

Bagazos de *Agave salmiana* y *Agave weberi* utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*

Alejandra Heredia-Solis¹, Edgar Esparza-Ibarra¹, Leticia Romero-Bautista², Francisco Cabral-Arellano¹,
Romulo Bañuelos-Valenzuela¹

Laboratorio de Biotecnología¹, Laboratorio de Etnobotánica²
Universidad Autónoma de Zacatecas¹, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo²
Zacatecas, Zac.¹; Pachuca, Hid.²; México

heredia000@hotmail.com, [edgarzac, letybaudy, fjcabral]@gmail.com, momobanuelos@yahoo.com.mx

Abstract— Mezcal industry in Zacatecas-Mexico produces about 600 tons per month of lignocellulosic residues from *Agave salmiana* and *Agave weberi* bagasse, both were evaluated for the production of edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. The proximal analysis, chemical composition and elemental analysis showed a content of 3.70% and 3.17% for protein, 5559 mg / L and 3.23 mg / L for total reducing sugars, 0.73% and 0.54% total nitrogen, 3.46% and 1.95% calcium; on bagasse of *A. salmiana* and *A. weberi*, respectively. The biological efficiency was 70% in *A. salmiana* bagasse and 40% in *A. weberi* bagasse, the use of these residues for the cultivation of *P. ostreatus* is feasible.

Key word—Edible mushroom, maguey, mezcal, lignocellulosic residues.

Resumen—La industria del mezcal en Zacatecas-México produce alrededor de 600 toneladas mensuales de residuos lignocelulósicos a partir del bagazo de *Agave salmiana* y *Agave weberi*, ambos fueron evaluados para la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Los análisis bromatológico, de composición química y análisis elemental mostraron un contenido de 3.70% y 3.17% para proteínas, 5559 mg/L y 3.23 mg/L para azúcares reductores totales, 0.73% y 0.54% de nitrógeno total, 3.46% y 1.95% de calcio; en bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi*, respectivamente. La eficiencia biológica fue del 70% en el bagazo de *A. salmiana* y del 40% en el bagazo de *A. weberi*, siendo factible el uso de estos residuos para el cultivo de *P. ostreatus*.

Palabras claves—Hongos comestibles, maguey, mezcal, residuos lignocelulósicos.

I. INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Pleurotus* contienen compuestos activos con propiedades terapéuticas hipoglucémicas y antitrombóticas; ya que se ha encontrado que bajan la concentración de lípidos en la sangre, disminuyen la presión arterial alta y la aterosclerosis [1, 2]. Además juegan un papel importante como modificador de la respuesta biológica que estimula el sistema inmune y que ejerce una amplia gama de actividades inmunofarmacológicas [3, 4].

Actualmente, el género ocupa el tercer lugar de los hongos comestibles cultivados a nivel mundial, después de *Agaricus* y *Lentinula* [5]. El hongo *P. ostreatus* también es cultivado para producir industrialmente enzimas lignocelulíticas de interés comercial, entre las que se encuentran las xilanasas, celulasas y lacasas, además de la síntesis de otros metabolitos [6].

En la actualidad, la biomasa lignocelulósica y en especial los subproductos agroindustriales han dejado de ser productos desecho-problema, para convertirse en materia prima potencial en diversos procesos tanto de tipo agrícola como industrial [7]. Gran variedad de subproductos agrícolas han sido utilizados como sustratos para el cultivo de *P. ostreatus*. La bioconversión de los residuos lignocelulósicos a través del cultivo de especies de *Pleurotus* ofrece la oportunidad de utilizar los

recursos renovables en la producción de alimentos ricos en proteínas, sin métodos de procesamiento y materiales de enriquecimiento costosos [8]. Los residuos agroindustriales proveen las fuentes de carbono, nitrógeno, azufre y fósforo necesarias para el desarrollo adecuado de la biomasa fúngica. Existe una amplia gama de residuos agrícolas que son ricos en lignina y celulosa, como la paja de arroz, de trigo, de soya, de maíz, tallos y hojas de plátano, aserrín, etc. que pueden ser utilizados para la producción de *Pleurotus*, ya que estos hongos pueden convertir 100 gramos de residuos agrícolas en setas frescas comestibles (50 a 70 gramos) en cuestión de unas pocas semanas [8, 9, 10].

En general *P. ostreatus*, contiene 90% de agua y 10% de materia seca. Tiene una composición química con alto contenido de: proteínas, minerales (calcio, fósforo y hierro), carbohidratos y fibra; lo que lo hace muy digerible, además un bajo contenido de lípidos [4, 8, 10, 11]. Su valor nutricional puede ser comparado con el huevo, la leche y la carne, además contiene vitaminas (tiamina, riboflavina y niacina) y una abundante cantidad de aminoácidos esenciales. Su contenido energético se encuentra entre 250 y 350 cal/kg de hongo fresco [10]. Por otra parte, el contenido de proteína del hongo depende, entre otras cosas del rendimiento, tamaño del píleo, tiempo de cosecha y de la composición del sustrato, que puede influir en la composición química y en consecuencia, en el valor nutricional del hongo cultivado [8].

Zacatecas cuenta con denominación de origen para la producción de mezcal a partir de agave, siendo el segundo productor a nivel nacional de esta bebida destilada y cuenta con dos regiones, una que utiliza como materia prima el *A. salmiana* y otra el *A. weberi*. En ambas regiones se genera como subproducto de la molienda, el bagazo de agave, el cual se acumula en el ambiente y se degrada muy lentamente, pero sobre todo no se le da un uso que genere beneficios; por ello se propone utilizarlo como sustrato para la producción del hongo comestible *P. ostreatus*.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

A. Estimación de la generación de bagazo

Se estimó la cantidad de bagazo de *A. salmiana* y *A. weberi*, generado en 16 fábricas de mezcal del estado de Zacatecas-México, mediante la revisión de inventarios de la materia prima mensual que se utiliza para producir mezcal y entrevistas a los dueños de las empresas.

B. Análisis bromatológico

Se determinó el porcentaje de humedad, extracto etéreo, proteína cruda, cenizas y fibra cruda, de acuerdo a las metodologías establecidas por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Por otra parte se obtuvo el porcentaje de ARTs (Azúcares Reductores Totales) en ambos bagazos, empleando el método DNS (Ácido 3,5-dinitrosalicílico [12]). También se determinó el porcentaje de COT (Carbono Orgánico Total), de acuerdo a la siguiente ecuación: $\% \text{ COT} = (100 - \% \text{ cenizas}) / 1.8$ [13].

C. Composición química

Los macronutrientes y los micronutrientes que se detectaron en los bagazos fueron: nitrógeno (total), calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, zinc, azufre y potasio; los cuales se cuantificaron por espectroscopia de absorción atómica, según el método de la Norma Oficial Mexicana 051-2001 [14]. El fósforo se determinó mediante espectrofotometría visible, según el método de la Norma Oficial Mexicana 029-2001 [15].

D. Microscopia electrónica de barrido y análisis elemental

El análisis microscópico de las fibras de los bagazos se realizó mediante MEB (Microscopia Electrónica de Barrido), empleando un microscopio electrónico de barrido marca JEOL Modelo JSV-5400-LV, para lo cual se depositaron en el portamuestras aproximadamente entre 6 y 8 fibras de 1cm de largo, recubriéndolas con oro para que la muestra se volviera conductora, lo que significa que características espacialmente cercanas en la fibra pudieron ser examinadas a una alta magnificación, dando a conocer así información morfológica de las fibras. Además se realizó un análisis elemental mediante EDS (Espectroscopía de Energía Dispersiva), que fue acoplado a la MEB.

E. Cultivo de *P. ostreatus* sobre bagazo de agave

La Cepa de *P. ostreatus* fue donada por el Laboratorio de Etnobotánica, del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. *P. ostreatus* se cultivó en medio sólido conteniendo extracto de malta-agar e incubadas a 28°C para su crecimiento micelial. La semilla de sorgo se utilizó para generar el inóculo que se caracteriza por formar el desarrollo masivo del micelio. Los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi* fueron esterilizados durante 20 minutos en autoclave, se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se inóculo a *P. ostreatus* en 300 gramos de bagazo. Se colocaron en bolsas de polipapel y posteriormente se incubaron a 27°C por 50 días en fase oscura, una vez formados los primordios se les disminuyó la temperatura a 25°C, además se les expuso a luz (fase luminosa) tenue con una humedad de entre 60% y 65%. Una vez que se produjeron los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, estos fueron pesados para determinar la eficiencia biológica (EB), que consiste en la bioconversión de la energía y biodegradación del sustrato.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Estimación de la generación de bagazo

Se visitaron 16 empresas productoras de mezcal del estado de Zacatecas, a las cuales se les cuantificó la producción de bagazos de agave, considerando las toneladas de agave empleadas por mes para la producción de mezcal, la cantidad calculada promedio fue de 676 toneladas de bagazos de agave producidas mensualmente. Esto nos indica que hay suficiente cantidad de residuos en forma de bagazo, que pueden ser utilizados como sustrato por *P. ostreatus* durante todo el año.

B. Análisis bromatológico

En la Tabla I se observan los resultados del análisis bromatológico realizado a los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi*. En la determinación del extracto etéreo, se obtuvieron valores que no rebasan el 1% de grasas; lo cual favorece una lenta descomposición. Con respecto a los valores de proteína cruda, se observa que ambos bagazos presentan deficiencia, ya que no superan el 4% en comparación con otros residuos, como lo reportado para la mezcla de orujo de uva con desecho de algodón, que alcanza una concentración de 15.7% de proteína cruda [17]. Se presentan valores de cenizas en los dos bagazos de agave de aproximadamente 6.5%, ello indica que estos residuos tienen cantidad suficiente de minerales para proveer los requerimientos para el crecimiento del hongo *P. ostreatus*. En cuanto a los valores obtenidos de fibra cruda para *A. salmiana*, estos fueron de 56.09% y de 44.52% para *A. weberi*, lo que concuerda con lo reportado para algunos sustratos utilizados para el cultivo de *P. ostreatus*, donde se tienen valores muy similares de fibra cruda que van de 30% a 60% de fibra cruda [17, 18]. Con ello se tiene materia disponible de hemicelulosa, celulosa y lignina, para que el hongo *Pleurotus* sostenga su crecimiento, ya que el principal sustrato para los hongos en la naturaleza son los compuestos lignocelulósicos.

Tabla I. Análisis bromatológico de los bagazos de *a. Salmiana* y *a. Weberi*

| Agave (especie) | Humedad (%) | Grasa (%) | Proteína (%) | Cenizas (%) | Fibra (%) | COT (%) | ARTs (mg/L) |
|--------------------|-------------|-----------|--------------|-------------|-----------|---------|-------------|
| <i>A. salmiana</i> | 7.36 | 0.84 | 3.17 | 6.58 | 56.09 | 54.4 | 5559.2 |
| <i>A. weberi</i> | 7.9 | 0.5 | 3.7 | 6.56 | 44.52 | 54.36 | 3.23 |

En cuanto al porcentaje de ARTs, el *A. salmiana* presentó 5559.20 mg/L, ello debido a que es poco eficiente la extracción de los azúcares en el proceso de la molienda de los bagazos de agave; mientras que para *A. weberi* el contenido fue de 3.26 mg/L de ARTs, ya que emplean molinos más tecnificados para la extracción eficiente de los jugos del agave. Las fuentes de carbono proveen la estructura y requerimientos energéticos de la célula fúngica, las especies de hongos utilizan varios polisacáridos, monosacáridos, ácidos orgánicos, aminoácidos, ciertos alcoholes, compuestos policíclicos y productos naturales como lignina y celulosa como fuente de carbono [9], por ello es necesario conocer el contenido de carbono total orgánico presente en cada muestra, el cual fue de 54% para ambos bagazos.

C. Composición química

En la Tabla II se observan los valores obtenidos de los micronutrientes y macronutrientes presentes en cada uno de los bagazos de agave. El nitrógeno es esencial en la síntesis de proteínas, purinas, pirimidinas y quitina (polisacárido presente en la pared celular de muchos hongos que también contiene nitrógeno) [9]. En el análisis químico practicado a los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi* se encontró 0.54% y 0.73% de nitrógeno, respectivamente; varios autores reportan valores del porcentaje de nitrógeno que oscilan entre 0.1% y 1% [17, 18, 19]. De acuerdo a Dundar y Yildiz, los mayores rendimientos se pueden obtener a partir del sustrato que contiene 0,7% a 0,9% de nitrógeno en peso seco [19].

Tabla II. Composición química de los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi*

| | <i>A. salmiana</i> | <i>A. weberi</i> |
|-----------------|--------------------|------------------|
| Macronutrientes | | |
| Nitrógeno Total | 0.54% | 0.73% |
| Fósforo | 0.03% | 0.02% |
| Potasio | 0.43% | 0.08% |
| Calcio | 3.46% | 1.95% |
| Magnesio | 0.12% | 0.08% |
| Azufre | 0.21% | 0.53% |
| Micronutrientes | | |
| Hierro | 79.1 ppm | 485 ppm |
| Zinc | 38.5 ppm | 25.9 ppm |
| Manganeso | 8.16 ppm | 7.81 ppm |
| Cobre | 1.89 ppm | 5.17 ppm |

En cuanto a ciertos minerales como azufre (necesario para ciertos aminoácidos como cisteína y metionina) es requerido en pequeñas cantidades alrededor de 10^{-4} M, en los bagazos se determinó que contienen 0.21% y 0.53% en *A. salmiana* y *A. weberi*, respectivamente. El fosfato es necesario para

formar ATP, ácidos nucleicos, fosfolípidos de membrana, etc.; siendo requerido en una concentración alrededor de 10^{-3} M, al igual que el potasio y el magnesio (que activan gran número de enzimas), deben de estar presentes en la misma concentración. Cuando el sustrato presenta deficiencia en algunos minerales, estos pueden ser añadidos para completar los valores requeridos.

La presencia de metales en el medio juega un rol importante en la regulación de la actividad enzimática extracelular, procesos que son de suma importancia para la adquisición de carbono y de energía por el micelio de los hongos; siendo uno de los factores importantes que afectan el proceso de biodegradación del sustrato [16]. Se ha encontrado que el cobre induce la producción de la enzima lacasa y también afecta la actividad y estabilidad de la enzima en *P. ostreatus*. En cuanto al cobre, los hongos requieren aproximadamente 10^{-6} M. Otro elemento traza es el zinc, el cual requiere una cantidad de alrededor de 10^{-8} M, por su parte el manganeso debe estar presente en 10^{-7} M y el hierro a 10^{-6} M, estos metales se presentan en los bagazos de agave para proveer los requerimientos de *P. ostreatus* [9].

D. Microscopia electrónica de barrido y análisis elemental

En las Figuras 1 (A y B) que corresponden a la Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) de las fibras de bagazo de *A. salmiana*, se aprecia la estructura interna que tienen las fibras. Se observan estructuras laminares perfectamente definidas con un espesor de aproximadamente $28 \mu\text{m}$ y espirales alargadas (Figura 1B).

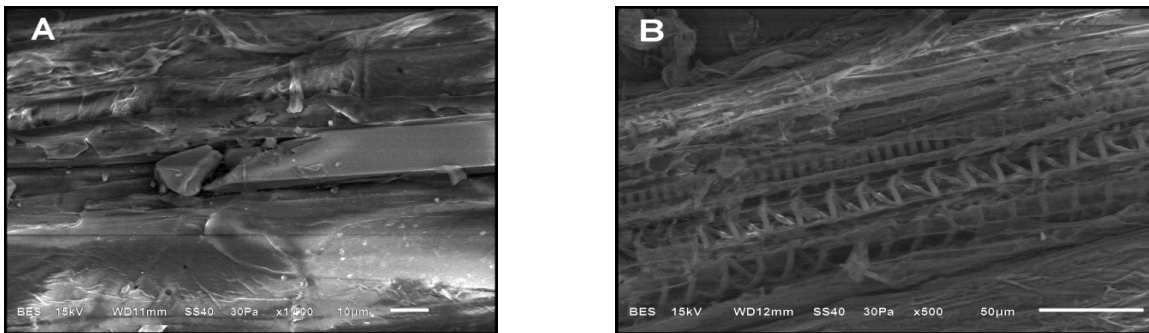


Fig. 1. Micrografías MEB de fibras de bagazo de *A. salmiana*, A) 1000x y B) 500x.

En las Figuras 2 (C y D) se observan las micrografías de las fibras de *A. weberi*, en la cual es posible apreciar la estructura interna que tienen las fibras que presentan estructuras laminares perfectamente definidas con un espesor menor que la del *A. salmiana*, de aproximadamente $20 \mu\text{m}$ (Figura 2C) y espirales alargadas (Figura 2D).

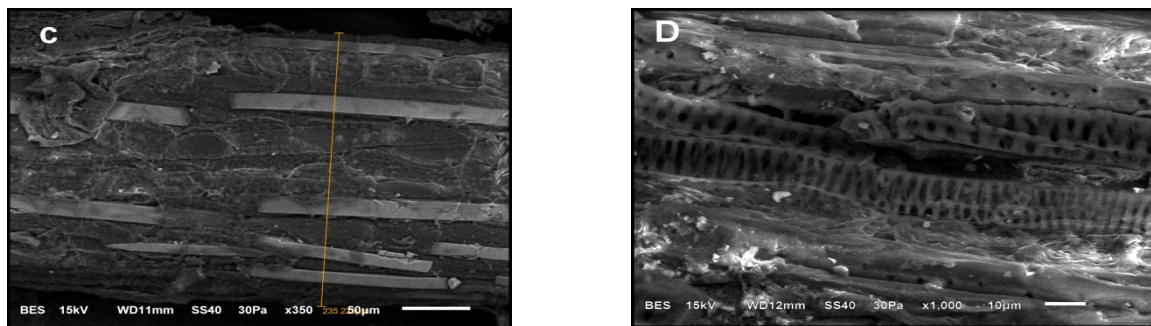


Fig. 2. Micrografías MEB de fibras de *A. weberi*, C) 350x y D) 1000x.

Con respecto al mapeo elemental obtenido por EDS, se puede observar que en toda la superficie de las fibras de *A. salmiana* (Figura 3 parte superior) y *A. weberi* (Figura 3 parte inferior), se presenta carbono (en color rojo), de la misma manera se encuentra presente el oxígeno (en color verde), en cambio en la Figura 3C se muestra la concentración de calcio (en color amarillo), principalmente en las estructuras alargadas que presentan la fibras.

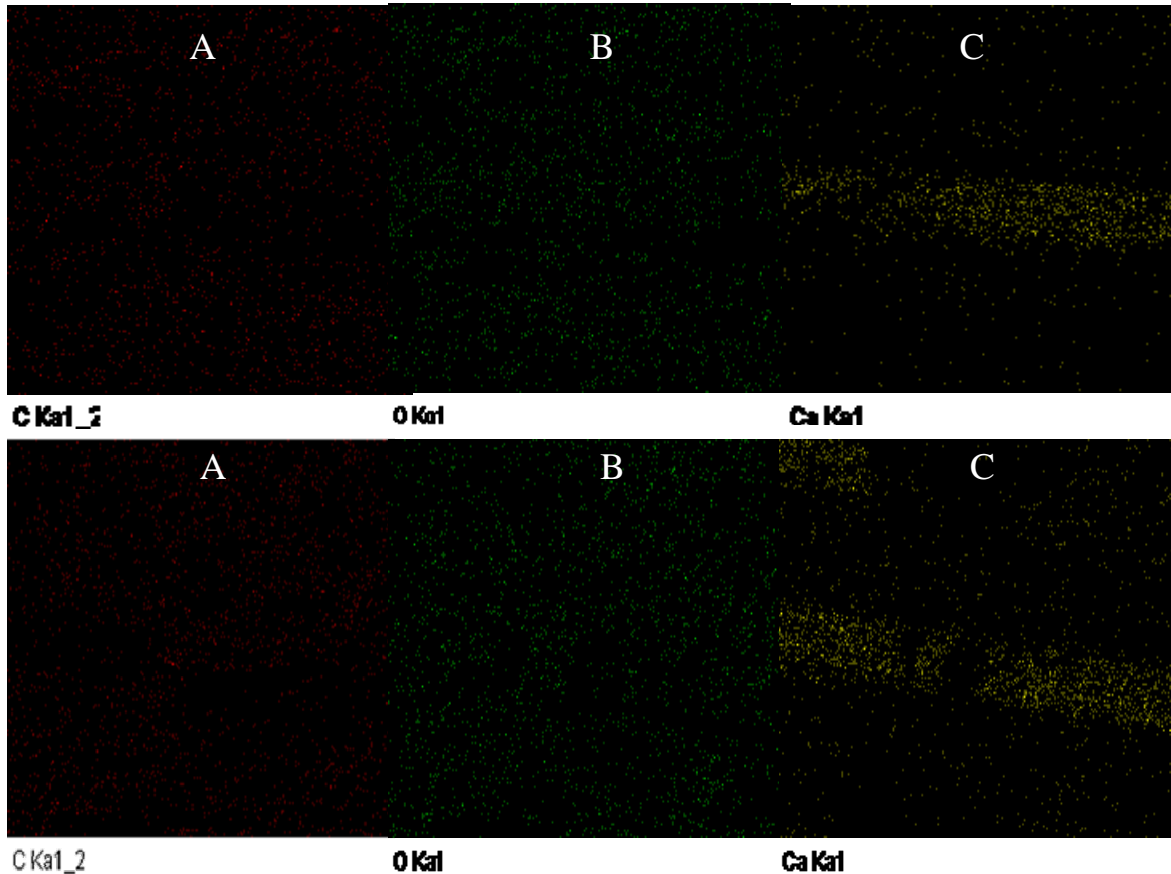


Fig. 3. A, B y C. Mapeo Elemental obtenido por EDS de fibras de bagazo de *A. salmiana* y *A. weberi*, A) carbono, B) oxígeno y C) calcio (600x).

De acuerdo al análisis de composición química realizado a los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi*, en ambos se presentan una elevada concentración del elemento calcio, un 3.46% y 1.95% en *A. salmiana* y *A. weberi*, respectivamente. Estos resultados se confirman con un mapeo elemental, donde se puede observar en las micrografías que el calcio, tiene una marcada presencia en las fibras de los dos bagazos de agave y en especial se encuentra en las estructuras alargadas de las fibras, no así el carbono y el oxígeno que están presentes en todas las partes de la fibra. Aparentemente el calcio no es requerido por la mayoría de los hongos, pero se ha demostrado que el hongo conocido como nido de aves (*Cyathus stercoreus*) lo requiere para la formación de su cuerpo fructífero, siendo incierto la utilización de este elemento por *P. ostreatus* [9].

E. Cultivo de *P. ostreatus* sobre bagazo de agave

En cuanto a la producción del hongo *P. ostreatus*, creció satisfactoriamente sobre ambos bagazos empleados como sustrato (Figura 4 A y B) a los 20 días de incubación (fase luminosa). La eficiencia biológica (EB) fue calculada para expresar el rendimiento de los cuerpos fructíferos frescos por cada

100 gramos de sustrato seco [11], de acuerdo a lo reportado por la literatura, las EB dependen básicamente de la composición de sustrato y estas pueden tener un valor dentro de un rango, que va desde un 20% utilizando como sustrato hojas, hasta aproximadamente 160% utilizando como sustrato pulpa de café [17, 18, 19, 20, 21]. El bagazo de *A. salmiana* como sustrato alcanzó una EB del 70%, mientras que el sustrato a base de bagazo de *A. weberi* obtuvo una EB del 40%. Considerando que las EB obtenidas se encuentran dentro del rango comúnmente obtenido por otros sustratos, se puede considerar que los residuos de bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi*, son factibles como sustrato para el cultivo y producción masiva del hongo comestible *P. ostreatus*.

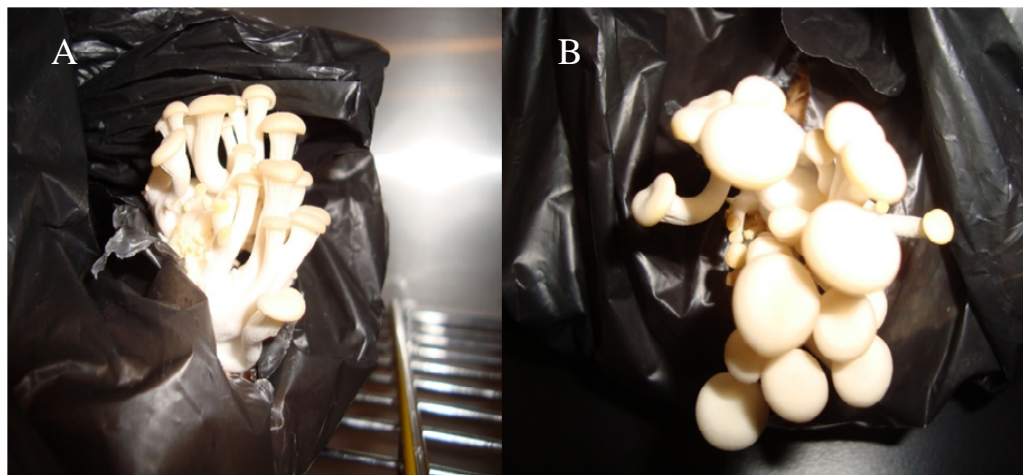


Fig. 4. Cultivo de *P. ostreatus* a los 20 días de incubación en la fase luminosa crecido en bagazos de *A. salmiana* (A) y *A. weberi* (B).

Los resultados muestran que los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi*, se encuentran en cantidad suficiente y que pueden ser buen sustrato para el cultivo del hongo *P. ostreatus*; ya que contienen biomoléculas y minerales que el hongo requiere para que inicie y realice sus funciones de desarrollo y reproducción. De acuerdo a los resultados de la eficiencia biológica se propone al bagazo de *A. salmiana* como mejor sustrato, aunque es posible aumentar la EB de *P. ostreatus*, realizando diversas mezclas con otros sustratos, para aumentar la retención de humedad y la cantidad de nitrógeno total en el sustrato; siendo una alternativa sustentable en términos ecológicos, sociales y comercialmente posibles.

IV. CONCLUSIONES

Los residuos sólidos de los bagazos de *A. salmiana* y *A. weberi* generados de la industria de elaboración del mezcal, se pueden emplear para la producción de *P. ostreatus*, ya que se obtuvieron eficiencias biológicas hasta del 70% en *A. salmiana*.

Debido a que estos residuos están en cantidad suficiente, es posible la producción a escala de planta piloto e industrial de *P. ostreatus*.

REFERENCIAS

- [1] L. Opletal, L. Jahordar, V. Chobot, P. Zdansky, J. Lukes, M. Bratova, D. Solichova, G. Blunen, C. G. Dacke and A. V. Patel, "Evidence for the hyperlipidemic activity of the edible fungus *Pleurotus ostreatus*," British Journal of Biomedical Science, vol. 54(4) pp. 240-243, 1997.
- [2] A. Gregori, M. Svagelj and J. Pholeven, "Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp.," Food Technol. Biotechnol., vol. 45 (3), pp. 236-247, 2007.

- [3] R. M. M. Gern, E. Wisbeck, J. R. Rampinelli, J. L. Ninow and S. A. Furlan, "Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides," *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 76-82, 2008.
- [4] H. Hui-Bao, M. Tarbasa, H. Mun Chae and S. Gyan You, "Molecular properties of water-unextractable proteoglycans from *hypsizygus marmoreus* and their in vitro immunomodulatory activities," *Molecules*, vol. 17, pp. 207-226, 2012.
- [5] R. Gaitán-Hernández, D. Solomons, R. Perez-Merlo y G. Mata, "Evaluación de la eficiencia biológica de cepas de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada fermentada," *Revista Mexicana de Micología*, vol. 30, pp. 63-71, 2009.
- [6] I. Membrillo I, C. Sánchez, M. Meneses, E. Favela and F. Loera, "Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains," *Technology*, vol. 99, pp. 7842-7847, 2008.
- [7] A. M. Sánchez-Riano, A. I. Gutiérrez-Morales, J. A. Muñoz-Hernández y C. A. Rivera-Barrero, "Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos," *Revista Tumbaga*, vol. 5, pp. 61-91, 2010.
- [8] M. Akyuz, and S. Kirbag, "Nutritive value of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) quel. var. *eryngii* grown on various agro-wastes," *The philippine agricultural scientist*, vol. 92, pp. 327-331, 2009.
- [9] S.T. Chang and P.G. Miles, "Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact," Second edition, Boca raton London New York, Washington D.C., 2004.
- [10] C. Sánchez, "Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 85, pp. 1321-1337, 2010.
- [11] D. Wang, A. Sakoda and M. Suzuki, "Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain," *Bioresource Technology*, vol. 78, pp. 293-300, 2001.
- [12] G. L. Miller. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* vol, 31, pp. 421-426.1959.
- [13] C.G. Golueke, "Biological processing: composting and hydrolysis" In: *Handbook of solid waste management* (D. G. Wilson., Ed.) van Norstrand Reinhold, Nueva York, 1977
- [14] Norma Oficial Mexicana NMX-AA-051, Diario Oficial de la Federación. México. D.F. <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NMX-AA-051-SCFI-2001.pdf>; (consultada 18/09/14).
- [15] Norma Oficial Mexicana NMX-AA-029, Diario Oficial de la Federación. México. D.F. <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/NMX-AA-029-SCFI-2001.pdf>; (consultada 18/09/14).
- [16] B. Petr, V. Vendula, M. Vera and G. Jiri, "Degradation of lignocellulose by *Pleurotus ostreatus* in the presence of copper, manganese, lead and zinc," *Research in Microbiology*, vol. 156, pp. 670-676, 2005.
- [17] G. Koutrotsios, K.C. Mountzouris, I. Chatzipavlidis and G.I. Zervakis, "Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi – Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties," *Food Chemistry*, vol. 161, pp. 127-135, 2014.
- [18] M. Obodai, J. Cleland-Okine and K.A. Vowotor, "Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products," *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol. 30, pp. 146-149, 2003.
- [19] A. Dundar and A. Yildiz, "A comparative study on *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P.Kumm. cultivated on different agricultural lignocelulosic wastes," *Turk J Biol*, vol.33, pp. 171-179, 2009.
- [20] V.M. Mora y D Martínez-Carrera, "Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México," Capítulo 1.1, pp. 17. In: *El Cultivo de Setas Pleurotus spp. en México*. ECOSUR-CONACYT, México, D.F., 2007.
- [21] Z.A. Shah, M. Ashraf and M. Ishtiaq, "Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (wheat straw, leaves, saw dust)", *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. 3, pp. 158-160, 2004.