

Nutritional characterization of the crop residue of mushroom *Agaricus bisporus* as a potential feed for cattle^x

Caracterización nutricional del residuo del cultivo de la seta Agaricus bisporus como alimento potencial para bovinos

Caracterização nutricional do resíduo da cultura do cogumelo Agaricus bisporus como alimento potencial para bovinos

Juan Miguel Gómez Urrego^{1*}, Zoot, cMSc; Sergio Andrés Yepes Jaramillo², Ing Agron, MSc; Rolando Barahona Rosales³, BSc, MSc, PhD.

*Autor para correspondencia: Juan Miguel Gómez Urrego. Universidad Nacional de Colombia, Calle 59ª No 63 – 20, bloque 50, Medellín, Colombia – Núcleo el Volador. E-mail: jmgomezu@unal.edu.co

^{1,3}Grupo BIOGEM, línea de investigación en nutrición animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Calle 59A No 63 - 20 bloque 50, Medellín, Colombia; ²Setas Colombianas, Antioquia, Colombia.

(Recibido: 3 de diciembre, 2012; aceptado: 3 de mayo, 2013)

Abstract

Each year, agriculture generates large amounts of lignocellulosic waste of low nutritional quality. This quality could be improved by the use of basidiomycetes. The aim of this study was to characterize the bedding residue from commercial cultivation of *Agaricus bisporus* as a feed for ruminants. Nutrient analyzes and mycotoxins content were performed. *In situ* degradation kinetics and *in vitro* gas production were also determined. The ash content decreased 9% and crude protein increased by 2.7% when the cover soil (peat) was removed from the bedding residue. *In vitro* degradability of dry matter at 72 hours was 8.4%. The peat-free bedding residue had 12.7, 29.1, 26.1, and 39.6% CP, NDF, ADF, and ash, respectively. This material contains most of the minerals required by cattle. A 76% of the nitrogen fraction is insoluble in borate-phosphate buffer, and 83% of the total nitrogen is of proteic nature. No detectable restrictive levels of mycotoxins were found. The ruminal DM effective degradation (DE) of the peat-free residue was 39.6%. This is 68% higher than the residue with peat for the time and accumulated gas at the inflection point and at the maximum gas production rate. The high content of sulfur (2.1%) in the peat-free residue might limit its dietary inclusion for cattle to a maximum of 14%.

^xPara citar este artículo: Gómez Urrego JM, Yepes Jaramillo SA, Barahona Rosales R. Caracterización nutricional del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* como alimento potencial para bovinos. . Rev CES Med Zootec. 2013; Vol 8 (1): 37-59.

Key words

Agro-industrial waste, basidiomycetes, lignocellulose, gas production.

Resumen

Cada año la agricultura genera gran cantidad de residuos lignocelulósicos de baja calidad nutricional. Dicha calidad se podría mejorar mediante la utilización de hongos basidiomicetos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el residuo del cultivo comercial de la seta *Agaricus bisporus* (champiñonaza) como alimento para rumiantes. Se efectuaron análisis bromatológicos (incluyendo el contenido de micotoxinas), se determinó la cinética de degradación *in situ*, y se estableció la producción de gas *in vitro*. Al retirar la turba de la champiñonaza se disminuyó el contenido de cenizas en 9% y se aumentó la proteína cruda en 2,7%. La degradabilidad *in vitro* de la materia seca a las 72 h fue 8,4%. El residuo sin turba contiene 12.7, 29.1, 26.1 y 39.6% de PC, FDN, FDA y cenizas, respectivamente. Este residuo aporta la mayoría de los minerales requeridos en la dieta de bovinos. El 76% de la fracción nitrogenada es insoluble en buffer borato-fosfato y el 83% del nitrógeno total es nitrógeno proteico. No se detectaron niveles restrictivos de micotoxinas. El residuo sin turba tuvo 39,6% degradación efectiva (DE) de la MS en rumen y fue 68% superior al residuo con turba para la hora y el gas acumulado al punto de inflexión y en la tasa máxima de producción de gas. El alto contenido de azufre en el residuo sin turba (2,1%) limita su inclusión a un máximo de 14% en dietas para bovinos.

Palabras clave

Basidiomicetos, lignocelulosa, producción de gas, residuos agroindustriales.

Resumo

Cada ano na agricultura gera-se uma grande quantidade de resíduos de lignocelulose de baixa qualidade nutricional, que poder-se-iam melhorar por médio da utilização de fungos basidiomicetos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o residuo da cultura comercial do cogumelo *Agaricus bisporus* (resíduos da safra de cogumelos) como alimento para ruminantes por médio de diferentes análises bromatológicas (incluindo o conteúdo de micotoxinas) e determinando a cinética de degradação *in situ*, além de sua produção de gás *in vitro*. Ao retirar o lixo dos resíduos da safra de cogumelos, diminuiu-se o conteúdo de cinzas num 9% e aumentou-se a proteína crua num 2,7%. A degradabilidade *in vitro* da matéria seca as 72 h foi de 8,4%. O resíduo sem lixo contem 12,7; 29,1; 26,1 e 39,6% de PC, FDN, FDA e cinzas, respectivamente, aportando à maioria dos minerais requeridos na dieta de um bovino. Determinouse que o 76% da fração nitrogenada é insolúvel no buffer borato-fosfato e o 83% do nitrogênio corresponde ao nitrogênio proteico, além disso não se detectaram níveis elevados de micotoxinas. Este resíduo sem lixo apresentou uma degradação efetiva (DE) no rúmen da MS de 39,6% e foi um 68% superior com respeito ao resíduo com lixo para a hora e o gás acumulado ao ponto de inflexão e na taxa máxima de produção de gás. O alto conteúdo de azufre no resíduo sem lixo (2.1%) limita seu nível de inclusão em dietas para bovinos num máximo de 14% da dieta total.

Palabras clave

Basidiomicetos, lignocelulose, produção de gás, resíduos agroindustriais.

Introducción

La lignocelulosa es el material orgánico más ampliamente distribuido y representa el 50(%) de la biomasa de la pared celular en las plantas⁴⁰. La cantidad anual de lignocelulosa que produce la agricultura es de 123×10^6 de toneladas, esta producción agrícola genera desechos, que son ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina, los cuales se utilizan como abono o se incineran^{40, 60}.

“Para que estos subproductos puedan ser utilizados en nutrición animal, se hace necesario mejorarlos buscando una mejor calidad nutricional, con el fin de aumentar su digestibilidad y degradabilidad”⁶⁰. Una solución es el uso de hongos, los cuales, mejoran el valor nutritivo de los residuos fibrosos. Aumentando el contenido de proteína, vitaminas y la digestibilidad de estos residuos⁶⁰.

“Durante los procesos microbianos de transformación de los residuos lignocelulósicos en alimentos, por lo menos se debe alcanzar uno de estos tres objetivos: aumento en el nivel de proteínas, aumento de la digestibilidad y una mejora en la palatabilidad del producto seco, aunque este último factor puede ser fácilmente mejorado”⁶⁰. Cuando el residuo mejorado se utiliza en rumiantes el objetivo del proceso de bioconversión debe ser el incremento de la digestibilidad⁶⁰.

Varios estudios se han realizado para identificar especies de hongos de podredumbre blanca (HPB) por su capacidad para mejorar la calidad de los sustratos lignocelulósicos como alimentos para rumiantes^{30, 45, 59}. Por ejemplo, Karunanandaa y Varga (1996)²⁶ trataron la paja de arroz con el hongo *Cyathus stercoreus*, encontrando un aumento en la digestibilidad de la celulosa y los carbohidratos y la producción de ácidos grasos volátiles, junto con una disminución en la disponibilidad en rumen de la proteína cruda (PC).

Alkin et al. (1996)³ utilizaron *C. stercoreus* y *Ceriporiopsis subvermispora* sobre varias gramíneas, encontrando una reducción de componentes aromáticos en los tallos, mayor degradabilidad de la fibra y de taninos. Otros trabajos se han realizado utilizando HPB sobre distintos materiales: *Pleurotus ostreatus* sobre celulosa⁴⁰, oliva⁵¹, *Digitaria decumbens*⁶³, paja de trigo Adamović M, Grubić G, Milenković I, Jovanović R, Protić R, et al. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. Anim Feed Sci and Technol 1998; 71 (3-4): 357 – 362., bagazo de caña⁶⁴, semilla de algodón⁶⁵; *Ceriporiopsis subvermispora* sobre Cedro Rojo (*Cryptomeria japonica*)³⁷. Todos estos trabajos mostraron un aumento en la digestibilidad del producto final.

El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar el residuo del cultivo comercial de la seta *Agaricus bisporus* (Champiñón) como un alimento para rumiantes. Para ello se realizaron análisis bromatológicos y de contenido de micotoxinas, cinética de degradación *in situ* y producción de gas *in vitro*.

Los objetivos específicos de este trabajo fueron:

1. Determinar la calidad nutricional del residuo del cultivo de *Agaricus bisporus*, caracterizando su composición bromatológica y su degradación.
2. Determinar la influencia de la tierra de cobertura (turba) en la calidad nutricional del residuo del cultivo de *Agaricus bisporus*.

Materiales y métodos

Análisis bromatológico

Las muestras de champiñonaza se obtuvieron de la empresa Setas Colombianas S.A. Las materias primas

utilizadas en la cama de cultivo son tamo de arroz (Tolima), bagazo de caña (Valle del Cauca), pollinaza (diferentes procedencias), torta de algodón (Cesar), agua y yeso (Guajira). La tierra de cobertura está compuesta por: turba (Canadá), carbonato de calcio y cascarilla de coco. La tierra de cobertura está conformada aproximadamente por: 53% de turba, 30% de carbonato de calcio y 17% de cascarilla de coco. La mezcla del material que sirve de nutrimento para el hongo está compuesta por: paja de arroz (30-40%), bagazo de caña (15-20%), torta de algodón (5-10%), pollinaza (20-30%), cascarilla de algodón (4-8%) y yeso (5-10%).

Se analizaron muestras del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* (champiñonaza) en diferentes periodos de tiempo. Igualmente se quiso determinar la influencia de presencia de la tierra de cobertura (turba) sobre la composición química de la champiñonaza. Para esto, en cada periodo de recolección de muestras, se obtuvo una muestra completa (turba incluida) de champiñonaza denominada M1 y otra muestra de champiñonaza a la que se le retiró el material de cobertura, recogiendo solo el material fibroso, denominada M2. Adicionalmente se realizó un análisis de la composición química a la tierra de cobertura. Para determinar como la tierra de cobertura influye en el contenido de cenizas, proteína cruda y fibra en detergente neutro (FDN), se realizó un análisis de muestras pareadas, con un nivel de significancia de 0,05.

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, en donde se realizaron las siguientes determinaciones: almidón (polarimetría), azúcares totales (espectrofotometría UV-VIS), cenizas⁴, fibra detergente ácido (FDA)⁵⁷, fibra detergente neutro (FDN)⁵⁷, grasa bruta (extracción soxhlet); humedad y otras materias volátiles (termogravimétrico a 103 °C), lignina⁵⁸, nitrógeno⁵, proteína insoluble en detergente ácido (PIDA), proteína insoluble en detergente neutro (PIDN), fósforo (espectrofotometría UV-VIS) y calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, sodio y zinc (espectrofotometría de absorción atómica).

Con base en los resultados de composición química y de la técnica de producción de gases, se decidió seguir trabajando con la champiñonaza M2. Con el fin de caracterizar mejor dicho sustrato, se realizó un análisis más detallado del componente nitrogenado. Estas determinaciones adicionales fueron: contenido de

nitrógeno no proteico (NNP), proteína soluble y proteína insoluble^{28, 29}. El buffer utilizado fue borato-fosfato y para la precipitación de la proteína se utilizó el ácido tricloracético (TCA).

Análisis químico de micotoxinas

En el Laboratorio de Venenos Naturales de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín se determinaron los contenidos de aflatoxinas B1, B2, G1, G2 y los contenidos de ocratoxina A para cada muestra estudiada.

Técnica in vitro de producción de gases

Sustratos. Para esta fermentación se utilizó pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) procedente de la hacienda Paysandú de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín y champiñonaza con turba y sin turba, ambas procedentes de la empresa Setas Colombianas ubicada en el municipio de Yarumal (Antioquia). Las muestras se secaron en una estufa de ventilación forzada a 60 °C por 48 horas y se molieron a través de una criba de un 1 mm utilizando un molino estacionario (Thomas-Wiley modelo 4, Swedesboro, NJ).

Preparación de los frascos de incubación. Se utilizaron frascos de vidrio de 110 ml, a los que se les adicionaron 45 ml de saliva artificial McDougall, 0.5 g de sustrato y 5 ml de líquido ruminal (inóculo). Luego se saturó el frasco con CO₂ y se selló con un tapón plástico. La composición de la saliva artificial (gramos por litro) fue la siguiente: 9.8 bicarbonato de sodio (NaHCO₃), 4.6 fosfato ácido de sodio (Na₂ HPO₄ 2H₂O), 0.57 cloruro de potasio (KCL), 0.47 cloruro de sodio (NaCl), 0.05 cloruro de calcio (CaCl₂), 0.12 sulfato de magnesio (Mg SO₄ 7H₂O). El líquido ruminal se obtuvo de tres vacas Holstein fistuladas de la hacienda Paysandú, propiedad de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, ubicado en el municipio de Medellín, corregimiento de Santa Elena. Posteriormente, los frascos fueron transferidos a una estufa de ventilación forzada a 39 °C.

Producción de gas. La medición de la producción de gas⁵³ se realizó con un transductor de presión y las mediciones se efectuaron a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas de fermentación. A los datos de presión obtenidos se les aplicó la ecuación de correlación entre presión y volumen de gas descrito por Posada y Noguera⁴¹

y se hizo el ajuste a volumen de gas en ml/g de materia orgánica.

Los datos de producción de gas fueron ajustados al modelo exponencial doble de Gompertz ($y=a*\exp(-\exp(b-c*X))$), y se calcularon los parámetros del modelo (a, b, c) para cada tratamiento. A partir de estos parámetros se obtuvieron los valores: hora al punto de inflexión (HPI) (b/c), ml de gas al punto de inflexión (GPI) (a/e), tasa máxima de producción de gas (TMPG) (ml/h) ((a*c)/e), fase lag (FL) o establecimiento microbial en horas ((b/c)-(1/c)). A las 72 horas se lavaron los frascos y se filtró su contenido en un papel cualitativo rápido con un leve vacío, con lo cual se determinó la materia seca degradada a las 72 h. A su vez, teniendo en cuenta los g de MS degradada por gramo de MS y los ml de gas producidos por g de MS, a las 72 h, se determinó los ml de gas producido por gramo de materia seca degradada para este tiempo (72 h). El diseño experimental fue un diseño de bloques al azar, donde el inóculo ruminal de cada una de las vacas se constituyó como bloque. Se realizó un análisis de varianza para los parámetros derivados del modelo Gompertz, mediante el procedimiento PROC GLM de SAS⁵⁰, la comparación de medias se realizó mediante el método de diferencia mínima significativa planteada por TUKEY. El nivel de significancia fue de 0,05.

Cinética de degradación ruminal in situ de materia seca y materia orgánica

La muestra utilizada para la prueba fue champiñonaza M2, la cual fue secada en una estufa de aire forzado a 60 °C por 48 horas y molida en un molino Willey con criba de 4 mm. Cada bolsa de poliéster (Ankom® de 20 x 10 cm y poro de 53 µm) recibió 3 g de muestra y dichas bolsas fueron incubadas en el rumen de tres vacas Holstein Friesian canuladas al rumen y pastando kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). El lugar de la prueba fue en la Hacienda Paysandú de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

Los tiempos de incubación en rumen fueron 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 y 96 horas. En cada una de las tres vacas se introdujo una bolsa por cada tiempo con su respectiva replica. Las bolsas se introdujeron juntas al rumen y se fueron retirando del rumen en el horario descrito anteriormente. Después de extraídas las bolsas se lavaron con abundante agua corriente. Para determinar la hora 0 se lavaron las bolsas con abundante agua corriente

sin introducirlas al rumen. Luego se secaron en horno de aire forzado a 60 °C por 48 horas en el laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Posteriormente se pesaron en balanza analítica, determinando el contenido de materia seca (MS) del residuo. Posteriormente se juntó el residuo de cada tiempo y se llevó al Laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia donde se determinó el contenido de cenizas y se calculó el contenido de materia orgánica (MO).

El modelo utilizado para el cálculo de la cinética de degradación de MS y MO fue el modelo no lineal de Mitscherlich I modificado²⁷.

“En dicho modelo: a es el intercepto con el eje Y en t=0 y representa la fracción soluble o el sustrato rápidamente degradable, b representa el sustrato potencialmente degradable, kd es la constante de la cinética de degradación y c es el punto de inflexión. Este modelo se diferencia de otros modelos utilizados para el cálculo de la cinética ruminal por incluir un parámetro adicional, que según Solano y Vargas (1997), representa el punto de inflexión del modelo y que en otros modelos se asume como periodo pre-fermentativo (lag)”³³.

Se utilizó el procedimiento SOLVER de Microsoft EXCEL® 2000 para estimar los parámetros de la cinética de degradación ruminal, siguiendo el método que describió Correa¹⁸. La degradabilidad efectiva³⁹ (DE, %) fue determinada como $a + b * (kd / (kd + kp))$, utilizando una tasa de salida de partículas del rumen (kp) de 3(%) h⁻¹ según lo encontrado por Ørskov *et al.*³⁸ para materiales fibrosos.

Resultados

Análisis bromatológico

Un requisito para poder alcanzar el balance nutricional de las dietas de los animales y así maximizar la productividad de estos es conocer la composición química de las materias primas utilizadas¹². Por esta razón es importante la caracterización de la composición química de las nuevas materias primas consideradas en la alimentación animal.

La composición química del residuo del cultivo de la seta *A. bisporus* con turba incluida (M1) o sin ella (M2) se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Composición química del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* (champiñón) con (M1) y sin turba (M2).

| <i>Fecha</i> | <i>31/08/2010</i> | | <i>20/09/2012</i> | | <i>26/09/2012</i> | |
|---------------------------------------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|
| <i>Análisis</i> | <i>M1</i> | <i>M2</i> | <i>M1</i> | <i>M2</i> | <i>M1</i> | <i>M2</i> |
| <i>Almidón (%)</i> | 0,00 | 0,00 | | | | |
| <i>Azúcares totales (%)</i> | 0,36 | 0,62 | | | | |
| <i>Grasa bruta (%)</i> | 0,38 | 0,58 | | | | |
| <i>Cenizas (%)</i> | 51,05 | 45,22 | 59,47 | 45,73 | 44,07 | 36,79 |
| <i>FDN (%)</i> | 19,50 | 21,60 | 36,72 | 26,32 | 32,32 | 32,12 |
| <i>FDA (%)</i> | 23,90 | 27,00 | 20,12 | 21,12 | 22,12 | 25,62 |
| <i>Lignina (%)</i> | 12,10 | 12,40 | 11,1 | 11,5 | 14,7 | 14 |
| <i>Humedad (%)</i> | 62,10 | 50,80 | 52,8 | 51,3 | 51,7 | 50,4 |
| <i>Proteína cruda¹ (%)</i> | 10,00 | 11,90 | 6,8 | 11,1 | 11,1 | 12,9 |
| <i>PIDN (%)</i> | 3,90 | | | | | |
| <i>PIDA (%)</i> | 2,90 | 4,20 | | | | |

¹Proteína cruda = Nitrógeno*6,25.

²FDN y FDA se realizaron por método consecutivo.
Resultados expresados sobre la base seca.

En la tabla 2 se muestra la composición química de la tierra de cobertura (turba).

Tabla 2. Composición química de la tierra de cobertura (turba).

| <i>Análisis</i> | |
|----------------------------|-------|
| <i>Cenizas (%)</i> | 74,73 |
| <i>Calcio (%)</i> | 28,33 |
| <i>Fósforo mg/kg (ppm)</i> | 147 |
| <i>FDN (%)</i> | 19,2 |
| <i>Nitrógeno (%)</i> | 0,2 |

Para determinar la influencia que tiene la tierra de cobertura sobre el contenido de cenizas, PC y FDN, del residuo del cultivo de la seta *A. bisporus*, se realizó un análisis de muestras pareadas. Los resultados de dicho análisis se observan en la tabla 3.

Tabla 3. Análisis de muestras pareadas para determinar el efecto de la tierra de cobertura sobre parámetros de composición química.

| <i>Análisis</i> | <i>M1</i> | <i>M2</i> | <i>Diferencia</i> | <i>Desviación estándar</i> | <i>Valor P</i> |
|-----------------|-----------|-----------|-------------------|----------------------------|----------------|
| <i>Cenizas</i> | | | | | |
| 1 | 59,47 | 45,7 | 13,77 | | |
| 2 | 41,1 | 36,8 | 7,3 | | |
| 3 | 51,1 | 45,2 | 5,9 | | |
| <i>Promedio</i> | 51,55 | 42,57 | 8,99 | 4,2 | 0,036 |
| <i>PC</i> | | | | | |
| 1 | 6,8 | 11,1 | -4,3 | | |
| 2 | 11,1 | 12,9 | -1,8 | | |
| 3 | 10 | 11,9 | -1,9 | | |
| <i>Promedio</i> | 9,3 | 11,97 | -2,67 | 1,4 | 0,044 |
| <i>FDN</i> | | | | | |
| 1 | 36,7 | 26,3 | 10,4 | | |
| 2 | 32,3 | 32,1 | 0,2 | | |
| 3 | 19,5 | 21,6 | -2,1 | | |
| <i>Promedio</i> | 29,5 | 26,67 | 2,83 | 6,65 | 0,538 |

¹ 1,2 y 3 corresponden a las fechas: 31-08-2010; 20-09-2012 y 26-09-2012.

El análisis de muestras pareadas, con un nivel de significancia del 5%, reveló que la champiñonaza con turba (M1) difiere de la que no tiene turba (M2) en cuanto al contenido de cenizas y al contenido de proteína cruda, pero no hubo diferencias en cuanto al contenido de FDN. El contenido de cenizas, fue menor en M2 en 8,99%, mientras que el contenido de PC fue mayor en M2 en 2,67%.

Técnica in vitro de producción de gases

Esta técnica permite conocer la cinética de degradación

de los alimentos mediante el volumen de gas producido durante el proceso fermentativo⁴¹. La técnica In vitro de producción de gases sirvió para comparar la degradación de las muestras M1 y M2 así como contrastar sus resultados con los resultados del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*).

En la tabla 4 se muestran los resultados de los parámetros obtenidos tras la modelación de los datos con el modelo exponencial doble de Gompertz.

Tabla 4. Parámetros del modelo Gompertz, materia seca degradada a las 72 h y producción de gas por g de MS degradada para las muestras de champiñonaza M1 y M2, y pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*).

| Tratamiento | HPI (h) | GPI (ml) | TMPG | | MS | GAS/MS |
|-------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | (ml/h) | FL (h) | DEG ¹ | DEG ¹ |
| | | | | | (%) | (ml/g) |
| M1 | 44,68 ^a | 9,88 ^c | 0,54 ^e | 25,88 ^a | 23,42 ^c | 43,47 ^b |
| M2 | 41,55 ^a | 16,56 ^b | 0,9 ^b | 23,21 ^a | 31,8 ^b | 67,87 ^b |
| Kikuyo | 31,55 ^b | 72,37 ^a | 5,99 ^a | 19,46 ^b | 56,4 ^a | 306,6 ^a |

a, b, c: Medias en una columna con diferente letra son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$).

¹Parámetros estimados a las 72 h. HPI = hora al punto de inflexión, h; GPI = ml de gas al punto de inflexión; TMPG = tasa máxima de producción de gas, ml/h y FL = fase lag o establecimiento microbial, h. A su vez, se muestra el porcentaje de materia seca degradada a las 72 h (MS DEG, %) y la producción de gas (ml) por g de materia seca degradada a las 72 h (GAS/MS DEG, ml/g).

Análisis químico de micotoxinas

“Las micotoxinas son contaminantes naturales de los alimentos, producidas principalmente por hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*”⁶⁶. En la tabla 5 se muestran los resultados de los contenidos de micotoxinas en muestras de champiñonaza M1 y M2.

Tabla 5. Contenido de aflatoxinas y ocratoxina-A en champiñonaza M1 y M2.

| Análisis | Resultado ($\mu\text{g/kg}$ ó ppb) | | | Límite de detección |
|---------------------|--|-----------------|-----------------|---------------------|
| | M1 ¹ | M2 ¹ | M2 ² | |
| Aflatoxina B1 | N.D | N.D | N.D | 5 |
| Aflatoxina B2 | N.D | N.D | N.D | 5 |
| Aflatoxina G1 | N.D | N.D | N.D | 5 |
| Aflatoxina G2 | N.D | N.D | N.D | 5 |
| Aflatoxinas totales | N.D | N.D | N.D | |
| Ocratoxina A (ocra) | 31,25 | 19,05 | N.D | 5 |

N.D: No detectable por cromatografía de capa fina.
Fecha de análisis: ¹ 31-08-2010; ² 23-05-2011.

Caracterización del componente proteico y mineral del residuo del cultivo de *A. bisporus* sin turba

Los análisis químicos del residuo del cultivo de *A. bisporus* sin tierra de cobertura, se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Composición química del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* (champiñón) sin tierra de cobertura o turba (M2).

| <i>Análisis</i> | <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> | <i>5</i> |
|---------------------------------------|----------|----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| <i>Almidón (%)</i> | 0,00 | | | | |
| <i>Azúcares totales (%)</i> | 0,62 | 0,56 | | | |
| <i>Grasa bruta (%)</i> | 0,58 | 0,53 | | | |
| <i>Cenizas (%)</i> | 45,22 | 39,12 | 45,73 | 36,79 | 31,1 |
| <i>FDN (%)</i> | 21,60 | 27,00 | 26,3 ² | 32,1 ² | 38,6 ² |
| <i>FDA (%)</i> | 27,00 | 31,20 | 21,1 ² | 25,6 ² | 31,8 ² |
| <i>Lignina (%)</i> | 12,40 | 12,90 | 11,5 | 14 | |
| <i>Humedad (%)</i> | 50,80 | 10,50 | 51,3 | 50,4 | |
| <i>Proteína cruda¹ (%)</i> | 11,90 | 13,75 | 11,1 | 12,9 | 13,7 |
| <i>PIDN (%)</i> | | 3,40 | | | 6,4 ² |
| <i>PIDA (%)</i> | 4,20 | 4,90 | | | 3,3 ² |

¹Proteína cruda = Nitrógeno*6,25; resultados expresados sobre la base seca.

²FDN, FDA y PIDA, se realizaron por método consecutivo.

En la tabla 7 se muestra una caracterización del componente nitrogenado.

Tabla 7. Caracterización del componente nitrogenado.

| <i>Análisis</i> | |
|---------------------------------------|--------|
| <i>% Nitrógeno total</i> | 2,0496 |
| <i>% Nitrógeno insoluble</i> | 1,5537 |
| <i>% Nitrógeno soluble</i> | 0,4959 |
| <i>%Nitrógeno proteico total</i> | 1,7002 |
| <i>% Nitrógeno proteico soluble</i> | 0,0871 |
| <i>% Nitrógeno proteico insoluble</i> | 1,6131 |
| <i>% de nitrógeno no proteico</i> | 0,3494 |

Resultados expresados como % de MS

En cuanto a la fracción nitrogenada, se puede apreciar en la tabla 7, que el 75,8% del nitrógeno es insoluble en el buffer borato-fosfato. Del total de nitrógeno, el 83% corresponde a nitrógeno proteico y el 17% a nitrógeno no proteico. A su vez, del total de nitrógeno proteico, el 95% es nitrógeno proteico insoluble y solo el 5% del nitrógeno proteico es soluble.

Por lo menos 17 minerales son requeridos por el ganado vacuno³⁵. Muchos de los minerales esenciales se

encuentran en concentraciones suficientes dentro de los concentrados, otros son insuficientes y se hace necesario suplementarlos, sin embargo algunos elementos que se requieren en pequeñas cantidades pueden causar toxicidad³⁵. Para poder balancear los minerales en la dieta de los bovinos se hace necesario conocer la composición mineral de las materias primas utilizadas. El contenido de minerales del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* (champiñón) sin tierra de cobertura (M2) se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Composición de minerales, en la materia seca y en las cenizas, del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* sin tierra de cobertura.

| <i>Análisis</i> | <i>MS</i> |
|------------------------------|--------------|
| <i>Cenizas (%)</i> | <i>39,12</i> |
| <i>Azufre (%)</i> | <i>2,14</i> |
| <i>Calcio (%)</i> | <i>5,37</i> |
| <i>Cobre mg/kg (ppm)</i> | <i>69</i> |
| <i>Fósforo (%)</i> | <i>0,66</i> |
| <i>Hierro (%)</i> | <i>0,43</i> |
| <i>Magnesio (%)</i> | <i>0,55</i> |
| <i>Manganeso mg/kg (ppm)</i> | <i>596</i> |
| <i>Potasio (%)</i> | <i>1,93</i> |
| <i>Sodio (%)</i> | <i>0,2</i> |
| <i>Zinc mg/kg (ppm)</i> | <i>165</i> |

Cinética de degradación ruminal In situ de la materia seca y de la materia orgánica

Para hacer una mejor caracterización de dicho residuo (M2), es necesario conocer los parámetros de la cinética

de degradación en rumen. Dichos parámetros fueron obtenidos utilizando la técnica in situ con bolsas de poliéster en vacas canuladas al rumen. Los parámetros se pueden observar a continuación en la tabla 9.

Tabla 9. Parámetros de la cinética de degradación ruminal in situ de la materia seca y la materia orgánica, del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* sin tierra de cobertura (M2).

| | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>kd</i> | <i>c</i> | <i>a+b</i> | <i>DE</i> |
|------------------|----------|----------|-----------|----------|------------|-----------|
| Materia Seca | 26,42 | 25,09 | 0,03 | 1,23 | 51,51 | 39,6 |
| Materia Orgánica | 15,08 | 25,85 | 0,05 | 1,71 | 40,93 | 31,0 |

a: fracción soluble; *b*: fracción potencialmente degradable; *c*: punto de inflexión; *kd*: tasa de degradación (%/hora) y *DE*: degradabilidad efectiva en rumen.

Discusión

Composición química

Con el fin de hacer una comparación entre la composición

química del residuo del cultivo de *Agaricus bisporus* con algunos materiales fibrosos y pastos lignificados, se muestra a continuación en la tabla 10 la composición química de los materiales a comparar.

Tabla 10. Composición química de algunos residuos fibrosos y pastos lignificados.

| Referencia | País | Sustrato | Tratamiento | MO | EE | Cenizas | PC | FDN | FDA | Lignina |
|--|-----------|----------------------|------------------------------------|------|------|---------|-----|------|------|---------|
| Ribeiro et al., 2011 ⁴⁶ | Brasil | <i>B. humidicola</i> | Sin tratar | 93,6 | 1,4 | 6,4 | 2,5 | 78,2 | | |
| Elizondo, 1998 ²⁰ | México | Bagazo de caña | Sin tratar | 96,3 | 1,1 | 3,7 | 2,7 | 85,2 | 54,2 | 57,7 |
| | México | Bagazo de caña | NaOH | 91,4 | 1,16 | 8,6 | 5 | 68,2 | 56,6 | 7,6 |
| | México | Bagazo de caña | Urea | 87,5 | 1,5 | 12,5 | 7,5 | 74,7 | 53 | 7,8 |
| Wingching-Jones y Alvarado, 2009 ⁶³ | C. Rica | <i>D. decumbens</i> | Sin tratar | 87,9 | 1,96 | 12,1 | 3,4 | 66,1 | 49 | 8 |
| | C. Rica | <i>D. decumbens</i> | <i>P. Ostreatus</i> | 80,1 | 1,44 | 19,9 | 4 | 49,8 | 46,4 | 5,7 |
| Reddy, 1996 ⁴⁴ | India | Excretas de aves | Sin tratar | 66,9 | | 33,1 | 20 | 51,4 | 31,8 | 9,2 |
| Detmann et al., 2009 ¹⁹ | Brasil | <i>B. decumbens</i> | Estación seca | 94,3 | 1,5 | 5,74 | 4,9 | 83 | | 8 |
| Huyen et al., 2012 ²⁵ | Tailandia | Paja de arroz | Sin tratar | 86,2 | | 13,8 | 3,9 | 75,9 | 47,3 | |
| Ware y Zinn, 2005 ⁶¹ | EEUU | Paja de arroz | Sin tratar | 87,2 | 1,9 | 12,8 | 4,1 | 57,5 | 34 | |
| | EEUU | Paja de arroz | Peletizado | 87,4 | 2,3 | 12,6 | 4,8 | 50,9 | 27,3 | |
| Chanthakhoun et al., 2012 ¹⁴ | Tailandia | Paja de arroz | Sin tratar | 85,4 | | 14,6 | 2,7 | 78,4 | 46,2 | |
| Reddy, 1996 ⁴⁴ | India | Paja de arroz | Sin tratar | 87,5 | | 12,5 | 4,4 | 83,9 | 52,1 | 6,5 |
| Nader y Robinson, 2008 ³² | EEUU | Paja de arroz | Sin tratar | 84 | 1,8 | 16 | 4,6 | 71 | 50,4 | 5,1 |
| Chen et al., 2008 ¹⁵ | China | Paja de arroz | Sin tratar | 87,7 | | 12,3 | 5,5 | 72,7 | 53,6 | 7 |
| | China | Paja de arroz | NaOH | 84 | | 16 | 6,1 | 64,4 | 49,4 | 5,6 |
| | China | Paja de arroz | (NH ₄)HCO ₃ | 88 | | 12 | 9 | 71 | 52 | 5,9 |
| Tolera et al., 1998 ⁵⁵ | Etiopía | Rastrojo maíz | Sin tratar | 91,9 | | 8,1 | 3,7 | 78,9 | 39,9 | 4,8 |
| Bosma, 1997 ¹⁰ | Súdan | Rastrojo sorgo | Sin tratar | 93,6 | | 6,4 | 3,1 | 74 | 44 | 8,4 |

Resultados expresados como porcentaje de la Materia Seca.

Observando la composición química del residuo del cultivo de *Agaricus bisporus* (Tabla 1) con algunos materiales fibrosos y algunos pastos lignificados (Tabla 10), se observa que el contenido de extracto

etéreo (EE) de la champiñonaza M1 y M2 es bajo y es del 23 al 36% del valor de los materiales fibrosos de los que proviene. Esta reducción se debe probablemente al agotamiento de grasas y carbohidratos no estructurales

que se da al momento de realizar el compost⁴³. Por otro lado, el contenido de almidón de la champiñonaza es de 0%; mientras que el contenido de almidón de las pajas de cereales es de 0,7%²³. La ausencia de almidón en la champiñonaza puede explicarse por la degradación de carbohidratos no estructurales en el proceso de compostado que sufren las materias primas antes del crecimiento de la seta.

El contenido de azúcares totales en la champiñonaza M1 y M2 es de 0,39% y 0,62%; y el reportado en pajas de cereales es de 1,3%, siendo el contenido de azúcares en la champiñonaza del 30% al 48% del valor en pajas de cereales. Si bien el proceso de compostaje pudo haber acabado con los azúcares contenidos en el material previo a la siembra del hongo, la hidrólisis de la hemicelulosa y la celulosa, generada por las enzimas producidas por el micelio, pudo haber generado monosacáridos y disacáridos, encontrados en el material final. Este proceso fue observado por Karunanandaa *et al.*²⁶, utilizando paja de arroz colonizada por el hongo *Cyathus stercoreus*.

Los materiales fibrosos sin tratar (Tabla 10) tienen un promedio de 75,4% de FDN, 47,1% de FDA y 7% de lignina. El contenido de FDN en M1 y M2, respectivamente, corresponde al 39% y al 35,4% del valor de los materiales fibrosos; el de FDA al 47% y al 52,2%; el de lignina corresponde a un 80% superior respecto al valor de los materiales fibrosos. Ramírez y Escobar⁴³, al evaluar los cambios en los componentes de la pared celular en la cama de cultivo de *A. bisporus* (con turba incluida), encontraron que previo a la siembra el contenido de FDN era de 62,2% y tan sólo de 31,3% al momento de la cosecha, lo que representa una desaparición nominal de casi 50%. En cuanto a FDA, los contenidos previos y posteriores fueron de 41,7% y 33,1%, respectivamente, con lo que la desaparición de FDA fue mucho menor que la de FDN. En cuanto al contenido de lignina, previo a la siembra su valor fue de 9,7% y de 14,1% al momento de la cosecha. Debido a que en dicho trabajo no se realizó un balance de masas, no se puede determinar la degradación de cada fracción por la acción del hongo. Otros autores utilizando *P.*

ostreatus sobre heno de *Digitaria decumbens*, reportaron una degradación de hemicelulosa del 90%, de 48,9% de la celulosa y una solubilización de lignina del 62%⁶³.

El contenido de FDN y FDA en el residuo del cultivo de *A. bisporus*, reportado por Ramírez y Escobar⁴³ fue de 31,33% y 33,13%, respectivamente. En este estudio también se encontraron valores más altos de FDA que de FDN, tanto para M1 como para M2, a la vez que también se encontraron valores más altos de PIDA que de PIDN (Tabla 1). La técnica certificada para FDN, FDA, PIDN y PIDA, en el laboratorio de Análisis Químico y Bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín no es consecutiva; por lo que en una submuestra se determina el contenido de FDN y en otra el contenido de FDA. Lo mismo sucede con el análisis de PIDN y PIDA. Para verificar estos contenidos se realizaron análisis, en las muestras posteriores, de manera consecutiva, es decir, que el tratamiento con detergente ácido se aplicara al residuo de la muestra tratada con el detergente neutro. Con las técnicas aplicadas de manera consecutiva se hallaron valores más altos de FDN que de FDA, como es de esperarse. Lo mismo sucedió con el análisis de PIDN y PIDA.

El contenido de proteína cruda (PC) en las muestras M1 y M2 (tabla 3), fue de 9,3% y 11,97%, respectivamente. El contenido promedio de los materiales fibrosos descritos en la tabla 10, sin incluir la gallinaza, es de 4,6% de PC. Por su parte, Ramírez y Escobar⁴³ reportaron contenidos de proteína cruda de 7,3% en el residuo antes de la siembra del hongo y de 12,3% en el residuo posterior a la cosecha del hongo. Este aumento en el contenido de proteína, con relación al material fibrosos inicial, puede deberse al contenido de biomasa del micelio en dicho residuo⁴⁰.

El contenido de cenizas del residuo del cultivo de *A. bisporus* en M1 y M2 fue de 51,6% y 42,6% respectivamente y presentó diferencias estadísticas (Tabla 3). Este contenido es alto en comparación al contenido de cenizas de los residuos de cosecha, debido en parte a que la champiñonaza posee un 5-10% de sulfato de calcio

en su formulación. A su vez, el contenido de cenizas se incrementa, respecto al residuo antes de la siembra del hongo, con el proceso de crecimiento Adamović M, Grubić G, Milenković I, Jovanović R, Protić R, et al. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. Anim Feed Sci and Technol 1998; 71 (3-4): 357 – 362.. Es de anotar que el contenido de cenizas en la turba es de 74,73%, un aporte que proviene aproximadamente el 40% del carbonato de calcio y el 60% de la turba. La fracción suelo de turba puede contener minerales en forma de silicatos, arcillas y óxidos e hidróxidos de Al.

El alto contenido de cenizas (51,6% para M1 y de 42,6% para M2) puede constituirse en una limitante para la inclusión del residuo del cultivo de *A. bisporus* en la dieta de los bovinos, ya que los minerales que componen esta fracción, como en todos los residuos fibrosos, se encuentran desbalanceados con respecto a los requerimientos en la ración de los bovinos. Además, el uso de sulfato de calcio y carbonato de calcio en la elaboración del sustrato para el hongo puede conllevar a que tanto el calcio como el azufre se encuentren en niveles superiores al requerimiento de los bovinos, pudiendo limitar la inclusión de dicho residuo en la dieta total. De igual manera, entre más alto sea el contenido de cenizas del residuo menor será el total de nutrimentos digestibles (TND), disminuyendo el contenido energético del residuo³⁶.

Influencia de la tierra de cobertura o turba

Hubo una diferencia estadística entre el contenido promedio de proteína cruda en M1 y en M2, que fue de 2,67%. El contenido de nitrógeno en la turba es de 0,2%, por lo que separar esta turba, junto con el residuo fibroso, aumenta el porcentaje total de nitrógeno y por ende, el de proteína cruda en el residuo final.

En cuanto al contenido promedio de FDN, el tenor de M1 fue 29,5% y el de M2 fue 26,7%. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambas muestras para este parámetro. El contenido de

fibra en este residuo se constituye en una fuente de fibra efectiva en rumen ya que el material no es picado en ninguna etapa del proceso. Además, entre más alto sea el contenido de celulosa en el residuo final, más alta será la digestibilidad de la fracción fibrosa⁶⁰. Al retirar la tierra de cobertura, se disminuye el contenido de cenizas, se aumenta el contenido de proteína cruda y no se afecta el contenido de FDN del residuo del cultivo de *A. bisporus*. En consecuencia, se mejora la calidad nutricional del residuo final.

Técnica in vitro de producción de gases

En cuanto a la técnica de producción de gases, la fase lag (h) fue anormalmente larga siendo 19,5 para el pasto kikuyo, 23,2 para M2 y 25,9 para M1, mientras los valores reportados por otros autores para la fase lag del pasto kikuyo y otros materiales fibrosos es de menos de dos horas^{9,47}. Esta fase lag tan prolongada pudo deberse a un insuficiente gaseado con CO₂, ya que el ambiente aeróbico causa la muerte de bacterias, tanto celulolíticas como amilolíticas, en el inoculo al dejarlo expuesto al oxígeno⁶². Grant y Mertens²⁴ encontraron que el gaseado continuo con CO₂, el uso de agentes reductores en el medio y el uso de aditivos, producen un menor tiempo de retardo (fase lag) y tasas más rápidas de digestión de la FDN.

En referencia a los parámetros calculados para la producción de gas en el modelo Gompertz, hubo diferencias significativas para todos los parámetros entre el pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y las muestras de champiñonaza (M1 y M2) y entre M1 y M2 se encontraron diferencias para los parámetros GPI, TMPG y materia seca degradada a las 72 h, los cuales fueron mayores en M2 (p<0,05). Sin embargo, no hubo diferencia en el tiempo necesario para llegar al punto de inflexión (HPI). La TMPG a su vez está relacionada con la máxima producción de gas (a) y con la degradación de materia seca⁶². El valor de a (ml/ g de M.O) fue en kikuyo 197, en M1 27 y en M2 45. La materia seca (MS) degradada a las 72 h del pasto kikuyo fue de 56,4%. Para el pasto kikuyo, comparando los valores del parámetro a

y la materia seca degradada a las 72 h, con los parámetros reportados por otros autores, se puede apreciar que, debido al problema de falta de gaseado, dichos parámetros presentaron valores alrededor del 50% de lo esperado^{9, 47}. Estos parámetros también se vieron afectados en M1 y M2.

En cuanto a la producción de gas por gramo de MS degradada a las 72 h, el kikuyo tuvo un valor de 306,6 ml/g, lo que es coherente con lo reportado por otros autores^{9, 47} mientras que la correspondiente a M1 y M2 fue de 43,5 y 67,9 ml/g, respectivamente. Los bajos valores de producción de gas por gramo de materia seca degradada en M1 y M2 pueden deberse a que en el total de materia seca degradada está incluida la liberación de minerales en el rumen y esta fracción no produce gas. En estudios posteriores se recomienda analizar la degradación de materia orgánica y comparar la producción de gas con dicha degradación.

Análisis químico de micotoxinas

Un factor importante a tener en cuenta es el riesgo biológico que pueda presentar un alimento potencial. El riesgo biológico que presentan las muestras de champiñonaza evaluadas es bajo. Pero este riesgo se debe monitorear permanentemente⁶⁰. Las concentraciones de micotoxinas permitidas en distintos países varían de 100 a 1000 mg/kg en piensos⁶⁶. En el análisis realizado a M1, no se detectó la presencia de aflatoxinas y el nivel de ocratoxina A fue de 0,031 mg/kg. En cuanto a M2, tampoco se detectó la presencia de aflatoxinas en ninguna de las 2 muestras analizadas; el nivel de ocratoxina A en la primera muestra fue de 0,019 mg/kg y en la segunda muestra no se detectó la presencia de ocratoxina A.

*Caracterización del componente proteico y mineral del residuo del cultivo de *A. bisporus* sin turba*

La proteína cruda en M2, cuyo promedio fue de 12,7%, es más alta que el contenido de PC en muchos pastos de trópico bajo⁸. Cuando el forraje tiene PC menor al 7% se presentan limitaciones en el consumo ya que dicho contenido es el mínimo requerido para que haya una actividad eficiente de los microbios ruminales³¹.

La concentración de NNP y proteína verdadera (PV) así como las características físico-químicas de la PV son factores que afectan la cantidad de proteína degradable en rumen (PDR)^{34, 47}. A su vez, diversos autores que reportan una estrecha relación entre la solubilidad de la PC y su degradabilidad^{2, 11}. Las características del componente nitrogenado (Tabla 7) del residuo M2 muestran que alrededor del 21% del nitrógeno es soluble, constituyendo las fracciones A y B1 del sistema CNCPS¹⁶. A su vez, la fracción C (tomando solamente el PIDA con análisis consecutivo) es de 24% y la fracción B3 es de 11%, la cual tiene una digestibilidad intestinal del 80% aproximadamente. Así, la fracción B2, que es proteína medianamente degradable en rumen pero totalmente digestible en intestino, sería de un 44% del total de la proteína. Esto podría indicar que dicha proteína presenta una digestibilidad de alrededor del 74% y que además estaría constituida tanto por PDR como por proteína no degradable en rumen.

En cuanto al contenido de cenizas, solamente un 11,3% de la MS corresponde a la suma de los minerales analizados. Esto puede deberse a que dichos minerales no se encuentran en estado puro sino que hacen parte de compuestos, como carbonatos y cloruros en el caso del calcio. De igual manera, se presume que un 5% de la MS del residuo podría estar constituido por partículas de suelo que provienen de pollinaza extraída de galpones sin piso de cemento y de residuos de la tierra de cobertura que pudieron haber quedado en el residuo. Dicho suelo podría contener cenizas que no se cuantifican en este tipo de análisis, como pueden ser los silicatos, arcillas y óxidos e hidróxidos de Al. Otro aporte importante de sílice proviene de la paja de arroz, la cual tiene un contenido de dióxido de silicio del 13% aproximadamente⁵⁶.

Analizando el contenido de minerales (Tabla 8), se puede apreciar que el contenido de calcio es de 5,37%. El requerimiento de calcio en la dieta de bovinos de carne varía entre 0,18-0,71%³⁵, dependiendo de factores como el nivel de producción, etapa fisiológica, raza y sexo; mientras que en bovinos de leche el requerimiento de Ca en la dieta varía entre 0,53-0,67%. “*Altas concentraciones*

de calcio en la dieta pueden afectar el metabolismo de fósforo, magnesio, y zinc, pero los cambios son relativamente pequeños³⁵. “La inclusión de calcio en más de 1% se ha asociado con reducción del consumo de materia seca y menor rendimiento³⁶, pero “se han suministrado dietas, en vacas secas, con hasta un 1,8% de calcio sin aparente problemas³⁶. El alto contenido de calcio en M2 se debe a la inclusión de sulfato de calcio en su formulación, la cual se ha reportado que tiene una absorción del calcio del 70%¹⁶. Teniendo en cuenta un nivel máximo de 1,8% de calcio en la dieta total, y sin considerar el aporte de minerales del forraje de la ración, M2 podría incluirse hasta un nivel del 30% en la dieta total.

En cuanto al contenido de azufre, M2 tiene 2,14%. El requerimiento de azufre en la dieta de bovinos, tanto de leche como de carne, está entre 0,15-0,2% y el nivel máximo tolerable es de 0,4%^{35,36}. “Cuando se reemplazan proteínas por urea u otras fuentes de nitrógeno no proteico, la suplementación con azufre puede ser necesaria para la síntesis de proteína microbiana de cistina y metionina³⁵. El azufre reduce la absorción de cobre, tal vez a través de la formación de sulfuro de cobre en el intestino³⁵. Adicionalmente, la acción antagonista del molibdeno en el metabolismo de cobre se agrava cuando el azufre se encuentra en exceso. “Una considerable evidencia sugiere que el molibdato y el sulfuro interactúan para formar tiomolibdatos en el rumen³⁵. “Se cree que el cobre reacciona con el tiomolibdato en el rumen formando complejos insolubles que son poco absorbidos³⁵. Excesos de azufre también pueden interferir con la absorción del selenio³⁶. Se han añadido aniones de sulfato a las raciones de vacas secas, justo antes del parto, en niveles hasta de 0,5%, para disminuir la relación catión-anión de la ración y ayudar a prevenir la fiebre de leche³⁶. “El aumento de azufre dietético de 0,12 a 0,41 por ciento, utilizando sulfato de amonio, redujo el consumo en un 32%, en novillos alimentados con dietas altas en concentrado con inclusión de urea³⁵. El CNCPS16 reporta una absorción de azufre proveniente del sulfato de calcio del 100%. Con un nivel máximo de inclusión de 0,4% en la dieta total, y sin considerar el aporte de minerales del forraje

de la ración, el nivel máximo de inclusión de M2 sería de 18% de la dieta total.

El contenido de hierro en M2 es de 4300 mg/kg. El requerimiento de hierro en bovinos varía de 15-50 mg/kg y el nivel máximo tolerable es de 1000 mg/kg^{35, 36}. “Concentraciones de hierro en la dieta, tan bajas como 250-500 mg/kg, han causado agotamiento de cobre en bovinos³⁵. En las zonas donde los niveles de hierro, del agua potable o de los forrajes, son altos puede ser necesario un aumento de cobre en la dieta para prevenir la deficiencia de este³⁶. Teniendo en cuenta la suplementación extra de cobre y utilizando un nivel de inclusión del 18% de M2, el hierro en la dieta no alcanzaría niveles tóxicos, presentando un valor debido a M2 de 774 mg/kg.

De la discusión anterior se concluye que el azufre es el mineral que limita el nivel de inclusión de M2 en la dieta de bovinos. El pasto kikuyo en Antioquia posee un promedio de $0,2 \pm 0,07\%$ de azufre en su materia seca¹⁷. Suponiendo una ración con 80% de pasto kikuyo, este aportaría 0,16% de azufre a la ración total, por lo cual, M2 podría ser incluido al 2% de la dieta total para cubrir el requerimiento de azufre. En pastos con un contenido de azufre del 0,13%, M2 se podría incluir al 8% de la dieta para cubrir el requerimiento. En un pasto con 0,13% de azufre, y en vacas próximas al parto, M2 podría incluirse hasta en un 14% de la dieta total (con requerimiento de la dieta total de 0,4% de azufre). El nivel de inclusión de sulfato de calcio en el medio de cultivo de la seta *A. bisporus* es del 5-10%⁴⁹. En el caso de utilizar dicho residuo en la dieta de bovinos, se recomienda que la formulación del medio de cultivo para la seta tenga un 5% de sulfato de calcio, con el fin de maximizar el nivel de inclusión en la dieta de bovinos. Ya que, el sulfato de calcio posee 18,8% de azufre¹⁶ y al 5% de inclusión, el residuo final tendría aproximadamente 1% de azufre.

El contenido de fósforo en M2 es de 0,66%, mientras el requerimiento de P en la dieta total, de bovinos de carne y leche varía entre 0,13-0,34%^{35,36}. M2 posee el doble del requerimiento de la dieta total. En cuanto al contenido de

cobre, M2 contiene 69 mg/kg. El requerimiento de Cu en la dieta total, de bovinos de carne y leche, varía entre 10-11 mg/kg. El máximo nivel tolerable en la dieta total es de 100 mg/kg. La concentración de cobre necesaria para causar toxicidad depende de la concentración de molibdeno, azufre y hierro en la dieta^{35, 36}. El nivel alto de cobre en M2 se puede compensar con los niveles altos de hierro y azufre en dicho material. El contenido de manganeso en M2 es de 596 mg/kg. El requerimiento de Mn en la dieta total, para bovinos de carne y leche, varía entre 0,4-14 mg/kg. El nivel máximo tolerable es de 1000 mg/kg^{35, 36} y no se reportan interacciones con otros minerales debido a excesos de Mn³⁵.

El contenido de zinc en M2 es de 165 mg/kg. El requerimiento de Zn en la dieta total, para bovinos de carne y leche, varía entre 30-52 mg/kg, mientras que el nivel máximo tolerable es de 500 mg/kg y no se reporta interacciones con otros minerales³⁵. El contenido de sodio en M2 es de 0,2%. El requerimiento de Na en bovinos varía entre 0,1-0,2%, presentando M2 niveles similares. El contenido de potasio en M2 es de 1,93%. El requerimiento de K en bovinos varía entre 0,7-1%^{35, 36}, mientras que el máximo nivel tolerable es de 3%. Niveles altos de potasio pueden reducir la absorción de Mg. El contenido de magnesio en M2 es de 0,55%, mientras que el requerimiento de Mg en bovinos es de 0,2% y el nivel alto de K en M2, se puede compensar con un nivel alto de Mg en M2.

En el caso de bovinos estabulados, M2 podría utilizarse en los niveles de inclusión antes mencionados según sea el caso. En bovinos en sistema de pastoreo, y dado el nivel de inclusión en la dieta total, lo más práctico es incluir M2 como parte de un suplemento. Dicho suplemento puede ser un concentrado o un bloque multi-nutricional. En el caso de vacas secas de lechería especializada, M2 alcanzaría un mayor nivel de inclusión en el concentrado comparado con el concentrado de vacas lactantes puesto que en estas vacas se puede utilizar un nivel de inclusión de 0,4% de S en la dieta total para disminuir la relación catión-anión y prevenir la fiebre de leche³⁶. A su vez, dichas vacas, poseen menos requerimientos de energía

y proteína, debido a que no están lactando³⁶, por lo cual se pueden consumir ingredientes de menor calidad en el concentrado.

En el caso del bloque multi-nutricional (BNM), este permite suplir nitrógeno no proteico en forma lenta para optimizar la síntesis de proteína microbiana⁴⁸. Los BMN permiten suplementar nitrógeno no proteico y azufre, aportando un suministro constante de amonio para las bacterias celulolíticas¹³. Estos bloques mejoran la digestibilidad aparente en pajas lignificadas, aumentando la degradación de la fracción fibrosa, la tasa de pasaje y el consumo voluntario⁶. *“La base de la tecnología de los bloques es la reacción entre la cal (o el agente aglutinante) y los ácidos orgánicos de la melaza, la cual, en presencia de una fuente de fibra de baja densidad (alta área de superficie), facilita el proceso de solidificación”*¹³.

*“La inclusión de una pequeña cantidad de forraje, preferiblemente de leguminosas o de un árbol forrajero, se constituye en un excelente estimulante de la fermentación ruminal al proveer proteína verdadera de buena calidad y nutrientes sobrepasantes para el animal”*¹³. Los BMN poseen agentes aglutinantes que les confieren solidez y aseguran un el control del consumo diario, de alrededor de 550 g, por parte del animal⁷. El principal agente usado es la cal viva (CaO), que se usa hasta en un 10% de la formulación, también puede utilizarse cal apagada (CaOH), sulfato de calcio, bentonita, zeolita y cemento^{7, 54}.

*“Un gran número de subproductos agroindustriales como el salvado de trigo o de arroz, cascarilla de semilla de algodón, bagazo de caña, cascarilla de cacao, cascarilla de maní, tusa molida, entre otros; han sido usados como fuente de fibra absorbente en la preparación de bloques. Aportando propiedades físicas al bloque y en algunos casos proteína sobrepasante y de energía”*¹³. La inclusión de recursos fibrosos en la formulación de BMN varía entre el 25-30% de MS y la inclusión de fuentes de calcio entre 5-10% de la MS^{13, 21}. La M2 puede incluirse en la formulación del BMN, aportando la fuente de calcio, proteína y fibra, en alrededor del 35-40%.

Cinética de degradación ruminal *in situ* de la materia seca y de la materia orgánica

En cuanto a la degradación *in situ* de la materia seca de M2, la degradación potencial a las 96 h es de 51,5% y la degradación efectiva en rumen es de 39,6%. Con un metaanálisis se encontró que la degradación potencial de M1, reportada por Ramírez y Escobar⁴³, es de 61% y la degradación efectiva en rumen es de 44,1%. Según los datos de degradación de materia seca a las 72 h, encontrados en la técnica de gases, es de esperar que M2 tenga mayor degradación en rumen que M1.

Las muestras utilizadas en la técnica de degradación ruminal *in situ*, realizada por Ramírez y Escobar⁴³, fueron molidas en un molino Willey con criba de 2 mm. La muestra de M2 utilizada en la degradación ruminal *in situ*, descrita en este informe, fue molida en el mismo molino pero con criba de 4mm. La fracción *a*, que corresponde a la fracción que desaparece rápidamente de la bolsa de poliéster, y representa la fracción que presuntamente es rápida y completamente degradada en rumen³⁵, en la muestra M1, reportada por Ramírez y Escobar⁴³, fue de 32,9%. En la muestra M2 esa fracción a fue 26,4%, con lo que en la muestra M1 de Ramírez y Escobar⁴³ pudo haber un mayor escape de partículas por los poros de la bolsa. Esto genera una sobreestimación de la fracción soluble, conllevando a una sobreestimación en la degradación de la MS21.

Es de anotar que en el metaanálisis de los datos de Ramírez y Escobar⁴³ se encontró un aumento en la degradación potencial y la degradación efectiva en rumen, del medio de cultivo de *Agaricus bisporus* (M1), debida a la siembra del hongo; mejorando la degradación potencial en 14,5% y la degradación efectiva en rumen en 27,6% respecto al material original. En cuanto a la digestibilidad de materiales fibrosos sin tratar, en la tabla 11 se reportan valores que van desde 16,1% en bagazo de caña con la técnica *In situ*, hasta 48,9% en *Brachiaria humidicola* con la estimación *In vivo*. Van Soest⁵⁶, evaluando paja de arroz, encontró que los métodos *In situ* e *In vitro* subestiman los valores que se obtienen con estimaciones

In vivo. La M2 posee una degradación efectiva de MS en rumen, superior, en un 14%, a la reportada para el medio de cultivo inicial de *A. bisporus* (M1)⁴³, la cual fue de 34,6%. En la tabla 11, utilizando diferentes técnicas de digestibilidad ruminal, se han reportado digestibilidades para el bagazo de caña que varían entre 16,1-32,8% y para la paja de arroz entre 35,1-47,5%. La M2 posee una degradación potencial y una degradación efectiva en rumen, de la materia seca, similar a la de materiales fibrosos tratados para mejorar su digestibilidad (tabla 11).

En cuanto a la degradación potencial y la degradación efectiva en rumen de la materia orgánica de M2, sus valores fueron 40,93% y 31% respectivamente. Las diferencias con estos mismos parámetros de la materia seca de M2, se deben esencialmente a las diferencias en la fracción *a*. La diferencia entre la fracción *a* de la MS y la MO de M2 se debe únicamente al contenido de cenizas. Lo que indica que M2 posee ciertos minerales que tienen una alta solubilidad en rumen. Sin embargo, en este estudio no se identificó la cinética de liberación ruminal de los principales minerales.

Los valores de digestibilidad determinados *in situ*, descritos en la tabla 11, no fueron determinados para MO, y dado que los tratamientos para mejorar la digestibilidad pueden causar pérdida del material original y concentrar las cenizas Adamović M, Grubić G, Milenković I, Jovanović R, Protić R, *et al.* The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Anim Feed Sci and Technol* 1998; 71 (3-4): 357 – 362., no es posible comparar el valor de degradabilidad *in situ* de MO para M2 con los valores de la tabla 11. Sin embargo, se puede esperar que el tratamiento con *Agaricus bisporus* no desmejore la degradabilidad de MO, o al menos la deje igual al material inicial, compensando el menor contenido de la fracción *a* con un mayor valor de la constante *Kd* debido a un mayor acceso de los microorganismos ruminales a las microfibras de celulosa expuesta por la acción del hongo²⁶.

Tabla 11. Digestibilidad de algunos residuos fibrosos y pastos lignificados.

| Referencia | Sustrato | Tratamiento | Especie | Metodo de Digestibilidad | | |
|---|----------------------|----------------------------|---------|--------------------------|------|-----------------------------|
| | | | | % MS | % MO | Digestibilidad |
| Tolera et al., 1998 ⁵⁵ | Rastrojo maíz | Sin tratar | Ovino | 36,3 | | DE, In situ 96h; Kp=0,03 |
| Chanthakhoun et al, 2012 ¹⁴ | Paja de arroz | 800g concentrado | Bufalo | 54,8 | 60,8 | In vivo |
| Reddy, 1996 ⁴⁴ | Paja de arroz | 800g concentrado | Bovino | 49,9 | 56 | In vivo |
| | | 810g bl.Gallinaza-melaza | Bufalo | 57,7 | 59,3 | In vivo |
| | | 500g salvado de arroz | | | | |
| | | 810g bl.Gallinaza-melaza | Bufalo | 60,1 | 65,9 | In vivo |
| | | 1000g salvado de arroz | | | | |
| Schiere y Wit, 1995 ⁵² | Paja de arroz | Sin tratar | Bovino | 47,5 | | In vivo TND |
| Bosma, 1997 ¹⁰ | Rastrojo sorgo | 10% <i>L. leucocephala</i> | Ovino | 41,8 | 42,1 | In vivo |
| | | 10% <i>L. leucocephala</i> | Caprino | 49,5 | 50,9 | In vivo |
| Van Soest, 2006 ⁵⁶ | Paja de arroz | Promedio sin tratar | Bovino | 42,9 | | In situ |
| | | Promedio sin tratar | Bovino | 47,2 | | In vivo |
| Elizondo, 1998 ²⁰ | Bagazo caña | Sin tratar | Bovino | 16,1 | | DE, In situ 96h; Kp=0,03 |
| | | Urea | Bovino | 27,3 | | DE, In situ 96h; Kp=0,03 |
| Ribeiro et al., 2011 ⁴⁶ | <i>B. humidicola</i> | Sin tratar | Bovino | 48,9 | 51,5 | In vivo |
| | | Urea | Bovino | 49,4 | 51 | In vivo |
| Zadrazil y Kumar, 1995 ⁶⁴ | Bagazo caña | Sin tratar | Bovino | 32,8 | | In vitro MS |
| | | <i>Pleurotus eryngii</i> | Bovino | 49,1 | | In vitro MS |
| Wingching-Jones y Alvarado, 2009 ⁶³ | <i>D. decumbens</i> | Sin tratar | Bovino | 46,8 | | In vitro MS |
| | | <i>P. Ostreatus</i> | Bovino | 52,5 | | In vitro MS |
| Karunananda y Varga, 1996 ²⁶ | Paja de arroz | Sin tratar | Bovino | 35,1 | 41,5 | In vivo |
| Akin et al, 1996 ³ | Tallo de sorgo | <i>Cyathus stercoreus</i> | Bovino | 44 | 50,6 | In vivo |
| | | Sin tratar | Bovino | 19,2 | | In vitro MS |
| | | <i>C. subvermispora</i> | Bovino | 31,9 | | In vitro MS |
| | Hoja de sorgo | Sin tratar | Bovino | 29,4 | | In vitro MS |
| | | <i>C. subvermispora</i> | Bovino | 55 | | In vitro MS |

Adicionalmente, con el fin de tener una idea preliminar sobre la palatabilidad y consumo del residuo por los bovinos, se realizó una prueba corta, con dos suministros de adaptación y uno de medición, que consistió en un experimento binomial conformado por seis ensayos de Bernoulli independientes (seis vacas Holstein en ordeño), en los cuales se consideró éxito el consumo del concentrado de prueba al momento del ordeño y fracaso el consumo del concentrado de prueba mezclado con concentrado comercial a razón de 1:1. La composición del concentrado de prueba fue: aceite de palma (30%), champiñonaza sin turba (M2) (40%), torta de soya (20%) y melaza (10%).

Esta prueba arrojó un límite inferior de confianza (IC) del 95% para el parámetro p de la distribución de la variable binomial, el cual contabiliza el número de éxitos, de 0,27. Esto significa que hay una confianza del 95% que el porcentaje de vacas que aceptan el concentrado tal cual (con 40% de M2) es de al menos un 27%. Si bien todas las vacas consumieron el concentrado prueba (40% de M2) o diluido (20% de M2), mostrando que hay aceptación del residuo por los bovinos, se deben realizar pruebas específicas de palatabilidad y consumo, de bloques multi-nutricionales, concentrados y raciones totales mezcladas con inclusión de M2, que permitan determinar el máximo nivel de inclusión de M2 tolerada por los bovinos, en cada una de las posibles formas de incluir el residuo en la dieta de estos.

Conclusiones

El residuo del cultivo de *Agaricus bisporus* presenta una mejor calidad nutricional cuando se retira la tierra de cobertura. Retirar la tierra de cobertura del residuo conlleva a una disminución en el contenido de cenizas, a un aumento en el porcentaje de proteína cruda y a un aumento en la degradación *In vitro* de materia seca. Este residuo, debido a la acción del hongo en dicho sustrato, tiene un mayor contenido de proteína cruda, un menor contenido de FDN y FDA, y un mayor contenido de cenizas, en comparación con los residuos fibrosos de donde proviene. La proteína cruda en este residuo está compuesta en más de 80% por proteína verdadera y la fracción FDN, dado que proviene de residuos lignocelulósicos y no es molida durante el proceso de la siembra del hongo, se considera 100% efectiva en rumen. La degradación *In situ* de MS del residuo estudiado se encuentra acorde con este mismo parámetro en residuos fibrosos tratados para mejorar su degradación.

El contenido de cenizas del residuo es alto, con variaciones del 31 al 45% de materia seca y presenta un alto contenido de calcio y azufre, asociado a la adición de sulfato de calcio en la formulación del sustrato para la siembra del hongo. También presenta altos contenidos de hierro. El alto contenido de hierro y azufre podría limitar la absorción del cobre, sin embargo este elemento presenta un alto contenido en el residuo, lo que podría contrarrestar los problemas de absorción. El contenido de sodio está acorde con los requerimientos del ganado bovino y el contenido de P, Mg, Mn, K y Zn, se encuentran en alrededor del doble de los requerimientos del ganado bovino. El alto nivel de azufre en este residuo limita su nivel de inclusión en la dieta total a un máximo de 8%, en la dieta de vacas de leche y bovinos de carne, y hasta un 14% en la dieta de vacas de leche próximas al parto. Debido a este nivel de inclusión en la dieta total, para ganado en sistema de pastoreo, la forma más práctica de incluir dicho residuo en la dieta es a través de alimentos concentrados o bloques multinutricionales.

Como punto final, se recomienda realizar pruebas de consumo específicas para cada forma de incluir el residuo en la dieta de bovinos y así determinar el máximo nivel de inclusión en cada escenario. También se recomienda reducir la inclusión de sulfato de calcio al 5% de la formulación del sustrato para la siembra de *Agaricus bisporus*, esto con el fin de reducir el contenido de azufre en el residuo del cultivo de *A. bisporus*. Igualmente, se recomienda realizar más análisis del contenido mineral de dicho residuo con el fin de caracterizar las variaciones en el contenido de cada mineral y hacer un análisis para determinar el contenido de molibdeno, ya que dicho mineral puede, junto con el azufre, limitar aun más la absorción de cobre por parte del bovino.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de Investigación Medellín (DIME) de la Universidad Nacional de Colombia, por la financiación del proyecto “Caracterización de hongos basidiomicetos comerciales con énfasis en su capacidad de enriquecimiento de residuos agroindustriales para alimentación animal”, Código 8311. También se reconoce y agradece la valiosa contribución de Luis Alfonso Arango, desde su antigua posición de Coordinador de Investigación y Desarrollo en la empresa Setas Colombianas S.A.

Referencias

1. Adamović M, Grubić G, Milenković I, Jovanović R, Protić R, et al. The biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus* mushrooms and its use in cattle feeding. *Anim Feed Sci and Technol* 1998; 71 (3-4): 357 – 362.
2. All T, Stobbs TH. Solubility of the protein of protein of tropical pasture species and the rate of its digestion in the rumen. *Anim Feed Sci and Technol* 1980; 5: 183 – 192.

3. Akin DE, Morrison WH, Rigsby LL, Gamble GR, Sethuraman A, et al. Biological delignification of plant components by the white rot fungi *Ceriporiopsis subvermispora* and *Cyathus stercoreus*. *Anim Feed Sci and Technol* 1996; 63 (1-4): 305 – 321.
4. AOAC. Official Methods of Analyses 988.05 of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) 16th edition. AOAC International Suite 400, 2200 Wilson Boulevard, Arlington Virginia USA; 1995.
5. AOAC. Official Methods of Analyses of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) 17th edition. AOAC International Suite 400, 2200 Wilson Boulevard, Arlington Virginia USA; 2000.
6. Araujo-Febres, O, Romero, M. Alimentación estratégica con bloques multinutricionales. I Suplementación de mautas en confinamiento. *Rev Cient FCV-LUZ* 1996; 6: 45 – 52.
7. Birbe B, Chacon E, Taylhardat L, Garmendia J, Mata D. Aspectos físicos de importancia en la fabricación y utilización de bloques multinutricionales. En Cardozo, A. y Birbe, B., eds. I Conferencia Internacional Bloques Multinutricionales. Universidad Ezequiel Zamora, Guanare 1994; 1-14.
8. Bolívar D, Ibrahim M. Solubilidad de la proteína y degradabilidad ruminal de *Brachiaria humidicola* en un sistema silvopastoril con *Acacia mangium*. Congreso Latinoamericano sobre Agroforestería para la Producción Agrícola Sostenible (1, 1999, Cali, Colombia). *Rev Agrof Amer* 1999; 39.
9. Bolívar PA, Sánchez J. Determinación de la cinética fermentativa *in vitro* de diferentes recursos forrajeros para rumiantes. Tesis Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín; 2005.
10. Bosma, R.H. 1997. Effect of addition of leaves from *Combretum aculeatum* and *Leucaena leucocephala* on digestion of Sorghum stover by sheep and goats. *Small Ruminant Research* 1997; 24: 167-173.
11. Buttery PJ. Protein synthesis in the rumen: Its implication in the feeding of non-protein nitrogen to ruminants. In: Principles of Cattle Production. Swan H and Broster WH, London; 1976, 145-168.
12. Cardona MG, Sorza JD, Posada SL, Carmona JC, Ayala SA, Álvarez OL. Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. *Rev Col Cienc Pec* 2002; 15 (2): 240 – 246.
13. Cardoza CH, Carías LB, Medrano NA. Evaluación de bloques multinutricionales en la alimentación de ganado de doble propósito en ordeño. Tesis Licenciatura, Universidad de El Salvador; 2009.
14. Chanthakhoun, V., Wanapat, M., Kongmun, P. Comparison of ruminal fermentation characteristics and microbial population in swamp buffalo and cattle. *Livestock Science* 2012; 143: 172-176.
15. Chen, X.L., Wang, J.K., Wu, Y.M. Effects of chemical treatments of rice straw on rumen fermentation characteristics, fibrolytic enzyme activities and populations of liquid- and solid-associated ruminal microbes *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 2008; 141: 1-14.
16. CNCPS. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion, version 5,0. Model documentation. Fox DG, Tylutki TP, Tedeschi LO, Van Amburgh MA, Chase LA, et al. The Cornell University Nutrient Management Planning System. Department of Animal Science, Cornell University, Animal Science Mimeo 213; 2003.
17. Correa, HJ. Efecto del manejo del pastoreo y la suplementación alimenticia en vacas lactantes de sistemas especializados sobre su metabolismo energético y proteico y el contenido de proteína en la leche. Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias de la Producción Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá; 2011.

18. Correa HJ. RUMENAL: procedimiento para estimar los parámetros de cinética ruminal mediante la función Solver de Microsoft Excel®. Rev Col Cienc Pec 2004; 17 (3): 250 – 254.
19. Detmann, E., Paulino, M.F., Mantovani, H. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using *Michaelis–Menten* kinetic. Livestock Science 2009, 126: 136-146.
20. Elizondo, I. 1998. Evaluación de tratamientos alcalinos sobre la calidad nutricional de residuos lignocelulósicos. Tesis para obtener el título de Doctora en Ciencias Pecuarias. Facultad de Medicina y Veterinaria. Universidad de Colima. México.
21. Emmanuele SM, Staples CR. Effect of forage particle size on *in situ* digestion kinetics. J Dairy Sci 1988; 71: 1947 – 1954.
22. Fariñas T, Mendieta B, Reyes N. ¿Cómo preparar y suministrar bloque multinutricionales al ganado?. Manual Técnico número 92. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Nicaragua; 2009.
23. FEDNA. Blas C, Mateos G, García P. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Tercera edición; 2010.
24. Grant RJ, Mertens DR. Impact of *in vitro* fermentation techniques upon kinetics of fiber digestion. J Dairy Sci 1992; 75: 1263 – 1272.
25. Huyen, N.T., Wanapat, M., Navanokraw, C. Effect of Mulberry leaf pellet (MUP) supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle fed on rice straw-based diets. Animal Feed Science and Technology 2012; 175: 8-15.
26. Karunanandaa K, Varga GA. Colonization of rice straw by white-rot fungi (*Cyathus stercoreus*): Effect on ruminal fermentation pattern, nitrogen metabolism, and fiber utilization during continuous culture. Anim Feed Sci and Technol 1996; 61 (1-4): 1 – 16.
27. Kiviste A, Álvarez JG, Rojo A, Ruíz AD. Funciones de crecimiento de aplicación en el ámbito forestal. INIA. Madrid, España; 2002.
28. Krishnamoorthy U, Muscato TV, Sniffen CJ, Van Soest PJ. Nitrogen Fractions in Selected Feedstuffs. J Dairy Sci 1982; 65 (2): 217 – 225.
29. Licitra G, Hernández TM, Van Soest PJ. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Anim Feed Sci and Technol 1996; 57 (4): 347 – 358.
30. Messner K, Srebomik E. Biopulping: an overview of developments in an environmentally safe paper-making technology, FEMS Microb Rev 1994; 13: 351 – 364.
31. Minson D J. Forage in ruminant nutrition. San Diego, California, Academic Press, Inc.; 1990, 483 p.
32. Nader, G.A., Robinson, P.H. Effects of maceration of rice straw on voluntary intake and performance of growing beef cattle fed rice straw-based rations. Animal Feed Science and Technology 2008; 146: 74-86.
33. Naranjo JF, Cuartas C. Caracterización nutricional y de la cinética de degradación ruminal de algunos de los recursos forrajeros con potencial para la suplementación de rumiantes en el trópico alto de Colombia. Rev CES Med Vet Zootec; Vol 6 (1): 9-19.
34. Nolan JV, Dobos RC. Nitrogen Transactions in Ruminants. En: Dijkstra J, Forbes JM, France J (eds.) Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism, 2nd edition. CABI Publishing; 2005, 177 – 207 p.
35. NRC. National Research Council. Nutrient Requirements for Beef Cattle. National Academy Press, Washington, DC; 1996, 249 p.
36. NRC. National Research Council. The nutrient requirement of dairy cattle. Seventh edition. National Academy Press, Washington, DC; 2001, 381 p.

37. Okano K, Kitagawa M, Sasaki Y, Watanabe T. Conversion of Japanese red cedar (*Cryptomeria japonica*) into a feed for ruminants by white-rot basidiomycetes. *Anim Feed Sci and Technol* 2005; 120: 235 – 243.
38. Ørskov ER, Oiwang I, Reid GW. A study on consistency of differences between cows in rumen outflow rate of fibrous particles and other substrates and consequences for digestibility and intake of roughages. *Anim Prod* 1988; 47: 45 – 51.
39. Ørskov ER, McDonald I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J Agr Sci* 1979; 92: 499 – 503.
40. Petre M, Zarnea G, Adrian P, Gheorghiu E. Biodegradation and bioconversion of cellulose wastes using bacterial and fungal cells immobilized in radiopolymerized hydrogels. *Res Cons and Rec* 1999; 27 (4): 309 – 332.
41. Posada S, Noguera R. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development* 2005; 17: 4.
42. Posada S, Noguera R, Bolívar D. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. *Rev Col Cienc Pec* 2006; 19: 4.
43. Ramírez A, Escobar AF. Caracterización de hongos basidiomicetos comerciales con énfasis en su capacidad de enriquecimiento de residuos agroindustriales para la alimentación animal. Tesis de pregrado en zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín; 2010.
44. Reddy, D.V. 1996. Evaluation of rice straw - poultry droppings based rations supplemented with graded levels of rice bran in fistulated buffaloes. *Animal Feed Science Technology* 1996; 58: 227-237.
45. Reid, ID. Solid-state fermentations for biological delignification. *Enzyme Microb Technol* 1989; 11: 786 – 803.
46. Ribeiro, S.S., Vasconcelos, J.T., Morais, M.G. Effects of ruminal infusion of a slow-release polymer-coated urea or conventional urea on apparent nutrient digestibility, *in situ* degradability, and rumen parameters in cattle fed low-quality hay *Animal Feed Science and Technology* 2011; 164: 53-61.
47. Sánchez DE, Arreaza LC, Abadía B. Estudio de la cinética de degradación *in vitro* de cuatro forrajes tropicales y una leguminosa de clima templado. *Rev Corpoica* 2005; 6 (1): 58 – 68.
48. Sánchez C, García M. Comparación de características productivas en caprinos con suplementación de bloques multinutricionales. *Zoot Trop Ven* 2001; 19 (3): 393 – 405.
49. Sandoval, LE. Estudio de las cualidades nutritivas de cuatro tipos de sustratos para el cultivo de *Agaricus bisporus*. Informe final de tesis de Ingeniería Agropecuaria, Escuela de ciencias agrícolas y ambientales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2012.
50. SAS. SAS Systems Software Version 8 for Windows. SAS Institute Inc., Cary, NC; 2001.
51. Shabtay A, Hadar Y, Eitam A, Brosh A, Orlov A, et al. The potential of *Pleurotus*-treated olive mill solid waste as cattle feed. *Biores Techn* 2009; 100 (24): 6457 – 6464.
52. Schiere, J.B., Wit, J. Feeding urea ammonia treated rice straw in the tropics. II. Assumptions on nutritive value and their validity for least cost ration formulation. *Animal Feed Science and Technology* 1995; 51: 45-63.
53. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci and Technol* 1994; 48: 185 – 197.

54. Tobía C, Vargas E. Fabricación Artesanal y Semi-Industrial de Bloques Multinutricionales. Serie Técnica Nutrición Animal Tropical 1999; 5 (1): 51 – 65. San José Costa Rica, Editorial de la Universidad de Costa Rica.
55. Tolera, A., Sundstøl, F., Said, A.N. The effect of stage of maturity on yield and quality of maize grain and stover. *Animal Feed Science and Technology* 1998; 75, 157-168.
56. Van Soest PJ. Rice straw, the role of silica and treatments to improve quality. *Anim Feed Sci and Technol* 2006; 130: 137 – 171.
57. Van Soest PJ, Wine RH. Use of detergents in the analysis of fibrous feed. IV the determination of plant cell wall constituents. *J Assoc Official Anal Chem* 1967; 50: 50.
58. Van Soest PJ, Wine RH. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fibre with permanganate. *J Assoc Official Anal Chem* 1968; 51: 780.
59. Vassilev N, Baca MT, Vassileva M. Plant lignocellulose and decomposition by fungi: from nature to industrial use. *Mycol* 1994; 8: 113 – 114.
60. Villas-Bôas SG, Esposito E, Mitchell DA. Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds. *Anim Feed Sci and Technol* 2002; 98 (1-2): 1 – 12.
61. Ware, R.A., Zinn, R.A. Effect of pelletizing on the feeding value of rice straw in steam-flaked corn growing-finishing diets for feedlot cattle. *Animal Feed Science and Technology* 2005; 123-124: 631-642.
62. Williams BA. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. En: Givens DI, Owen E, Omed HM and Axford RFE (editors). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Wallingford (UK). CAB International; 2000, 475 p.
63. WingChing-Jones R, Alvarado G. Valor nutricional del heno de transvala inoculado con el hongo *Pleurotus ostreatus*. *Agron Costarricense* 2009; 33 (1): 147 – 153.
64. Zadrazil F, Kumar A. Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi. *Biores Techn* 1995; 54: 85 – 87.
65. Zhang CK, Gong F, Li DS. A note on the utilization of spent mushroom composts in animal feeds. *Biores Techn* 2005; 52: 89 – 91.
66. Zinedine A, Mañes J. Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control* 2009; 20: 334 – 344.