que pueden aprovechar estos compuestos son algunas bacterias y la mayoría de hongos superiores, ya que poseen enzimas capaces de romper los enlaces lignocelulósicos de las paredes celulares que constituyen a las plantas (18).

En la naturaleza los hongos saprofitos juegan un papel importante en el reciclaje de la materia orgánica, ya que transforman esos compuestos en su beneficio de una manera más rápida y eficiente que las bacterias. Con base en la capacidad de los hongos de crecer sobre los desechos vegetales, se realizan cultivos de hongos comestibles en desechos agroindustriales y esquilmos agrícolas, con la finalidad de aprovechar las fructificaciones o carpóforos para consumo humano (19). De acuerdo a Zadrazil (39), un substrato basado en paja se descompone en lo siguiente: 50% se libera como  $\text{CO}_2$ ; 20% como agua; 10% en las fructificaciones y el 20% restante queda como substrato residual

El cultivo comercial de los hongos ha prosperado en diversas partes del mundo y México no es la excepción, en el que se cultiva el champiñón (*Agaricus* spp.) y las setas (*Pleurotus* spp.). Esta actividad genera un substrato residual o "agotado" por el hongo que puede ser utilizado en la alimentación de rumiantes (39). La utilización de este residuo, por ser la más sencilla, es mediante su incorporación al suelo mezclado con tierra, para su

biodegradación de forma natural. En Jalisco, el cultivo de las setas genera importantes cantidades de substrato residual, del cual se calcula un monto de 15 toneladas al mes.

Los materiales residuales del cultivo de hongos, han demostrado la acumulación de sustancias de fácil solubilidad, tales como azúcares y aminoácidos, que de cierto modo van a determinar la calidad nutritiva de estos materiales (25). En términos generales, se puede decir que durante la fase de colonización o crecimiento vegetativo del hongo (20 a 25 días), el substrato posee los productos de la acción enzimática fungica, por lo que se encuentra parcialmente degradado por efecto de estos. En la fase de fructificación o reproductora, parte de los nutrimentos absorbidos en el talo fúngico, se traslocarán hacia los carpóforos, por lo que la presencia de nutrimentos en el substrato disminuyen para el hongo, el cual los acumula en el talo fúngico hasta que muere (70 a 80 días). El conjunto de micelio formado y que se encuentra adherido al substrato y lo que queda del substrato original se le denomina substrato residual.

Respecto a la disponibilidad de rastrojo de maíz en México, se calcula que en 1996 fue de 10'014,418 toneladas, con base en los volúmenes de maíz producidos, del orden de 18'025,952 toneladas y tomando en cuenta una relación de 1.8:1 Entre los principales estados productores de maíz destaca en primer lugar el de Jalisco y en orden decreciente los estados de México, Sinaloa, Chiapas y Veracruz; en Jalisco se calcula una disponibilidad de rastrojo de maíz del orden de 1'271,831.1 toneladas (28). Con base en la disponibilidad de rastrojo en Jalisco, y tomando como base lo mencionado por Zadrazil (39), se tiene un potencial de rastrojo de maíz residual que pudiera provenir del cultivo de hongos de 254,366.22 toneladas al año.

## REVISIÓN DE LITERATURA

Los residuos lignocelulósicos constituyen una fuente de energía, que puede utilizarse para varios fines, uno de ellos es la alimentación de rumiantes, sin embargo, su baja digestibilidad limita el empleo de estos residuos en su totalidad, por lo que diversos investigadores han intentado incrementar o mejorar la calidad de esquilmos y residuos agroindustriales a través de tratamientos físicos, químicos o biológicos (9, 30).

En el caso de los tratamientos biológicos, se han utilizado bacterias, levaduras y hongos superiores, los cuales por medio del ataque enzimático a los enlaces lignocelulósicos, incrementan la disponibilidad de nutrimentos de los subproductos (16). En lo que respecta a los hongos, se han detectado diversas enzimas involucradas en la degradación de los componentes de la pared celular, entre ellas se pueden mencionar: lacasas, catecol oxidasas, tirosinasas, peroxidasas y celulasas (21, 24, 27), las cuales se activan en las diversas fases del crecimiento de los hongos.

De acuerdo a los cambios físicos de color que provocan los hongos cuando pudren la materia orgánica (MO), se clasifican en hongos de pudrición oscura y hongos de pudrición blanca. Los de pudrición oscura tienen la capacidad de modificar la estructura molecular de la lignina, sin llegar a degradarla, y los de pudrición blanca tienen la capacidad de romper la estructura de la lignina y metabolizar sus componentes; en este último grupo se encuentran las especies de *Pleurotus* (18).

Hrubant (16) comparó la fermentación sólida de desechos lignocelulósicos con hongos de pudrición blanca y lactobacilos y determinó que los hongos mejoran la calidad con base en que proporcionan una dieta alta en carbono propia para rumiantes y los lactobacilos en nitrógeno y energía. Concluye que la fermentación de desechos lignocelulósicos con hongos y lactobacilos representan un potencial que debe ser explotado.

Abdullah *et al.* (1) determinaron las condiciones óptimas para el crecimiento de *Chaetomium cellulolyticum* en paja de trigo para la obtención de proteína. Hataka y Pirhone (14) realizaron un estudio con hongos destructores de madera, para la obtención de proteína cruda (PC). Probaron 8 especies de hongos y los inocularon en pajas de avena, cebada, arroz y trigo, así como desechos de granos de maíz. Sus resultados indican que los materiales lignocelulósicos, pueden enriquecerse con proteína fúngica, pero señalan que el proceso no es económicamente rentable, si se destina únicamente a la obtención de proteína.

En un estudio realizado por Wood y Leathman (38) sobre el efecto degradador del hongo *Agaricus bisporus* sobre la lignina y celulosa, encontraron que existe un incremento en la degradación de la celulosa con relación a la lignina; así mismo se observó, que la degradación se incrementa cuando ocurre la formación de los carpóforos. En cuanto a la lignina, se encontró que no fue degradada significativamente conforme avanzó el crecimiento del hongo.

Bakshi y Langar (2) estudiaron el substrato residual después de haber cultivado el champiñón (*Agaricus bisporus*) como alimento para búfalos. Dicho material fue incluido en el alimento en proporción del 20 y 40%, en comparación con un concentrado comercial. Encontraron que este material no tiene efecto en el consumo de alimento, agua, digestibilidad de nutrimentos, ni retención de nitrógeno. La PC y el total de nutrimentos digestibles calculados para el substrato residual resultaron digestibles 6.8 y 55%, por lo que concluyeron que el nitrógeno de este material es aprovechable para los búfalos.

Para el caso específico del hongo *Pleurotus*, Streeter *et al.* (31) probaron el efecto sinérgico de *Pleurotus ostreatus* y la bacteria *Erwinia carotovora*, sobre la paja de trigo; como resultado obtuvieron un incremento en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (MS) de la paja.

En un estudio realizado por Beg *et al.* (4) con cascarilla de arroz para producir un alimento para rumiantes por medio de la inoculación del hongo *Pleurotus ostreatus*, encontraron que el contenido de proteína se incremento en un 332%, mientras que la fibra cruda, celulosa y lignina disminuyeron 35.4, 19.7 y 40.9%, de forma comparativa. El coeficiente de digestibilidad *in situ* de la cascarilla testigo fue de 18.58% y de la cascarilla de arroz degradada por el hongo durante un período de 35 días fue de 33.34%. Con un resultado de un incremento en el coeficiente de digestibilidad de 79.4%.

Ortega *et al.* (23) analizaron el efecto del hongo *P. ostreatus* en la composición química y digestibilidad *in vitro* de la paja de cebada; en este caso determinaron que el porcentaje de PC se mantuvo constante tanto en la paja sin el hongo, como en la paja colonizada por el micelio del hongo; no así el contenido de celulosa y hemicelulosa el cual disminuyó con relación a la lignina, la cual permaneció constante. En cuanto a la digestibilidad *in vitro* de la MS, esta no mostró diferencias entre la paja control y la inoculada con el micelio; estos autores (23) concluyen la necesidad de buscar cepas que degraden de forma más eficiente a la lignina, lo cual concuerda con los estudios que realiza Leal-Lara (18) y Ramírez (26) respecto a la obtención de cepas de *Pleurotus* acelulolíticas.

En otro sentido, Kamra y Zadrazil (17, 40) determinaron que las concentraciones de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, tienen un efecto significativo en la degradación de la paja de trigo con los hongos *P. eringy* y *P. sajor-caju*. Con volúmenes por debajo del 20% de O<sub>2</sub> se afecta de manera negativa la pérdida de MO, degradación de lignina y digestibilidad de la paja; con concentraciones de 10 al 30% de CO<sub>2</sub> disminuye la pérdida de MO y digestibilidad de la paja. Por otro lado, encontraron que el micelio de *Pleurotus* spp. bajo condiciones de obscuridad tiene un mayor efecto sobre la digestibilidad de la paja.

Tripathi y Yadam (35) evaluaron el efecto que tienen las condiciones de cultivo sobre la biodegradación, producción de proteína y digestibilidad *in vitro* de la MS de la paja de trigo, al inocularla con una cepa de *P. ostreatus*. Los parámetros evaluados fueron: pH,

contenido de humedad, temperatura y período de crecimiento; los resultados indican que las condiciones óptimas corresponden a un pH de 5.5, humedad del 55%, temperatura de 22°C y un período de incubación de 22 días; así mismo se encontró un aumento de la digestibilidad del 50%.

Respecto a la toxicidad del substrato residual Bano *et al.* (3), realizaron un estudio cromatográfico del contenido de micotoxinas, que se pudieran presentar en la paja de arroz residual del cultivo de *Pleurotus sajor-caju*; además, realizaron un ensayo alimentando ratas con dietas que contenían 4, 12 y 24% de substrato residual. Sus resultados demostraron que no existía ninguna aflatoxina, ocratoxina, esterigmatocistina, zeralenona, patulina, ácido penicilínico o citrina. En cuanto a las ratas alimentadas con las dietas de 4 y 12% presentaron un aumento de peso corporal semejante al grupo control, a diferencia de las alimentadas con la dieta de 24%, las cuales no mostraron aumento significativo de peso. Los órganos internos (hígado, riñón, corazón, cerebro, testículos, ovarios, pulmones, etc.), así como estudios histopatológicos y hematológicos resultaron similares a las ratas testigo.

De forma general se podría considerar que los antecedentes del presente trabajo, hacen referencia a pajas, condiciones de ambiente gaseoso y digestibilidades *in vitro*, así como cepas de *Pleurotus* no cultivadas en México; asimismo, para la inoculación y el crecimiento de los hongos se manejan condiciones óptimas de laboratorio, las cuales distan mucho de las encontradas en la práctica del cultivo de *Pleurotus* en el ámbito comercial. Por otra parte, en Jalisco el substrato de cultivo básicamente es rastrojo de maíz, por su disponibilidad en la región. Con base en esto, se planteó analizar el rastrojo de maíz residual del cultivo de *Pleurotus* en el ámbito comercial.



## JUSTIFICACIÓN

Dado que en el estado de Jalisco y en el país, se ha incrementado el interés en el cultivo de hongos comestibles, han surgido explotaciones que cultivan de forma comercial el *Pleurotus* spp. sobre rastrojo de maíz, por lo que se tiene disponibilidad de substrato residual, resultante del cultivo de los hongos, que podría emplearse en la alimentación de rumiantes. Sin embargo, es necesario caracterizar el rastrojo de maíz colonizado durante 25 y 60 días por el micelio de los hongos *Pleurotus*, con la finalidad de determinar la influencia en su composición química y digestibilidad *in situ* e *in vitro*, para su posible utilización en alimentación de rumiantes. En el presente trabajo se estudió el residuo de rastrojo de maíz empleado como substrato en el cultivo de dos especies de *Pleurotus*.

Investigación  
del  
Soyuzmash

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con la finalidad de dar un aprovechamiento práctico, al rastrojo de maíz residual, resultante como subproducto del cultivo comercial de los hongos *Pleurotus*, mediante su incorporación a la alimentación de rumiantes, además de contribuir al reciclaje rápido de diversos esquilmos y residuos agroindustriales, se estudió como afecta el crecimiento de los hongos la composición químico proximal del rastrojo del maíz a diferentes tiempos de colonización del hongo (0, 25 y 60 días), así como los estudios de digestibilidad *in situ* e *in vitro*, antes de utilizarse como un ingrediente en una ración. Mediante estos estudios, se posibilita analizar la calidad de este ingrediente y su posible utilización en la alimentación de rumiantes.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar los cambios en la composición químico proximal y la digestibilidad del rastrojo de maíz después de utilizarlo como sustrato en el cultivo de dos especies de hongos del género *Pleurotus* para su posible empleo en la alimentación de rumiantes.

## OBJETIVOS PARTICULARES

1. Estimar el efecto en la composición químico proximal del crecimiento de los hongos *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius* sobre el rastrojo de maíz antes del inicio de la fructificación y después de haber obtenido tres cosechas de carpóforos.
2. Evaluar la digestibilidad *in situ* e *in vitro* del rastrojo de maíz residual resultante del cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius*.

?

6

## HIPÓTESIS

El rastrojo de maíz mejora su composición química por efecto del crecimiento de los hongos *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius*, respecto al contenido de proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas y paredes celulares del residuo, así como la digestibilidad de estos, por lo que se obtiene un mejoramiento potencial del rastrojo de maíz como alimento para rumiantes

## MATERIAL Y MÉTODOS

El cultivo de los hongos *Pleurotus* se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Guzmán *et al.*(12), y el desarrollo de los cultivos en una empresa particular ubicada en Pacana, municipio de Tala, Jal., y los análisis químicos y de digestibilidad en el Departamento de Botánica y Zoología de la División de Ciencias Biológicas y Ambientales y el Departamento de Producción Animal de la División de Ciencias Veterinarias, ambos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara

### a. Molienda del Rastrojo.

Una muestra aproximada de 200 kg de rastrojo de maíz se cortó en segmentos de casi 5 cm, por medio de un molino de martillos. Más tarde se remojó en agua, durante 1 o 2 horas, con la finalidad de obtener la humedad del 75 % que es la adecuada para el crecimiento del micelio de *Pleurotus*; el peso final del rastrojo húmedo fue de 800 kg.

### b. Pasteurización.

Con la finalidad de detener o eliminar el crecimiento de organismos competidores, tales como bacterias, mohos y hongos, que pueden competir con el micelio de *Pleurotus*, el rastrojo se sometió a un tratamiento térmico, denominado pasteurización, el cual se efectuó con vapor de agua a 90°C durante 2 horas, dentro de un pasteurizador metálico. El rastrojo una vez pasteurizado, se dejó enfriar para la inoculación del hongo.

### c. Obtención de inóculo o "semilla".

En este caso el inóculo se elaboró con 2 especies de *Pleurotus*: *P. ostreatus* (IBUG-8) y *P. pulmonarius* (IBUG-4), sobre granos de sorgo; dichas cepas se encuentran

depositadas en el cepario de hongos comestibles (Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara, IBUG) del Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica y Zoología.

d. Inoculación del rastrojo de maíz.

Una vez frío, del rastrojo pasteurizado se separaron 360 kg los cuales se inocularon con la cepa de *P. ostreatus* (IBUG-8); se depositó en bolsas de plástico de 50 x 70 cm con 12 kg por bolsa y se dividieron en 6 grupos de 5 bolsas cada uno (Tratamiento Cepa 1). De inmediato se colocaron en un cuarto de incubación el cual permaneció en oscuridad, con la finalidad de permitir el crecimiento del micelio y su propagación sobre todo el rastrojo. Este mismo procedimiento se repitió con la cepa de *P. pulmonarius* (IBUG-4) (Tratamiento Cepa 2). El resto del rastrojo (80 kg) se consideró como el testigo (Tratamiento Cepa 3).

e. Incubación y fructificación de los hongos.

Después de transcurridos 25 días de colonización del rastrojo de maíz, se tomaron 3 grupos de 5 bolsas de cada una de las cepas y se hizo una mezcla compuesta para cada grupo; este tratamiento se consideró como Etapa 1. El resto de las bolsas con rastrojo colonizado, se dejó que fructificar hasta obtener 3 cosechas (casi 35 días) (tratamiento considerado como Etapa 2); después de la última cosecha se realizaron mezclas compuestas; en todos los casos la deshidratación del material se realizó con aire forzado a una temperatura no mayor de 40° C hasta obtener un peso constante. En el caso del rastrojo testigo, 40 kg se deshidrataron inmediatamente después de haberse obtenido, los cuales se consideraron como Etapa 1 y el resto se guardó en refrigeración durante 20 días para considerarse como Etapa 2.

## II. Evaluación del rastrojo de maíz residual del cultivo de hongos.

### 1. Caracterización química del Rastrojo de maíz.

a. Análisis químicos que se realizaron a las muestras de las mezclas compuestas del rastrojo de maíz testigo, 25 y 60 días de colonización:

-Proteína cruda. La determinación del nitrógeno se realizó por medio del método Kjeldahl (32) y el cálculo de PC con el factor de corrección de N x 6.25.

-Cenizas (C). Las muestras se incineraron a 550°C durante 3 horas.

-Extracto etéreo (EE) (32).

-Fibra cruda (FC) (32).

-Fibra neutro detergente (FDN) y Fibra ácido detergente (FDA) (11).

Con la finalidad de determinar que cepa y en que período se tuvo el mejor incremento en el contenido de proteína cruda, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de acuerdo a un diseño factorial completamente al azar de 3 x 2, donde se consideró al factor cepa: IBUG-8, IBUG-4 y rastrojo testigo, con dos etapas de colonización E-1 y E-2; la comparación de medias se realizó de acuerdo a Duncan ( $P < 0.05$ ).

### 2. Prueba de digestibilidad *in situ*:

Se emplearon dos borregos machos castrados, encastados de raza Pelibuey, con un peso aproximado de 40 kg, los cuales presentan una cánula permanente de 8 cm de diámetro; previo al inicio del experimento los animales se adaptaron con una dieta a base de concentrado lechero y rastrojo de maíz residual del cultivo de hongos (Cuadro 1). Dicha ración se proporcionó dos veces por día a las 8 de la mañana y a las 7 de la tarde. El agua fue *ad libitum*.

Cuadro 1. Análisis de la dieta de adaptación que se proporcionó a los borregos 15 días antes de iniciar el experimento.

Nutrimento	Ingredientes %		Total
	Conc. Lechero	Rastrojo+Micelio	
Materia seca	41.15	58.85	100.00
Proteína cruda	7.41	8.50	15.91
Extracto etéreo	1.63	0.91	2.54
Fibra cruda	2.11	14.63	16.74
Minerales	5.68	14.5	20.18



Cuatro gramos de materia seca de cada una de las mezclas compuestas de rastrojo de maíz testigo, 25 y 60 días de colonización de ambas cepas, se introdujeron en bolsas de nylon de tamaño de 5 x 9 cm y un poro de 25  $\mu\text{m}$ ; las muestras previamente se secaron en una estufa a 40°C hasta peso constante.

Las bolsas con las muestras se sujetaron con cuerda de nylon para pescar, a un tubo de látex flexible de aproximadamente 90 cm de longitud. Por cada muestra en estudio se hicieron 4 replicas, dos en cada animal. Los intervalos de tiempo de permanencia en rumen de las muestras que se consideraron en este estudio fueron de 0, 24, 48 y 72 hrs.

Las bolsas con las muestras, una vez completado su período en el rumen, se lavaron con agua fría corriente y se pusieron a secar a 70°C hasta obtener un peso constante. Al residuo de cada bolsa se le determinó PC, FDA, FDN y MS. Con estos datos se estimaron las variables: porción degradable y soluble, así como la constante de degradación de los nutrimentos por medio de regresión no lineal utilizando el paquete estadístico SAS (7).

a. Diseño experimental para la prueba de digestibilidad *in situ*.

Se siguió un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial de 3x2x4 con 4 repeticiones por tratamiento; los factores considerados son 3 cepas (el testigo se consideró como una cepa), 2 etapas de crecimiento del hongo y 4 tiempos de fermentación en rumen. Los datos se analizaron con el procedimiento ANOVA y la separación de los promedios por la prueba de Duncan ( $P < 0.05$ ).

### 3. Prueba de digestibilidad *in vitro* (DIVMS)

Se realizó de acuerdo al procedimiento en dos etapas de Tilley y Terry (33). Se colocaron 0.5 gr de las muestras de rastrojo residual, en matraces Erlenmeyer de 250 ml con tapones de hule (3 matraces por tratamiento). A cada matraz se le adicionarán 40 ml de

saliva artificial de McDougall y líquido ruminal. Los matraces se colocaron en un baño María con agitación de 50 r.p.m. durante 48 hrs. Posteriormente el líquido se drenó y al residuo sólido se le adicionaron 8 ml de una solución de pepsina ácida al 5%, después se volvieron a colocar en el baño María durante 24 horas para completar la digestión. El residuo final se filtró en un papel Whatman del # 41; más tarde se secó en una estufa a 80° C para obtener el peso de la materia seca final. El cálculo de la digestibilidad aparente *in vitro* se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{DIVMS} = \frac{\text{MS inicial} - \text{MS final}}{\text{MS inicial}} \times 100$$

Los datos obtenidos de la digestibilidad aparente de la materia seca del rastrojo de maíz residual se procesaron estadísticamente por el método ANOVA y los promedios se compararon con la prueba de Duncan ( $P < 0.05$ ).

## RESULTADOS

### 1. Efecto del hongo *Pleurotus* sobre la degradación del rastrojo de maíz.

En el cuadro 2 se muestran los datos de degradación de la materia seca del rastrojo de maíz obtenidos con las dos especies de *Pleurotus*: la cepa IBUG-8 e IBUG-4 a los 25 días degradaron la materia seca original del rastrojo 55.35% y 54.61% respectivamente; este porcentaje se incrementó a valores de 75.5% con la IBUG-8 y 71.79% con la IBUG-4, alrededor de los 55 a 60 días, que es cuando las bolsas con el rastrojo son desechadas por el productor de hongos.

### 2. Efecto de *Pleurotus*, sobre la composición químico proximal del rastrojo de maíz.

En los cuadros 3 y 4, se muestra el análisis proximal del rastrojo de maíz colonizado con las dos cepas de *Pleurotus*. Con la cepa IBUG-8 (cuadro 3) y un período de crecimiento de 25 días (etapa 1), se tiene un incremento de la proteína de 44.52 % y una disminución de los valores de extracto etéreo y fibra cruda de 32.41 % y 6.88 % de forma respectiva, el porcentaje de cenizas tuvo un incremento de 27.17 %. A los 60 (etapa 2) de colonización se encontró que existen diferencias mayores en el contenido de nutrimentos, por ejemplo: la proteína se incrementó hasta 140.30 %; para el caso del extracto etéreo y fibra cruda los valores disminuyen en el orden de 37.24 % y 54.25 %; se encontró un incremento del porcentaje de cenizas de 129.07.

Para el caso de la cepa IBUG-4 (cuadro 4), a los 25 días de colonización (etapa 1) se tuvo un incremento de la proteína cruda de 55.99 % y el extracto etéreo de 5.52 %; la fibra cruda disminuyó 18.54 %; las cenizas se incrementaron 24.80 %. A los 60 días de colonización (etapa 2) el incremento en la proteína fue menor, del orden de 26.58 %; sin embargo, se observó una disminución del extracto etéreo y fibra cruda de 68.96 % y 59.04 % respectivamente; en el caso de las cenizas el incremento fue de 231.75 %.

Cuadro 2. Porcentajes de degradación de la materia seca del rastrojo de maíz colonizado con dos especies de *Pleurotus*.

CEPA	ETAPA 1 DEGRADACIÓN A LOS 25 DÍAS (%)	ETAPA 2 DEGRADACIÓN A LOS 60 DÍAS (%)
<i>Pleurotus ostreatus</i> IBUG-8	55.35±2.2	75.5±.8
<i>Pleurotus pulmonarius</i> IBUG-4	54.61±.6	71.79±2.04

Cuadro 3. Análisis químico proximal del rastrojo de maíz con diferentes etapas de colonización por el micelio de *Pleurotus ostreatus* IBUG-8.

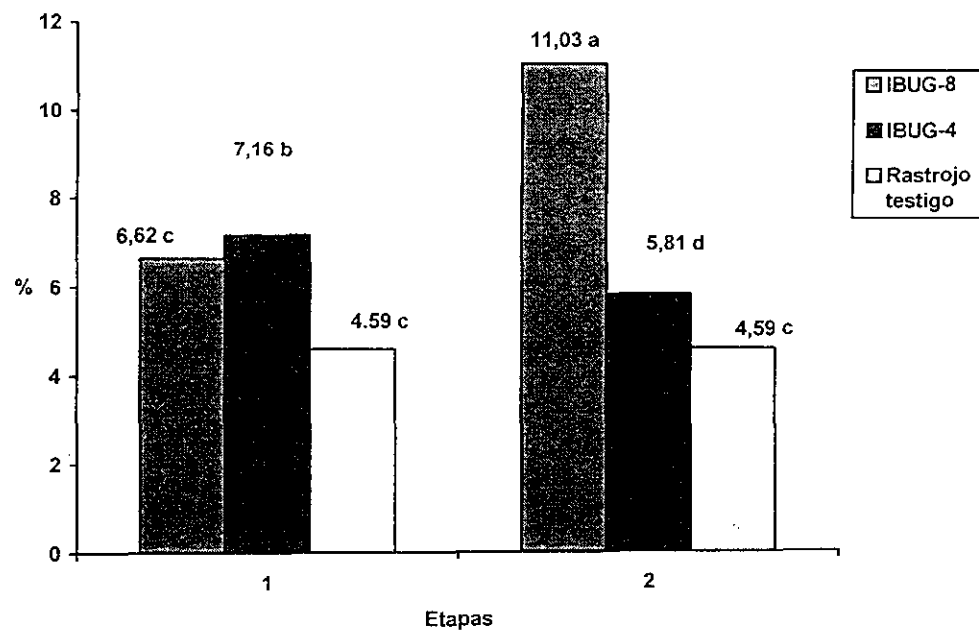
Nutrimento (%)	Días de Colonización		
	0	25	60
Proteína Cruda	4.59±.05	6.62±.18	11.03±.39
Extracto etéreo	1.45±.26	.98±.03	.91±.04
Fibra Cruda	31.94±1.66	29.78±1.06	14.63±.47
Cenizas	6.33±.13	8.05±.25	14.5±.5
Extracto Libre de Nitrógeno	83.65	54.57	58.93

Cuadro 4. Análisis químico proximal del rastrojo de maíz en diferentes etapas de colonización por el micelio de *Pleurotus pulmonarius* IBUG-4.

Nutrimento (%)	Días de Colonización		
	0	25	60
Proteína Cruda	4.59±.22	7.16±.22	5.81±.14
Extracto etéreo	1.45±.26	1.53±.04	.45±.02
Fibra Cruda	31.98±1.66	26.05±1.38	13.1±.22
Cenizas	6.33±.13	7.9±.3	21
Extracto Libre de Nitrógeno	83.65	57.36	59.64

En cuanto a los porcentajes de proteína (Gráfico 1) se encontró significancia en la interacción de los factores cepas por etapa de crecimiento, por lo que el rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-8 tiene el mayor porcentaje de proteína en la etapa 2 con una media de 11.03%. En orden descendente le siguió la cepa IBUG-4 con la etapa 1 con 7.16%. El contenido de proteína más bajo se encontró en el rastrojo de maíz testigo; no se encontraron diferencias entre la etapa 1 y etapa 2 del rastrojo testigo.

Gráfico 1. Comparación de los porcentajes de proteína encontrados en el rastrojo de maíz propagado con micelio de *Pleurotus* en dos etapas distintas de tiempo.





Para el caso de las paredes celulares (FDN y FDA), hemicelulosa, contenido celular y materia orgánica del rastrojo de maíz intacto y el colonizado con las cepas de *Pleurotus*, los datos se muestran en el cuadro 5 y gráfico 2 y 3. Se encontraron porcentajes de FDN de 81.46 % en el rastrojo testigo (no se encontraron diferencias entre los valores de la etapa 1 y 2, por lo que se tomaron como un mismo dato) y de 65.28 y 67.32 % con las cepas IBUG-8 e IBUG-4 con 25 días de colonización respectivamente. Los valores obtenidos a los 60 días fueron 41.82 y 39.2% para la IBUG-8 e IBUG-4.

Los valores más altos para la FDA se obtuvieron con la etapa 1 para ambas cepas: IBUG-8 de 50.29 % e IBUG-4 con 52.33%. En la etapa 2, los porcentajes fueron de 29.12% (IBUG-8) y 34.75 % (IBUG-4). El rastrojo de maíz testigo registró un valor de 40.48 %, para ambas etapas. Respecto al contenido de hemicelulosa, el porcentaje más alto fue en rastrojo de maíz testigo con 40.99 en las dos etapas; con valores semejantes en la etapa 1 y las dos cepas fueron 14.98% y 14.96 %; el más bajo fue de la cepa IBUG-4 en la etapa 2 de 4.45 % (Cuadro 5). En cuanto al contenido celular, se observa que en la etapa 2 se obtienen porcentajes de: 58.18 (IBUG-8) y 60.8 (IBUG-4); el número más bajo de contenido celular fue del rastrojo de maíz con 18.54 % (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de paredes celulares del rastrojo de maíz testigo y el colonizado con micelio de *Pleurotus* en dos etapas de tiempo.

COMPONENTE	RASTROJO TESTIGO	IBUG-8		IBUG-4	
		ETAPA 1	ETAPA 2	ETAPA 1	ETAPA 2
FDN	81.46±.51	65.28±1.26	41.82±1.07	67.32±.43	39.2±.11
FDA	40.48±.38	50.29±.47	29.12±.42	52.33±.64	34.75±.23
HEMICELULOSA	40.99±.11	14.98±.66	12.7±.53	14.96±.13	4.45±.10
CONTENIDO CELULAR	18.54±.41	34.73±1.04	58.18±.87	32.68±.35	60.8±.10
MATERIA ORGANICA	92.54±1.21	91.95±.20	85.5±.41	92.1±.24	79

1=rastrojo colonizado por 20 días

2=rastrojo colonizado por 55-60 días

Gráfico 2. Comparación de los porcentajes de Fibra Neutro Detergente del rastrojo de maíz y el colonizado por micelio de *Pleurotus* en dos etapas distintas de tiempo.

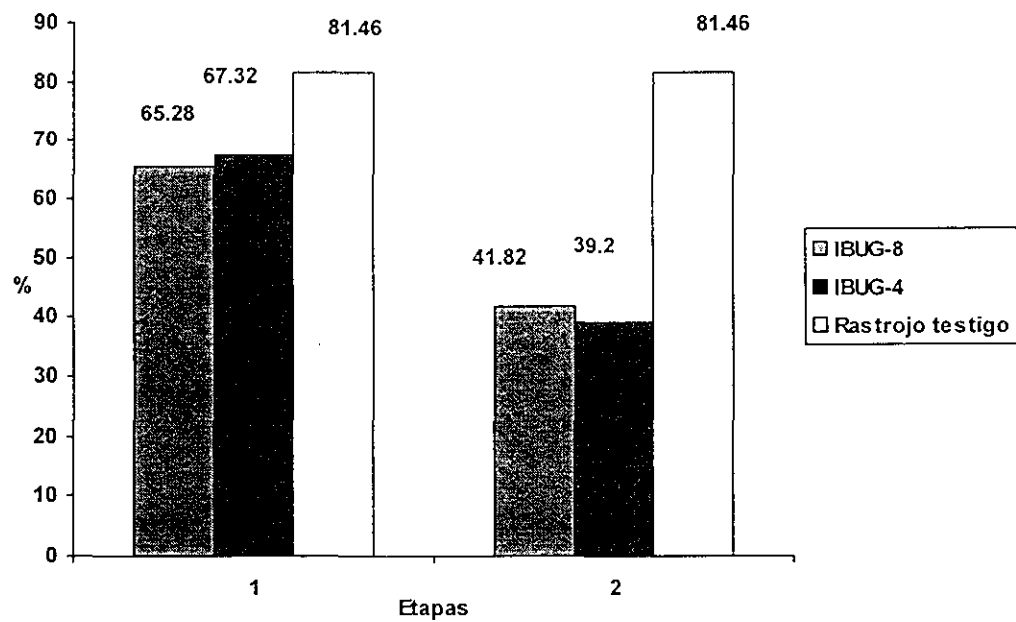
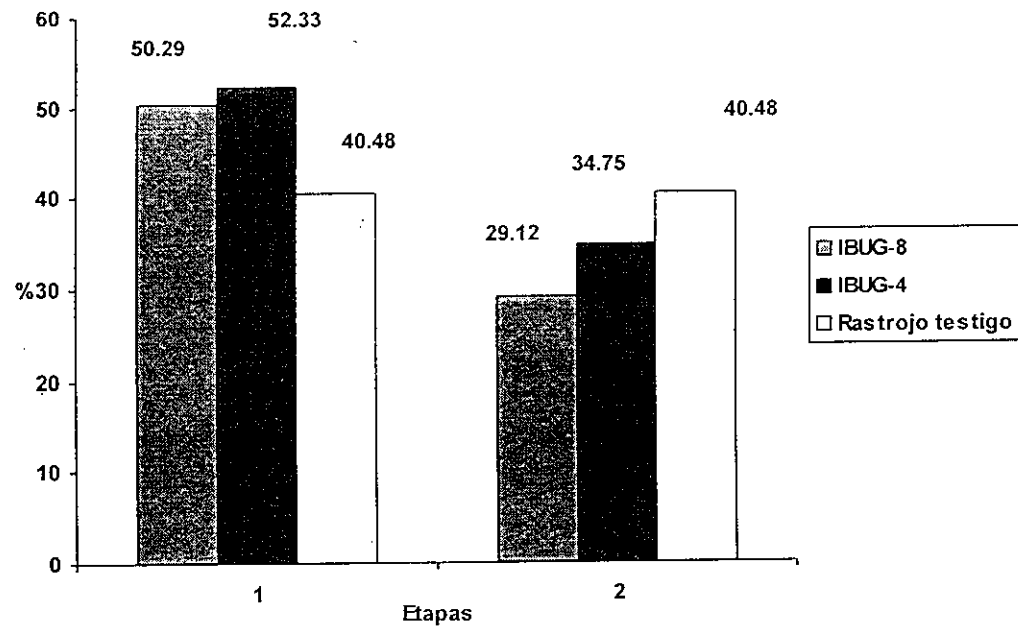


Gráfico 3. Comparación de los porcentajes de la Fibra Ácido Detergente del rastrojo de maíz y el colonizado con micelio de *Pleurotus* en dos etapas distintas de tiempo.



### 3. Digestibilidad *in situ*

#### a). Digestibilidad *in situ* de la materia seca.

En la Cuadro 6 se indican los resultados de la digestibilidad de la materia seca y la comparación de medias (Duncan  $P < 0.05$ ) obtenidas con la triple interacción de los factores evaluados. La media más grande se obtuvo con la cepa IBUG-8 con la etapa 2 y 48 hrs en rumen con un valor promedio de 50.51 % de digestibilidad. En orden descendente se tiene a la cepa IBUG-4 con la etapa 2 y 48 hrs en rumen, con 46.90 % y la IBUG-8 con la etapa 2 a 72 hrs (46.86 %) y 24 hrs (44.83 %). Los valores más bajos de digestibilidad se observaron con el rastrojo testigo con 9.17, 25.49, 29.74 y 33.52% para los tiempos 0, 24, 48 y 72 hrs de fermentación en rumen respectivamente; el rastrojo testigo dió resultados semejantes con ambas etapas, por lo que se consideró como un solo dato de digestibilidad en cada tiempo probado; así mismo para ambas cepas con la etapa 1 y a 0 hrs en rumen con 12.10 % (IBUG-8) y 13.82 % (IBUG-4).

En los Gráficos 4 y 5 se muestran de forma esquemática la tendencia de la digestibilidad de la materia seca con ambas cepas. La cepa IBUG-8 en la etapa 2 (gráfico 4) presentó valores de digestibilidad ascendentes (28.35, 44.83, 50.51%) para el tiempo 0, 24 y 48 hrs y descendentes (46.86 %) en el tiempo de 72 hrs; estos resultados mostraron un comportamiento no lineal, por lo que se obtuvo una ecuación de segundo grado con la siguiente formula  $y = a + bx + cx^2$  y una  $R^2$  .9996. Con la etapa 1 se encontró un comportamiento semejante de digestibilidad (12.10, 28.02, 36.45 y 36.93 %) en los tiempos evaluados; dichos valores se explicaron con la misma ecuación con una  $R^2$  de .9999.

En el gráfico 5 se presentan los datos de la cepa IBUG-4 en la que se determinó el mayor porcentaje de digestibilidad en la etapa 2 con valores ascendentes (26.37, 43.71, 46.90%) para los tiempos 0, 24 y 48 hrs y con un descenso a las 72 hrs (42.40%). Los porcentajes de digestibilidad para la etapa 1 fueron de forma ascendente (13.82, 28.10 y 39.68%) en los tiempos de 0, 24 y 48 hrs y descendente a las 72 hrs con un porcentaje de 36.37. Para ambas etapas se encontró un comportamiento no lineal el cual se interpretó

como una curva con la siguiente ecuación:  $y = a + bx + cx^2$ , con una  $R^2$  para la etapa 1 de .9813 y de .9917 para la etapa 2. La digestibilidad del rastrojo de maíz testigo fue de forma ascendente con 9.17, 25.49, 29.74 y 33.52% en los tiempos de fermentación evaluados. Estos valores del mismo modo se comportaron de forma curva y con una  $R^2$  de .9805.

Con base en los promedios de digestibilidad (DISMS) se hizo la comparación del incremento o disminución que pudo haber ocurrido por efecto del hongo al crecer sobre el rastrojo intacto, los resultados se muestran en la Cuadro 7. Como se observa los mejores incrementos se obtuvieron en la etapa 2 en un intervalo de 20.94 a 43.14% y los menores en la etapa 1 con un intervalo de 7.84 a 25.05%.

Cuadro 6. Resultados de la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus* en diferentes tiempos de colonización.

CEPA	ETAPA	FERMENTACIÓN EN RUMEN (Hrs)				Promedio
		0	24	48	72	
IBUG-8	1	12.10±.60 <sup>k</sup>	28.02±.78 <sup>ih</sup>	36.45±1.59 <sup>f</sup>	36.93±.60 <sup>f</sup>	28.37
	2	28.35±.47 <sup>ih</sup>	44.83±4.75 <sup>bc</sup>	50.51±.29 <sup>a</sup>	46.86±1.35 <sup>b</sup>	42.64
IBUG-4	1	13.82±.10 <sup>k</sup>	28.10±.44 <sup>ih</sup>	39.68±1.05 <sup>c</sup>	36.37±1.43 <sup>f</sup>	29.49
	2	26.37±.91 <sup>ij</sup>	43.71±1.23 <sup>cd</sup>	46.90±.30 <sup>b</sup>	42.40±1.09 <sup>d</sup>	39.84
Rastrojo testigo	1	9.17±.36 <sup>l</sup>	25.49±.36 <sup>j</sup>	29.74±.15 <sup>h</sup>	33.52±1.66 <sup>g</sup>	24.48
	2	9.17±.36 <sup>l</sup>	25.49±.36 <sup>j</sup>	29.74±.15 <sup>h</sup>	33.52±1.66 <sup>g</sup>	24.48
Promedios		16.5	32.61	38.84	38.27	

± = desviación estandar

Medias con la misma literal, son estadísticamente iguales (Duncan P<0.05).

\*Etapa 1 = 25 días de colonización

\*Etapa 2 = 60 días de colonización

Gráfico 4. Valores promedio de la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con *Pleurotus ostreatus* (IBUG-8) en dos etapas de colonización.

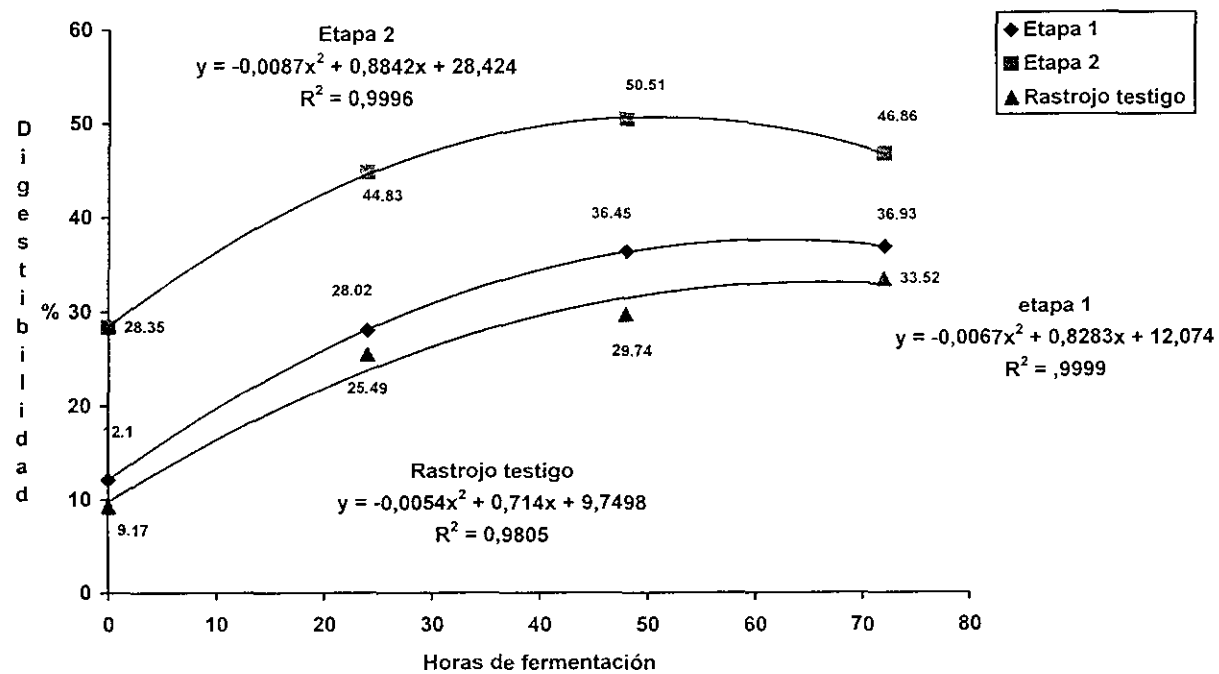
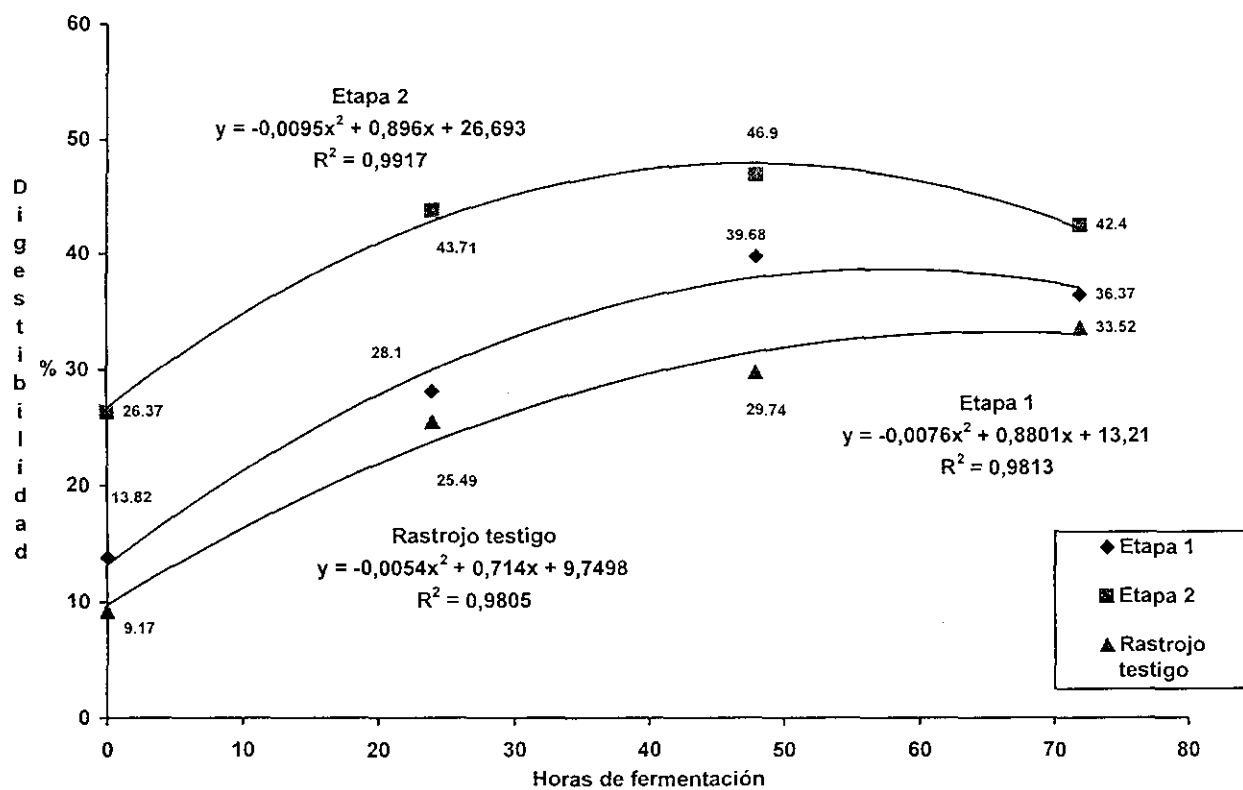




Gráfico 5. Valores promedio de la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con *Pleurotus pulmonarius* (IBUG-4) en dos etapas de colonización



Cuadro 7. Porcentaje del incremento de la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con las especies de *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*.

Fermentación en rumen (hrs)	Cepa	Etapa*	1**	2**	Incremento (%)
24	IBUG-8	1	28.02	25.49	9.03
		2	44.83	25.49	43.14
	IBUG-4	1	28.10	25.49	9.29
		2	43.71	25.49	41.68
48	IBUG-8	1	36.45	29.74	18.41
		2	50.51	29.74	41.12
	IBUG-4	1	39.68	29.74	25.05
		2	46.90	29.74	36.59
72	IBUG-8	1	36.93	33.52	9.29
		2	46.86	33.52	28.47
	IBUG-4	1	36.37	33.52	7.84
		2	42.40	33.52	20.94

\*Etapa 1 = rastrojo colonizado por 25 días

\*Etapa 2 = rastrojo colonizado por 60 días

\*\*1 = digestibilidad promedio del rastrojo colonizado con micelio de *Pleurotus*

\*\*2 = digestibilidad promedio del rastrojo de maíz testigo

En el cuadro 8 se encuentra los resultados con respecto a la fracción soluble, fracción insoluble, fracción digerible y la constante de degradación de cada uno de los tratamientos. Se observa un incremento en la fracción soluble con respecto al rastrojo intacto (9.17%) y el rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-8 en ambas etapas (12.10 y 28.35%). El mismo comportamiento se obtuvo con la cepa IBUG-4 con valores de 13.82 y 26.37 (etapa 1 y 2 respectivamente).

En cuanto a la fracción insoluble se encontró el porcentaje más alto en el rastrojo intacto, de 90.83%; el rastrojo invadido con la cepa IBUG-8 dio un valor descendente de 87.9 y 71.5% en la etapa 1 y 2 respectivamente. Con la cepa IBUG-4 se encontró el mismo comportamiento de 86.18% (etapa 1) y 73.63% (etapa 2). Respecto a la fracción digerible se determinó que esta fue mayor en el rastrojo intacto con 84.5%; en el rastrojo propagado con la cepa IBUG-8 se obtuvo un valor de 79.85 en la etapa 1 y de 57.5% en la etapa 2. Con la cepa IBUG-4 los valores fueron de 78.28% en la etapa 1 y de 52.63% en la etapa 2.

La constante de degradación para cada tratamiento fue como sigue: el rastrojo de maíz propagado con las cepas IBUG-8 proporcionó un valor de 20.70% en la etapa 1 y de 22.10% en la etapa 2; el rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-4 en la etapa 1 se dio un porcentaje de 22% y en la etapa 2 de 22.40%. En el caso del rastrojo de maíz testigo se observó una constante de degradación de 17.85%.

Cuadro 8. Componentes de la materia seca del rastrojo de maíz colonizado por *Pleurotus* calculadas una vez que fueron digeridos en rumen.

Componente	Rastrojo intacto	IBUG-8		IBUG-4	
		Etapa 1 %	Etapa 2 %	Etapa 1 %	Etapa 2 %
Fracción soluble	9.17	12.10	28.35	13.82	26.37
Fracción insoluble	90.83	87.9	71.65	86.18	73.63
Fracción digerible	84.5	79.85	57.15	78.28	52.63
Constante de degradación	17.85	20.70	22.10	22.00	22.40

**b). Digestibilidad *in situ* de la Fibra Detergente Neutro (DISFDN).**

En el cuadro 9 se observan los porcentajes de digestibilidad de la FDN, como se observa el mejor promedio correspondió a la cepa IBUG-8 en la etapa 2 y a 72 hrs de fermentación en rumen con 53.69%; en orden descendente no se encontraron diferencias en los promedios de la cepa IBUG-8 en la etapa 2 y 48 hrs (45.24%), con los de la etapa 1 y 72 hrs (43.42%) y con los de la cepa IBUG-4 en la etapa 1 y 72 hrs (45.27%). Los porcentajes más bajos de digestibilidad correspondieron al tiempo 0 con las dos cepas y el rastrojo testigo. Los porcentajes de DISFDN del rastrojo testigo en ambas etapas fueron semejantes para cada tiempo de fermentación en rumen.

En los gráficos 6 y 7 se muestra el comportamiento de la digestibilidad en cada una de las cepas y el rastrojo testigo: la cepa IBUG-8 en la etapa 1 (gráfico 6) generó porcentajes de digestibilidad ascendentes (1.77, 21.24, 35.44 y 43.42%) en los tiempos evaluados; la constante de degradación en este caso fue de 23.47%. Con la etapa 2 se encontró el mismo comportamiento ascendente (19.82, 35.73, 45.24 y 53.69%) en los cuatro tiempos evaluados; la constante de degradación dió un valor de 17.74%. Con el rastrojo testigo se obtuvieron valores de digestibilidad de la FDN de 1.01, 6.69, 24.21 y 33.73% para los tiempos 0, 24, 48 y 72 hrs respectivamente; la constante de degradación fue de 9.05%.

Los resultados de la digestibilidad de la FDN del rastrojo propagado con la cepa IBUG-4 se muestran en el gráfico 7. Los valores en la etapa 1 mostraron un comportamiento ascendente (11.22, 26.55, 42.62, y 45.27%) para los tiempos 0, 24, 48 y 72 hrs; con una constante de degradación de 22.17%. En la etapa 2 se tuvieron datos de 10.28, 28.26, 39.06 y 43.31% para los tiempos de fermentación en rumen mencionados; la constante de degradación en este caso fue de 22.22%

Cuadro 9. Comparación de medias de la digestibilidad *in situ* de la FDN del rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus*.

CEPA	ETAPA	FERMENTACIÓN EN RUMEN (Hrs)			
		0	24	48	72
IBUG-8	1	1.77±.31l	21.24±1.03i	35.44±2.04ef	43.42±.48bc
	2	19.82±.67i	35.73±.66e	45.24±.24b	53.69±1.16 a
IBUG-4	1	11.22±.08j	26.55±.59g	42.62±1.35c	45.27±1.20b
	2	10.28±.98j	28.26±1.48g	39.06±.89d	43.31±1.31c
Rastrojo testigo	1	1.01±.02l	6.69±.63k	24.21±1.06h	33.73±1.98f
	2	1.01±.02l	6.69±.63k	24.21±1.06h	33.73±1.98f

± = desviación estandar

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Duncan P<0.05)

Gráfico 6. Porcentaje de digestibilidad de la FDN del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-8 en dos etapas distintas de tiempo de colonización.

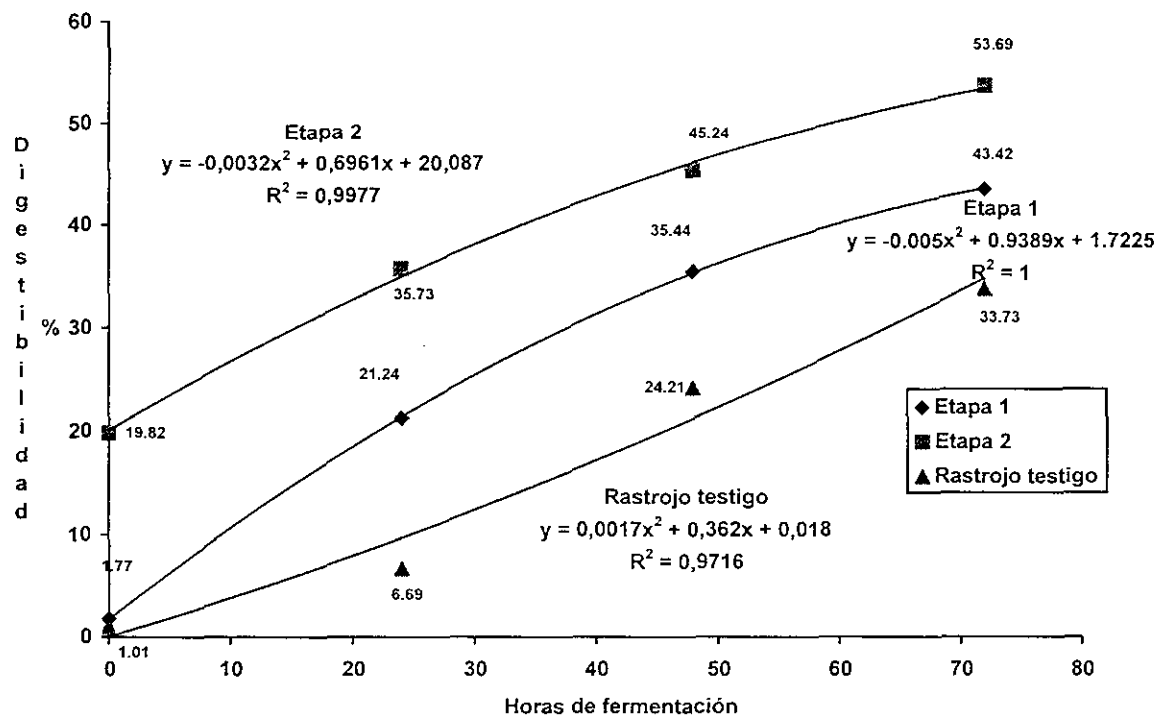
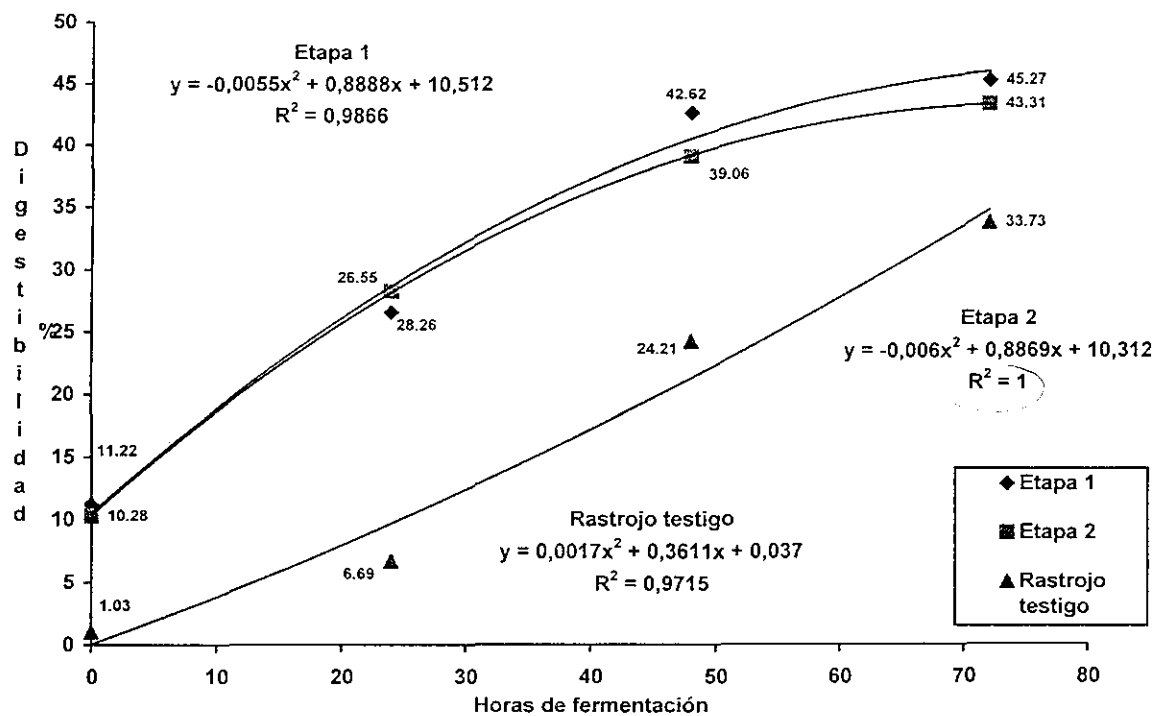


Gráfico 7. Porcentaje de digestibilidad de la FDN del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-4 en dos etapas distintas de tiempo de colonización.





### c). Digestibilidad *in situ* de la Fibra Detergente Ácido (DISFDA).

En el cuadro 10 se pueden apreciar los datos sobre la digestibilidad de la FDA en diferentes tiempos de fermentación en el rumen. Se obtuvo la mejor digestibilidad con la cepa IBUG-4 en la etapa 2 y un tiempo de fermentación de 72 hrs con 43.57% ( $P < 0.05$ ). En orden descendente le siguió la cepa IBUG-8 en la etapa 1, con 48 y 72 hrs en rumen, con 36.87 y 35.48% respectivamente y la misma cepa pero con la etapa 2 a 72 hrs con un valor de 36.25%. Por lo general se observaron los porcentajes menores con el tiempo 0, como por ejemplo la cepa IBUG-8 en la etapa 2 con 11.22%, el rastrojo testigo con 12.23%.

En los gráficos 8 y 9 se muestra el comportamiento de estos valores por separado. En el caso del gráfico 8 se observan los datos correspondientes a la cepa IBUG-8 en la etapa 1, donde se pueden apreciar los valores de digestibilidad encontrados de 23.47, 30.65, 36.87 y 35.48%, con una constante de degradación de 11.09%. En la etapa 2 se obtuvieron valores ascendentes que formaron una parábola con valores de 11.22, 13.52, 20.54 y 36.25%, con una constante de degradación de -1.92%.

En el gráfico 9 se ilustra el comportamiento de la digestibilidad de la cepa IBUG-4: en la etapa 1 se mostraron valores ascendentes de 22.38, 26.10, 28.50 y 33.89%, con una constante de degradación de 2.54%. Con la etapa 2 los datos obtenidos fueron de 20.72, 28.17, 28.75 y 43.57%, con una constante de degradación de 1.45%. El comportamiento de los resultados de digestibilidad del rastrojo testigo fueron en orden ascendente: 12.23, 14.06, 18.79 y 24.62%, con una constante de degradación de 1.24%.

Cuadro 10. Comparación de medias de la digestibilidad *in situ* de la FDA del rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus*.

CEPA	ETAPA	FERMENTACIÓN EN RUMEN (Hrs)			
		0	24	48	72
IBUG-8	1	23.47±.39gh	30.65±.86d	36.87±.087b	35.48±.50bc
	2	11.22±.87m	13.52±.33kl	20.54±.82i	36.25±1.6 b
IBUG-4	1	22.38±2.26h	26.10±1.18f	28.50±1.07e	33.89±1.53c
	2	20.72±.29i	28.17±1.50e	28.75±.84e	43.57±1.47a
Rastrojo testigo	1	12.23±.31ml	14.06±.12k	18.79±.93j	24.62±.61fg
	2	12.23±.31ml	14.06±.12k	18.79±.93j	24.62±.61fg

± = desviación estándar

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Duncan P < 0.05).

Gráfico 8. Porcentaje de digestibilidad de la FDA del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-8 en dos etapas distintas de tiempo de colonización

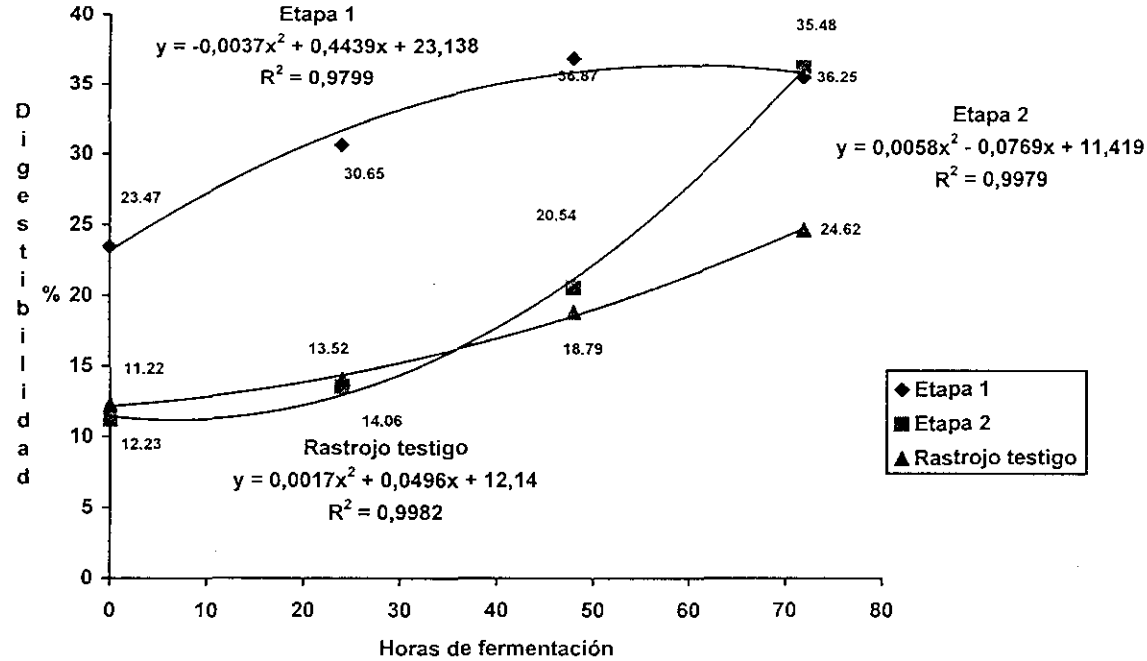
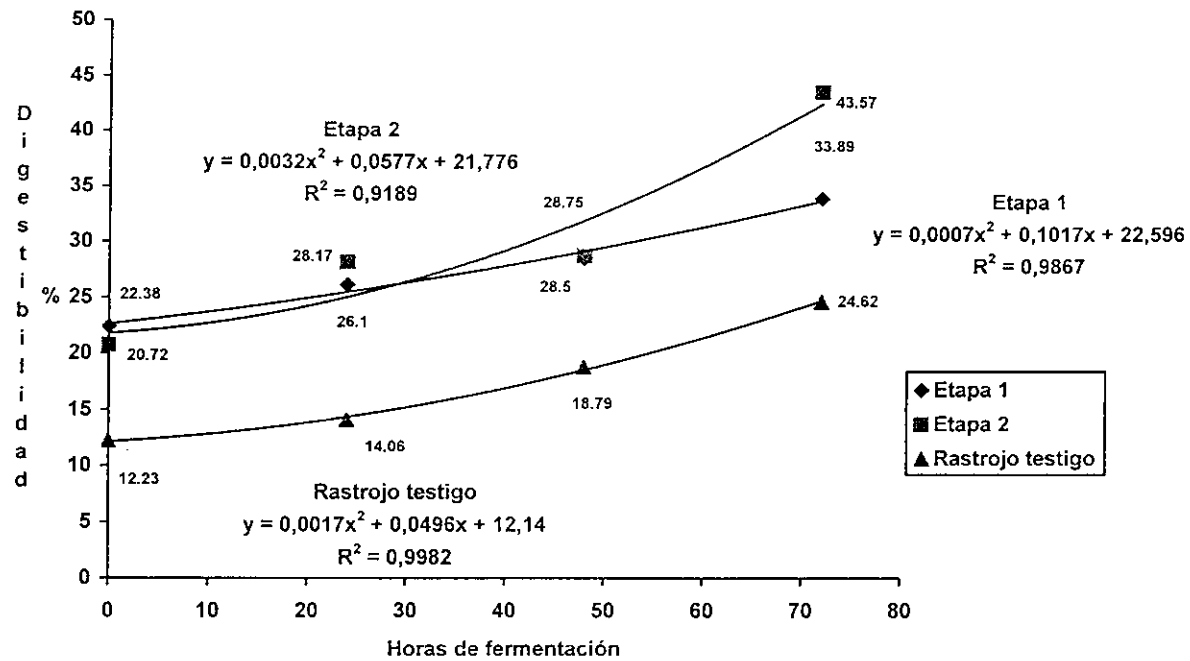


Gráfico 9 Porcentaje de digestibilidad de la FDA del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-4 en dos etapas distintas de tiempo de colonización.



**d). Digestibilidad *in situ* de la proteína (DISP).**

En el cuadro 11 se muestran los valores de digestibilidad de la proteína, obtenidos en los diferentes tiempos de fermentación en rumen. Se encontró la mejor digestibilidad con el tratamiento de la IBUG-8 a 48 hrs de fermentación con un porcentaje de 63.7 y con la IBUG-4 en la etapa 1 a 48 hrs de fermentación con 61.64%, dichas medias no fueron estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ). En orden descendente se determinó a la cepa IBUG-8 en la etapa 2 y a 24 hrs de fermentación con un valor de 58.56%. Las digestibilidades más bajas se dieron con el rastrojo testigo con valores de 22.58% hasta 31.34%.

En el gráfico 10 se aprecia el comportamiento de los porcentajes de digestibilidad del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-8. En la etapa 1 se observaron valores de 43.08, 45.46, 52.95 y 21.45%, en las horas de fermentación evaluadas; se obtuvo una constante de degradación de 20.49%. Los datos para la etapa 2 fueron de 34.50, 58.56, 63.7 y 43.16% (tiempos 0, 24, 48 y 72 hrs respectivamente). La constante de degradación en este caso fue de 38.06%.

El gráfico 11 muestra el comportamiento de los valores de digestibilidad generados con la cepa IBUG-4, se puede apreciar que con la etapa 1 los resultados se comportaron de la siguiente manera 35.14, 47.71, 61.64 y 40.74%, para los tiempos 0, 24, 48 y 72 hrs respectivamente; la constante de degradación fue de 29.35%. Con la etapa 2 se obtuvo lo siguiente: 35.17, 47.71, 55.78 y 35.82%, para los tiempos evaluados de 0, 24, 48 y 72 hrs; la constante de degradación fue de 26.43%. En el caso del rastrojo de maíz testigo los datos de digestibilidad fueron de 22.58, 26.76, 27.39 y 31.34%, para los tiempos evaluados respectivamente; en este caso el comportamiento se determinó por medio de una línea recta con la siguiente ecuación:  $y = a + bx$ . La constante de degradación fue de 2.80%.

Cuadro 11. Digestibilidad *in situ* de la proteína del rastrojo de maíz propagado con *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius*.

CEPA	ETAPA	FERMENTACIÓN EN RUMEN (Hrs)			
		0	24	48	72
IBUG-8	1	43.08±.93fg	45.46±1.03ef	52.95±.37d	21.45±.88k
	2	34.50±1.44h	58.56±2.93b	63.7±.97a	43.16±1.97fg
IBUG-4	1	35.14±.07h	47.71±.79e	61.64±1.59a	40.74±1.77g
	2	35.17±2.43h	47.71±.36e	55.78±.77c	35.82±3.85h
Rastrojo testigo	1	22.58±.19k	26.76±1.35j	27.39±2.3j	31.34±1.15i
	2	22.58±.19k	26.76±1.35j	27.39±2.3j	31.34±1.15i

± = desviación estandar

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Duncan P<0.05)

Gráfico 10. Porcentaje de digestibilidad de la proteína del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-8 en dos etapas distintas de tiempo de colonización

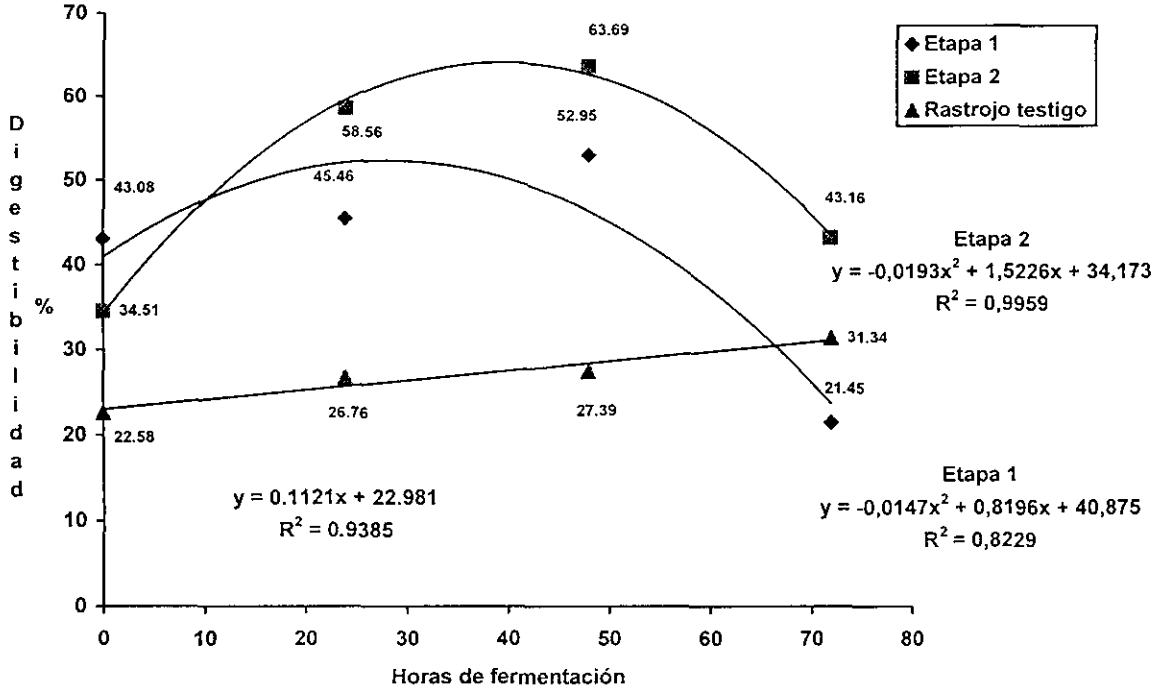
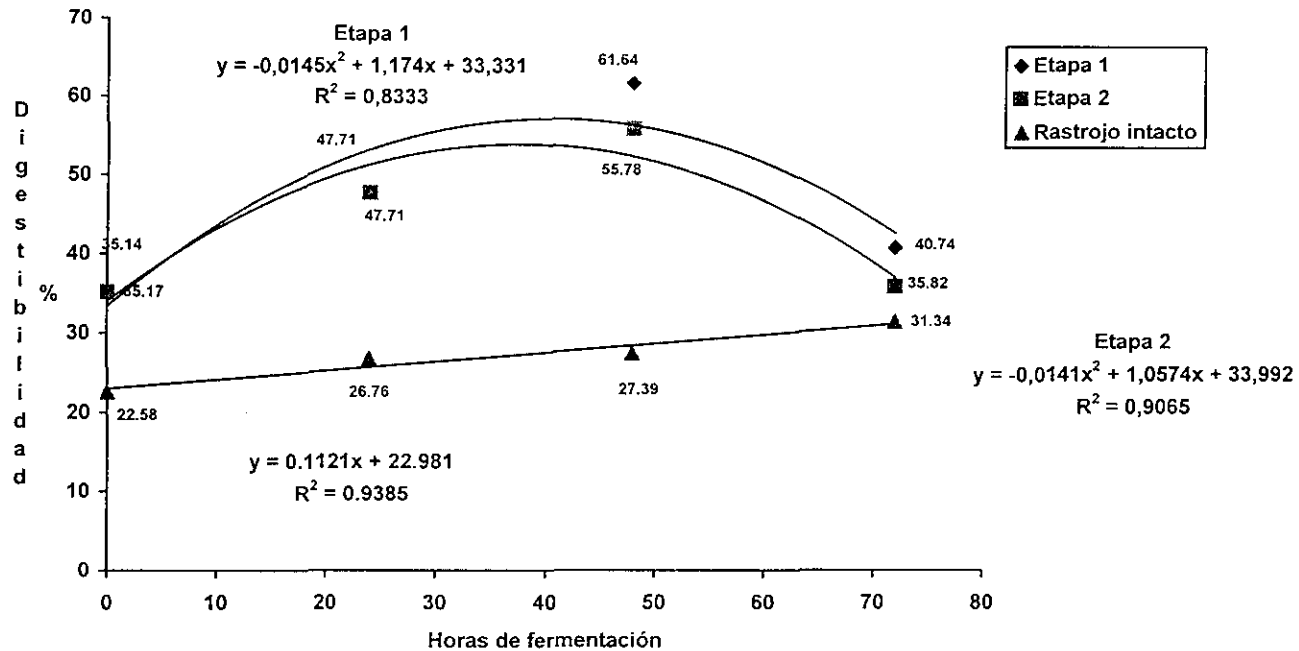


Gráfico 11. Porcentaje de digestibilidad de la proteína del rastrojo de maíz propagado con la cepa IBUG-4 en dos etapas distintas de tiempo de colonización.

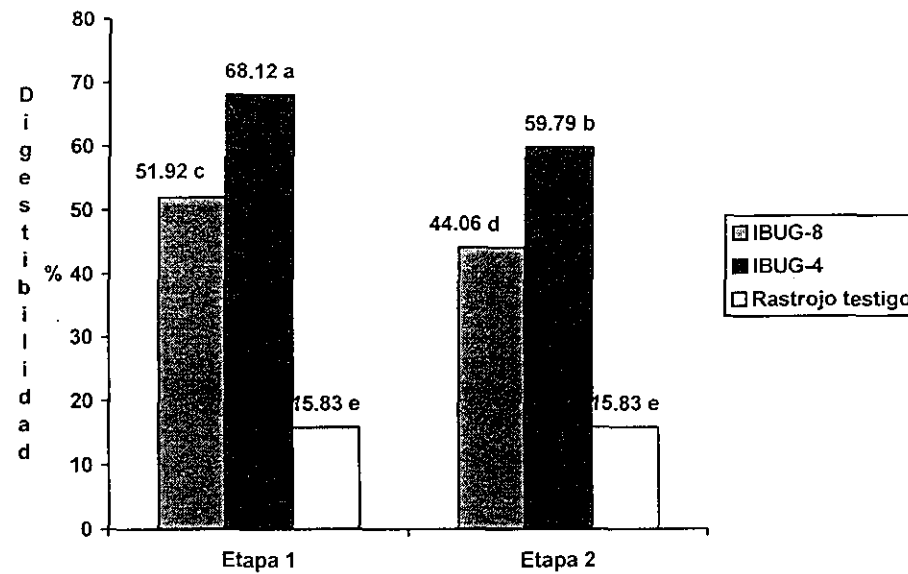




## 2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

En el Apéndice 6 se puede observar el análisis de varianza correspondiente a la digestibilidad *in vitro* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con *Pleurotus* spp. Se obtuvieron diferencias significativas en la interacción de los tratamientos. Como se observa en la gráfica 12 se encontró una mayor digestibilidad en el rastrojo colonizado con la cepa IBUG-4 en la etapa 1 con  $68.12 \% \pm 2.8$  ( $P < 0.05$ ); en orden descendente correspondió a la misma cepa con la etapa 2 y un valor de  $59.79\% \pm 2.03$ ; a continuación se determinó a la IBUG-8 en la etapa 1 con  $51.92\% \pm 1.03$ ; en la etapa 2 se mostró un porcentaje de  $44.06\% \pm 1.69$ . El rastrojo de maíz testigo dio un valor de  $15.83\% \pm .17$ .

Gráfico 12. Comparación de los porcentajes de la digestibilidad *in vitro* del rastrojo testigo y los obtenidos con el rastrojo propagado con *P. ostreatus* (IBUG-8) y *P. pulmonarius* (IBUG-4) antes del inicio de la fructificación y después de haber obtenido 3 cosechas de carpóforos.



## DISCUSIÓN

La utilización de diversas especies de hongos como mejoradores de la digestibilidad, se ha venido incrementando con base en que proporcionan un efecto positivo en la utilización de materiales lignocelulósicos de bajo valor nutricional, como es el caso de las pajas, rastrojos y algunos desechos agroindustriales (18, 25, 30).

Por otra parte el cultivo de *Pleurotus* spp. en diversas regiones de México mantiene un ritmo sostenido de producción e intensificación por diversos productores (22). Como subproducto de esta actividad resulta la obtención de un desecho lignocelulósico parcialmente digerido por la acción enzimática del hongo. Como se pudo observar en los resultados de este estudio, el hongo reduce hasta en un 70% el peso seco original del material utilizado como sustrato, que en este caso fue rastrojo de maíz; dichos resultados son comparables con los de Zadrazil (39) quien utilizó paja de trigo y obtuvo un porcentaje de degradación del 80%; Hernández-Ibarra *et al.* (15) menciona porcentajes de pérdida de 39.26 a 63.25 en pulpa de café cuando la utilizaron para cultivar especies de *Pleurotus*.

Es interesante hacer notar la capacidad enzimática de las especies de *Pleurotus* las cuales logran biotransformar y convertir sustancias como la celulosa y la lignina, en compuestos más solubles y de fácil digestión para otros organismos; por ejemplo se ha determinado la presencia de tirosinasas, lacasas, catecoloxidasas, celulasas y peroxidasas y proteinasas (21, 24, 27, 38).

Diversas investigaciones han hecho notar la importancia del sustrato residual del cultivo de hongos, en la alimentación animal, en vista de que queda parcialmente digerido y enriquecido con la biomasa y las enzimas fungicas, así como los productos de la acción enzimática (16, 17, 18, 23).

Como se pudo comprobar *Pleurotus* proporciona un incremento de la proteína hasta en un 140% y disminuye los valores de extracto etéreo y fibra cruda (cuadros 2 y 3). Beg *et al.* (4) encontraron un incremento en el contenido de proteína de la cascarilla de arroz del 332% cuando fue propagada con micelio de *Pleurotus ostreatus* durante 35 días; aunque como lo ha señalado Tripathi y Yadav (35) dicho efecto esta dado por una serie de factores que van desde la especie fungica, las condiciones de fermentación, hasta la estructura física del substrato. Lo que sí es un hecho, es que el crecimiento de *Pleurotus* tiene un efecto positivo en el contenido de nitrógeno del rastrojo de maíz, por lo que la disponibilidad de este nutrimento probablemente se incrementa a nivel ruminal.

Con relación a los cambios de peso o degradación de la materia seca, se puede suponer que debido a la acción enzimática de los hongos *Pleurotus*, ésta se centró básicamente en la pared celular, como lo muestra el hecho de una clara disminución de los valores de FDN de 81.46% encontrados en el rastrojo testigo hasta un 40 % en el rastrojo residual con ambas cepas. Aparentemente se encontró el mismo comportamiento con la FDA, con un valor de 40.48% en el rastrojo testigo hasta descender a 30% a los 60 días también con ambas cepas. Por otra parte, se encontró un aumento significativo en el contenido celular, lo cual muy probablemente se deba al aumento en número de las células fúngicas; dicho en otras palabras existió un incremento en la biomasa fungica, ya que el rastrojo de maíz proporcionó los nutrimentos adecuados que permitieron la propagación del hongo.

En cuanto a la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con las cepas de *Pleurotus*, se encontró un aumento significativo en el coeficiente de digestibilidad en comparación con el rastrojo testigo. Dicho aumento resulta interesante, ya que nos esta indicando un efecto real del hongo sobre la disponibilidad de los nutrimentos encontrados en el rastrojo de maíz, si consideramos que el micelio destruye los enlaces lignocelulósicos, lo cual resulta en la solubilización parcial de la celulosa y la lignina, por ejemplo se ha encontrado (10) la presencia de la enzima 1,4- $\beta$  exoglucanasa

que ayuda en la liberación de moléculas de glucosa a partir de la celulosa y la 1,4  $\beta$  endoglucanasa que libera celulodextrinas. Neathery (20) reportó datos de digestibilidad del rastrojo de maíz de 12.8, 18.5, 21.7 y 17.4% para los tiempos de fermentación en rumen de 24, 48, 72 y 96 horas respectivamente, dicho resultados son más bajos que los obtenidos en este estudio, sin embargo, es necesario señalarlos, ya que si los expresáramos en una curva resultarían comparables a los obtenidos en el presente trabajo.

El rastrojo de maíz testigo tuvo su máxima digestibilidad a las 72 hrs de fermentación en rumen, el cual resultó menor con relación al rastrojo colonizado con las cepas de *Pleurotus*. En general, se observó que la digestibilidad de la materia seca se incrementa conforme avanza el crecimiento de los hongos, ya que los datos más altos obtenidos resultaron cuando el rastrojo de maíz había sido colonizado durante 60 días (etapa 2) con ambas cepas (cuadro 5 y 6). La cepa que proporcionó un mejor porcentaje de degradación fue la cepa IBUG-8 con 50.51% a 48 hrs de fermentación en rumen, lo cual representó un incremento de la digestibilidad de +41.12% con relación al rastrojo testigo que fue de 29.74% (cuadro 7).

En el caso de la cepa IBUG-4 se obtuvo un porcentaje máximo de digestibilidad a las 48 hrs con 46.9% de digestibilidad; en este caso el incremento que se obtuvo fue de 36.59%. Beg. *et al.* (4) determinaron un coeficiente de digestibilidad de la cascarilla de arroz propagado con micelio de *P. ostreatus* de 33.34% a las 48 hrs de fermentación en rumen, con lo cual obtuvieron un incremento de 79.4% con relación a la cascarilla de arroz testigo con 18.58%. Bakshi y Langar (2) en la India, alimentaron búfalos con una ración sustituida con 40% de substrato residual del cultivo de champiñón obtuvieron un coeficiente de digestibilidad del 52%, el cual resultó estadísticamente semejante al grupo control de 55.3%; probablemente el substrato residual del cultivo de *Pleurotus* tenga la misma aplicación.

Respecto a la digestibilidad de la FDN, se encontró que el rastrojo de maíz propagado durante 60 días con la cepa IBUG-8 presentó los valores más altos de digestibilidad, con un valor de 53.69% a 72 hrs de fermentación en rumen. En el caso del rastrojo propagado con la IBUG-4, se encontró poca diferencia entre los valores de la etapa 1 y los de la etapa 2, sin embargo, el valor más alto correspondió a la etapa 1 y con 72 hrs de fermentación en rumen, con un porcentaje de digestibilidad de 45.27%. Los porcentajes más bajos se obtuvieron en el rastrojo testigo con 33.73% a las 72 hrs. Como se pudo observar el coeficiente de digestibilidad se incrementa conforme avanza el tiempo de fermentación en rumen, a este respecto es importante señalar que Sharma y Erdman (29) notaron un incremento del coeficiente de digestibilidad *in situ* de la FDN de la alfalfa y pasto a partir de las 48 horas en adelante y determinaron que no se debe de utilizar menos de 72 horas para estimar la digestibilidad de la fibra, ya que se podría subestimar el valor de los forrajes de calidad media.

Varel y Kreikemer (36) determinaron el coeficiente de digestibilidad de la FDN de la alfalfa y el pasto bermuda, de acuerdo a los datos de digestibilidad encontrados determinaron que el método *in situ* proporciona un tiempo más corto en comparación con el método *in vitro*, debido quizás a una menor concentración de microorganismos ruminales en este último método, por lo que consideran al primer método adecuado para evaluar la interacción del animal con el efecto de la dieta a través de la digestibilidad de la FDN.

En cuanto a la digestibilidad de la FDA se encontró un comportamiento semejante con los datos obtenidos de la digestibilidad de FDN. En este caso se encontró un incremento en el rastrojo propagado con micelio con relación al rastrojo testigo. También se pudo observar que el rastrojo propagado con ambas cepas sugiere que la digestión continúe indefinidamente a diferencia del rastrojo testigo en que la digestibilidad se observa con una pendiente menos pronunciada. Con base en lo señalado por Sharma y Erdman (29) el tiempo de 72 horas parece indicar el inicio real de la digestibilidad de la FDA, aunque los valores no decrecen hasta alcanzar las 240 horas, como lo muestran sus resultados. Por tal

motivo es posible considerar que el coeficiente de digestibilidad del rastrojo de maíz propagado con ambas cepas, sea un valor verdadero de la digestibilidad de la FDA encontrado en este estudio.

El coeficiente de digestibilidad de la proteína del rastrojo de maíz propagado con ambas cepas fue mayor que con el rastrojo testigo. Alcanzó la mayor digestibilidad a las 48 hrs con ambas cepas y en ambas etapas, con una caída en los porcentajes de digestibilidad a las 72 horas. En el caso del rastrojo testigo se observó un comportamiento lineal con relación al tiempo. Es importante señalar el efecto del hongo en el contenido de proteína del rastrojo en el rastrojo testigo y el propagado con los hongos (Cuadro 3 y 4), este incremento probablemente sea debido al aumento en la biomasa fungica, que como lo han señalado diversos trabajos (8, 39), está constituida en su mayoría por proteínas en porcentajes de 30 al 50%. Dichas proteínas se han demostrado que son altamente digeribles y que pudieran ser aprovechables durante la fermentación ruminal.

Hadar *et al.* (13) trabajaron con rastrojo de algodón propagado con micelio de *P. ostreatus* y encontraron un aumento de 2 a 2.5 veces más en la digestión de la proteína, después de 36 horas de incubación en rumen dentro de bolsas de dacrón. Wilkerson *et al.* (36) realizaron un experimento conjunto entre 8 laboratorios para evaluar la variación que pudiera existir al analizar la digestibilidad de la proteína *in situ*, no se encontraron diferencias entre un material tamizado y no tamizado, así mismo recomendaron la utilización de un mismo proceso de enjuague de las bolsas para minimizar la variación.

Con base en esto, muy probablemente el micelio de *Pleurotus* ayude a obtener valores altos en la digestibilidad de la proteína del rastrojo de maíz, si consideramos que la proteína del hongo es fácilmente atacada por los microorganismos del rumen. Sin embargo, como lo menciona Calsamiglia y Stern (5) la cantidad de proteína disponible para ser absorbida depende del flujo microbiano y el nitrógeno de la dieta hacia el duodeno y su respectiva digestibilidad intestinal; por tal motivo sugieren realizar técnicas adecuadas que

simulen la digestión intestinal de la proteína de cada uno de los alimentos, como es el caso de los métodos *in vitro* de nitrógeno insoluble en detergente ácido, procedimientos enzimáticos, disponibilidad de la lisina o la técnica *in situ* de la bolsa móvil.

Por medio de la técnica *in vitro* se pudo comprobar el mismo efecto que con la técnica *in situ*, el micelio de *Pleurotus* afecta la digestibilidad de la materia seca del rastrojo de maíz, haciéndolo más digestibles (cuadro 12); en este caso la cepas IBUG-4 en ambas etapas tuvo los porcentajes más altos de digestibilidad con 68 y 59% en comparación con el rastrojo testigo que fue de 15.85%. Dichos resultado son comparables con los obtenidos por Giovannozzi- Sermanni *et al.* (10) que obtuvieron 40% de digestibilidad a los 21 días de colonización del rastrojo de maíz con micelio de *P. ostreatus* y de 50% a los 49 días, sin embargo en este estudio no se obtuvo la fructificación de la cepa empleada, ya que el experimento se refirió al efecto del crecimiento del hongo en las paredes celulares y la digestibilidad *in vitro* del rastrojo de maíz. Como se puede apreciar en este caso (10) la digestibilidad aumento en un 10% a los 49 días, lo cual no se obtuvo en el presente trabajo, ya que existió una disminución de la etapa 1 a la etapa 2 de aproximadamente 10% con la cepa IBUG-4 y de 8% con la cepa IBUG-8 (cuadro 12); esta disminución probablemente se deba a la pérdida de nutrimentos a través de las fructificaciones, ya que al momento de la formación de los carpóforos existe una traslocación intensiva de nutrimentos hacia los tejidos que formarán dichas fructificaciones, lo cual se considera una pérdida de nutrimentos para el rastrojo de maíz y por lo tanto disminuye la digestibilidad.

En un estudio realizado por Ortega *et al.* (23) con la finalidad de determinar si *P. ostreatus* aumenta el valor nutritivo y digestibilidad *in vitro* de la paja de cebada, no encontraron diferencias significativas entre la paja tratada con el hongo y la no tratada, concluyen que la cepa que utilizaron no era capaz de producir las enzimas fenoloxidasas implicadas en la ruptura de los enlaces lignocelulósicos, sin embargo esta demostrado que dicha especie posee una alta capacidad deslignificante, por lo que su resultados probablemente sean el efecto de factores no considerados durante el cultivo del hongo.



Tripati y Yadav (35) encontraron un incremento del 10.4% en la digestibilidad *in vitro* de la paja de trigo propagada con micelio de *P. ostreatus*.

A través de estos resultados se podría probar la introducción del substrato residual del cultivo de *Pleurotus* a dietas para animales, si tomáramos como ejemplo un material semejante al aquí estudiado denominado Biocilium y que resulta como un subproducto micelial que queda después de la producción de ácido cítrico (34); se hipotetizó que podría ser utilizado como fuente de energía en una dieta alta en fibra para rumiantes. Se elaboró una dieta basándose en biocilium y alfalfa y otra con maíz; se obtuvieron resultados de un incremento de la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica, FDN y FDA. Los resultados indicaron que el Biocilium fue más digestible que la alfalfa y que podría reemplazar a la alfalfa de las dietas, así mismo se determinó cerca del 100% de digestibilidad en las dietas probadas.

Como se mencionó anteriormente dicho principio podría ser aplicable al material aquí estudiado, sin embargo, queda aun por realizar pruebas *in vivo* en las que se determine con certeza la utilización del residuo del cultivo de *Pleurotus*, ya sea como un componente alto en fibra, proteínas o contenido enzimático. Por otro lado es necesario determinar que porcentaje soportaría una ración y pruebas de comportamiento animal, ganancia de peso y digestibilidad de nutrimentos.

## CONCLUSIONES

1. La propagación del micelio de *Pleurotus* sobre el rastrojo de maíz incrementa significativamente la digestibilidad *in situ* e *in vitro* de la materia seca del rastrojo de maíz.
2. El tiempo de propagación del micelio de *Pleurotus* sobre el rastrojo de maíz (etapa 1 y etapa 2) tiene un efecto positivo sobre la disponibilidad de los nutrientes del rastrojo de maíz.
3. La cepa de *Pleurotus ostreatus* proporciona un incremento en el contenido de proteína del rastrojo de maíz y la digestibilidad *in situ* de dicha proteína.
4. El substrato residual del cultivo de *Pleurotus* puede ser considerado como una opción para su inclusión en dietas para animales.
5. Es necesaria la realización de pruebas *in vivo* utilizando el material residual del cultivo de *Pleurotus* con la finalidad de determinar el mejor porcentaje de inclusión en la dieta, así como pruebas de comportamiento animal y ganancia de peso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abdullah, A. L. y R.P. Tengerdy. 1985. Optimización of solid substrate fermentation of wheat straw. *Biotech. Bioengin* 27: 20-27.
2. Bakshi, M.P.S. y P.N. Langar. 1985. Utilization of *Agaricus bisporus* harvested spent straw in buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.* 55 (12): 1060-1063.
3. Bano, Z., S. Rajarathnam y K. Narasimha Murthy. 1986. Studies on the fitness of "spent straw" obtained during cultivation of the mushroom *Pleurotus sajor-caju* for safe consumption as cattle feed. *Mush. Newsl. Tropics* 6 (3): 11-16.
4. Beg, S., S.I. Zafar y F. H. Shah. 1986. Rice husk biodegradation by *Pleurotus ostreatus* to produce a ruminant feed. *Agr. Wastes* 17: 15-21.
5. Calsamiglia, S. y M. D. Stern, 1995. A tree step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 1459-1465
6. Burton, K.S., J.F. Smith, D.A. Wood y C. F. Thurston, 1997. Extracellular proteinases from the mycelium of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Myc. Res.* 101(11): 1341-1347
7. Camacho, O., H del V. Paniagua y G. Ruelas. 1992. SAS para microcomputadoras. Guadalajara, Jalisco, México.
8. Chang, S.T. y P. G. Miles. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. C.R.C. Pres. Boca Ratón, Florida. USA.

9. Escobar, A., O de Parra y R. Parra. 1985. Efecto del tratamiento alcalino sobre la digestibilidad *in vitro* y composición química de residuos agrícolas fibrosos. *Prod. Animal Tropical* 10: 61-70.
10. Giovannozzi-Sermanni, G., A.D'Annibale, G. Di Lena, N. S. Vitale, E. Di Matia y V. Minelli. 1994. The production of exoenzymes by *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus* and their use for upgrading corn straw. *Bioresource Technology* 48: 173-178.
- 11 Goering, H.K. y P. J. Van Soest. 1975. Forage Fiber Analyses. *Agriculture Handbook* 379. USDA.
12. Guzmán, G., G. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos. 1993. El cultivo de los hongos comestibles. Instituto Politécnico Nacional, México.
13. Hadar, y., Z. Kerem y B. Gorodecki. 1993. Biodegradation of lignocellulose agricultural wastes by *Pleurotus ostreatus*. *J. Biotechnol.* 30(1):133-139
14. Hatakka, A.I. y T.I. Pirhonen. 1985. Cultivation of wood-rotting fungi on agricultural lignocellulosic materials for the production of crude protein. *Agr. Wastes* 12: 81-97.
15. Hernández-Ibarra, H., J. E. Sánchez-Vázquez, L. a. Calvo-Bado. 1995. Estudio de cinco cepas nativas de *Pleurotus* spp. de la región de Tapachula, Chiapas, México. *Rev. Mex. Mic.* 11:29-38
16. Hrubant, G. R. 1985. Fermentative upgrading of wastes for animal feeding. *In: Wood, B.J.B. (ed.). Microbiology of Fermented Foods. Elsevier Applied Science Publisher, Ltd. Inglaterra.*

17. Kamra, D. N. y F. Zadrazil. 1986. Influence of gaseous phase, light and substrate pretreatment on fruit body formation, lignin degradation and *in vitro* digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus* spp. Agr. 18: 1-17.
18. Leal-Lara, H. 1985. La utilización microbiológica de desperdicios lignocelulósicos. Potencialidades y perspectivas. In: Quintero Ramírez, R. (compilador), Prospectiva de la biotecnología en México. Fundación Javier Barros Serra, A.C. y CONACYT. México.
19. Martínez-Carrera, D., R. Leben, P. Morales, M. Sobal y A. Larqué-Saavedra. 1991. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México. Ciencia y Desarrollo 16 (96): 33-43.
20. Neathery, M. W. 1968. Dry matter disappearance of roughages in nylon bags suspended in the rumen. J. Dairy Sci. 52(1): 74-78.
21. Neurud, F., Z. Misurcova, L. Zouchova, A. Muheim y A. Fiechter. 1992. Extracellular lignolytic enzymes of different white-rot fungi. In: Kenedy, J. F., G.D. Philips y P. A. Williams (eds.). Lignocellulosics science, technology, development and use. Elsevier Applied Science Publisher, Co. Inc. Nueva York. USA.
22. Ocaña, R., A. G. Alpuche y O. Paredes, 1994. potencial actual de la biotecnología para la producción de hongos comestibles empleando desperdicios agrícolas. Acta Universitaria (Guanajuato) 4(1): 4-18.
23. Ortega, M.A.C., B. Can, F. Herrera y F. Pérez-Gil. 1986. Efecto de la inoculación del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en la composición química y digestibilidad de la paja de cebada. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 36 (2): 345-350.

24. Platt, M.W., y H. Y. Chet. 1984. Fungal activities involved in lignocellulose degradation by *Pleurotus*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20: 150-154.
25. Rajarathnam, S. y Z. Bano, 1987. Biological significance of the natural cellulosic wastes degraded by *Pleurotus* mushrooms. Indian Mushroom Science II (Proceedings). Regional Research Laboratory. Nueva Delhi.
26. Ramírez, R. 1989. Producción y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* capaces de producir una degradación selectiva de la lignocelulosa. Tesis de Maestría en Biología. UNAM.
27. Ratcliffe, B., W.H. Flurkey, J. Kungling y R. Dawley. 1994. Tyrosinase, laccase and peroxidase in mushrooms (*Agaricus*, Crimini, Oyster, and Shiitake). J. Food Sci. 59 (4): 824-827.
28. S.A.G.A.R., 1997. Situación actual y perspectiva de la producción de maíz en México.
29. Sharma, B. K. y R. A. Erdman, 1988. Rate and extent of *in situ* digestion of medium and high quality
30. Shimada, A., F. Rodríguez Garza y J.A. Cuarón Ibarquengoytia (eds.). 1986. Engorda de ganado bovino en corrales. Consultores en producción animal, S. C. México.
31. Streeter, C.L., K.E. Conway y G. H. Horn. 1981. Effect of *Pleurotus ostreatus* and *Erwinia carotovora* on wheat straw digestibility. Mycologia 73: 1040-1048.
32. Tejada, I. 1992. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. Sistema de educación continua en producción animal, A. C. México.

33. Tilley, J.M.A. y R.A. Terry. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grassland Soc. 18:104.
34. Trenkle, A. y G. E. Erickson. 1996. Digestibility of a micelium byproduct (biocilium) in alfalafa or corn based diets fed to sheep. J. Animal. Sci. 74 (sup. 1): 80
35. Tripathi, J.P. y J.S. Yadav. 1992. Optimization of solid susbtrate fermentation of wheat straw into animal feed by *Pleurotus ostreatus*: a pilot effort. Anim. Feed Sci. Technol. 37: 59-72.
36. Varel, V. H. y K. K. Kreikemeier. 1995. Comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. J. Anim. Sci. 73: 578-582.
37. Wilkerson, W. A., T. J. Klopfenstein y W. W. Stroup. 1995. A collaboartive study of *in situ* forage protein degradation. J. Anim. Sci. 73: 583-588
38. Wood, D.A. y G.F. Leathman. 1983. Lignocellulose degradation during the life cycle of *Agaricus bisporus*. FEMS Microbiol. Lett. 20: 421-424.
39. Zadrazil, F. 1978. Cultivation of *Pleurotus*. In: S.T. Chang y W. A. Hayes (eds.). The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press. Nueva York.
40. Zadrazil, F. y D. N. Kamra. 1989. Influence of air and oxygen supplies on lignin degradation and its relation with *in vitro* digestibility of wheat straw fermented with *Stropharia rugosoannulata*, *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus sajor-caju*. Mush. J. Trop. 9: 79-88.

## APÉNDICES

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P>F
Modelo	5	85.90960000	17.18192000	295.14**	0.0001
Cepa	2	54.00370000	27.00185000	463.82**	0.0001
Etapa	1	4.68180000	4.68180000	80.42**	0.0001
Cepa X Etapa	2	27.22410000	13.61205000	233.82**	0.0001
Error	12	0.6986000	0.05821667		
Total	17	86.6082000			

corregido

r=0.991934 C.V. = 3.637407; \*\*= altamente significativo P<0.05

Apéndice 1. Análisis de varianza de los porcentajes de proteína obtenidos en el rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus*.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P>F
Modelo	23	9774.2125	424.966	244.98**	0.0001
Cepa	2	1809.53	904.7642	521.56**	0.0001
Etapa	1	1211.887	1211.887	698.60**	0.0001
Cepa X Etapa	2	651.8683	325.934	187.89**	0.0001
Fermentación en rúmen	3	5868.1888	1956.063	1127.59**	0.0001
Cepa X Fer. en rumen	6	97.486	16.25	9.37**	0.0001
Etapa X Fer. en rumen	3	82.1973	27.3991	15.79**	0.0001
Cepa X Etapa X Fer. en rumen	6	53.057	8.843	5.10**	0.0004
Error	48	83.267			
Total corregido	71	9857.479246			

r=0.991553 C.V. = 4.174402; \*\*= altamente significativo P<0.05

Apéndice 2. Análisis de varianza de la digestibilidad *in situ* de la materia seca del rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus*. Se obtuvieron diferencias altamente significativas para cada uno de los factores y en la interacción de cada uno de ellos.



Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P>F
Modelo	23	17930.34708	779.58031	669.87	0.0001
Cepa	2	3627.51603	1813.75802	1558.51	0.0001
Etapa	1	286.56180	286.56180	246.23	0.0001
Cepa X Etapa	2	759.68543	379.84272	326.39	0.0001
Fermentación en rúmen	3	12830.16258	4276.72086	3674.85	0.0001
Cepa X Fer. en rumen	6	336.33173	56.05529	48.17	0.0001
Etapa X Fer. en rumen	3	45.419866	15.13995	13.01	0.0001
Cepa X Etapa X Fer. en rumen	6	44.669646	15.13995	13.01	0.0001
Error	48	55.86147	1.16378		
Total corregido	71	17986.20855			

r=0.996894 C.V. = 4.082318; \*\*= altamente significativo P<0.05

Apéndice 3. Análisis de varianza para la digestibilidad *in situ* de la FDN del rastrojo colonizado por micelio de *Pleurotus* spp.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P>F
Modelo	23	5595.312532	243.274458	252.04**	0.0001
Cepa	2	1734.729519	867.364760	898.62**	0.0001
Etapa	1	149.789201	149.789201	155.19**	0.0001
Cepa X Etapa	2	647.664519	323.832260	335.50**	0.0001
Fermentación en rúmen	2	2537.172438	845.724146	876.20**	0.0001
Cepa X Fer. en rumen	6	106.219358	17.703226	18.34**	0.0001
Etapa X Fer. en rumen	3	244.244315	81.414772	84.35**	0.0001
Cepa X Etapa X Fer. en rumen	6	175.493181	29.248863	30.30**	0.0001
Error	48	46.330467	0.965218		
Total corregido	71	5641.642999			

r=0.991788 C.V. = 4.069003; \*\*= altamente significativo P<0.05

Apéndice 4. Análisis de varianza de la digestibilidad *in situ* de la FDA del rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus*.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P>F
Modelo	23	11416.50853	496.36994	188.96**	0.0001
Cepa	2	5269.712933	2634.856467	1003.05**	0.0001
Etapa	1	86.067200	86.067200	32.76**	0.0001
Cepa X Etapa	2	470.008300	235.004150	89.46**	0.0001
Fermentación en rúmen	3	2974.991744	991.663915	377.51**	0.0001
Cepa X Fer. en rumen	6	1836.028222	306.004704	116.49**	0.0001
Etapa X Fer. en rumen	3	189.136344	63.045448	24.00**	0.0001
Cepa X Etapa X Fer. en rumen	6	590.563789	98.427298	37.47**	0.0001
Error	48	126.08827	2.62684		
Total corregido	71	11542.59680			

$r=0.989076$  C.V. = 4.143734; \*\*= altamente significativo  $P<0.05$ ,

Apéndice 5. Análisis de varianza de la digestibilidad *in situ* de la proteína del rastrojo de maíz propagado con dos especies de *Pleurotus*.

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	P>F
Modelo	5	7405.987378	1481.197476	557.62**	0.0001
Cepa	2	7209.146544	3604.573272	1357**	0.0001
Etapa	1	131.112022	131.112022	49.36**	0.0001
			15.627222		
Cepa X Etapa	2	65.728811	32.864406	12.37**	0.0012
Error	12	31.875333	2.656278		
Total corregido	17	7437.862711			

$r = .9957$ ; C.V. 3.8265; \*\*= altamente significativo.  $P<0.05$

Apéndice 6. Análisis de varianza de la digestibilidad *in vitro* del rastrojo de maíz colonizado con dos especies de *Pleurotus*.