

Nota técnica

## VALOR NUTRICIONAL DEL HENO DE TRANSVALA INOCULADO CON EL HONGO *Pleurotus ostreatus* sp<sup>1</sup>

Rodolfo WingChing-Jones<sup>2/\*</sup>, Giselle Alvarado Retana<sup>\*\*</sup>

**Palabras clave:** Rastrojo, valor nutricional, alimento para rumiantes, *Digitaria decumbens* Stent., cv. *Transvala*.  
**Keywords:** Straw, nutritional value, ruminant feed, *Digitaria decumbens* Stent., cv. *Transvala*.

Recibido: 14/10/08

Aceptado: 17/01/09

### RESUMEN

Se analizó el valor nutricional del heno de Transvala utilizado en la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. El heno fue analizado antes de inocular el hongo y después de la cosecha. Se determinó: materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), ceniza (Ce), digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS), carbohidratos no fibrosos (CNF), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina, nitrógeno ligado a la fibra detergente neutro (N-FDN) y a la fibra detergente ácida (N-FDA), nutrientes digestibles totales (NDT) (1X), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN<sub>l</sub>), energía de mantenimiento (EN<sub>m</sub>) y energía neta de ganancia (EN<sub>g</sub>). Sobresalen niveles bajos de PC, DIVMS y NDT, y valores altos de lignina, FDN y FDA. El contenido de MS, FDN, hemicelulosa (He), lignina, CNF y EE presentó diferencias significativas, debidas al crecimiento del hongo. La variación en calidad en estas variables fue de (-) 48,75%, (-) 24,76%, (-) 80,22%, (-) 27,94%, (+) 51,52% y (-) 26,13%, respectivamente. La mejoría en la calidad nutricional del heno, después de la cosecha del hongo, no es tan significativa como para cambiar la perspectiva en su uso dentro de la ración total de rumiantes, por lo que el beneficio del heno se basa más en aspectos físicos que nutricionales.

### ABSTRACT

**Nutritional value of Transvala hay inoculated with the mushroom *Pleurotus ostreatus*.** Nutritional value of hay used to produce the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* was analyzed. Hay samples taken before and after inoculation with the mushroom were analyzed for their dry matter (DM), crude protein (CP), ethereal extract (EE), ash (Ce), in vitro dry matter digestibility (IVDMD), no fiber carbohydrates (NFC), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin, neutral detergent-insoluble nitrogen (NDIN), acid detergent-insoluble nitrogen (ADIN), total digestible nutrients (TDN) (1X), digestible energy (DE), metabolizable energy (ME), net energy for lactation (EN<sub>l</sub>), net energy for maintenance (EN<sub>m</sub>), and net energy for gain (EN<sub>g</sub>). Transvala hay contents of CP, IVDMD and TDN were low; on the other hand, high contents of lignin, NDF and ADF were obtained. DM, NDF, hemicellulose (He), lignin, NFC and EE contents showed significant differences due to the mushroom's growth. Quality variation in these variables was (-) 48.75%, (-) 24.76%, (-) 80.22%, (-) 27.94%, (+) 51.52% and (-) 26.13%, respectively. Hay nutritional quality improvement after mushrooms harvest, is not so significant as to change the perspective on the use of hay for ruminants feed; therefore, the benefit of hay is based on physical aspects rather than nutritional value.

1 Proyecto de investigación N.º FR6330 de CONARE.  
2 Autor para correspondencia. Correo electrónico: rodolfo.wingching@ucr.ac.cr  
\* Escuela de Zootecnia, Centro de Investigación en Nutrición Animal. Programa de Agricultura

Orgánica, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

\*\* Escuela de Agronomía, Centro de Investigaciones Agronómicas. Programa de Agricultura Orgánica, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

## INTRODUCCIÓN

La utilización de los desechos agroindustriales se ha intensificado con el objetivo de reducir el impacto ambiental (Villas-Bóas et al. 2002). La implementación de prácticas para la elaboración de abonos orgánicos, por medio de compostaje o vermicompostaje; el uso de materiales fibrosos en la alimentación animal de especies rumiantes, por su habilidad de aprovechar la fibra y la utilización de estos como fuentes de energía dentro del mismo sistema; son ejemplos claros del trabajo del sector agroindustrial de Costa Rica, en busca de la sostenibilidad económica, social y ambiental de estos sistemas productivos.

La producción de hongos comestibles sobre diferentes sustratos, al igual que las prácticas antes mencionadas, surge como una alternativa para el manejo de desechos agrícolas lignocelulósicos. El cuerpo fructífero que produce el hongo es apto para el consumo humano y cuenta con un valor nutritivo alto (Rodríguez 2004); además, el residuo posterior al cultivo presenta una mejoría en su calidad, situación que potencia el uso del rastrojo inoculado para la alimentación de rumiantes (Villas-Bóas et al. 2002) y monogástricos (Buwoon y Yamauchi 2005). La mejoría en la calidad nutricional del residuo agrícola, después del crecimiento del hongo, ha sido mencionada por Escalona et al. (2001) en bagazo de caña de azúcar, Lozano (1990) en pulpa de café, Beg et al. (1986) y Fazaeli et al. (2004) en paja de trigo, Ortega et al. (1986) en paja de cebada, Albores et al. (2006) en rastrojo de arroz, Li et al. (2001) en cascarilla de algodón, y Díaz-Godínez y Sánchez (2002) en rastrojo de maíz.

En Costa Rica, la producción de hongos comestibles es incipiente, debido a un bajo consumo per capita, aspectos culturales, relación de la palabra hongo con sustancias alucinógenas y venenosas y por considerarse un delicatessen (Díaz 2005). De los sistemas existentes y sustratos evaluados, el heno de Transvala (*Digitaria decumbens* Stent., cv. *Transvala*) como sustrato, es el que más se emplea, ya que permite una mejor colonización por el hongo (Rodríguez 2004). Al igual que todo sistema productivo, este produce

un residuo conformado por el heno de Transvala y el micelio del hongo. Actualmente, este es acumulado a la orilla del sistema de producción y en algunos casos se elabora compost. No se emplea en la alimentación de rumiantes, debido a que se desconoce su valor nutritivo y palatabilidad.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue caracterizar el perfil nutritivo del residuo de heno de Transvala con el micelio del hongo *P. ostreatus* y estimar su posible impacto en la dieta de un rumiante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Ubicación y características de la prueba.** La prueba se realizó en la comunidad de Alto López, de Atenas, Alajuela, en el módulo de producción del hongo *P. ostreatus*, perteneciente a la Asociación de Mujeres Alto López de Atenas. Como sustrato para el crecimiento del hongo se empleó heno de Transvala (*Digitaria decumbens* Stent., cv. *Transvala*) cosechado a edad comercial, la cual corresponde 4,3 meses en promedio (Morales et al. 2003). Como inoculo se utilizó la semilla del hongo Ostra (*Pleurotus ostreatus*) suministrada por el Proyecto de Hongos Comestibles y Medicinales del Laboratorio de Procesos Orgánicos del Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica, la cual consiste de un paquete de 300 g con arroz autoclavado y completamente colonizado por el hongo *P. ostreatus*.

**Producción del hongo.** Esta etapa comprende 4 pasos: la pasteurización del sustrato, la siembra del hongo, la incubación del sustrato para que se realice la colonización del hongo y la producción que es cuando se estimula el desarrollo del cuerpo fructífero del hongo. El proceso de pasteurización consistió en sumergir el heno en agua en estado de ebullición por 30 min. Para tal fin, se empleó un estanque de 200 l, el cual contiene 100 l de agua y 453 g de cal (carbonato de calcio). Al concluir este periodo, el material se escurre y se enfriá, para ser llevado al cuarto de siembra. La siembra se realizó en bolsas de 5 kg, dentro de las cuales

se coloca heno de pasto Transvala pasteurizado y 150 g de inoculo (mezcla del hongo y el arroz). Las bolsas inoculadas se colocaron en estantería en una sala con total oscuridad durante 16-20 días. Una vez colonizado el sustrato, se hace algunos orificios a las bolsas y son trasladadas al cuarto de producción, el cual cuenta con luminosidad, temperatura y humedad controlada. Después de 45 días de iniciada la cosecha de los hongos, las muestras de heno con residuos de micelio, fueron trasladadas al Laboratorio de Bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica. Para el ensayo se empleó un diseño experimental irrestringido al azar, donde se utilizó 5 muestras de heno, de 3 kg cada una, las cuales fueron analizadas antes de la siembra del hongo y después de la cosecha de estos.

**Ánálisis nutricional.** Mediante la metodología de la AOAC (1991), fue determinado el porcentaje de materia seca (MS) en una estufa a 60°C durante 48 h, el de proteína cruda (PC) por el método de Kjedalh, extracto etéreo (EE), cenizas (Ce) y la digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS). Para cuantificar el contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) se empleó la técnica descrita por Eastridge (1994), mientras que para los contenidos de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), hemicelulosa (He) y lignina se utilizó la metodología de Van Soest y Robertson (1985). La fracción de nitrógeno ligada a la fibra detergente neutro y ácida se obtuvo por la metodología descrita por Chalupa y Sniffen (1996). El contenido de nutrientes digestibles totales (NDT) se calculó con las ecuaciones descritas por Weiss (1998) (IX), que a la vez, sirvió para estimar los contenidos de energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN<sub>l</sub>), energía neta de mantenimiento (EN<sub>m</sub>) y energía neta de ganancia (EN<sub>g</sub>) de los materiales (NRC 2001).

**Ánálisis estadísticos.** Se utilizó el programa ANOVA de SAS (2003) para el análisis de la información. Cuando se obtuvo una  $p \leq 0,05$ , en

alguna de las variables evaluadas, se consideró como un efecto significativo producto del crecimiento del hongo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Calidad nutricional del heno de Transvala.** Las características nutricionales del heno de Transvala se observan en el cuadro 1. Sobresalen los bajos niveles de PC y He, los altos valores de lignina, FDN y FDA, su bajo contenido de DIVMS y NDT; variables importantes para determinar su funcionalidad a nivel ruminal.

El contenido de PC ( $3,42 \pm 0,11\%$ ) en las muestra analizadas es menor al informado por Morales et al. (2003) para un heno de pasto Transvala cosechado a 4,3 meses, producido bajo condiciones de secano y con un paquete tecnológico bajo. Otro aspecto importante, es que el 49,3% del contenido total de PC se encuentra ligado a la FDA, lo que aumenta la fracción C de la proteína, la cual es no degradable en el rumen e indigestible a nivel intestinal (Licitra et al. 1996). Segundo Van Soest (1994) el rango normal de PC-ligada a FDA es de 3-5% en alimentos para animales; por lo cual este material no es apto para la producción animal como fuente de proteína, pero por sus características físicas, podría ayudar a mantener un sistema ruminal más saludable, ya que estimula la rumia, siempre y cuando la cantidad ofrecida y consumida sea alta y se mantenga el tamaño de la fibra. También, el bajo valor de PC no favorece un consumo adecuado de MS y hasta puede comprometer la síntesis de proteína microbial, esto debido a que presenta un valor  $<7\%$ , porcentaje mínimo requerido para un consumo adecuado (Rojas-Bourrillón et al. 1998).

Los valores de FDN del heno de Transvala son similares o menores a los informados por Sánchez y Soto (1998) para los pastos Estrella Africana (71,2%), San Juan blanco (68,1%), Ruzi (67,2%), Kikuyo (67%) y el King Grass (72,5%). Lo mismo sucede con el contenido de He, para los mismos pastos, donde se menciona 31,3, 29,4, 28,5, 30,9 y 21,7%, respectivamente (Sánchez y Soto 1998). Por otro lado, el valor de FDA es muy

Cuadro 1. Composición nutricional del heno de Transvala antes y después de ser inoculado con una cepa del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Variable	Unidades	Heno de Transvala	Heno de Transvala con residuo de <i>P. ostreatus</i>	p
Materia seca (MS)		80,22±4,82	41,42±4,82	0,0001
Proteína cruda (PC)		3,42±0,11	4,00±0,89	NS
Nitrógeno ligado a la FDN		0,22±0,05	0,24±0,02	NS
Nitrógeno ligado a la FDA		0,27±0,05	0,24±0,02	NS
Fibra detergente neutro (FDN)		66,14±1,53	49,76±5,72	0,0003
Fibra detergente ácida (FDA)		49,04±1,88	46,38±5,56	NS
Lignina	% MS	7,98±0,43	5,75±0,57	0,0001
Hemicelulosa		17,09±1,51	3,38±2,25	0,0001
Carbohidratos no fibrosos (CNF)		16,40±1,49	24,85±6,41	0,0003
Digestibilidad in vitro de la MS		46,82±3,61	52,48±7,32	NS
Extracto etéreo		1,96±0,32	1,44±0,29	0,0285
Cenizas		12,09±0,75	19,95±1,60	NS
Nutrientes digestibles totales		46,40±0,52	46,50±3,18	NS
Energía digestible		2,05±0,02	2,05±0,14	NS
Energía metabolizable		1,68±0,02	1,68±0,11	NS
Energía neta para lactancia <sup>1</sup>	Mcal.kg <sup>-1</sup> MS	1,02±0,01	1,02±0,08	NS
Energía neta para ganancia		0,30±0,02	0,30±0,15	NS
Energía neta para mantenimiento		0,84±0,02	0,83±0,14	NS

NS=No significativo, <sup>1</sup> Mantenimiento 1X.

superior al determinando por estos mismo autores para los mismos forrajes (40, 38,6, 38,7 y 34,4%, respectivamente), excepto al del pasto King Grass con un valor de 51,1% de FDA. En el caso de la lignina, su contenido es muy superior en los pastos informados por Sánchez y Soto (1998) (5,3, 4,3, 5,2, 3,7 y 6,9%, respectivamente).

En relación con el consumo de materia seca (CMS) que un rumiante podría obtener con un heno de esta calidad, Holland y Kezar (1995) indican que este puede ser de 1,8% de MS, con base en el peso corporal del animal (PV) y el contenido de FDN del material (CMS=120/% FDN). Otro aspecto que influye en el CMS son los valores de FDA y lignina altos; los cuales se asocian con la digestibilidad del material consumido

(Holland y Kezar 1995). Tal relación, concuerda con el valor obtenido de DIVMS y de NDT del heno de Transvala de 46,8 y 46,4%, respectivamente. Valores tan bajos comprometen el aporte de nutrientes a los animales, por un efecto de llenado y de baja densidad de nutrientes del material.

**Calidad nutricional del residuo de heno de Transvala con micelio del hongo.** El contenido de MS, FDN, He, lignina, CNF y EE presentaron diferencias significativas debidas al crecimiento del hongo (Cuadro 1). Con respecto a las otras variables nutricionales y al contenido de energía, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, al comparar los valores (antes y

después de la inoculación) se nota una tendencia a la mejoría, excepto en el contenido del N-FDN. Tal situación podría estar relacionada con el número de muestras analizadas en este experimento, las cuales no permiten reducir la variación en cada variable.

La variación de la calidad en el contenido de MS, FDN, He, lignina, CNF y EE, fue de (-)48,75%, (-)24,76%, (-)80,22%, (-)27,94%, (+)51,52% y (-)26,13%, respectivamente. En relación con el contenido de MS, el cambio negativo es producto del procedimiento de pasteurización del heno para sembrar el hongo y de las condiciones de humedad relativa requeridas para el desarrollo de este, tanto en la etapa de colonización como de producción. En cambio, la reducción del contenido de FDN, He y lignina, se debe más a la habilidad del hongo de utilizar la lignina, la celulosa y la hemicelulosa (Lucazechi y Camargo 1997), esto por la presencia de enzimas hidrolíticas y lignolíticas (Velásquez-Cedeño 2004). Según Villas-Bôas et al. (2002), el hongo emplea la hemicelulosa como fuente de carbono para poder digerir la lignina. Aunque en este trabajo, se desconoce el comportamiento de la celulosa, la reducción del contenido de FDN, es producto de la disminución de las fracciones que conforman esta fibra, como la hemicelulosa, la celulosa y la lignina (Maynard et al. 1981). Con base a este criterio, Li et al. (2001) informaron de la reducción paulatina de la celulosa, hemicelulosa y lignina contenida en la cascarilla de algodón, cuando esta se empleó como sustrato para crecimiento del hongo *P. ostreatus*. Un beneficio de la reducción del FDN, en el heno con los residuos de hongo, es su efecto sobre el consumo de este sustrato por el animal, ya que pasa de 1,8% PV en el heno a 2,6% PV en el sustrato heno + hongo. Este aumento del CMS debe ser evaluado, para no causar un efecto de dilución en la concentración de nutrientes presentes en la ración total del animal, debido a los bajos valores de PC, DIVMS y NDT en el residuo.

El incremento de los CNF ( $\Delta=51,5\%$ ) se relaciona con la disminución de la pared celular,

producto de la actividad lignocelulósica del hongo y los productos resultantes de esta degradación, así como a los restos del micelio presentes en la muestra (Escalona et al. 2001). Mientras que la reducción del contenido del EE se puede asociar con la traslocación de estos por el hongo, ya que forma parte de su contenido de grasa (Villegas et al. 2007).

## CONCLUSIONES

El heno empleado en este experimento resultó de calidad baja, esto podría estar relacionado, con la edad de cosecha del material y el paquete tecnológico utilizado para su elaboración. Tal situación, es una llamada de alerta sobre la calidad del heno producido en Costa Rica, el cual es empleado en los sistemas de producción de rumiantes, debido a que podría estar afectando la síntesis de proteína microbial y la productividad de los animales por su nivel de nutrientes bajo.

La mejoría que se obtiene en la calidad nutricional del heno después de la cosecha del hongo, no es tan significativa como para cambiar la perspectiva de uso del heno dentro de la ración total de rumiantes, por lo que el beneficio del heno se basa más en aspectos físicos que nutricionales.

Por efecto del crecimiento del hongo en el heno de Transvala, el consumo de MS de este material se puede incrementar en 0,8 % con base en la MS, es decir se pasa de 1,8% a 2,6% de PV.

La mejoría en el consumo del heno, genera otra opción de uso de este material forrajero, el cual entonces puede ser empleado como sustrato para el crecimiento del hongo y luego como alimento para rumiantes, con la ventaja de que también se obtiene un producto con alto valor nutricional para el ser humano como es el hongo Ostra.

## AGRADECIMIENTOS

A la Asociación de Mujeres de Alto López de Atenas, Alajuela y al Proyecto FR-6330 “Biotransformación de residuos agrícolas e

industriales para la obtención de nutraceuticos y biofertilizantes" de CONARE por el apoyo económico brindado.

## LITERATURA CITADA

- ALBORES S., PIANZZOLA M., SOUBES M., CERDEIRAS M. 2006. Biodegradation of agroindustrial wastes by *Pleurotus* ssp for its use as ruminant feed. Electronic Journal of Biotechnology 9(3):215-220. Special Issue.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (AOAC). 1991. Methods of analysis. Washington D.C.
- BEG S., ZAFAR S., SHAH F. 1986. Rice husk biodegradation by *Pleurotus ostreatus* to produce a rumiant feed. Agr. Wastes 17:15-21.
- BUWJOON T., YAMAUCHI K. 2005. Effects of Shiitake mushroom stalk meal on growth performance, carcass yield and blood composition in broilers. The Journal of Poultry Science 42:283-290.
- CHALUPA W., SNIFFEN C. 1996. Protein and aminoacid nutrition of lactating dairy cattle today and tomorrow. Animal Feed Science and Technology 58:65-75.
- DÍAZ C. 2005. Análisis económico para el establecimiento de un proyecto de producción de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) en la zona de Atenas, Alajuela. Tecnología en Marcha 17(4):2-14.
- DÍAZ-GODÍNEZ D., SÁNCHEZ C. 2002. In situ digestibility and nutritive value of maize straw generated after *Pleurotus ostreatus* cultivation. Can. J. Anim. Sci. 82:617-619.
- EASTRIDGE M. 1994. Influence of fiber intake on animal health and productivity. Tri-State Dairy Nutrition Conference. 45 p.
- ESCALONA L., PONCE I., ESTRADA A., SOLANO G., RICARDO O., CUTIÑO M. 2001. Cambios en la composición bromatológica del GARANVER® inoculado con una cepa de *Pleurotus ostreatus*. Revista Producción Animal 13(1):21-24.
- FAZAEILI H., MAHMODZADEH H., JELAN Z., ROUZBEHAN Y., LIANG J., AZIZI A. 2004. Utilization of fungal treated wheat straw in the diet of late lactating cow. Asian Aust. J. Anim. Sci. 17(4):467-472.
- HOLLAND C., KEZAR W. 1995. The Pioneer forage manual. A nutritional guide. Pioneer Hi bred International, Inc, Des Moines, Iowa, U.S.A. 55 p.
- LI X., PANG Y., ZHANG R. 2001. Compositional changes of cotton seed hull substrate during *P. ostreatus* growth and the effect on the feeding value of the spent substrate. Bioresource Technology 80:157-161.
- LICITRA G., HERNANDEZ T., VAN SOEST P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fraction of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 57:347-58.
- LOZANO J. 1990. Producción comercial del champiñón (*Pleurotus ostreatus*) en pulpa de café. Fitopatología colombiana 14(2):42-47.
- LUCAZECHEI G., CAMARGO M. 1997. Produção do cogumelo comestível *Pleurotus*. Opção promissora, especilamente na região do vale do Riberia. Série Productor Rural N.º 2. 44 pp.
- MAYNARD L., LOOSLI J., HINTZ H., WARNER R. 1981. Nutrición animal. 7<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill de México, S.A. de C.V. 639 p.
- MORALES J., ACUÑA V., CRUZ A. 2003. Industrialización de heno de calidad en sistemas bajo riego en Costa Rica. INTA-FUNDECOOPERACIÓN-SUNII-CORFOGA-MAG. San José, Costa Rica. 34 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> ed. National Academy. Washington DC. 408 p.
- ORTEGA M., CAN B., HERRERA F., PÉREZ F. 1986. Efecto de la inoculación del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* en la composición química y digestibilidad de la paja de cebada. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 36(2):345-350.
- RODRÍQUEZ R. 2004. Evaluación de la utilización de subproductos agrícolas como sustrato para la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 92 p.
- ROJAS-BOURRILLÓN A., UGALDE H., AGUIRRE D. 1998. Efecto de la adición de fruto de pejibaye (*Bactris gasipaes*) sobre las características nutricionales del ensilaje de pasto gigante (*Pennisetum purpureum*). Agronomía Costarricense 22(2):145-151.
- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1998. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos.

- III. Componentes de la pared celular. Serie Técnica Nutrición Animal Tropical 4(1):3-23.
- SAS. 2003. SAS 9.1.3 for Windows. Service Pack 4.Win\_Pro plataforma. Copyright © 2002-2003 by SAS Institute Inc. Cary, N.C. USA.
- VAN SOEST P. 1994. Nutritional ecology of the ruminants 2<sup>nd</sup> ed. Comstock Publishing, Cornell University Press, Ithaca, NY. 374 p.
- VAN SOEST P. J., ROBERTSON J. B. 1985. Analysis of forages and fibrous food. AS 613. Cornell University, A laboratory manual. Department of Animal Science. Ithaca NY. 613 p.
- VELAZQUEZ-CEDEÑO M., FARNTE A., FERRÉ E. 2004. Variations of lignocellulosic activities in dual culture of *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma longibrachiatum* on unsterilized wheat straw. Mycologia 96(4):712-719.
- VILLAS-BÔAS S., ESPOSITO E., MITCHELL D. 2002. Microbial conversion of lignocellulosic residues for production of animal feeds. Review. Animal Feed Science and Technology 98:1-12.
- VILLEGRAS V., PEREZ A., ARREDONDO C. 2007. Evaluación de la producción del hongo *Lentinula edodes* Pegler en bloques sintéticos a base de residuos agroindustriales. Ingeniería y Ciencia 3(6):23-39.
- WEISS W.P. 1998. Energy prediction equations for ruminant feeds. Department of Animal Sciences. Ohio State University, Wooster. 9 p.

