

Utilización de fibra de kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) en la elaboración de sustratos específicos para cultivo de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer

Arturo Pardo Giménez, M^a Aquilina Perona Zamora y José Pardo Núñez

Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón, Quintanar del Rey, Cuenca, España

Resumen Se describe en el presente trabajo el estudio de la viabilidad del empleo de sustratos selectivos basados en fibra de kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), sola o combinada con pajas de cereales, sarmiento de vid y alperujo de aceituna, para el cultivo comercial de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer, segundo hongo en importancia cultivado en España. Se han considerado, además, tres métodos diferentes de preparación del sustrato, con objeto de conseguir selectividad y especificidad para el crecimiento y posterior fructificación del hongo objeto de estudio. En el conjunto de sustratos, los mejores resultados han sido proporcionados por los basados en kenaf combinado con paja, seguido de la mezcla con sarmientos, resultando desfavorables los sustratos basados en kenaf solo o combinado con alperujo. En cuanto al tratamiento aplicado a los materiales, el mejor rendimiento ha sido proporcionado por los sustratos sometidos a pasteurización y acondicionamiento termófilo, aunque sin diferir significativamente de la fermentación semianaerobia mesófila, mientras que la inmersión en agua con fungicida y posterior pasteurización arrojó los peores resultados.

Palabras clave Setas cultivadas, Parámetros de producción, Kenaf, Sustrato selectivo, *Pleurotus*

Use of kenaf fibre in the elaboration of specific substrates for *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer cultivation

Summary In this study, the viability of the kenaf fibre use, alone or combined with cereal straw, vine shoots and olive mill dried waste, in the elaboration of specific substrates for the cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer, second mushroom in importance cultivated in Spain, is described. Furthermore, three different methods of preparation of the substrate have been considered in order to obtain selectivity for the growth and later fruiting of *Pleurotus* sporophore. As for the production parameters, the best results have been provided by the substrates that combined kenaf with straw and with vine shoots, being unfavourable the substrates based in just kenaf or combined with olive mill dried waste. As for the treatment applied to the materials, the immersion in water alone and subsequent pasteurization and thermophilic conditioning, together with the semi-anaerobic fermentation, has been favoured in front of the immersion in water with fungicide and later pasteurization.

Key words Oyster mushroom, Production parameters, Kenaf based selective substrate, *Pleurotus*

Dirección para correspondencia:

Dr. Arturo Pardo Giménez
Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón
(C.I.E.S.)
C/ Peñicas, s/n; Apdo. 63
16220 Quintanar del Rey, Cuenca, España
Tel.: +34 967496198
Fax: +34 967496240
E-mail: apardo.cies@dipucuenca.es

Aceptado para publicación el 1 de octubre de 2007

La producción planificada de ciertas especies de hongos comestibles constituye en la actualidad una moderna y singular actividad, un poco a caballo entre la agromonía y la biotecnología, que goza de una notable implantación tanto en nuestro país como en amplias zonas del resto del mundo.

El comienzo del cultivo de *Pleurotus* spp. fue en tocones y troncos de árboles, a comienzos del siglo XX [7]. Doce años más tarde, Etter consiguió producir cuerpos fructíferos en cultivo [6]. Block et al. describieron un amplio informe sobre el cultivo de este hongo y la utilización de serrines como sustrato [2,3]. Ya en la década de los 60 el cultivo comienza a expandirse a nivel industrial por Europa y Estados Unidos [18]. En España, y concretamente en Castilla-La Mancha, el cultivo comercial de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer comenzó a tomar importancia en el sector de los hongos comestibles cultivados al inicio de la pasada década de los noventa, y su evolución, desde entonces, no ha parado de crecer gracias a su notable aceptación comercial. En la actualidad, la producción de la comarca de La Manchuela (provincias de Cuenca y Albacete) supone aproximadamente el 60% del total cultivado en España, más de 12.000 toneladas anuales.

A diferencia de *Agaricus bisporus* Lange (Imbach), el principal hongo comestible cultivado, los hongos del género *Pleurotus* no necesitan un sustrato con selectividad química, ya que pueden crecer en medios nutritivos con una relación carbono:nitrógeno comprendida en un rango amplio de valores (al menos entre 30 y 300). En cambio, sí necesitan cierta selectividad biológica. La flora acompañante, cuando existe, debe ser protectora y no competidora [12]. Por todo lo indicado anteriormente, se comprende que con una relación carbono:nitrógeno tan versátil, casi cualquier subproducto vegetal, o combinaciones de dos o más de ellos, es utilizable para el cultivo de *Pleurotus* spp. Muez y Pardo han caracterizado y recopilado un amplio muestrario de materiales utilizables como sustrato de cultivo: pajas de cereales, restos de cultivo para uso industrial o de plantas espontáneas, subproductos agroindustriales, henos, pajas de leguminosas y salvados [13]. En cualquier caso, los materiales a elegir para ser utilizados en la preparación de sustratos para cultivo de hongos comestibles deben poseer, de partida, el mayor número posible de propiedades positivas, tales como buena disponibilidad en cantidad y continuidad, características físico-químicas adecuadas, regularidad en su composición físico-química, precio ventajoso de adquisición, localización

fácil y cercana, y facilidad de transporte y manejo. Actualmente la paja de cereales (trigo y cebada), con limitaciones crecientes en disponibilidad y precio, es prácticamente el único material utilizado a escala industrial para la producción de *P. ostreatus* en España, por lo que la viabilidad del empleo de materiales alternativos, como es el caso del kenaf, constituye una línea de investigación de gran interés tecnológico, planteada con los objetivos de mejorar la productividad y disminuir los costes de elaboración.

En cuanto a la preparación del sustrato de cultivo de *P. ostreatus*, varios son los métodos que existen en la actualidad. Muez y Pardo han recopilado los más utilizados [13], entre los que se encuentran el denominado método no estéril, el de los "pellets" de paja, el de inmersión en agua caliente, el de esterilización térmica, el de tratamiento químico, el de fermentación en frío y, por último, el método de pasteurización, que es el procedimiento típico a escala industrial y el más seguido en el mundo, aunque no proporciona una protección natural del sustrato frente a las contaminaciones fúngicas, especialmente si se trata de *Trichoderma* spp. El estudio de métodos de elaboración que proporcionen selectividad y especificidad constituye, asimismo, un área de alto interés tecnológico.

El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la viabilidad del empleo de kenaf, solo o combinado con otros materiales fácilmente disponibles, en la elaboración de sustratos para cultivo de *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer, considerando, además, tres métodos alternativos de preparación.

Materiales y métodos

Elaboración de los sustratos. Los materiales empleados en la elaboración de los sustratos fueron:

- Kenaf: fracción de fibra corta tras el desfibrado mecánico del leño de *Hibiscus cannabinus* L. (Kafus Internacional España, SA, Albacete).
- Paja: mezcla de paja de trigo y cebada (2:1, p/p) (Montecarrillo, SL, Casasimarro, Cuenca).
- Sarmiento: residuo de poda de *Vitis vinifera* L. triturado y tamizado a tamaño inferior a 3 mm (CIES, Quintanar del Rey, Cuenca).
- Alperujo ("pulpa" de alperujo): residuo pulverulento del agotamiento del alperujo de aceituna tras la segunda extracción con disolventes (Cooperativas Agrícolas Albacetenses, SCL, La Gineta, Albacete).

Tabla 1. Caracterización química de los sustratos elaborados.

Sustrato	pH (aq. 1:5, p/v)	Humedad (g/kg)	N total (g/kg, s.m.s.)	Cenizas (g/kg, s.m.s.)	Materia orgánica (g/kg, s.m.s.)	C/N	Fibra bruta (g/kg, s.m.s.)	Grasa bruta (g/kg, s.m.s.)	E.L.N. (g/kg, s.m.s.)	Solubles neutro-detergentes (g/kg, s.m.s.)	Hemiacelulosa (g/kg, s.m.s.)	Celulosa (g/kg, s.m.s.)	Lignina (g/kg, s.m.s.)
K/PA	8,89	770	11,0	127,2	872,8	46,0	505,1	5,3	293,7	266	142	380	86
K+P/PA	8,5	766	9,6	121,9	878,1	53,1	453,6	8,6	355,9	269	189	351	69
K+S/PA	7,93	743	8,8	134,6	865,4	57,0	511,1	4,3	295,0	228	171	312	155
K+A/PA	6,88	673	13,6	159,8	840,2	35,8	447,0	23,6	284,6	284	154	249	155
K/BP	8,02	735	10,5	151,8	848,2	46,9	497,8	2,9	281,9	240	160	357	93
K+P/BP	8,14	743	8,3	128,9	871,1	60,9	464,1	5,7	349,4	251	191	339	92
K+S/BP	8,00	694	9,9	140,9	859,1	50,3	511,6	8,9	276,7	247	153	309	151
K+A/BP	7,31	708	13,3	164,0	836,0	36,5	431,1	24,0	297,8	298	127	232	180
K/FS	6,92	830	13,5	116,2	883,8	61,0	484,4	10,5	304,5	588	151	312	164
K+P/FS	7,67	803	6,8	67,1	932,9	79,6	470,5	8,4	411,5	210	248	359	117
K+S/FS	5,43	802	8,4	55,8	944,2	65,2	544,9	5,4	341,4	198	202	382	164
K+A/FS	5,56	760	13,9	98,7	901,3	37,6	490,8	31,1	292,5	211	189	311	191

K: kenaf; K+P: kenaf-paja 1:1 (p/p); K+S: kenaf-sarmiento 1:1 (p/p); K+A: kenaf-alperujo 1:1 (p/p)

PA: pasteurización y acondicionamiento termófilo; BP: hidratación con benomilo y pasteurización; FS: fermentación semianaerobia.

En cuanto al procedimiento de preparación, los materiales estudiados como sustratos de cultivo fueron kenaf solo o combinado al 50% (p/p) con paja de cereales, sarmiento y alperujo. Como suplemento se empleó sulfato cálcico (50 g/kg). Los materiales fueron mezclados y humectados, tras lo cual se llevaron a cabo tres tratamientos diferentes. Dos de ellos fueron tratamientos *indoor* en cámaras especialmente diseñadas al efecto, provistas de circulación de aire e inyección de vapor:

- 1) Pasteurización (60 °C, 8 h), descenso en 12 h a 45 °C, tratamiento termófilo (mantenimiento entre 45 y 37 °C durante cinco días) y descenso en 12 h a temperatura de siembra (25 °C)
- 2) Tratamiento fungicida con benomilo (Benlate®, Du Pont Ibérica, España) en el agua de impregnación (0,2 g/l), pasteurización (60 °C, 8 h) y descenso en 18 h a temperatura de siembra (25 °C).

El tercer tratamiento aplicado consistió en una fermentación semianaerobia mesófila por inmersión en agua conteniendo sacarosa, a 25-28 °C, durante ocho días, de acuerdo con el método descrito por Pardo y García [14].

Finalizados los tratamientos, los sustratos, cuyas características se presentan en la tabla 1, fueron inoculados utilizando una dosis de siembra del 3% (p/p) y empleando micelio comercial Gurelan H-9 (Gurelan, SC, España). Por último, se procedió al ensacado, empleando para ello sacos transparentes de polietileno paralelepípedicos, de 56 x 37 cm de base y altura variable, con capacidad para 15 kg de sustrato, a los que se practicaron diez orificios de 22 mm de diámetro distribuidos uniformemente en la superficie lateral y superior de cada saco [15].

Metodología analítica para la caracterización de materiales. Para la caracterización de las materias primas y los sustratos elaborados se llevaron a cabo las siguientes determinaciones:

- a) Humedad: por desecación en estufa a 105 °C [9].
- b) pH: directamente sobre el extracto 1:5, p/v [1].
- c) Nitrógeno total: por el método Kjeldahl [9,16].
- d) Cenizas: por calcinación a 540 °C [9].
- e) Materia orgánica: por diferencia con cenizas [1].
- f) Relación carbono/nitrógeno: a partir del contenido en materia orgánica y nitrógeno total.
- g) Fibra bruta: por el método Weende [10].
- h) Grasa bruta: por extracción con éter etílico [11].
- i) Extractivos libres de nitrógeno: restando de 100 g de materia seca la suma de los porcentajes de

fibra bruta, grasa bruta, proteína bruta y cenizas brutas [8].

- j) Solubles neutro-detergentes, lignina, celulosa y hemicelulosa: por la técnica "van Soest", según se describe en González et al. [8].

- k) Prospección de *Trichoderma* spp. [17].

Diseño experimental. El diseño experimental utilizado fue un plan factorial equilibrado 4 x 3 con ocho repeticiones (bloques al azar con factorial de dos factores), para lo que se utilizaron un total de 96 sacos de sustrato. El factor 1, con cuatro niveles, correspondió al tipo de sustrato, y el factor 2, con tres niveles, al tipo de tratamiento aplicado.

Conducción y seguimiento del ciclo de cultivo. El desarrollo de los ciclos de cultivo tuvo lugar en una sala de cultivo experimental en condiciones climáticas controladas y dentro de los rangos recomendados para la cepa de micelio comercial objeto de estudio [4]. La incubación de los sustratos se desarrolló entre 25 y 30 °C durante 23 días, sin ventilación exterior ni iluminación, tras los cuales se procedió a la inducción de la fructificación mediante ventilación, reducción de la temperatura y humedad relativa e iluminación. La duración total del ciclo de cultivo fue de 69 días.

La recolección de las setas se realizó diariamente en el estado óptimo comercial de desarrollo. El número de "piñas" y de setas cosechadas se determinó mediante recuento durante todo el ciclo de cultivo, entendiendo como "piña" al grupo de carpóforos que fructifican simultáneamente desde el mismo orificio practicado en el saco de sustrato. Para calcular el rendimiento se pesó, con precisión de 1 g, la cantidad de setas producidas diariamente por cada saco. El peso unitario de las setas, expresado en gramos, se determinó a partir del rendimiento obtenido y del número de esporóforos cosechados. La eficiencia biológica, que expresa la relación entre el rendimiento de setas producidas y la cantidad de sustrato utilizada (materia seca), se estableció a partir del rendimiento proporcionado por cada paquete, teniendo en cuenta la densidad de carga del sustrato en los sacos y su contenido en humedad.

La precocidad se estableció como el tiempo, en días, transcurridos desde la operación de siembra del sustrato hasta la cosecha de la primera florada, ponderando la producción relativa diaria de la misma; una florada se corresponde con cada ciclo de producción que se repite de manera rítmica durante la cosecha.

Tabla 2. Resultados de los parámetros de producción para cada combinación de factores.

Sustrato	Precocidad (días)	Eficiencia biológica	Nº piñas/orificio	Peso unitario (g)	Materia seca (g/kg)	Proteína (g/kg)	Cenizas (g/kg)
K/PA	41,3 b	84,4 a	0,91 abc	20,8 ab	103,6 ab	269,0 ab	63,8 abc
K+P/PA	46,8 a	94,3 a	1,10 abc	24,8 ab	93,9 bcd	216,9 c	61,5 bc
K+S/PA	38,4 b	82,2 ab	0,82 bcd	22,1 ab	94,5 bcd	236,1 abc	62,1 bc
K+A/PA	40,1 b	45,5 c	0,48 cd	20,5 ab	113,7 a	231,4 abc	59,7 c
K/BP	41,5 ab	54,7 bc	0,90 abcd	20,6 ab	96,1 bcd	243,4 abc	66,9 abc
K+P/BP	43,0 ab	86,5 a	1,33 ab	19,6 ab	83,8 cde	239,8 abc	69,5 abc
K+S/BP	39,0 b	46,4 c	0,90 abcd	15,0 b	97,8 abc	248,9 abc	73,0 ab
K+A/BP	44,5 ab	13,6 d	0,27 cd	34,0 a	95,5 bcd	234,4 abc	72,7 abc
K/FS	41,7 ab	5,8 d	0,03 d	13,1 b	84,8 cde	255,7 abc	68,5 abc
K+P/FS	43,0 ab	83,4 ab	1,63 ab	15,6 b	72,3 e	230,4 bc	69,0 abc
K+S/FS	44,6 ab	105,9 a	1,47 ab	19,3 ab	71,6 e	275,9 a	74,3 a
K+A/FS	38,2 b	96,5 a	1,67 a	17,5 b	80,6 de	259,6 abc	68,6 abc
Media	41,8	66,6	0,96	20,2	90,7	245,1	67,5

En la misma columna, valores seguidos de distinta letra son significativamente diferentes entre sí (p < 0,05, test de Tukey)

K: kenaf; K+P: kenaf-paja 1:1 (p/p); K+S: kenaf-sarmiento 1:1 (p/p); K+A: kenaf-alperujo 1:1 (p/p)

PA: pasteurización y acondicionamiento termófilo; BP: hidratación con benomilo y pasteurización; FS: fermentación semianaerobia.

Se ha establecido un parámetro indicador del grado de fructificación, definido como el cociente entre el número de piñas producidas y el número de orificios practicados a los sacos.

Para la evaluación de los parámetros de calidad se utilizaron setas de tamaño y madurez uniforme, seleccionadas el día de la máxima cosecha. Para calcular el contenido en materia seca, expresado en g/kg, se midió la pérdida de peso tras desecación a 105 °C [9]. El contenido en proteínas de los carpóforos, expresado en g/kg, se calculó multiplicando el contenido en nitrógeno total por un factor de conversión de 4,38 [5]. El contenido en nitrógeno total se determinó mediante el método Kjeldahl [9,16]. Para determinar el contenido en cenizas de los carpóforos, se procedió a la calcinación directa de las muestras a 540 °C [9]. Los resultados se expresaron en g/kg.

Análisis estadístico. Para la realización del análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Plus v. 4.1 (Statistical Graphics Corp., EE.UU.). Se empleó la técnica de análisis de la varianza para evaluar los datos. Para el establecimiento de diferencias significativas entre medias se utilizó el test de Tukey-HSD ($p = 0,05$).

Resultados y discusión

En la tabla 1 se presentan los resultados de la caracterización de los diferentes sustratos obtenidos, resultado de someter a distintos tratamientos los diferentes materiales de base.

Los valores de pH oscilaron en un amplio rango, entre 5,43 y 8,89, mientras los contenidos en humedad se situaron entre 673 y 830 g/kg. Los resultados obtenidos para el nitrógeno total y el contenido en materia orgánica proporcionaron relaciones carbono/nitrógeno entre 35,8 y 79,6. Los resultados para el resto de los parámetros se ajustaron, en general, a las características de los ingredientes utilizados en las mezclas. Conviene destacar el alto contenido en grasa bruta, entre 23,6 y 31,1 g/kg, de los sustratos que incluían alperujo de aceituna como ingrediente. Ninguno de los sustratos mostró inicialmente presencia de *Trichoderma* spp., hongo competidor capaz de

invadir rápidamente el sustrato, principalmente durante la incubación, dificultando el crecimiento del micelio de *Pleurotus*, siendo responsable de importantes pérdidas económicas en el cultivo comercial.

En cuanto a los parámetros de producción, en la tabla 2 aparecen las respuestas agronómicas proporcionadas por las diferentes combinaciones de materiales empleados-tratamiento aplicado. En lo referente a la precocidad, la cosecha de la primera florada se demoró entre 38,2 y 46,8 días; la cosecha más temprana se obtuvo con el sustrato basado en kenaf y alperujo, sometido a fermentación semianaerobia, mientras que el menos precoz resultó ser el sustrato basado en kenaf y paja sometido a pasteurización y acondicionamiento. Los valores de eficiencia biológica oscilaron en un amplio rango, entre 5,8 y 105,9 kg/100 kg de sustrato (materia seca), correspondiendo el valor más alto a la mezcla de kenaf y sarmiento sometida a fermentación semianaerobia, aunque sin diferir significativamente de otras combinaciones. De hecho, siete de ellas superaron el umbral de 80 kg/100 kg de sustrato, lo que puede considerarse como excelente si tenemos en cuenta que esas cifras difícilmente se alcanzan en cultivo comercial. El número de piñas cosechadas por orificio practicado en el saco (entre 0,03 y 1,63) se relacionó estrechamente con los valores de la eficiencia biológica, de manera que las combinaciones más productivas presentaron mayores valores para este indicador del grado de fructificación. El resto de parámetros no presentaron resultados concluyentes, si bien cabría destacar el alto contenido en materia seca de los carpóforos cosechados de las combinaciones sustrato-tratamiento menos productivas.

En la tabla 3 se recoge, de manera global, el comportamiento de las diferentes combinaciones de materiales. El sustrato basado en kenaf y paja mostró el mayor retraso en la cosecha de la primera florada, aunque proporcionó los mejores resultados en cuanto a la eficiencia biológica, con una media de 88,1 kg/100 kg de sustrato (materia seca), y con un mayor grado de fructificación (1,35 piñas/orificio). Los peores resultados en este aspecto se obtuvieron a partir de los sustratos basados en kenaf solo y combinado con alperujo. Este último sustrato produjo los esporóforos de mayor peso unitario y contenido en materia seca.

Tabla 3. Resultados de los parámetros de producción para cada tipo de sustrato

Sustrato	Precocidad (días)	Eficiencia biológica	Nº piñas/orificio	Peso unitario (g)	Materia seca (g/kg)	Proteína (g/kg)	Cenizas (g/kg)
K	41,5 b	48,3 b	0,61 b	18,2 a	84,8 a	256,0 a	66,4 a
K+P	44,3 a	88,1 a	1,35 a	20,0 a	83,3 b	229,0 a	66,7 a
K+S	40,7 b	78,2 ab	1,06 ab	18,8 a	88,0 ab	253,6 a	69,8 a
K+A	40,9 b	51,9 b	0,81 b	24,0 a	96,6 a	241,8 a	67,0 a
Media	41,8	66,6	0,96	20,2	90,7	245,1	67,5

En la misma columna, valores seguidos de distinta letra son significativamente diferentes entre sí ($p \leq 0,05$, test de Tukey)

K: kenaf; K+P: kenaf-paja 1:1 (p/p); K+S: kenaf-sarmiento 1:1 (p/p); K+A: kenaf-alperujo 1:1 (p/p)

Tabla 4. Resultados de los parámetros de producción para cada tipo de tratamiento

Sustrato	Precocidad (días)	Eficiencia biológica	Nº piñas/orificio	Peso unitario (g)	Materia seca (g/kg)	Proteína (g/kg)	Cenizas (g/kg)
PA	41,6 a	76,6 a	0,83 a	22,0 a	101,4 a	238,4 a	61,8 b
BP	42,0 a	50,3 b	0,85 a	22,3 a	93,3 b	241,6 a	70,5 a
FS	41,9 a	72,9 ab	1,20 a	16,4 b	77,3 c	255,4 a	70,1 a
Media	41,8	66,6	0,96	20,2	90,7	245,1	67,5

En la misma columna, valores seguidos de distinta letra son significativamente diferentes entre sí ($p \leq 0,05$, test de Tukey)

PA: pasteurización y acondicionamiento termófilo; BP: hidratación con benomilo y pasteurización; FS: fermentación semianaerobia

En cuanto a los tratamientos aplicados al sustrato, tratados en su conjunto (Tabla 4), los resultados obtenidos no han proporcionado diferencias significativas para la precocidad. En cuanto a la eficiencia biológica, los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento de pasteurización y acondicionamiento, con una media de 76,6 kg/100 kg de sustrato (materia seca), sin diferencias significativas respecto a la fermentación semianaerobia, aunque los esporóforos cosechados de los sustratos sometidos a este último tratamiento presentaron menor peso unitario y menor contenido en materia seca.

En vista de los resultados obtenidos, para las combinaciones ensayadas, la fibra de kenaf se muestra como un ingrediente de interés para la elaboración de sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, permitiendo reducir la dependencia de las pajas de cereales y abaratando los costes de producción. Como recomendaciones para trasladar los resultados a escala industrial se debe considerar su mezcla con paja y su tratamiento por pasteurización y

acondicionamiento termófilo. La fermentación semianaerobia, por su parte, puede ser un método alternativo sencillo y económico para la producción de sustratos de setas en operaciones a pequeña o mediana escala, resultando también una tecnología apropiada para países en desarrollo.

El presente trabajo ha sido cofinanciado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología y FEDER dentro del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (Proyecto REN2002-00666/TECNO).

Bibliografía

1. Ansorena J. Sustratos. Propiedades y caracterización. Madrid, Mundi-Prensa, 1994.
2. Block SS, Tsao G, Han L. Production of mushroom from sawdust. *J Agric Food Chem* 1958; 6: 923-927.
3. Block SS, Tsao G, Han L. Experiments in the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Mushroom Sci* 1959; 4: 309-325.
4. Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón. Relación de variedades comerciales de setas *Pleurotus* y otros hongos exóticos. En: El Champiñón en Castilla-La Mancha nº 22. Quintanar del Rey, Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón, 2006.
5. Delmas J. Les champignons et leur culture. Paris, Flammarion-La Maison Rustique, 1989.
6. Etter BE. New media for the developing sporophores or wood-rot fungi. *Mycologia* 1929; 21: 197-203.
7. Falk R. Über die Walkulter des Austernpilzes (*Agaricus ostreatus*) auf Laubholzstübben. *Z Forst-Sagdwes* 1917; 49: 159-165.
8. González J, Alvira P, González G. La cascarilla de arroz en la alimentación animal. II. Composición químico-bromatológica. *Rev Agroquím Tecnol Aliment* 1987; 27: 139-149.
9. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Métodos Oficiales de Análisis. Tomo III. Madrid, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1994.
10. Ministerio de Sanidad y Consumo. Determinación del índice de materias celulósicas (método de Weende). En: Análisis de Alimentos. Métodos oficiales y recomendados por el Centro de Investigación y Control de la Calidad. Madrid, Ministerio de Sanidad y Consumo, Servicio de Publicaciones, 1985: 346-348.
11. Ministerio de Sanidad y Consumo. Grasa. En: Análisis de Alimentos. Métodos oficiales y recomendados por el Centro de Investigación y Control de la Calidad. Madrid, Ministerio de Sanidad y Consumo, Servicio de Publicaciones, 1985: 354-355.
12. Muez MA. Bases para el cultivo de *Pleurotus*. En: I Jornadas Técnicas del Champiñón y Otros Hongos Comestibles en Castilla-La Mancha. Cuenca, Patronato de Promoción Económica, Diputación Provincial de Cuenca, 1994: 129-141.
13. Muez MA, Pardo J. La preparación del sustrato. En: Sánchez JE, Royse D (Eds.) La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. México, Limusa, 2002: 157-186.
14. Pardo J, García C. Submerged fermentation of lignocellulosic wastes under moderate temperature conditions for oyster mushroom growing substrates. En: Sánchez JE, Huerta G, Montiel E (Eds.) *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Cuernavaca, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2002: 271-277.
15. Sánchez JE, Royse D. El cultivo de *Pleurotus* spp. En: Sánchez JE, Royse D (Eds.) *La biología y el cultivo de Pleurotus* spp. México, Limusa, 2002: 187-203.
16. Tecator. Determination of Kjeldahl nitrogen content with the kjeltec Auto 1030 Analyzer. Tecator Application Note 30/87, Hönggäs, Tecator AB, 1987.
17. Tello J, Varés F, Lacasa A. Selección y tratamiento de muestras. Análisis de muestras. Observación microscópica. En: Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos. Madrid, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria, 1991: 29-77.
18. Zadrzil F. Cultivation of *Pleurotus*. En: Chang ST, Hayes WA (Eds.) *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. New York, Academic Press, 1978: 521-557.