

01666
25/01



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD Y PAREDES
CELULARES DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA
CON EL HONGO
PLEUROTUS OSTREATUS

T E S I S

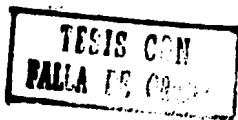
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL:
NUTRICION Y ALIMENTACION

P R E S E N T A :

José Edmundo Apráez Guerrero



MEXICO, D. F.



1989.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LISTA DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION	1
1.1. Revisión de literatura.....	5
1.1.1. Composición de la pulpa de café.....	5
1.1.2. Pulpa de café para rumiantes	8
1.1.3. Pulpa de café para monogástricos	10
1.1.4. Generalidades sobre el hongo <u>Pleurotus</u> <u>ostreatus</u>	12
1.2. Hipótesis	17
1.3. Objetivos	17
II. MATERIAL Y METODOS	18
2.1. Material	18
2.2. Métodos	19
2.2.1. Cepas fúngicas	19
2.2.2. Determinaciones de laboratorio	22
2.2.3. Análisis estadístico	23
III. RESULTADOS	24
3.1. Composición química	24
3.2. Digestibilidad <u>in vitro</u> y desaparición <u>in situ</u> ..	29
3.3. Velocidad y tiempo medio de desaparición	33
3.4. Otros constituyentes	41
3.5. Producción de fruto	43
IV. DISCUSION	46
V. CONCLUSIONES	56
VI. LITERATURA CITADA	60

L I S T A D E C U A D R O S

<u>Cuadro</u>	<u>Página</u>
1. Composición química de la pulpa de café	6
2. Compuestos orgánicos limitantes de la pulpa de café	7
3. Contenido de aminoácidos esenciales de la pulpa de café comparada con el de otras proteínas	7
4. Composición de la cascarilla de arroz inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	16
5. Distribución de los tratamientos	22
6. Análisis químico proximal de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	25
7. Fracciones de fibra de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	28
8. Digestibilidad <u>in vitro</u> y desaparición <u>in situ</u> de la materia seca y proteínas de la pulpa de café - inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	30
9. Desaparición <u>in situ</u> de las fracciones de fibra de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	32
10. Velocidad de desaparición de algunos constituyentes de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	34
11. Tiempo medio de desaparición de algunos constituyentes de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	40
12. Contenido de otros constituyentes determinados en la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	42
13. Ecuaciones de Regresión para cinéticas de desaparición de los diferentes constituyentes de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	44
14. Ecuaciones de Regresión para cinéticas de desaparición de los diferentes constituyentes de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> .	45

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1.	Cinética de desaparición de la materia de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> , a 25(A) y 50(B) días.	35
2.	Cinética de desaparición de la proteína de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> , a 25(A) y 50(B) días.	35
3.	Cinética de desaparición de la fibra detergente neutro de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> , a 25(A) y 50(B) días.	37
4.	Cinética de desaparición de la hemicelulosa de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> , a 25(A) y 50(B) días.	37
5.	Cinética de desaparición de la celulosa de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> , a 25(A) y 50(B) días.	38
6.	Cinética de desaparición de la lignina de la pulpa de café inoculada con <u>Pleurotus ostreatus</u> , a 25(A) y 50(B) días.	38

R E S U M E N

JOSE EDMUNDO APRAEZ GUERRERO. Evaluación de la digestibilidad y constituyentes de la pared celular de la pulpa de café inoculada con el hongo Pleurotus ostreatus. (Bajo la dirección del M.V.Z. FERNANDO PEREZ-GIL ROMO).

En virtud de la necesidad de evaluar la pulpa de café como recurso alimentario potencial para animales, se inoculó con cuatro cepas diferentes del hongo comestible Pleurotus ostreatus. Las estirpes utilizadas fueron: 18 x 37 (I), 56 H1 M1 x Mo 24 (II), 59 x 40 (III) y 8 x 3 (IV); con cada una de las cuales se incubó 4 bolsas de 2 kg para las fases miceliales de 25 y 50 días, lo mismo que para fructificación. El grupo testigo consistió en la pulpa procesada al igual que en los tratamientos investigados, solo que no se inoculó con cepa alguna. El experimento obedeció al esquema de un diseño completamente al azar y los resultados se compararon mediante pruebas de rango múltiple. Los resultados indican que la pulpa de café constituye un sustrato adecuado para el cultivo del hongo en la fase micelial, pero para la producción del carpóforo solo la cepa IV resulta apropiada. El incremento observado con el nitrógeno puede atribuirse a la fijación que hacen ciertos microorganismos asociados al cultivo o al hongo como tal. Debido a la variación genética, también existieron variaciones en el empleo de las fuentes energéticas, pero en todas las cepas se encontró que la hemicelulosa es mayormente utilizada en las distintas fases de crecimiento del apéfito. La celu-

lona es básica para la producción del carpóforo y la lignina se descompone mejor en las fases miceliales. La digestibilidad in vitro y desaparición in situ de M.S. celulosa y hemicelulosa son mejores en el sustrato incubado por 25 días en cambio la descomposición de lignina mejora al avanzar el crecimiento del hongo especialmente con las cepas I y IV, un fenómeno similar acontece con las cinéticas de desaparición. Existe una reducción apreciable en los compuestos limitantes de la pulpa de café (taninos y cafeína) inoculada con las cepas III y IV, también el potasio merma en forma significativa con la estirpe que produjo el carpóforo. La cepa IV que fue la única que fructificó, permitió corroborar que la pulpa es un adecuado sustrato para producción del hongo, incluso si se utiliza fresca pues su rendimiento en una sola cosecha fue del 67% cifra que es superior a - aquellos reportados cuando la pulpa se almacena, fermenta o se mezcla con pajas. A pesar de que el sustrato sobre el cual fructifica el hongo, empobrece por la utilización que el saprófito hace de los nutrimentos, la disponibilidad de los componentes restantes es digna de considerarse a la hora de formular dietas para ruminantes. La cepa III por su parte demostró ser la más adecuada para mejorar las características nutritivas del sustrato hecho importante que debe observarse para sucesivos trabajos en el campo de la alimentación animal.

I. I N T R O D U C C I O N

El mundo entero cuenta con un potencial abundante de desperdicios agrícolas, que bien pudieran ser integrados a la alimentación tanto humana como animal mediante el uso de tecnología apropiada. Los países llamados tercer mundistas sienten más a fondo esta necesidad, pues el crecimiento demográfico acrecienta el déficit alimentario y si aunado a esto se contempla la baja productividad del campo, el panorama resulta aún más desalentador.

Por otra parte, debe considerarse que en la mayoría de los cultivos agrícolas el producto cosechado representa apenas un 30% de la biomasa total producida y, que las pérdidas de material cosechado se acercan a un 50% (40), mientras que con la actividad forestal la producción de biomasa desperdiciada es todavía mucho mayor.

Debido a que los procesos de degradación natural no funcionan con la efectividad requerida de acuerdo a la producción, sobreviene un acúmulo de desperdicios que incluso han llegado a convertirse en un peligro para el equilibrio ecológico (40). Este es el caso de la pulpa de café la cual constituye un desecho en el beneficio del grano, que se ha venido utilizando como fertilizante en las mismas plantaciones cafecultoras, no por su valor como tal, sino por falta de otras alternativas de empleo. Sin embargo no fue sino hasta 1971 cuando se iniciaron estudios con metodología nutricional adecuada para la evaluación de este subproducto (7).

A éste respecto, Murillo y Col. (48), al comparar la deshidratación de la pulpa de café con sulfito, al sol y en barriles, encontraron que la composición química bajo estos procedimientos no reveló diferencias significativas. El ensilaje de pulpa sola o mezclada con pasto, genera un material de apreciable valor nutricional (49), - que puede utilizarse en alimentación de ruminantes, cerdos y pollos debido a su composición química, aunque ciertos factores antinutricionales pueden restringir su utilización extensiva (7). Otro método como lo es la biometanización ha demostrado ser efectiva para reducir la cafeína hasta en un 90% (18).

Por otra parte, la producción de pulpa de café supera el - millón de toneladas anuales en México y, una cantidad similar se produce en 4 países de América Central, cantidad que en su mayor parte se desecha, aunque se ha comprobado que puede usarse además de fertilizante, como alimento para animales, como combustible o bien para la producción de biogas (56).

Una alternativa adicional es el tratamiento de subproductos agrícolas con técnicas mecánicas o químicas, además de los tratamientos biológicos, especialmente con hongos de la llamada "pudrición blanca"; que han demostrado una buena habilidad para crecer en materiales lignocelulósicos (2,39,43,44).

A este respecto, se ha visto que un basidiomiceto, el Pleurotus ostreatus, creció adecuadamente en su fase micelical y fructificación sobre pulpa de café con paja como sustrato, generando buenas

producciones del saprófito (44). Del sustrato que queda después de cosechar los cuerpos fructíferos no se menciona nada en estos trabajos.

La utilización que hace el hongo en sus diferentes fases de crecimiento de los constituyentes de la pared celular, así como de la incorporación del nitrógeno (38), permite vislumbrar la posibilidad de que el sustrato implicado en la producción pueda favorecerse con esta actividad.

Con todos estos estudios precedentes, es posible afirmar que por una parte, la pulpa de café es un subproducto abundante y barato que requiere amplia investigación, con el fin de que se pueda incorporar a la alimentación animal y por otra, la biotecnología ha creado la alternativa promisoría de que especialmente los desechos orgánicos sean utilizados en forma adecuada y eficiente en una variedad amplia de campos.

Cabe destacar que la naturaleza por sí sola realiza procesos de degradación de compuestos fibrosos que han evitado la acumulación de estos materiales, además la degradación biológica evita la utilización de compuestos químicos, los que aparte de costosos resultan difíciles de aplicar en forma extensiva y su efectividad ha sido muy variada.

Estas consideraciones han llevado a pensar que la inoculación de la pulpa de café con el hongo comestible Pleurotus ostreatus, puede contribuir a mejorar la utilización de este material muy difun-

dido en Centro y Sur América, lo que genera un panorama promisorio para estos países que hasta ahora consideran a la pulpa como un desecho indeseable en el beneficio del café.

Si a lo último se añade que el producto es base fundamental de las divisas de estos países, toda investigación que se haga en aquel campo merece atención, hecho que se consideró al realizar esta investigación que fundamentalmente se centró en la evaluación de la digestibilidad in vitro, prueba que aunque no es muy precisa, permite la valoración rápida de material experimental simulando la digestión en el animal vivo (47). La desaparición in situ por su parte revela en mejor forma el grado en que los nutrientes pueden ser aprovechados por los microorganismos del rumen, pues el simple análisis químico puede prestarse a valoraciones erróneas.

1.1. REVISION DE LITERATURA

Muchos investigadores que han trabajado con pulpa de café en el campo nutricional, coinciden en afirmar que debido a su composición, este material requiere atención ya que es una fuente alimentaria potencial como se menciona a continuación:

1.1.1. Composición:

Un buen número de trabajos con pulpa de café, han reportado que los diferentes procesos a los que se somete este subproducto modifican en proporción variable su composición. El cuadro 1 presenta en forma sucinta la información encontrada al respecto.

El contenido proteínico permite pensar que este subproducto se puede incluir en buena proporción en la dieta, más aún si se contempla la adecuada cantidad de aminoácidos indispensables, incluso comparable con la pasta de soya. Pero la presencia de componentes orgánicos que se consideran tóxicos o antinutricionales, limitan el uso de la pulpa. Los cuadros 2 y 3 resumen las dos características mencionadas anteriormente.

El análisis químico aproximado del cuadro 1 muestra que la pulpa de café también puede aportar apreciable cantidad de energía especialmente para rumiantes.

CUADRO 1 COMPOSICION QUINICA DE LA PULPA DE CAFE

NUTRIMENTO	(%)		FERMENTADA ¹ NATURALMENTE Y DESHIDRATADA
	FRESCA ¹	DESHIDRATADA ²	
Humedad	76.70	12.6	7.9
Materia Seca	23.30	87.4	92.1
Extracto Etéreo	0.48	2.5	2.6
Fibra Bruta	3.40	21.0	20.8
Proteína Bruta (N x 6.25)	2.10	11.2	10.7
Cenizas	1.50	8.3	8.8
Extracto Libre de Nitrógeno	15.80	44.4	49.2
Calcio		0.55	
Fósforo		0.11	
Sodio		0.10	
Potasio		1.76	
Hierro		0.01	

1. Balconi, Ivan. Tecnología Avípecuaria (1988).

2. Bressani y Col Turrialba (1972).

CUADRO 2 COMPUESTOS ORGANICOS LIMITANTES DE LA PULPA DE CAFE

COMPUESTO	BASE SECA
Taninos	1.8 - 8.56
Péptidos Totales	6.5
Azúcares Reductores	12.4
Azúcares no Reductores	2.0
Cafeína	1.3
Acido Clorogénico	2.6
Acido Cafeico Total	1.6

Balconi, Ivan. Tecnología Avipecuaria (1988).

CUADRO 3 CONTENIDO DE AMINOACIDOS ESENCIALES DE LA PULPA DE CAFE COMPARADA CON EL DE OTRAS PROTEINAS

AMINOACIDO	(g/16 gN)	
	PULPA DE CAFE	HARINA DE SOYA
Lisina	6.8	6.3
Histidina	3.9	2.4
Arginina	4.9	7.2
Treonina	4.6	3.9
Cistina	1.0	1.8
Metionina	1.3	1.3
Valina	7.4	5.2
Isoleucina	4.2	5.4
Leucina	7.7	7.7
Tirosina	3.6	3.2
Fenilalanina	4.9	4.9

Bressani y Col Turrialba (1972)

1.1.2. Pulpa de café para rumiantes

1.1.2.1. Terneros

Al utilizar la pulpa de café en forma de ensilado para este tipo de animales, se encontró al final del ensayo que la proteína total, albúmina, urea, Ca, P, glucosa, ácido glutámico, oxaloacético, glutámico transferasas y ácidos grasos volátiles estimados en suero sanguíneo después de ayunar, no mostraron diferencias apreciables entre los diferentes grupos, excepto para los ácidos grasos volátiles, aunque las razones de ello son discutibles (13).

La inclusión de niveles de 10, 20 y 30% de pulpa de café en becerros por un periodo de 12 semanas, mostró que el incremento de peso disminuía al aumentar el nivel de ésta en la dieta, aunque el consumo se comportó en forma contraria. Igualmente ocurrió con los incrementos y eficiencia alimentaria cuando el tratamiento se dió por 24 semanas. Sin embargo, las diferentes dietas no ejercieron un efecto significativo sobre la proteína, glucosa, urea, fosfolípidos, colesterol o creatinina en sangre. La digestibilidad de la proteína osciló entre 68.6 y 70.6% y el total de nutrimentos digestibles se encontró entre 52.6 y 56.0% (32).

La absorción y retención de nitrógeno en terneros que recibieron dietas elaboradas con pulpa, reveló que estos dos parámetros decrecen al aumentar el nivel de la misma (17); aunque los animales ganaron menos peso que el testigo (sin pulpa), y el valor alimenticio no presentó variación de acuerdo con el tiempo de almacenamiento. En

silar se considera que es la manera más adecuada para almacenar y posiblemente para mejorar el valor nutritivo de la pulpa (13).

Cuando se midió la respuesta de estos animales a la pulpa de café, cafeína y ácido tánico, se observó que niveles de 0.24% de cafeína sola o en combinación con ácido tánico, deprimen significativamente la ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia. Con un nivel de 0.12% de cafeína sola o con ácido tánico no sucede lo mismo. Diferentes niveles de este compuesto tóxico no presentan un efecto significativo sobre la proteína sérica, albumina, glucosa o ácidos grasos volátiles (16).

1.1.2.2. Novillos

El suministro de pulpa a bovinos que no han sido adaptados a consumir este subproducto provoca que pierdan peso. La creatinina, urea, proteína total y albúmina, lo mismo que la glucosa, Ca y P en suero sanguíneo tanto al comienzo como al final de período experimental no mostraron variación apreciable (18). En animales adaptados a consumir una dieta con 80% de pulpa, reduciendo gradualmente el pasto suplementario, se encontró que las pérdidas diarias de peso pueden alcanzar los 226 g/100Kg de peso al no suministrar forraje. Con forraje, las ganancias se incrementan logarítmicamente. Los efectos negativos en este trabajo se atribuyen al bajo consumo de materia seca causado por el consumo de pulpa de café (58).

Resultados diferentes se encontraron al evaluar dietas sin y con 20, 40 y 60% de pulpa deshidratada, donde se reportaron ganancias

de peso diarias de 1.5, 1.3, 0.8 y 0.1 kg/día respectivamente y un consumo de 8.0, 9.14, 11.0 y 34.9 kg/kg ganado (69).

1.1.2.3. Cabras

Niveles de 0, 20, 40 y 60% de pulpa como reemplazo del salvado de trigo, producen un decremento en el consumo de materia seca, proporcional al nivel de inclusión de pulpa en la dieta. El 20% de pulpa en la ración resultó antieconómico, el 40% aunque deprime el consumo se consideró como la mejor ración para mantenimiento, un 60% deteriora la salud de los animales. Sin embargo, para estos niveles se recomienda el uso de grano con el objeto de optimizar el balance de energía en las dietas que contienen pulpa y con ello mejorar al comportamiento de los animales (1).

1.1.3. Pulpa para monogástricos

1.1.3.1. Cerdos

Las características anatomofisiológicas del tracto gastro-intestinal en este tipo de animales, ha llevado a que los investigadores sean muy cuidadosos al incluir subproductos nuevos en las dietas de monogástricos. A pesar de estas consideraciones, se evaluó la pulpa de café en cerdos que se llevaron desde los 12 a los 90 kg de peso con cambios en la dieta a los 35 y 65 kg; en estas 3 etapas se probaron niveles de 8.2, 16.4 y 24.6% de pulpa de café deshidratada. En las dos primeras fases, tanto la ganancia de peso como eficiencia alimenticia se comportaron negativamente al aumentar el nivel de inclusión de la pulpa. En la tercera fase (65-90 kg), el nivel intermedio

de 16.4% mostró los peores parámetros (33).

Diferentes tipos de tratamiento como el ensilaje y la deshidratación se probaron en la fase de acabado de cerdos, encontrándose que la ganancia promedio de peso durante las 9 semanas que duró el experimento, no mostró diferencias significativas. La adición extra de metionina tampoco produjo resultados palpables (31).

Niveles de 5, 10, 15 y 20% de pulpa deshidratada incluida en raciones de cerdos en crecimiento, después de doce semanas y, al cabo de las cuales se sacrificó a la mitad de los animales con objeto de apreciar varias características de la canal, además del consumo y ganancia de peso, no mostraron resultados significativos (52).

1.1.3.2. Otras especies

La evaluación de pulpa deshidratada en ratas que se acostumbraron previamente, mostró que éstas toleraban bien el subproducto, pero la introducción abrupta de los animales a la pulpa causa la muerte de ellas. Otro aspecto que disminuye la toxicidad es el almacenamiento y secado al sol de la pulpa, lo mismo que la fermentación aeróbica de la misma, pero en todos los casos las ganancias de peso fueron menores que las encontradas en el grupo testigo. Los autores afirman que el comportamiento de pollos de engorda es similar al observado en ratas (14,61).

La inclusión de 30% de pulpa de café en la alimentación suplementaria de Tilapia aurea, reveló que en todos los casos la sobre

vivencia de los peces fue alta y no hubo diferencias significativas en cuanto a ganancia de peso entre los animales alimentados con y sin pulpa de café. Los peces suplementados ganaron más peso que aquellos no suplementados. Se confirmó que el alimento preparado fue eficientemente convertido por la tilapia generando una posibilidad de empleo promisorio en esta actividad aunque es necesario incrementar las investigaciones en este campo (10).

En otro orden de ideas, la biotecnología es una área que en los últimos años ha cobrado auge, ya que el potencial casi ilimitado de las técnicas biológicas para producir económicamente una gran variedad de sustancias y el hecho de que estos procesos empleen como materias primas principalmente recursos renovables, ofrece una perspectiva para el futuro. En este campo se considera a los hongos como una área que necesita mayor investigación, para verificar su efecto sobre los constituyentes de la pared celular, ya que éstos son el material más abundante en la biosfera. Dentro de este campo el hongo comestible Pleurotus ostreatus ha demostrado ser apropiado para tratar material lignificado, lo que lleva a hacer las siguientes consideraciones sobre este basidiomiceto.

1.1.4. Generalidades sobre el hongo Pleurotus ostreatus

Las características que lo diferencian de los demás se pueden resumir, en que su sombrero es en forma de concha o repias, con láminas decurrentes y tupidas, con esporas blanca y pie algodonoso; comestible de buena calidad cuyo habitat es lignícola por lo general se

bre madera muerta. La clasificación basada en el tipo de reproducción es como sigue:

ORDEN: Agaricales
 FAMILIA: Agaricaceae
 GENERO: Pleurotus
 ESPECIE: ostreatus

El Pleurotus ostreatus (P.o.) está considerado como basidio miceto, por producir esporas al exterior, también se considera dentro del grupo de los perfectos por tener una reproducción sexual (42). - La producción del hongo ostra a gran escala con técnicas modernas parte desde Hungría, sin embargo nuevos procesos se han implementado en Alemania Federal, donde los substratos utilizados principalmente son: cebada, centeno, paja de trigo y heno. Las estirpes utilizadas son H7 (Húngara) y 7 (Italiana) de P.o. por P. florida, que permiten a los 49 días de incubación a 32°C la cosecha y mercadeo (29). Los esporóforos del hongo fresco contienen 9.2% de materia seca. La composición antes y después de almacenarse a 2°C por cuatro días es como sigue: manitol 1.8 y 0.9%; trehalosa 6.5 y 10.8%; polisacáridos digeribles con amiloglucósidos 11.0 y 5.5%; pared celular 32.3 y 33.9% y el contenido proteínico es de 42.1 y 43.9% respectivamente (28). La alanina, ácido glutámico, valina, glutamina, glicina y leucina son aminoácidos predominantes de la proteína (51).

1.1.4.1. Cultivo

Para estudiar el substrato más adecuado y las condiciones requeridas para el cultivo del hongo P. ostreatus, la paja de cereales y tusa de maíz han resultado muy adecuados. El tronco de álamo fue ligeramente más productivo del carpóforo comestible que el tronco

de sauce. Árboles derribados recientemente fueron mejores que los derribados con tiempo previo al tratamiento y tallos jóvenes fueron superiores a tallos viejos. Sin embargo, la madera de desecho produce resultados completamente satisfactorios (4).

El crecimiento de *P. ostreatus* en paja picada de algodón remojado por 2 días y pasteurizada, se hizo empacando la paja fría en sacos y adicionando la cepa en una proporción de 1%, después de lo cual los sacos se sellaron y guardaron en la oscuridad a 39°C por un periodo de 10-12 días; pasado este tiempo, los sacos se abrieron y colocaron en un cuarto de crecimiento. La producción del hongo por kg (peso seco) de paja fue de 600 a 700 g. En ensayos comparativos con paja de algodón y de trigo, el crecimiento en el primero fue más rápido y fructificó 23 días antes (55).

El cultivo del hongo en pulpa de café con paja como sustrato en proporción 2:1 respectivamente y bajo diferentes periodos de fermentación, el resultado fue una producción alta y estable. Una alta eficiencia biológica se observó con la estirpe INIREB-B y 5 días de fermentación. Después de 10 días la mezcla fue menos adecuada para el cultivo del hongo y ninguna producción se obtuvo después de 20 días (42).

1.1.4.2. Efecto del hongo sobre subproductos agrícolas

Se probó el efecto de enzimas aisladas del hongo *P. ostreatus* sobre la estructura de la pared celular lignificada de troncos de haya y abeto. Los resultados respaldan la hipótesis de que oxidasas

Las hidrolasas actúan conjuntamente o posiblemente así, sobre la descomposición de las paredes celulares (50). La digestibilidad in vitro de la paja de trigo incubada por 56 días con *P. ostreatus* por sí solo fue inefectivo. El precalentamiento y someter la paja a autoclave antes de la inoculación fueron innecesarios. Ni el tamaño de la partícula, ni la proporción del inóculo afectaron la digestibilidad in vitro de la materia seca. La descomposición de lignina en 10 g de paja precalentada a 25°C e incubada a 25°C, por un periodo de 56 días fue de 69%, comparada con 83% de la hemicelulosa y 55% para la celulosa (65).

Al comparar la cascarilla de arroz natural y la cascarilla degradada por 35 días con *Pleurotus ostreatus*, el contenido de los nutrientes investigados que presenta el cuadro 4 revela una diferencia importante al utilizar el basidiomiceto.

Al inocular la paja de cebada con P.o. los porcentajes de celulosa y hemicelulosa fueron menores en la paja inoculada por 45 a 60 días que en la paja no tratada. El contenido de lignina no reveló diferencias entre los distintos tratamientos. El contenido energético fue ligeramente menor en la paja inoculada; tampoco hubo diferencias en la digestibilidad de la materia seca de los distintos tratamientos. Los autores aseguran que la cepa de P.o. utilizada fue incapaz de delignificar la paja por carecer de fenoloxidasas (54).

CUADRO 4 COMPOSICION DE LA CASCARILLA DE ARROZ INOCULADA CON PLEUROTUS OSTREATUS

NUTRIMENTO	(%)	
	CASCARILLA DE ARROZ NATURAL	CASCARILLA DE ARROZ DEGRADADA POR 35 DIAS
Proteína Bruta	2.15	9.31
Extracto Etéreo	2.66	0.64
Fibra Bruta	40.53	26.22
Celulosa	37.72	30.33
Lignina	20.95	12.30
Ceniza	23.17	29.60
E.L.N.	31.49	34.22
Digestibilidad (NS)	18.58	33.34

Bog y Col. (1986)

1.2. HIPOTESIS

Hipótesis nula:

La inoculación de la pulpa de café con el hongo Pleurotus ostreatus no produce beneficio en la composición química y digestibilidad de este subproducto.

Hipótesis alterna:

La incubación de la pulpa de café con el hongo comestible Pleurotus ostreatus produce una degradación apreciable en los constituyentes de la pared celular y un incremento en la digestibilidad del sustrato.

1.3. OBJETIVOS

Con el trabajo que aquí se plantea se persiguen los siguientes objetivos:

Evaluar la degradación de los constituyentes de la pared celular de la pulpa de café producida por la inoculación de ésta con el hongo - Pleurotus ostreatus.

Establecer en que fase de crecimiento del hongo sobre la pulpa de café se favorece la digestibilidad del subproducto.

II. MATERIAL Y METODOS

2.1. MATERIAL

El trabajo se realizó en su primera etapa empleando el material, equipo e instalaciones del Departamento de Alimentos de la División de Ingeniería de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, quien proporcionó las cepas del hongo Pleurotus ostreatus, las que para mayor comodidad y entendimiento se denominaron como sigue: cepa 18 x 37 (I), cepa 56 NI-NI x Mo24 (II), cepa 59 x 40 (III) y cepa 8 x 3 (IV). Para efectuar la segunda parte del experimento, se utilizaron los recursos del Departamento de Nutrición Animal de la División de Nutrición Experimental y Ciencia de los Alimentos del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" organismo que facilitó los ovinos Felibuey fistulados en rumen, con los cuales se llevaron a cabo las pruebas de desaparición in situ y digestibilidad in vitro.

El sustrato (pulpa de café) se obtuvo en el Centro Experimental Intacucuo, propiedad del Instituto Mexicano del Café, ubicado en el Municipio de Martínez de la Torre, Veracruz, con una temperatura promedio de 24.4°C, una precipitación anual de 2,086.3 mm y a una altitud de 151. m.s.n.m. (12,59)

2.2. METODOS

La investigación se realizó en 2 etapas, la primera que consistió en la inoculación del hongo sobre la pulpa y, la segunda que se efectuó con los animales (prueba biológica) para evaluar las variantes de la primera fase sobre la desaparición in situ y la digestibilidad in vitro del material experimental.

2.2.1. Etapa I

2.2.1.1. Cepas Fúngica

Las cepas seleccionadas para el experimento que se detallan al comienzo de este capítulo, algunas de ellas híbridos obtenidos en el Departamento de Alimentos de la Facultad de Química ya citada, se propagaron conforme a las recomendaciones de Beno, Chang, Eger, Elliot y Hashimoto (8,20,21,24,25,30).

2.2.1.2. Propagación Vegetativa del Hongo

El medio de cultivo de malta agar, se preparó disolviendo 15g de extracto de malta y 20g de agar en un litro de agua destilada. El medio se esterilizó a 121°C por 15 minutos en autoclave y se vertieron 15 ml de éste en cajas de Petri de 10 cm de diámetro. Después de solidificar el medio, las placas se inocularon con cubos de agar (de 1 cm de lado) con micelio.

Las placas inoculadas se empacaron en bolsas de plástico y se incubaron en estufa durante 8 días a 28°C. El micelio que creció en estas placas se utilizó para inocular nuevas placas preparadas con

el mismo método antes descrito y el talo obtenido en esta segunda resiembra se usó para preparar el inóculo de grano.

2.2.1.3 Preparación del Inóculo de Grano

Se denomina inóculo de grano al micelio que crece en un grano de trigo, centeno o mijo y que se utiliza para inocular el sustrato elegido para la fructificación o producción de esporóforos.

El inóculo de grano se preparó precociendo el trigo limpio por aproximadamente una hora, después de lo cual, se eliminó el exceso de agua y se agregó carbonato y sulfato de calcio en proporciones de 0.3 y 1.3% en base húmeda del grano respectivamente, con el objeto de estabilizar el pH.

Una vez realizado este proceso, se colocó en frascos de vidrío, los cuales se taparon con hule espuma y papel aluminio. De esta manera, los frascos se llevaron a autoclave (1 hora a 1.2 kg/cm^2 y 121°C), se dejaron enfriar a temperatura ambiente antes de inocu-
larlos con el micelio descrito previamente.

Una vez inoculados, los frascos se incubaron a 28°C durante 10 días usando para cada 500g de grano el micelio de 1 caja de Petri, dividido en cuadros de 1.5 cm de lado aproximadamente.

2.2.1.4. Preparación del Sustrato

La pulpa de café utilizada en este experimento se obtuvo de plantíos de café arábigo, de los cuales se cosechó el fruto que posteriormente se llevó a despulpadora, con el fin de separar el grano de la pulpa. Este subproducto así obtenido, se secó inmediatamente al sol en planillas de cemento, con la finalidad de evitar fermentación y facilitar su manejo.

Una vez en el laboratorio, la pulpa se volvió a rehidratar en agua por 2 horas para posteriormente pasteurizarse por 45 minutos en agua a 90°C.

Después de este proceso, se enfrió rápidamente hasta más o menos 30°C, temperatura a la cual se inoculó con el grano en una proporción de 4% con base al peso húmedo del sustrato. Este material - inoculado se empacó en bolsas de plástico (4 por tratamiento), con 2 kg de pulpa que se llevaron a incubación a 28°C por distintos periodos, como se representa en el siguiente cuadro (ver cuadro 5).

Una vez cumplidas estas fases, el material se secó para la realización de las diferentes pruebas de laboratorio y que se detallan en 2.2.2.

Cabe destacar que tan solo la cepa IV llegó a fructificar; las restantes se debilitaron a consecuencia de la contaminación con Penicillium sp. y Aspergillus sp. hecho éste que evitó el que llega-

CUADRO 5 DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS

	INOCULO DE GRANO (%)	INCUBACION (días)	FRUCTIFICACION (flujos)
TESTIGO	0	0	0
<u>CEPAS</u>			
I	4	25 50	1
II	4	25 50	1
III	4	25 50	1
IV	4	25 50	1

ran a producir cuerpos fructíferos, aunque todas las cepas se cultivaron en el mismo medio y bajo las mismas condiciones experimentales.

2.2.2. Etapa 2

El sustrato utilizado para la propagación del hongo, después de las diferentes fases descritas en el cuadro anterior se preparó para las determinaciones siguientes:

- Análisis químico proximal, siguiendo la metodología propuesta por la A.O.A.C. (5)
- Digestibilidad in vitro conforme a Minson y McCleod (47).
- Desaparición in situ de materia seca, nitrógeno y fracciones de fibra (26,35,46,57,66,67,68) que se efectuó a las 0,6,12 y 24 horas.

-Velocidad de desaparición (k) de la M.S. nitrógeno y fracciones de fibra empleando la regresión de semilogaritmo natural del sustrato no degradado contra el tiempo. El tiempo medio de degradación (T 1/2) se estimó a partir de la pendiente de K (35).

-Potasio, cafeína y taninos (5).

2.2.3. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos del experimento se evaluaron mediante un análisis de varianza y las medias de los tratamientos se compararon utilizando las pruebas de rango múltiple de Tukey y Duncan, con un nivel de significancia de 0.05.

El modelo estadístico utilizado (22,63) para verificar la influencia de los factores estudiados es como sigue:

$$Y_{iJ} = U + C_i + T_j + (CT)_{iJ} + E_{iJ}$$

en donde:

Y_{iJ} = Observaciones en el tipo i en el tiempo J

U = Media general

C_i = Efecto del tipo de inóculo (capa) i

T_j = Efecto del tiempo de inoculación J

$(CT)_{iJ}$ = Efecto de la interacción de tipo y tiempo de inoculación

E_{iJ} = Error aleatorio

III. R E S U L T A D O S

3.1. COMPOSICION QUIMICA

Los valores promedio obtenidos del análisis químico proximal de todos los tratamientos estudiados aparecen en el cuadro 6. El análisis estadístico de las diferentes variables, reveló diferencias entre cepas y tiempos para los distintos tratamientos.

La M.S. no se vió afectada como consecuencia de la incubación del hongo por 25 días, tampoco existen diferencias palpables ($P < 0.05$) cuando el periodo de incubación se extendió a 50 días en las diferentes cepas. La cepa I, sin embargo, refleja una disminución de este componente al extender el periodo de incubación; de la misma manera la cepa IV manifiesta este fenómeno, que se acentúa en la fase de fructificación.

La ceniza por su parte, muestra un ligero incremento, en la primera fase de incubación especialmente en las cepas II y III, pero la diferencia ($P < 0.05$) se acentúa cuando la fase micelial dura 50 días. En fructificación, el contenido de ceniza es mucho mayor que en las otras fases, superando casi en un 100% al testigo. Es importante señalar que en todas y cada una de las cepas evaluadas, se encontró que el contenido de material inorgánico aumentó a medida que se prolonga el crecimiento del hongo sobre el sustrato.

CUADRO 6 ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON FLEBOTUS OSTREATUS

		M.S.	CENIZA	E.E.	(% EN B.S.) F.B.	P.B. (Nx6.25)	E.L.N.
TESTIGO		18.8 ± 0.7 ^{ef}	5.5 ± 0.1 ^{abe}	2.9 ± 0.1 ^e	28.7 ± 0.1 ^{ae}	14.0 ± 0.1 ^{ae}	49.0 ± 0.3 ^e
CEPAS FASE ⁵							
I ¹	25	20.9 ± 1.4 ^A	5.3 ± 0.1 ^{aa}	3.2 ± 0.0 ^A	26.3 ± 0.1 ^{bca}	15.1 ± 0.1 ^{ca}	50.2 ± 0.3 ^A
	50	18.1 ± 0.3 ^{eB}	6.3 ± 0.1 ^{fb}	4.1 ± 0.0 ^{GB}	30.0 ± 0.1 ^{gb}	17.3 ± 0.1 ^{fb}	42.4 ± 0.4 ^{GB}
II ²	25	19.6 ± 1.1	5.8 ± 0.1 ^{bc}	3.1 ± 0.1 ^C	26.3 ± 0.5 ^{bcc}	14.6 ± 0.1 ^{bc}	50.4 ± 0.7 ^C
	50	18.8 ± 0.2 ^{ef}	6.2 ± 0.1 ^{efD}	3.6 ± 0.0 ^{fd}	29.8 ± 0.2 ^{gd}	16.0 ± 0.1 ^{gd}	44.6 ± 0.4 ^{fd}
III ³	25	20.4 ± 0.7	5.8 ± 0.0 ^{be}	3.3 ± 0.0	25.6 ± 0.2 ^{ce}	14.7 ± 0.1 ^{be}	50.7 ± 0.3 ^E
	50	19.7 ± 0.6 ^f	7.0 ± 0.3 ^{ff}	3.5 ± 0.0 ^f	32.2 ± 0.2 ^{hf}	16.7 ± 0.0 ^{hf}	40.7 ± 0.5 ^{hf}
IV ⁴	25	19.3 ± 0.3 ^G	5.3 ± 0.2 ^{ag}	3.0 ± 0.1 ^G	26.8 ± 0.1 ^{bg}	14.5 ± 0.1 ^{bg}	50.6 ± 0.5 ^G
	50	18.5 ± 0.5 ^{efH}	6.3 ± 0.3 ^{fh}	3.6 ± 0.1 ^{fh}	27.7 ± 0.2 ^{fh}	17.6 ± 0.1 ^{fh}	44.6 ± 0.4 ^{fh}
F ⁶		16.9 ± 0.0 ^I	10.3 ± 0.1 ^I	2.1 ± 0.0 ^I	29.0 ± 0.1 ^I	22.4 ± 0.1 ^I	36.3 ± 0.3 ^I

1 = Cepa 18 x 37

2 = Cepa 56HINI x No24

3 = Cepa 59 x 40

4 = Cepa 8 x 4

5 = Crecimiento micelial del hongo en días

6 = Crecimiento del hongo hasta fructificación

a, b, c, d = para cada media entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

e, f, g, h = para cada media entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

A, B, para cada media entre fases de la cepa I, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

C, D, para cada media entre fases de la cepa II, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

E, F, para cada media entre fases de la cepa III, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

G, H, I, para cada media entre fases de la cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

El contenido E.E. no reveló diferencias ($P < 0.05$) entre las cepas y el testigo para el crecimiento micelial a 25 días pero sí las hubo a los 50 días. Para la fase de fructificación, se notó una baja marcada en este nutrimento, las diferencias también son notorias en cada cepa para las distintas fases de crecimiento del basidiomiceto; exceptuando a la III donde no hubo mayor variación en el contenido lipídico .

La fibra bruta mostró una variación significativa ($P < 0.05$) entre el testigo y las cepas estudiadas desde los 25 días de incubación, diferencia que se acrecentó al aumentar este nutriente a los 50 días de crecimiento micelial y en fructificación. Al hacer la comparación por cepas entre las distintas fases, también los contenidos de F.B. reflejaron una diferencia marcada del nutrimento.

El nivel de proteína tuvo un comportamiento similar al de F.B. en las etapas de crecimiento del hongo a 25 días y 50 días de incubación. Otro tanto ocurrió en fructificación, donde las diferencias estadísticas ($P < 0.05$) son bien manifiestas.

En lo referente al E.L.N. es interesante anotar que para el crecimiento inicial del hongo en su fase micelial, el nutrimento no presentó variaciones ($P < 0.05$) entre las cepas evaluadas y el testigo, no obstante al prolongarse a 50 días se detecta una merma importante de los hidratos de carbono solubles. Esta baja se manifiesta con mayor intensidad al llevar al hongo hasta fructificación.

Con respecto a las fracciones de fibra (cuadro 7), la F.D.N. no reveló diferencias claras ($P < 0.05$) en el crecimiento micelial primario, exceptuando a la cepa III donde hay una reducción importante con respecto al material no inoculado y es notoria la variación en el contenido entre los 25 y 50 días, especialmente en las tres primeras cepas ya que para la IV (que fue la única que fructificó) la disminución no alcanza a ser notoria a medida que el hongo crece.

La hemicelulosa contenida en el sustrato testigo, es mayor estadísticamente ($P < 0.05$) que en el recuperado a los 25 días, el decremento en esta fracción se acentúa al avanzar la fase micelial 50 días. La comparación entre fases para las diversas cepas refleja disparidad entre ellas incluida la fructificación, aunque ésto no se observa con la cepa III, ya que la baja fue mínima.

No ocurrió lo mismo con la celulosa pues se notó una concentración mayor de este polisacárido en el sustrato inoculado desde la fase primaria con respecto al testigo ($P < 0.05$). Esta variación también es apreciable a los 50 días de crecimiento micelial y es notoria la depresión en el contenido de este nutrimento, cuando el hongo fructifica, no obstante en la cepa III no se presenta desigualdad al comparar las primeras 2 etapas miceliales, pero en las restantes la disparidad se preserva.

CUADRO 7

FRACCIONES DE FIBRA DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON PLEUROTUS OSTREATUS

		(2 EN S.S.)			
		F.D.N.	SEMI- CELULOSA	CELULOSA	LIGNINA
TESTIGO		66.01 ± 0.7 ^{abe}	18.6 ± 0.7 ^{ee}	29.8 ± 0.6 ^{ee}	20.8 ± 0.2 ^{ee}
CEPAS	FASE				
I	25	64.6 ± 0.1 ^{aA}	14.0 ± 0.8 ^{bCA}	32.6 ± 0.3 ^{bA}	24.5 ± 0.2 ^b
	50	69.5 ± 0.1 ^{fB}	10.3 ± 0.0 ^{fB}	34.1 ± 0.2 ^{fB}	24.1 ± 0.1 ^g
II	25	66.5 ± 0.1 ^{bC}	14.7 ± 0.6 ^{cC}	36.3 ± 0.4 ^{cC}	23.0 ± 0.1 ^{bcC}
	50	63.6 ± 0.2 ^{ed}	9.8 ± 0.4 ^{fD}	31.9 ± 0.1 ^{efD}	21.5 ± 0.1 ^{hd}
III	25	61.1 ± 0.5 ^{cE}	11.4 ± 0.9 ^b	31.2 ± 0.1 ^d	24.0 ± 0.7 ^b
	50	65.9 ± 0.8 ^{ef}	11.2 ± 0.2 ^f	31.8 ± 1.5 ^{ef}	23.3 ± 0.1 ^f
IV	25	66.0 ± 0.4 ^{ab}	11.8 ± 0.3 ^{bg}	33.0 ± 0.0 ^{bg}	22.3 ± 0.4 ^{acG}
	50	65.5 ± 1.5 ^e	10.0 ± 0.3 ^{fH}	33.7 ± 0.2 ^{fg}	23.1 ± 0.1 ^{fH}
	P	64.0 ± 1.1	10.9 ± 0.2 ^I	26.5 ± 0.1 ^H	29.6 ± 0.4 ^I

a,b,c,d, = para cada media entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

e,f,g,h, = para cada media entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

A, B, para cada media entre fases de la cepa I, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

C, D, para cada media entre fases de la cepa II, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

E, F, para cada media entre fases de la cepa III, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

G, H, I, para cada media entre fases de la cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

Algo parecido ocurre con la lignina pues en la primera fase de crecimiento del hongo se aprecia diferencias ($P < 0.05$) de semejanza que se acrecienta hacia los 50 días y se acentúa en el sustrato que produjo cuerpos fructíferos. Únicamente la cepa II y IV manifestaron disparidad entre las fases para este componente.

3.2. DIGESTIBILIDAD IN VITRO Y DESAPARICION IN SITU

La digestibilidad in vitro y la desaparición in situ de la materia seca y la proteína de la pulpa de café (cuadro 8) revela una mejoría ($P < 0.05$) al cultivar el hongo sobre ella. Para la primera determinación, desde el primer periodo de crecimiento del esporófito se aprecia beneficio, exceptuando la cepa IV donde no se nota el efecto. En el segundo ciclo de desarrollo micelial disminuye la digestibilidad con respecto a lo anterior pero sigue siendo mejor que el testigo especialmente en las estirpes II y III. Al llevar el sustrato a fructificar es notoria la depresión en este parámetro además las únicas diferencias entre periodos se observan en la cepa que fructificó.

La desaparición in situ de la M.S. parece tener un comportamiento similar (a 25 días) al anterior aunque no en la misma proporción ya que en aquel los valores son superiores. Lo que ocurre en la digestibilidad in vitro a los 50 días, también se presenta en esta determinación y sigue preservándose la bondad del hongo sobre el sustrato al compararlo con el testigo y entre periodos para cada cepa

CUADRO 8

DIGESTIBILIDAD IN VITRO Y DESAPARACION IN SITU DE LA MATERIA SECA Y PROTEINA DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON FLEUROTUS OSTREATUS

		M.S. ¹	(\bar{x}) M.S. ²	PROTEINA
TESTIGO		47.0 ± 0.0 ^{ae}	29.3 ± 0.2 ^{ae}	23.8 ± 0.2 ^{ae}
CEPAS	FASE			
I	25	56.1 ± 1.1 ^b	35.7 ± 0.1 ^{ba}	35.0 ± 0.1 ^{ca}
	50	47.0 ± 0.8 ^e	31.3 ± 0.4 ^{efB}	37.3 ± 0.4 ^{fgB}
II	25	53.4 ± 1.4 ^{bc}	35.0 ± 0.7 ^{bc}	35.3 ± 0.5 ^c
	50	54.0 ± 0.1 ^f	30.8 ± 1.0 ^{efD}	33.7 ± 0.9 ^f
III	25	60.7 ± 0.6 ^d	40.4 ± 1.2 ^{cE}	43.1 ± 1.1 ^d
	50	51.8 ± 1.3 ^f	34.2 ± 0.9 ^{ff}	41.9 ± 0.8 ^E
IV	25	50.4 ± 0.4 ^{acG}	33.8 ± 0.9 ^b	30.3 ± 0.9 ^{bG}
	50	46.4 ± 0.8 ^{eH}	31.5 ± 2.6 ^{ef}	35.6 ± 2.4 ^{fH}
	F	39.5 ± 1.8 ^I	35.1 ± 0.5	41.3 ± 0.5 ^I

1 = Digestibilidad in vitro a 48 horas

2 = Desaparicion in situ a 24 horas

a,b,c,d. = para cada media entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

e,f,g. = para cada media entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

A, B, para cada media entre fases de la cepa I, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

C, D, para cada media entre fases de la cepa II, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

E, F, para cada media entre fases de la cepa III, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

G, H, I, para cada media entre fases de la cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

($P < 0.05$). En este caso, la fructificación contribuye más aún a mejorar la desaparición de la M.S. contrario a lo que se vió con la digestibilidad in vitro

La proteína es otro nutrimento que muestra diferencia positiva ($P < 0.05$) al evaluar su desaparición en el sustrato que se inoculó e incubó tanto a 25 como a 50 días y en fructificación. Solo las cepas I y IV revelan diferencias entre fases para la misma estirpe, en las 2 restantes no se aprecia este fenómeno.

La desaparición de las fracciones de fibra aparece en el cuadro 9, en él se observa que la F.D.N. es mejor atacada por la microbiota ruminal ($P < 0.05$) cuando la incubación del hongo sobre la pulpa dura 25 días, que cuando este periodo se extiende al doble. - En fructificación no parece palpable el efecto de la seta sobre el sustrato, aunque la figura 3B revela claramente el poder de degradación sobre la pulpa.

Una fracción que mostró un comportamiento disímil entre las cepas valoradas, fue la hemicelulosa, pues aunque todas ellas mostraron afinidad por este nutrimento desde el primer periodo la proporción fue diferente al compararse con el testigo ($P < 0.05$). A los 50 días la desaparición in situ se vió atenuada en todas las cepas, y en todas ellas se observó disparidad entre las fases de crecimiento a las que se llevó el hongo.

CUADRO 9

**DESAPARICION IN SITU DE LAS FRACCIONES DE FIRMA DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON
PLEURUM OTREATUS**

		(%)			
		F.D.M.	HEMI- CELULOSA	CELULOSA	LIGNINA
TESTIGO		13.1 ± 0.2 ^a	33.4 ± 0.1 ^{aa}	16.7 ± 0.2 ^{aef}	8.7 ± 0.2 ^{ae}
CEPAS	FASE				
	25	19.7 ± 0.1 ^{bc}	43.0 ± 0.1 ^{ba}	27.4 ± 0.1 ^{ca}	23.8 ± 0.1 ^{ba}
I	50	18.5 ± 0.5	26.7 ± 0.4 ^{fB}	18.5 ± 0.5 ^{efB}	18.0 ± 0.5 ^{ghB}
	25	20.9 ± 0.8 ^{bcC}	54.0 ± 0.5 ^{cC}	31.5 ± 0.7 ^{dC}	14.1 ± 0.9 ^c
II	50	13.5 ± 1.2 ^D	30.4 ± 1.0 ^{efD}	22.3 ± 1.1 ^{fD}	15.9 ± 1.2 ^g
	25	21.4 ± 1.5 ^c	41.1 ± 1.1 ^{bE}	26.4 ± 1.4 ^{bcE}	27.9 ± 1.4 ^d
III	50	17.8 ± 1.1	29.9 ± 0.9 ^{efF}	13.1 ± 1.1 ^{aF}	23.3 ± 1.0 ^{fh}
	25	17.5 ± 1.1 ^b	42.8 ± 0.8 ^{bG}	24.6 ± 1.0 ^{bG}	9.3 ± 1.2 ^{aG}
IV	50	14.5 ± 3.2	29.0 ± 2.6 ^{efH}	12.7 ± 3.3 ^{eH}	26.1 ± 2.8 ^{fH}
	F	14.5 ± 0.7	37.1 ± 0.5 ^I	15.7 ± 0.7 ^H	22.9 ± 0.6 ^H

a,b,c,d = Para cada media entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

e,f,g,h = Para cada media entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

A, B, Para cada media entre fases de la cepa I, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

C, D, Para cada media entre fases de la cepa II, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

E, F, Para cada media entre fases de la cepa III, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

G, H, I, Para cada media entre fases de la cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

Algo parecido a lo que ocurrió con la fracción anterior, se presentó con la celulosa, ya que en ésta, para la primera etapa se ve una diferencia ($P < 0.05$) marcada de las cepas con el testigo. En cambio en el segundo período no existieron desigualdades palpables entre los cultivos, tampoco la fructificación demostró ser adecuada a la hora de aprovechar la celulosa de la pulpa de café.

La desaparición de la lignina mostró una clara diferencia ($P < 0.05$) de las 3 primeras cepas con el testigo (a 25 días) no así la cepa IV que fue la que fructificó pues en esta fase no se vio que el hongo actuara sobre el sustrato. A los 50 días sin embargo es notable la actividad sobre la pulpa pero la fructificación no refleja un beneficio mayor. Tan solo las cepas I y IV presentan discrepancia en los valores de las 2 primeras fases de crecimiento de la seta.

3.3. VELOCIDAD Y TIEMPO MEDIO DE DESAPARICION

En la velocidad de desaparición de algunos constituyentes de la pulpa de café (cuadro 10) se aprecia que la materia seca se degrada en promedio un 40% más rápido en las cepas incubadas por 25 días, que en el testigo, lo que constituye una diferencia ($P < 0.05$) apreciable, que no se observa al prolongar a 50 días el tiempo de incubación e incluso en fructificación. La cepa que revela disparidad entre las fases es la I, pero siempre a favor del primer período - (fig. 1 A y B). Los cuadros 13 y 14 contemplan las ecuaciones de regresión que ayudan a explicar mejor esta respuesta y las sucesivas.

CUADRO 10

VELOCIDAD DE DESAPARICION DE ALGUNOS CONSTITUYENTES DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA
CON PLEUROTUS OSTREATUS

		$(h^{-1} \times 10^{-3})$					
		N.S.	PROTEINA	F.D.N	MEMI- CELULOSA	CELULOSA	LIGNINA
TESTIGO		-6.4 ± 0.2^a	-2.2 ± 0.0^{aa}	-3.2 ± 0.1^a	-14.5 ± 0.0^{ae}	-5.2 ± 0.1^{ee}	-0.47 ± 0.0^{ade}
CEPAS	FASE						
I	25	-10.4 ± 0.0^{bA}	-4.4 ± 0.1^{bA}	-6.5 ± 0.1^b	-16.0 ± 0.0^{aA}	-8.4 ± 0.1^{bA}	-10.4 ± 0.0^{cA}
	50	-8.0 ± 0.7^B	-10.0 ± 0.7^{fB}	-5.1 ± 0.5	-4.4 ± 0.6^{fB}	-5.0 ± 0.5^{eB}	-3.6 ± 0.4^{egB}
II	25	-9.9 ± 0.7^b	-10.0 ± 0.2^c	-6.5 ± 0.5^{bc}	-24.0 ± 0.7^{cC}	-10.0 ± 1.4^b	-0.44 ± 0.5^{aC}
	50	-8.4 ± 0.0	-9.3 ± 0.1^f	-4.2 ± 0.1^D	-7.7 ± 0.1^{gD}	-9.0 ± 0.1^g	-6.9 ± 0.4^{fhd}
III	25	-11.4 ± 0.0^b	-10.9 ± 0.7^c	-7.5 ± 0.8^b	-15.0 ± 0.7^{eE}	-8.9 ± 0.7^{bE}	-2.6 ± 0.9^{bd}
	50	-9.3 ± 0.7	-10.7 ± 0.7^f	-5.0 ± 0.7	-3.5 ± 0.7^{fF}	-4.4 ± 0.6^{eF}	-4.6 ± 0.7^{gh}
IV	25	-9.7 ± 7.0^b	-5.4 ± 0.5^b	-5.9 ± 0.6^b	-19.0 ± 0.6^{bG}	-8.5 ± 0.5^{bG}	-3.6 ± 3.6^{bG}
	50	-7.6 ± 1.0	-7.8 ± 1.0^f	-4.9 ± 1.0	-5.4 ± 1.5^{fGH}	-1.9 ± 0.1^{fH}	-10.0 ± 1.5^{fH}
F		-5.3 ± 0.5	-5.5 ± 0.5	-1.9 ± 0.6	-5.9 ± 0.5^H	-4.6 ± 0.5^I	-6.2 ± 0.5^G

a,b,c,d = Para cada media entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

e,f,g,g = Para cada media entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

A, B, = Para cada media entre fases de la cepa I, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

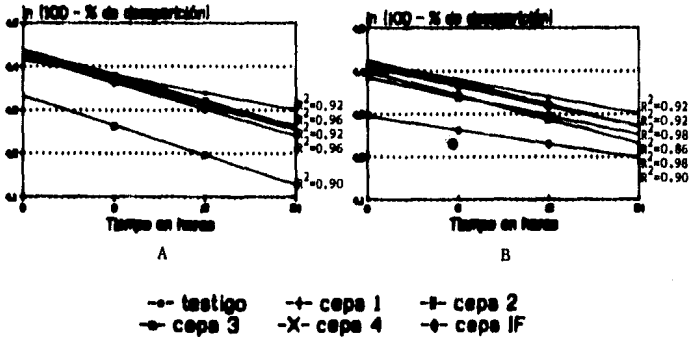
C, D, = Para cada media entre fases de la cepa II, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

E, F, = Para cada media entre fases de la cepa III, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

G, H, I, = Para cada media entre fases de la cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$)

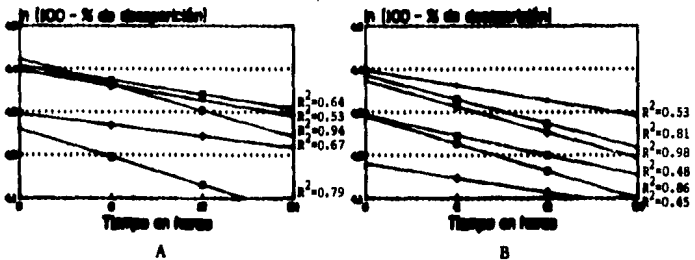
Cinética de desaparición de M.S. de la pulpa de café inoculada con *Pleurotus ostreatus* a 25 y 50 días.

FIGURA 1



Cinética de desaparición de proteína de pulpa de café inoculada con *Pleurotus ostreatus* a 25 y 50 días

FIGURA 2



Existe un efecto significativo ($P < 0.05$) en la velocidad de desaparición de la proteína a los 25 días de incubación, que se incrementa en la estirpe I al extender la etapa micelial, pero se deprime en las otras tres y en fructificación. (Fig.2 A y B).

Por su parte, la F.D.N. (fig.3 A y B) también se ve favorecida significativamente ($P < 0.05$) en el primer periodo, no así en el segundo donde es notoria la merma con respecto al anterior, especialmente en la cepa II y en fructificación.

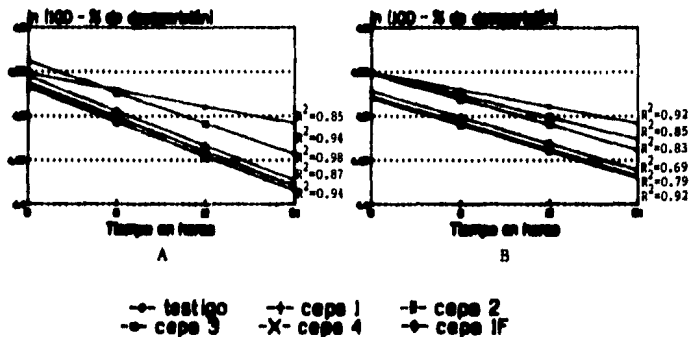
Solo en las cepas II y IV, se ve un aporte apreciable - ($P < 0.05$) del hongo a la desaparición de hemicelulosa en el primer ciclo micelial (fig.4 A y B); hacia el segundo, la reducción es notoria lo mismo que en la producción de cuerpos fructíferos sobre el sustrato.

Otro tanto sucede con la celulosa en la primera fase y solo se preservan las diferencias ($P < 0.05$) en la segunda etapa con las cepas II (fig. 5 A y B).

Por su parte, la velocidad de desaparición de lignina (fig.6 A y B) muestra que existe un efecto significativo del hongo ($P < 0.05$) en el primer ciclo micelial exceptuando la cepa II, no obstante, todas ellas atacan la lignina en el segundo periodo menos la I. La fructificación no demostró ser mas adecuada para este parámetro que la fase micelial más prolongada.

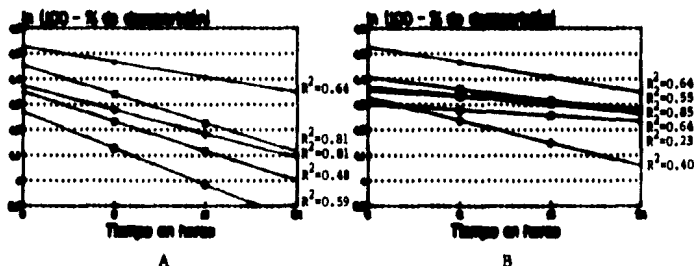
Cinética de desaparición de F.D.N. de la pulpa de café inoculada con *Pleurotus ostreatus* a 25 y 50 días.

FIGURA 3



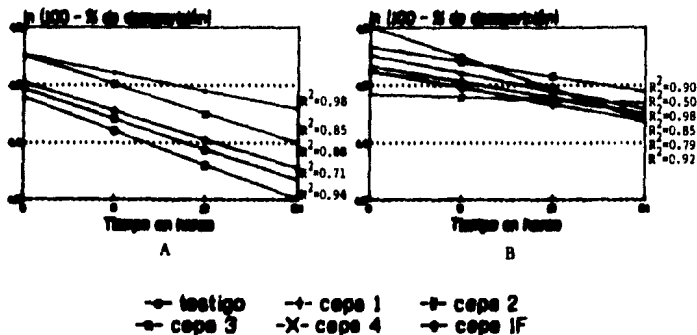
Cinética de desaparición de Hemicelulosa de pulpa de café inoculada con *Pleurotus ostreatus* a 25 y 50 días.

FIGURA 4



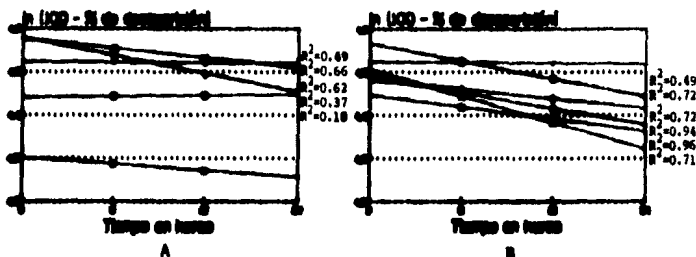
Cinética de desaparición de celulosas de la pulpa de café inoculada con *Pleurotus ostreatus* a 25 y 50 días

FIGURA 5



Cinética de desaparición de lignina de la pulpa de café inoculada con *Pleurotus ostreatus* a 25 y 50 días.

FIGURA 6



Como una lógica consecuencia de la determinación mencionada en el acápite anterior, el tiempo medio de desaparición de algunos constituyentes de la pulpa de café (cuadro 11) muestra que la M.S. del sustrato que no fue inoculado tarda más en degradarse ($P < 0.05$) que en aquel que se incubó por 25 días, cuando este tiempo se duplica, no se observa diferencias palpables y las únicas cepas que manifiestan diferencia entre las dos fases son la I y II.

Con la proteína el aporte del hongo al sustrato es perceptible ($P < 0.05$) en las distintas fases de desarrollo del saprófito, pero la única cepa que reveló diferencias entre periodos es la I; pues la producción de cuerpos fructíferos sobre pulpa, no ayuda mucho en esta determinación.

La F.D.N. presenta diferencias ($P < 0.05$) en ambos periodos miceliales y no en fructificación donde el tiempo medio de desaparición se acrecienta con respecto al testigo. Esto último sucede con la hemicelulosa pero en el segundo ciclo de crecimiento del micelio y en fructificación ya que en la primera etapa hay un decremento que es significativo ($P < 0.05$) con las cepas II y IV. Es destacable que en todas las variedades evaluadas se preserva una disimilitud entre los ciclos miceliales, no ocurre lo mismo al llevar el hongo a fructificar.

Con la celulosa ocurre algo parecido a lo dicho anteriormente, solo que en este caso la disminución es palpable ($P < 0.05$)

		(h)					
		N.S.	PROTEINA	F.D.N.	HEMI- CELULOSA	CELULOSA	LIGNINA
TESTIGO		107.7 ± 0.1 ^a	313.9 ± 0.5 ^{aa}	218.9 ± 0.7 ^{aa}	47.8 ± 0.0 ^{aa}	134.7 ± 2.2 ^{aaB}	1470.46 ± 10.7 ^a
CEPAS	FASE						
I	25	67.2 ± 0.3 ^{ba}	160.0 ± 2.3 ^{ca}	106.9 ± 0.8 ^b	44.2 ± 0.1 ^{aa}	83.2 ± 0.5 ^{ba}	66.9 ± 0.3 ^A
	50	87.8 ± 5.4 ^B	69.9 ± 3.5 ^{fb}	136.8 ± 12.9 ^f	162.1 ± 18.7 ^{fgB}	141.1 ± 14.1 ^{ab}	192.2 ± 25.8 ^{abB}
II	25	69.8 ± 3.7 ^{bc}	69.6 ± 3.1 ^d	107.4 ± 8.6 ^{bc}	29.2 ± 0.6 ^{cc}	70.2 ± 11.1 ^b	5620.4 ± 6.731
	50	82.3 ± 1.2 ^D	74.9 ± 1.0 ^f	164.9 ± 4.6 ^{fd}	98.6 ± 1.4 ^{efD}	77.1 ± 1.0 ^E	100.3 ± 5.6 ^{fh}
III	25	61.2 ± 4.4 ^b	64.2 ± 8.5 ^d	93.1 ± 10.8 ^b	46.3 ± 2.8 ^{ae}	78.5 ± 7.3 ^{be}	285.8 ± 99.2
	50	75.2 ± 5.7	67.7 ± 4.3 ^f	140.6 ± 19.9 ^f	200.2 ± 40.2 ^{ef}	161.1 ± 23.8 ^{ef}	151.8 ± 23.2 ^{hb}
IV	25	71.6 ± 4.1 ^b	126.3 ± 14.0 ^b	119.4 ± 12.4 ^b	36.4 ± 1.2 ^{bc}	81.7 ± 5.9 ^{bc}	193.1 ± 31.3 ^C
	50	95.9 ± 20.0	90.8 ± 18.0 ^f	150.1 ± 47.7 ^f	133.6 ± 38.5 ^{efH}	358.1 ± 21.1 ^{fh}	69.5 ± 10.6 ^{fh}
F		131.1 ± 12.8	128.1 ± 12.3	381.0 ± 10.4	118.8 ± 10.6 ^H	152.2 ± 17.2 ^I	112.5 ± 9.4 ^H

a, b, c, d = Para cada célula entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

e, f, g, h = Para cada célula entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

A, B, = Para cada célula entre fases de la cepa I, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

C, D, = Para cada célula entre fases de la cepa II, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

E, F, = Para cada célula entre fases de la cepa III, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

G, H, I, = Para cada célula entre fases de la cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

en las 4 cepas para el primer periodo y en el segundo hay un aumento en el tiempo que tan solo es palpable en la cepa IV. Al contrario que las demás, la estirpe II no reflejó disparidad para esta de terminación al comparar los periodos entre sí.

La etapa micelial prolongada, fue la única que pudo manifestar discrepancia ($P < 0.05$) con el testigo, al comparar el tiempo medio de desaparición de la lignina, y las cepas I y IV exhibieron desigualdad notoria al comparar las fases miceliales. Al fructificar el hongo no se observó que favoreciera en forma apreciable a la pulpa.

3.4. OTROS CONSTITUYENTES

El contenido de potasio (cuadro 12) en el crecimiento micelial a 25 días, no reveló variación alguna exceptuando a la cepa IV donde la disminución fue apreciable ($P < 0.05$); algo idéntico se observó al duplicar la etapa inicial de crecimiento del hongo con la misma estirpe. En esta misma, la diferencia fue notoria entre fructificación y los ciclos iniciales de desarrollo del asprófito.

Con los taninos el comportamiento fue distinto ya que en las 2 etapas miceliales e incluso en fructificación la reducción de este compuesto fenólico fue significativa ($P < 0.05$) al compararse con la pulpa no inculcada. No obstante tan solo en la cepa IV se detectó una diferencia importante entre las fases miceliales ya que la

CUADRO 12

CONTENIDO DE OTROS CONSTITUYENTES DETERMINADOS EN LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON
PLEUROTUS OSTREATUS

TESTIGO		POTASIO	(%) TANINOS	CAFEINA ¹
		1.7 ± 0.0^{ac}	0.68 ± 0.0^{ac}	1.59
CEPAS	FASE			
I	25	1.6 ± 0.1^a	0.45 ± 0.0^b	0.33
	50	1.6 ± 0.1^c	0.37 ± 0.0^e	0.32
II	25	1.6 ± 0.0^a	0.37 ± 0.1^b	0.35
	50	1.7 ± 0.0^c	0.25 ± 0.0^d	
III	25	1.7 ± 0.0^a	0.37 ± 0.0^b	0.29
	50	1.7 ± 0.1^c	0.23 ± 0.0^d	0.12
IV	25	1.4 ± 0.1^{bG}	0.31 ± 0.0^{bG}	0.37
	50	1.5 ± 0.0^{dG}	0.20 ± 0.0^{dH}	0.34
	F	2.0 ± 0.1^H	0.24 ± 0.0^{GH}	0.36

1. Análisis sin réplica

a, b, Para cada media entre cepas a 25 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

c,d,e, Para cada media entre cepas a 50 días, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

G, H, Para cada media entre fases de cepa IV, valores con distinta literal son estadísticamente diferentes (P < 0.05)

fructificación no mostró un comportamiento diferente a lo ocurrido a los 50 días.

A pesar de que la cantidad de muestra requerida para la determinación de cafeína no permitió la réplica necesaria para - efectuar el análisis estadístico, es importante destacar que este compuesto se redujo considerablemente en aquella pulpa que fue tratada con el hongo.

3.5. PRODUCCION DE FRUTO

Un aspecto que aunque no correspondía a los objetivos primarios de este trabajo pero se vio la conveniencia de evaluar, fue la producción del carpóforo en el sustrato. Como se dijo en 2.2.1.4, solo la cepa IV llegó a fructificar a pesar de que todas se maneja- ron bajo las mismas condiciones, hecho este que evitó la comparación deseada entre cepas para este parámetro. La producción obtenida en este caso fue de 67% en la primera y única cosecha realizada, que corresponde a 400g de hongo fresco por 600g de sustrato en base se- ca.

CUADRO 13

ECUACIONES DE REGRESION PARA GENETICAS DE DESAPARICION DE LOS DIFERENTES CONSTITUYENTES DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON PLEUROTUS OSTREATUS

		M. S.	PROTEINA	F. D. N.
TESTIGO		$\hat{Y} = 82.76e^{-6.4714 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 81.08e^{-5.71 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 94.54e^{-3.19 \times 10^{-3} X}$
CEPAS	FASE			
I	25	$\hat{Y} = 83.51e^{-0.0103 X}$	$\hat{Y} = 73.38e^{-4.36 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 94.14e^{-6.53 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 82.43e^{-7.90 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 79.20e^{-9.94 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 92.02e^{-5.09 \times 10^{-3} X}$
II	25	$\hat{Y} = 83.51e^{-9.43 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 83.26e^{-9.99 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 92.94e^{-6.45 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 83.18e^{-8.39 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 80.16e^{-9.28 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 94.44e^{-4.20 \times 10^{-3} X}$
III	25	$\hat{Y} = 76.09e^{-0.0113 X}$	$\hat{Y} = 70.81e^{-0.0108 X}$	$\hat{Y} = 93.50e^{-6.59 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 81.21e^{-9.22 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 73.04e^{-0.0107 X}$	$\hat{Y} = 91.84e^{-4.99 \times 10^{-3} X}$
IV	25	$\hat{Y} = 84.44e^{-9.73 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 81.94e^{-5.52 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 95.68e^{-5.86 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 80.08e^{-7.40 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 73.11e^{-7.75 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 94.44e^{-4.84 \times 10^{-3} X}$
	F	$\hat{Y} = 73.19e^{-5.34 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 65.30e^{-5.53 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 92.57e^{-5.03 \times 10^{-3} X}$

CUADRO 14

ECUACIONES DE REGRESION PARA CINETICAS DE DESAPARICION DE LOS DIFERENTES CONSTITUYENTES DE LA PULPA DE CAFE INOCULADA CON PLEUROTUS OSTREATUS

		HEMICELULOSA	CELULOSA	LIGNINA
TESTIGO		$\hat{Y} = 92.20e^{-9.76 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 94.73e^{-5.17 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 92.30e^{-4.80 \times 10^{-4} X}$
CEPAS	FASE			
I	25	$\hat{Y} = 79.04e^{-0.0156 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 90.38e^{-8.34 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 97.42e^{-7.01 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 77.94e^{-4.27 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 92.30e^{-4.96 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 88.32e^{-3.66 \times 10^{-3} X}$
II	25	$\hat{Y} = 71.38e^{-0.0237 X}$	$\hat{Y} = 88.15e^{-9.98 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 84.77e^{-4.80 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 81.78e^{-7.70 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 99.58e^{-9.0 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 96.16e^{-6.90 \times 10^{-3} X}$
III	25	$\hat{Y} = 77.32e^{0.0193 X}$	$\hat{Y} = 89.39e^{-8.86 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 73.77e^{-2.52 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 73.55e^{-3.51 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 96.16e^{-4.33 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 85.29e^{-4.64 \times 10^{-3} X}$
IV	25	$\hat{Y} = 85.80e^{-0.0189 X}$	$\hat{Y} = 94.92e^{-8.52 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 97.13e^{-3.65 \times 10^{-3} X}$
	50	$\hat{Y} = 78.65e^{-5.42 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 88.41e^{-7.42 \times 10^{-4} X}$	$\hat{Y} = 90.29e^{-0.0101 X}$
	F	$\hat{Y} = 75.57e^{-0.0148 X}$	$\hat{Y} = 92.94e^{-4.53 \times 10^{-3} X}$	$\hat{Y} = 88.94e^{-6.18 \times 10^{-3} X}$

IV D I S C U S I O N

Los resultados encontrados en el análisis químico proximal, permiten visualizar claramente que en la fase micelial existe en primera instancia una demanda elevada de agua (62) hecho que llevó a - concentrar un poco el contenido de M.S. en los sustratos inoculados. A medida que el talo crece, la demanda de M.S. seca se acrecienta y en fructificación lógicamente este requisito se hace mayor (53) hecho que llevó a reducir significativamente los constituyentes sólidos en la pulpa que produjo cuerpos fructíferos.

De lo anterior se desprende que todos los nutrimentos que engloba la M.S. van desapareciendo a medida que el hongo crece, claro está que todos ellos lo hacen en proporción diferente, este es el caso de la ceniza que debido a que los compuestos carbonados son mayormente utilizados, el componente inorgánico se concentra no queriendo decir esto que los minerales no se utilicen para el crecimiento del hongo ya que se ha visto que éstos son indispensables para el saprófito (38).

De igual manera, a lo que ocurre con la ceniza, se aprecia con la fracción grasa, fibra bruta y proteína, aunque en esta última existe la posibilidad de que el pequeño incremento de nitrógeno pueda deberse a la fijación atmosférica que haga el hongo o microorganismos asociados a él (38).

El E.L.N. por su parte mantiene su nivel en la primera fase micelial, hecho éste que conlleva a pensar que es poco el uso de este constituyente en las etapas iniciales de crecimiento del talo, pero cuando éste crece, también aumenta el consumo de hidratos de carbono simples y la demanda se acentúa en fructificación como lo afirma Kurtzman y Zadrazil (38).

Como es natural la F.D.N. no permite apreciar claramente que sucedió con cada uno de las fracciones que la componen, aunque las cepas II y III en su primera fase al reducir en mayor forma este componente, permite vislumbrar el que hayan resultado más hemicelulósicas que las otras cepas; hacia los 50 días de crecimiento micelial se nota una concentración mayor de F.D.N. como consecuencia de la pérdida de material orgánica más simple; la fructificación reveló el hecho de que al incrementar las necesidades del saprófito, éste se ve abocado a utilizar componentes de la fibra que antes había aprovechado en menor proporción.

El contenido de hemicelulosa encontrado para las diferentes estirpes y fases demostró ser el constituyente de la fibra que en mayor proporción se utiliza tanto en el desarrollo del talo como en la producción de cuerpos fructíferos, debido principalmente a la variedad de monosacáridos que lo conforman (19) y que brindan mayor opción nutritiva para las setas.

A pesar de que las cifras del contenido de celulosa no re-

flejan el trabajo del hongo sobre este compuesto ya que se ven un poco mayores que el testigo, la realidad es que se aprovecha un poco menos que la hemicelulosa especialmente en las etapas miceliales, pues en fructificación el uso del polímero es mayor, corroborando los resultados de varios investigadores que han encontrado este mismo fenómeno (34,38,60).

Como consecuencia de la pérdida de compuestos más degradables, el contenido de lignina aparentemente también se ve incrementado, pero como esto no puede darse en la práctica, es necesario considerar las pérdidas de que se habló para entender que en el crecimiento del talo se hace un uso importante de la lignina especialmente en la cepa II, hecho que pueda beneficiar al sustrato. Las pérdidas de este compuesto han sido mayores (38,37,) cuando se cultivó el Pleurotus ostreatus sobre otros desperdicios agroindustriales.

Desafortunadamente, no son muchos los trabajos que se han realizado para medir la digestibilidad del sustrato que queda después del cultivo de hongos, tampoco existen evidencias de que esto se haya hecho con la pulpa de café; por lo tanto, en este aspecto se comparará con lo que sucedió con otros sustratos, aunque la comparación no sea la más adecuada para el caso.

La digestibilidad in vitro de la M.S. para casi todas las cepas se ve favorecida, hecho que indica un aporte del hongo a la pulpa en su fase micelial. No obstante en aquella estirpe que fruc-

tificó, la digestibilidad se deprime paulatinamente desde la primera etapa hasta la fructificación, como consecuencia del empobrecimiento del sustrato, hecho éste que se mencionó en la primera parte de este capítulo. Shahjahan y colaboradores (6) encontraron un incremento en digestibilidad mucho mayor que al que aquí se reporta cuando inoculó cáscarilla de arroz con Pisurotus ostreatus.

Los resultados de Streater y colaboradores (64, 65) en cambio no muestran mejora apreciable al inocular con el mismo hongo la paja de trigo.

La desaparición in situ de la M.S. también revela algo parecido a lo que sucedió con el parámetro anterior, solo que en menor proporción; pero sigue persistiendo el beneficio del hongo sobre el sustrato, hecho ésto que lleva a pensar que el saprófito utiliza un material nutritivo que no lo aprovecharía la microbiota rumino-reticular si el hongo no actuara (60) previamente.

El incremento en la desaparición de la proteína especialmente con las cepas III y IV esta última en fructificación, permite pensar que el crecimiento del hongo sobre la pulpa reduce los polifenoles de la pulpa (como realmente se vió en este trabajo) compuestos éstos con reconocida actividad fijadora de proteínas que impiden su utilización (70).

Con respecto a la desaparición de F.D.M. el efecto positi-

vo del hongo en la primera fase de crecimiento del talo, se atribuye al aporte del basidiomiceto al sustrato, pues la depresión sucesiva en las fases más avanzadas corroboran este hecho, aunque de todas maneras el sustrato se vé favorecido por la inoculación. Al respecto, Bakshi y colaboradores (6) anotan un incremento en la digestibilidad de esta fracción al evaluar la paja de trigo inoculada con P.o. en búfalos.

El incremento en la desaparición de hemicelulosa al cultivar el hongo por 25 días, conlleva a pensar nuevamente que existe poca utilización de nutrimentos para esta fase, en cambio a los 50 días es notoria la depresión en este parámetro debido al empobrecimiento nutritivo del sustrato como consecuencia de la extracción que hace el hongo. El aumento detectado en fructificación pudo deberse al ataque del saprófito sobre compuestos como la lignina que ligan la hemicelulosa dificultando su aprovechamiento (23).

Con la celulosa, el panorama es similar al anterior solo que en una proporción menor debido posiblemente a la complejidad, tipo del hidrato de carbono o a la menor afinidad que las cepas poseen por la celulosa cuando tengan otros compuestos más simples en el medio (36, 37).

La variación en la desaparición de lignina se explica como consecuencia de la diferencia entre las cepas utilizadas (39). - Pero es notoria la bondad del hongo sobre el sustrato, ya que la

eliminación de este compuesto permite liberar otros constituyentes de gran valor energético, pues se ha encontrado que la degradación de lignina se presenta antes de la descomposición de la celulosa - (37) ya que de lo contrario el sustrato empobrecería y junto a esto su valor potencial para la alimentación animal.

Aunque como es lógico, los resultados que respaldan el beneficio de los tratamientos alcalinos sobre las velocidades de desaparición de M.S. nitrógeno y paredes celulares (3,71) difieren entre sí, también es importante destacar que el tratamiento biológico que este trabajo utilizó, favoreció en forma apreciable a la pulpa que se utilizó como sustrato, este efecto positivo se detectó principalmente en la fase micelial ya que en la etapa de producción del carpóforo las velocidades no varían demasiado con respecto al testigo, aspecto que se atribuye a la merma de nutrimentos en la citada fase, nutrimentos que se utilizaron para la producción de cuerpos fructíferos.

La lignina sobre la cual se tenía mucha expectativa, presentó cinéticas de desaparición mejores que el testigo en todas las fases de crecimiento del seprófito, esto corrobora los hallazgos de Kirk (37) y está en contraposición a otros trabajos que no detectaron tal efecto sobre las pajas (54).

Otro parámetro que se contrapone a lo afirmado por Kirk (37) es la hemicelulosa ya que según este autor el citado polímero

se degrada más lentamente que la lignina, pero en este estudio se encontró que la hemicelulosa es una de las primeras fuentes energéticas que utiliza el hongo en sus distintas fases de crecimiento. Claro está que las variaciones entre los resultados pueden deberse al tipo de cepas empleadas.

De la misma manera y aunque en menor proporción, la velocidad de desaparición de celulosa se acrecienta en el sustrato inoculado, ésto pudo deberse a la liberación que pudo darse al ser degradada la lignina por el micelio. Resultados similares son aportados por Shahjahan y colaboradores (60) al inocular cascarrilla de arroz con el mismo tipo de hongo.

Otro tanto aconteció con la proteína, cuyo incremento en la tasa de desaparición se atribuye a la reducción de taninos los cuales interfieren en su utilización y de lo cual se habló anteriormente, o bien al aporte del cultivo al sustrato.

Aunado a lo que aconteció con la velocidad de desaparición de los nutrimentos mencionados, se presenta el tiempo medio de desaparición y debido a su íntima relación (41), no se hará mayor hincapié en este aspecto pues los resultados al respecto se dejan en trever con la velocidad de desaparición ya discutida.

El aparente incremento en el contenido de potasio que se observó en casi todos los tratamientos, obedece principalmente a la pérdida de material orgánico que conlleva a la concentración de las cenizas en el sustrato residual, y con ella de los elementos minerales que contenga. No obstante el hongo requiere el potasio para su crecimiento (38), el nivel que de él queda en la pulpa tratada es un tanto elevado incluso para rumiantes (45). Aspecto que debe considerarse a la hora de formular dietas con este subproducto.

La reducción encontrada en los niveles de taninos en todos aquellos sustratos que fueron inoculados conducen a pensar que los polifenoles hidrolizables (27), pudieran utilizarse como fuente energética por el hongo, contribuyendo de esta manera a reducir este compuesto limitante en la utilización de la pulpa. La última aseveración hecha, no es mencionada por autor alguno, cosa que debe tomarse como una suposición que aunque basada en los resultados necesita comprobarse.

Otro constituyente limitante para la incorporación de la pulpa a las raciones que se redujo en forma considerable, fue la cafeína. Cabe la posibilidad de que el nitrógeno que posee haya sido utilizado por el hongo para su crecimiento. Es bien sabido que el F.o. tiene la capacidad de utilizar diferentes compuestos como fuentes de nitrógeno (38).

La producción obtenida con la única cepa que fructificó y

que fue del 67% para una sola cosecha, se considera como alta si se compara con producciones de 26.5% obtenidos en el primer flujo sobre sustrato mixto de pulpa y paja de cebada (43,44,).

Como se comentó antes, las restantes cepas se contaminaron y debilitaron evitando su fructificación y con ello se puede deducir que tan importante es la producción como la agresividad, por tanto estos aspectos son de consideración a la hora de implementar un cultivo.

En vista del gran número de variables evaluadas y las diferencias presentadas entre cepas y tiempos en los cuales se midió los parámetros, que pueden conducir a enmascarar resultados, a continuación se presenta una síntesis con los datos mas relevantes.

Con respecto a la utilización que hace el hongo de los componentes del sustrato, es notorio que en la fase micelial de 25 días, los nutrimentos se aprovechan menos que cuando dura 50 días. En la primera etapa la cepa III utiliza más que la IV la fibra bruta, FDN, hemicelulosa y la protefina se va incrementada. Cuando la etapa micelial se extiende al doble, la cepa IV hace una mayor utilización de la fibra bruta, hemicelulosa y los tóxicos de la pulpa, la protefina continúa su incremento en esta fase.

Para la misma etapa en menor proporción que la IV la cepa III utiliza el ELM, hemicelulosas y taninos, el incremento en protef-

na no es muy notorio, y la cepa I utiliza menos que la III los nutri
mentos mencionados.

En fructificación (con la cepa IV) es grande la extracción que hace el hongo de EE, ELM, hemicelulosa, taninos, la utilización de celulosa es escasa y el contenido proteínico sigue incrementando en esta fase.

En lo concerniente a la utilización que hacen los microorganismos ruminales de los nutrientes del sustrato, se encontró que de la pulpa inoculada con la cepa III por 25 días, la microbiota aprovecha en mejor forma la FDN, proteína y compuestos atrapados por la lignina, la digestibilidad in vitro, lo mismo que la desaparición in situ de la MS también se ven favorecidas con esta estirpe más que con otras. La cepa II por su parte favorece principalmente la utili
zación de Hemicelulosa y celulosa.

En el sustrato incubado por 50 días, la cepa III es la que favorece en mayor proporción la utilización de la MS tanto in situ como in vitro al igual que la proteína. Con la cepa I solo la hemicelulosa se utiliza en cantidad apreciable.

La fructificación mostró que aunque el sustrato empobrece por la extracción de nutrientes, para la producción del cuerpo, la utilización de compuestos asociados a la lignina así como la proteína bruta, son buenas por parte de la microflora ruminal.

V C O N C L U S I O N E S

Basados en los resultados relevantes presentados en este experimento, se puede concluir lo siguiente:

- La pulpa de café fresca demostró ser un buen sustrato para el cultivo del hongo Pleurotus ostreatus, puesto que existe una adecuada colonización en la fase micelial, y por otra parte, la cepa IV (8 x 3) aparte de agresiva, presentó una producción elevada si se compara con otras evaluadas en distintos trabajos.
- Los incrementos encontrados en cenizas y nitrógeno del sustrato inoculado, pueden atribuirse en parte a la pérdida de otros constituyentes que llevan a concentrar dichos nutrimentos; pero cabe la posibilidad, de que el hongo u organismos asociados a él puedan aportar especialmente nitrógeno al sustrato.
- Debido a la variación genética entre cepas, también existe una variación importante en el empleo de las fuentes energéticas, pero en todas ellas se encontró que la hemi celulosa es uno de los hidratos de carbono más utilizados en las diferentes fases de crecimiento del esprófito. La celulosa por su parte aunque en menor proporción que la anterior, también se utiliza en la etapa micelial, pero

es básica para la producción del carpóforo; fenómeno éste que no se observa con la lignina, pero en el crecimiento del telo parece haber mejor descomposición del complejo.

- Un efecto benéfico se detectó tanto en digestibilidad in vitro como en la desaparición in situ de M.B., notándose mayores valores cuando el micelio creció por 25 - días en el sustrato; las desapariciones son mejores con la cepa III (59 x 40) y IV (8 x 3), ésta última en la fructificación.
- La desaparición in situ de las fracciones de fibra (celulosa y hemicelulosa) también se mostró mayor que el teltigo en la fase corta de incubación con todas las cepas empleadas. Con la lignina se observó que las cepas I y IV mejoran la desaparición al avanzar la etapa micelial pero no acontece lo mismo con las otras dos.
- El llevar al sustrato a fructificación conlleva a mejorar la desaparición de lignina, pero tal efecto no es palpable con la celulosa y poco perceptible con la hemicelulosa de la pulpa de café.
- En términos generales, las cinéticas de desaparición de los distintos constituyentes evaluados se presentan mejor

res en el sustrato inoculado por 25 días con el hongo, que cuando esta etapa se prolonga al doble. La única excepción a esto la constituye la cepa IV donde la fase micelial mayor mejora la velocidad de desaparición de la lignina.

- La pulpa de café donde fructificó el hongo no muestra una mejoría mayor en los distintos parámetros evaluados, pero es necesario considerar si la producción de hongo pue de constituir una alternativa más apropiada para usar la pulpa, que el incorporar la pulpa con el micelio a dietas para animales.
- La reducción en los compuestos limitantes (potasio, taninos, cafeína) valorados en este ensayo, demotan un import tante efecto del hongo sobre los tóxicos; aspecto éste que requiere mayores estudios.
- Se recomienda la evaluación in vivo del sustrato proveniente de las fases micelial y fructificación, así como, el probar si la adición de fuentes de energía o nitrógeno no favorecen el ataque del hongo o la producción del mismo.

- La biotecnología constituye un vasto campo sobre el cual muchos estudios deben implementarse con el fin de generar mayores alternativas alimentarias que requieren nuestros pueblos.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

VI LITERATURA CITADA

1. Abate, A., Pfeffer, E.: Changes in nutrient intake and performance by goats fed coffee pulp based diets followed by a commercial concentrate. Amin. Feed Sci. & Technol., 14: 1-10 (1986).
2. Aguilar, A., Hernández, W.S., Ramírez, B.S.: Delineación del rastreo de maíz por Pleurotus ostreatus. Tesis de Licenciatura Fac. de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1982
3. Aguilera, B.A.: Evaluación del efecto de la suplementación del rastreo amoniatizado sobre la cinética ruminal y digestibilidad en Borregos Polibuey. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1988.
4. Anselmi, N., Deodrea, G.: Considerazioni sulla coltivazione del Pleurotus ostreatus su legno di salicaceae. Cellulosa e Carta., 30: 3-15 (1979).
5. A.O.A.C.: Official methods of analysis. 14th. ed. Association of Official Analytical chemists. Washington, D.C., 1984.
6. Bakshi, N.P., Gupta, V.K. and Longar, P.N.: Acceptability and nutritive evaluation of Pleurotus Harvested spent wheat straw in buffaloes. Agric.Wastes., 13: 51-57 (1985).
7. Balconi, I.: La pulpa de café. Tecnología Avipicultura., 1: 8-11 (1988).
8. Bano, Z. and Srivastava, H.C.: Studies on cultivation of Pleurotus sp. on paddy straw Food sci., 12: 363-365 (1962).
9. Bateman, J.V.: Nutrición Animal. Manual de Métodos Analíticos. Herrero Hernández Hermanos Sucesores, S.A. México, 1970.
10. Bayne, D.R., Bunceth, D. and Ramírez, C.G.: Supplemental feeds containing coffee pulp for rearing tilapia in Central America. Aquaculture., 9: 133-144 (1976).
11. Beg, S., Safer, S.I. and Shah, F.N.: Rice husk biodegradation by Pleurotus ostreatus to produce a ruminant feed. Agric. Wastes., 17: 15-21 (1986).
12. Boletín Clínico, Instituto de Meteorología Nautica de Veracruz, Veracruz, 1968.

13. Braham, J.F., Jarquin, R., González, J.M. y Bressani, R.: Pulpa y pergamino de café. 3. Utilización de la pulpa de café en forma de ensilaje. Arch. Latinoamer. Nutr., XXIII: 379-388 (1973).
14. Bressani, R., Estrada, E., Elias, L.G., Jarquin, R. y Valle, L.V.: Pulpa y pergamino de café 4. Efecto de la pulpa de café deshidratada en la dieta de ratas y pollos. Turrialba., 23: 403-409 (1973).
15. Bressani, R., Estrada, E., Jarquin, R.: Pulpa y pergamino de café. 1. Composición química y contenido de aminoácidos de la pulpa. Turrialba., 22: 299-304 (1972).
16. Cabezas, M.T., Estrada, E., Murillo, B., González, J.M. y Bressani, R.: Respuesta de terneros a pulpa de café y ácido tánico en la ración. Asoc. Latinoamer. Prod. Anim., 12: 15-21 (1977)
17. Cabezas, M.T., González, J.M. y Bressani, R.: Pulpa y pergamino de café 5. Absorción y retención de nitrógeno en terneros alimentados con raciones elaboradas con pulpa de café. Turrialba., 24: 90-94 (1974).
18. Cabezas, M.T., Murillo, B., Jarquin, R., González, J.M., Estrada, E. y Bressani, R.: Pulpa y pergamino de café 6. Adaptación del ganado bovino a la pulpa de café. Turrialba., 24: 160-167 (1974)
19. Cailleux, R., Drep, A. and Macaya-Lizano, A.: Pleurotus ostreatus et formes affines: comportement culturel, influence des sources carbonées et azotées sur le développement mycelien et la fructification Mushroom Sci., 9: 595-606 (1976).
20. Chang, S.T. and Hayes, W.A.: The Biology and cultivation of Edible Mushrooms. Academic Press, New York, 1978.
21. Chang, S.T. and Quimio, T.H.: Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. The Chinese University Press, Hong Kong, 1982.
22. Cochran, W.G. y Cox, G.H.: Diseños Experimentales. Trillas México, D.F., 1978.
23. Crampton, E.W. and Maynard, L.A.: The relation of Cellulose and lignin content to the nutritive value of animal feeds. J. Nutr. 15: 385-395. (1938).
24. Eger, G.: Biology and breeding of Pleurotus. In: the Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. Edited by: Chang, S.T. and Hayes, W.A., 497-519. Academic Press, New York, 1978.
25. Elliott, T.J.: Genetics and breeding of cultivated mushrooms In: Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. Edited by: Chang, S.T. and Quimio, T.H. 11-27. The Chinese University Press. Hong Kong, 1982.

26. Goering, H.K. and Van Soest, P.J.: Forage fiber analysis Agriculture Handbook No. 379, Agricultural Research Service. U.S.D.A., 1975.
27. Gutierrez, M.H.: Contribución al estudio de la pulpa de café Coffea arabica para su posible aprovechamiento como forraje. Tesis licenciatura. Fac. de Bioanálisis. Universidad Veracruzana. Xalapa, México., 1986.
28. Hammond, I.B.W.: The composition of fresh and stored oyster mushroom Pleurotus ostreatus. Phytochem., 19: 2565-2568 (1980).
29. Heltay, I.: Production of oyster mushroom Pleurotus ostreatus on a large scale with modern technique and a biotechnological process. Rev. Hortic., 274: 39-44 (1987)
30. Hashimoto, K. and Takahashi, Z.: Studies on the growth of Pleurotus ostreatus Mushroom Sci., 9: 583-593 (1976).
31. Jarquín, R. y Bressani, R.: Evaluación nutricional, en cerdos, de la pulpa de café sometida a varios procesos de almacenamiento. Turrialba., 27: 385-391 (1977).
32. Jarquín, R., González, I.M., Braham, J.E. y Bressani, R.: Pulpa y pergamino de café 2. Utilización de la pulpa de café en la alimentación de rumiantes. Turrialba., 23: 41-47 (1973).
33. Jarquín R., Rosales, F.A., González, J.M., Braham, J.E. y Bressani, R.: Pulpa y pergamino de café. 9 Uso de la pulpa de café en la alimentación de cerdos en la fase de crecimiento y acabado. Turrialba., 24: 353-359 (1974).
34. Kora, D.W. and Zadrazil, F.: Influence of gaseous, Light and substrate pretreatment on fruit-body formation. Lignin degradation and in vitro digestibility of wheat straw fermented with Pleurotus spp. Agric. Wastes., 18: 1-17 (1986).
35. Kampton, T.H.: El uso de la bolsa de nylon para caracterizar el potencial de degradabilidad de alimentos para el rumiante. Prod. Anim. Trop., 5: 115-126 (1980).
36. Kirk, K.T.: Effects of microorganisms on Lignin. Ann. Rev. Phytopathol., 9: 185-210 (1971).
37. Kirk, T.K. and Moore, W.E.: Removing lignin from wood with white rot fungi and digestibility of resulting wood. Wood Fiber., 4: 72-79 (1972).

38. Kurtzman, R.H.Jr. and Zadrzil, F.: Physiological and taxonomic considerations for cultivation of Pleurotus mushroom. In: Tropical Mushrooms, Biological Nature and Cultivation Methods. Edited by: Chang, S.T. and Quinio, T.H., 299-348 The Chinese University Press, Hong Kong, 1982.
39. Leal, L.H., Dosal, R.M. y Aviles, E.M.: Obtención de mutantes acelulolíticos de Pleurotus ostreatus. 1er. Cong. Nal. Mic. Xalapa, México, 1982.
40. Leal, L.H.: La utilización microbiológica de desperdicios ligno celulósicos. Potencialidades y perspectivas. Prospectiva de la biotecnología en México, Fundación Javier Barros Sierra, A.C. y CONACYT, 1985
41. Lesoing, G., Klopfenstein, T., Rush, J. and Ward, J.: Chemical Treatment of Wheat straw J. Anim. Sci., 51: 263-269 (1981)
42. Manzi, J.: Hongos. Comestibles y venenosos. Ediciones "Misiones Culturales de B.C., A.C." Guadalajara, México, 1976.
43. Martínez, C.D.: Cultivo de Pleurotus ostreatus sobre desechos agrícolas. I. Obtención y caracterización de cepas nativas en diferentes medios de cultivo sólido en el Laboratorio. Biotica., 4: 243-248 (1984).
44. Martínez, C.D., Soto, C. y Guzman, G.: Cultivo de Pleurotus ostreatus en pulpa de café con paja como sustrato. Rev. Mex. Mic., 1: 101-108 (1985).
45. Maynard, L.A., Loosli, J.A., Hints, H.F. y Warner, R.G.: Nutrición Animal, 7a ed. Mc Graw Hill, México, 1981.
46. Mehres, A.Z. and Orshov, E.R.: A study of the artificial fibre bag technique for determining digestibility. J. Agric. Sci. Camb., 88: 645-650 (1977)
47. Minson, D.J. and McLeod, M.N.: The *in vitro* technique, its modification for estimating digestibility of large numbers of tropical pasture sample. Division of Tropical Pasture, Technical paper No. 8: 1-5 (1972)
48. Murillo, B., Cobenas, M.T., Jarquin, R. and Bressani, R.: Effect of bi-sulfite addition on the chemical composition and cellular content fractions of dehydrated coffee pulp. J. Agric. Food Chem., 25: 1090-1092 (1977).
49. Murillo, B., Dequi, L., Cobenas, M.T. y Bressani, R.: Pulpa y pergamino de café. II. Características químicas de la pulpa de café ensilada con pasto Napier Pennisetum purpureum, y planta de maíz Zea mays. Arch. Latinoam. Nutr. XVI:33-45 (1976)

50. Necessary, V. and Schanel, L.: Effect of isolated enzymes of the fungi Pleurotus ostreatus on the submicroscopic structure of lignified cell walls. Drevarsky Vyskum., 27: 1-12 (1982)
51. Oka, Y., Ogawa, T. and Sasaoka, J.: First guidance for the occurrence of N delta-acetyl-L-ornithine and quantification of the free amino acids in the cultivated mushroom Pleurotus ostreatus. J. Nutr Sci & Vit., 30: 27-35 (1984).
52. Okai, O.B., Bonsi, M.L.K. and Easter, R.A.: Dried coffee pulp (DCP) as an ingredient in the diet of growing pigs. Trop. Agric., 62: 62-64 (1985).
53. Ornelas, C.M.: Cultivo del hongo comestible Pleurotus ostreatus sobre desechos forestales. Tesis de licenciatura Fac. de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1985.
54. Ortega, M., Can, B., Herrera, P. F. y Pérez-Gil, R.P.: Efecto de la inoculación del hongo comestible Pleurotus ostreatus en la composición química y digestibilidad de la paja de cebada. Arch. Latinoam. Nutr. XXXVI: 345-350 (1986).
55. Platt, M., Chat, I. Henis, V.: Growth of Pleurotus ostreatus on cotton straw. Mushroom J., 120: 425-427 (1982)
56. Revista Cafetelería. Aprovechamiento de la pulpa de café para forraje y/o abono agrícola. Abstracts on Trop. Agric., 8: 43447 (1981).
57. Rodríguez, N.: The in vivo bag technique in digestibility studies. Rev. Cub. Ciencias Agric., 2: 77-81 (1968)
58. Rufz, M.E. y Rufz, A.: Efecto del consumo de pasto verde sobre el consumo de pulpa de café y la ganancia de peso en novillos. Turrialba., 27: 23-28 (1977).
59. SARH, Dirección Gral de Servicios Meteorológicos Nal. Tacubaya México, D.F., 1982.
60. Shahjahan, B., Saeed, I.Z. and Shah, T.H.: Rice Husk Biodegradation by Pleurotus ostreatus to produce a ruminant feed. Agric. Wastes., 17: 15-21 (1986).
61. Soto, C., Martínez C.D., Morales, P. y S6bal, M.: La pulpa de café secado al sol, como una forma de almacenamiento para el cultivo de Pleurotus ostreatus. Rev. Mex. Mic., 3: 133-136 (1987).
62. Stamet, P. and Chilton, J.S.: The mushroom cultivator, a practical guide to growing mushroom at home. Agarikon press, Washington 1983.

63. Steel, R.G. and Torrie, I.H.: Principles and procedures of statistics, McGraw Hill Book Co., New York, 1960.
64. Streeter, C.L., Conway, K.E. and Horn, G.W.: Effect of Pleurotus ostreatus and Erwinia Corotovora on wheat straw digestibility. Mycologia., 73: 1040-1048 (1981).
65. Streeter, C.L., Conway, K.E., Horn, G.W. and Mader, T.L.: Nutritional evaluation of wheat straw incubated with the edible mushroom Pleurotus ostreatus. J. Anim. Sci., 54: 185-188 (1982).
66. Van Soest, P.J. and Wine, R.H.: Use of detergents in the analysis of fibrous feed. IV Determination of plant cell wall constituents. J.A.O.A.C., 50: 50-55 (1967).
67. Van Soest, P.J. and wine, R.H.: Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. J.A.O.A.C., 51: 780-785 (1968).
68. Van Soest, P.J.: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. III. Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. J.A.O.A.C., 48: 785-790 (1969).
69. Vargas, E., Cabezas, M.T., Murillo, B., Brahm, J.E. y Bressani, R.: Efecto de altos niveles de pulpa de café deshidratada sobre el crecimiento y adaptación de novillos jóvenes. Arch. Latinoamer. Nutr., XXXII: 973-989 (1982).
70. Velez, A.J., García, I.A. y De Rozo, M.P.: Interacción in vitro entre los polifenoles de la pulpa de café y algunas proteínas. Arch. Latinoamer. Nutr., XXXV: 297-305 (1985).
71. Zorrilla, R.J., Owens, F.N., Horn, G.W. and McNew, R.W.: Effect of ammoniation of wheat straw on performance and digestion kinetics in cattle. J. Anim. Sci., 60: 814-821 (1985).