

Producción de biopesticidas fúngicos: una alternativa para la valorización de residuos agroindustriales

La obtención de productos comercializables a partir de residuos será clave dentro del esquema de economía circular impulsado desde la Unión Europea. En este estudio se presenta la posibilidad de convertir diferentes residuos agroalimentarios en sustrato para el crecimiento de hongos productores de esporas con propiedades biopesticidas para aplicación agrícola.

A. Sala Martí, A. Sánchez Ferrer, R. Barrena Gómez, A. Artola Casacuberta*

Grupo de compostaje (GICOM). Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental. Universitat Autònoma de Barcelona

*Adriana Artola Casacuberta / adriana.artola@uab.cat / Tel. +34 935814480 / Fax +34 935812013

C/ de les Sitges s/n / Edificio Q, Escuela de Ingeniería / Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental
 Universitat Autònoma de Barcelona / 08193 - Cerdanyola del Vallès

Palabras clave

Beauveria bassiana, *Trichoderma harzianum*, Fermentación en estado sólido, Efecto biopesticida, Residuos agroalimentarios, Valorización de residuos

INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria se caracteriza por una elevada relación entre residuo generado y producto final. Este residuo está formado por materiales de naturaleza orgánica, mayoritariamente biodegradables, resultantes del procesado de materias primas de origen principalmente agrícola y ganadero. La composición de estos residuos los hace biológicamente activos, complicando su tratamiento y disposición final [1]. Tradicionalmente, el compostaje y la digestión anaerobia se han utilizado como tecnologías para la valorización material y energética de estos residuos, obteniendo un material final estable que puede ser usado como enmienda agrícola y biogás en el caso de la digestión anaerobia

[2]. Como alternativa a estos procesos y teniendo en cuenta su carácter bioactivo, los residuos agroalimentarios presentan un elevado potencial para ser usados como materia prima en procesos de fermentación destinados a la producción de distintos bioproductos [3] entre los que se cuentan los biopesticidas derivados de hongos. En efecto, los biopesticidas fúngicos pueden producirse mediante fermentación sumergida o fermentación en estado sólido (FES) [4]. La FES, que se ha definido como un proceso que tiene lugar en ausencia o casi ausencia de agua libre, presenta sus ventajas en la producción de biopesticidas a partir de hongos, básicamente por la reducción de costes debida al posible uso de residuos como sustratos y por las



características de las esporas producidas, en comparación con la fermentación sumergida. En el caso de la FES se producen esporas aéreas, conocidas como conidias, mientras que en fermentación sumergida se producen blastoesporas o esporas sumergidas, siendo las aéreas las más persistentes en condiciones ambientales, lo que hace que sean las preferidas para su uso en el control de plagas [5].

Los hongos *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum* se encuentran entre los más utilizados para la producción de biopesticidas fúngicos mediante FES. El primero es uno de los hongos entomopatógenos más conocidos y estudiados, con efecto sobre más de 700 especies, principalmente ácaros e insectos [6]. La infección se produce por crecimiento del hongo a partir de sus esporas directamente sobre la cutícula del insecto [4]. Por otro lado, *Trichoderma harzianum* es un hongo antagonista, con efectos sobre distintos fitopatógenos además de presentar propiedades estimulantes del crecimiento vegetal [7,8] que se ha utilizado con éxito contra infecciones a nivel de suelo [9].

En un trabajo anterior de revisión bibliográfica [10] se reflejó el uso de una amplia variedad de residuos agroindustriales como sustratos para la producción de esporas fúngicas. Mayoritariamente se prefieren residuos lignocelulósicos, con una alta capacidad de absorción de agua, cuya hidrólisis se realizará mediante las enzimas que los hongos son capaces de producir [11].

- Se han utilizado con éxito distintos residuos agroindustriales como sustrato para la producción de esporas de *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum*

Es el caso de la cáscara de arroz, la paja de trigo y de otros cereales. Por otro lado, se encuentran los mismos cereales, con el arroz como sustrato tipo para pruebas generalmente a escala laboratorio. Efectivamente, este tipo de residuos se considera el ideal para el crecimiento de hongos filamentosos ya que, además de proporcionar los nutrientes necesarios, constituyen la superficie de soporte para este crecimiento [12]. También se han investigado el bagazo de la caña de azúcar, restos de patata, residuos de fruta y del prensado de la uva, entre otros.

Además, existe una gran variedad de residuos que, si bien no se han investigado para el crecimiento de hongos, si se han utilizado en procesos de FES para la obtención de diferentes bioproductos. Por ejemplo, la fibra residual del procesado de la soja se ha estudiado como sustrato para la producción de proteasas y para el crecimiento y esporulación de *Bacillus thuringiensis*, cuyas esporas presentan conocido efecto biopesticida [13,14]. La pomaza de manzana, la piel de naranja y la fibra de arroz procedentes de la elaboración de zumos y licuados vegetales se han

Figura 1. Residuos utilizados como sustratos para el crecimiento de *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum*



investigado para la producción de celulosas, también la cascarilla de café se ha usado a este efecto [15,16]. Por otro lado, los residuos de destilerías y cerveceras, compuestos básicamente por restos de cereales procesados, con un elevado potencial para su uso en FES, se destinan habitualmente a alimentación animal o se aprovechan para la producción de energía mediante digestión anaerobia [17]. Aunque estos materiales presentan propiedades muy interesantes para la producción de esporas fúngicas (principalmente, biodegradabilidad y relación carbono-nitrógeno [18]), no se han encontrado trabajos en los que se utilicen con esta finalidad.

El objetivo del presente trabajo es determinar la viabilidad de diferentes residuos de origen agroindustrial como sustratos para el crecimiento de dos hongos, *Beauveria bassiana* (BB) y *Trichoderma harzianum* (TH), productores de esporas con propiedades biopesticidas, estudiando a la vez, la relación entre las concentraciones de esporas obtenidas, las características de estos residuos y los parámetros del proceso de FES. Se parte de los resultados obtenidos en un trabajo anterior [19] dónde se optimizaron las condiciones de proceso para el crecimiento y esporulación de BB y TH sobre cáscara de arroz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los residuos agroindustriales estudiados fueron cáscara de arroz, paja de trigo, pomaza de manzana procedente de la obtención de zumos, fibras de arroz y soja de la obtención de bebidas vegetales, bagazo de cerveza, bagazo de whisky, pieles de patata de la elaboración de patatas fritas y piel de naranja de la elaboración de zumos en restauración. Estos materiales se presentan en la Figura 1, mientras que la Tabla 1 reúne sus principales características. Se intentó ajustar la humedad de estos residuos hasta valores adecuados para el proceso (60-65%, [19]) mediante la adición de agua en cáscara de arroz y paja de trigo (con valores originales de humedad por debajo del 10%) o bien mezclando con cáscara de arroz en el caso de la pomaza, los bagazos de cerveza y whisky y las fibras de arroz y soja, ayudando además a conseguir una porosidad adecuada. Todos los sustratos se esterilizaron mediante tres ciclos de autoclave (120°C, 30 min).

Se utilizaron cepas de los hongos *Beauveria bassiana* (CECT 20374) y *Trichoderma harzianum* (CECT 2929), ambas de la Colección Española de Cultivos Tipo (Universidad de Valencia).

Las pruebas de FES se realizaron por triplicado en reactores cilíndricos de PVC de 0.5L de capacidad, her-

	Humedad (% bh)	Materia orgánica (% bs)	pH	Relación C/N	Azúcares totales (mg g ⁻¹ MS)	AFP (%)	Proporción cáscara arroz: residuo (w:w) (%/%)
Cáscara de arroz	9.9±0.1	83.4±1.7	6.2±0.2	95.3±13.0	17.9±0.2	90	100:0
Pomaza de manzana	82.0±2.4	89.3±0.7	4.79±0.3	86.6±4.1	163.8±7.1	58	20:80
Bagazo de whisky	75.0±1.9	90.1±1.8	6.56±0.3	11.7±2.5	9.8±0.3	67	5:95
Fibra de soja	77.9±1.7	96.2±1.0	7.40±0.3	12.2±0.4	22.1±0.6	45	5:95
Fibra de arroz	66.7±2.0	98.7±0.5	5.38±0.2	4.8±0.2	22.1±0.4	49	5:95
Paja de trigo	8.23±0.2	93.5±1.7	6.12±0.4	85.4±4.1	17.7±0.3	89	0:100
Bagazo de cerveza	80.3±3.1	96.2±1.3	6.14±0.3	10.6±2.5	18.8±1.1	66	5:95
Piel de naranja	78.8±0.9	96.8±0.7	4.65±0.3	41.1±2.7	241.7±9.5	60	0:100
Piel de patata	89.0±0.2	81.3±1.1	6.97±0.3	23.8±0.9	40.8±2.4	59	0:100

% bh: en base húmeda; % bs: en base seca; AFP: *Air filled porosity* (espacio libre para el aire)

Tabla 1. Principales características de los residuos estudiados

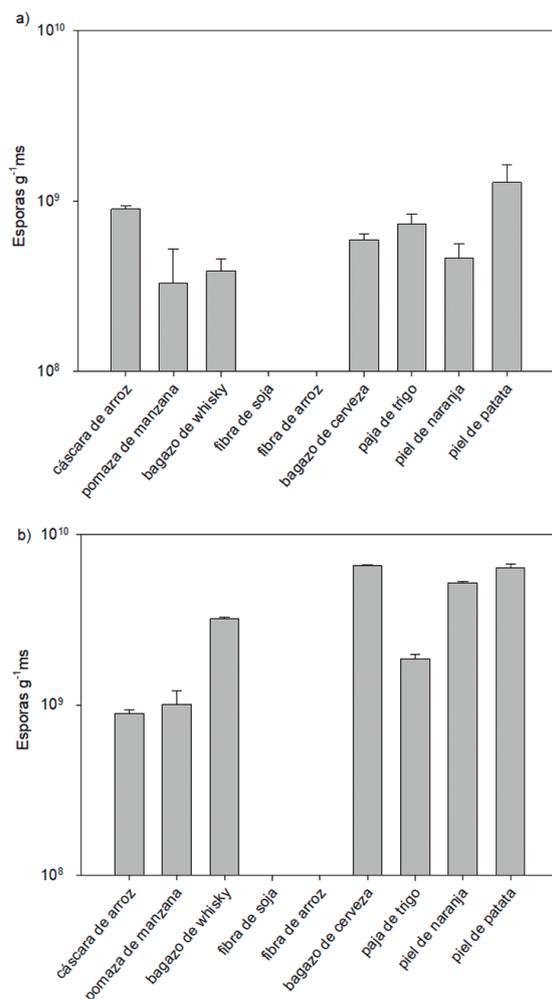


Figura 2. Máxima concentración de esporas en el proceso de FES para los residuos estudiados utilizando: a) *Beauveria bassiana* (día 7 de proceso); b) *Trichoderma harzianum* (día 5 de proceso)

méticamente cerrados y sumergidos en un baño termostático a 25°C para garantizar que las fermentaciones se llevaban a cabo a la temperatura óptima de crecimiento de los hongos. Se disponía en cada reactor de entrada y salida de aire continua a un caudal fijo de 20 ml/min, monitorizándose la concentración de oxígeno a la salida mediante un sistema de adquisición de datos basado en Arduino. La determinación del consumo de oxígeno en el reactor permite calcular la velocidad específica de consumo de oxígeno (sOUR, Specific Oxygen Uptake Rate) que constituye un parámetro indicador de la actividad biológica y se expresa como la masa de oxígeno consumido por gramo de materia seca (MS) y unidad de tiempo (g O₂ kg⁻¹ MS h⁻¹). A partir de estos valores, se determina también el Índice Respirométrico Dinámico correspondiente a las 24 horas de máxima actividad (IRD24, g O₂ kg⁻¹ MS h⁻¹). Otro de los parámetros respirométricos anali-

La valorización de residuos agroindustriales mediante fermentación en estado sólido para la producción de esporas fúngicas con efecto biopesticida se ha demostrado viable

zados es el consumo acumulado de oxígeno, COC, en g O₂ kg⁻¹ MS calculándose como el área bajo la curva de consumo de oxígeno. A mayor actividad biológica, los valores de estos parámetros son también más elevados [20].

A cada reactor se añadieron 100 g del residuo a estudiar previamente inoculado en campana de flujo laminar con BB o TH. El tiempo de proceso se estableció en 7-8 días para BB y 5-6 días para TH en base a las pruebas realizadas en trabajos anteriores [19]. Las pruebas se realizaron por triplicado (tres reactores para cada residuo y hongo).

Para la preparación del inóculo a partir de las cepas conservadas a -80°C en crioviales, se cultivaron en placa con agar de dextrosa y patata (PDA) en el caso de BB y agar de extracto de malta (MEA) para TH durante 6-8 días a 30°C. La recuperación de las esporas de las placas se realizó utilizando 10 ml de Tween 80, a una concentración del 0.1% (BB) o 0.01% (TH). El conteo de esporas se llevó a cabo en una cámara de Neubauer, tanto para la determinación de la concentración en el inóculo inicial, como al final del proceso. En el caso del inóculo inicial, la concentración de esporas se ajustó a 6.6·10⁶ esporas por gramo de materia seca (esporas g⁻¹ MS) usando Tween 80 a la concentración arriba indicada. Para el conteo de esporas al final del proceso, se realizó la extracción de las esporas presentes en 10 g de sólido mediante 50 ml de Tween 80 (0.1% BB y 0.01% TH), bajo agitación (20 min, 150 rpm). El conteo se realizó para cada reactor dándose como valor final de producción la media de los valores obtenidos y desviación estándar.

RESULTADOS

Estudio previo para la optimización de la producción de esporas a partir de cáscara de arroz

Como ya se ha comentado en la introducción, se seleccionaron TH y BB a partir de una revisión bibliográfica anterior [10]. Los parámetros más relevantes para el proceso de FES, así como sus valores óptimos para la producción de esporas de estos hongos, se determinaron utilizando la cáscara de arroz como sustrato de partida y mediante la técnica de diseño de experimentos [19]. Así, se estableció que la humedad ini-

Figura 3. Sustratos con mayor concentración de esporas al final del proceso de FES con *Beauveria bassiana* (7 días de proceso) y con *Trichoderma harzianum* (5 días de proceso)



cial del sustrato y la temperatura de proceso eran los parámetros más influyentes, con valores óptimos de humedad entre 55-60% para TH y 65-70% para BB y temperatura de 25°C en ambos casos. También se fijaron los tiempos de proceso necesarios para alcanzar la máxima producción de esporas, 5-6 días para TH y 7-8 días para BB. Estos valores se han considerado como punto de partida para la realización del trabajo actual ya que representan condiciones directamente relacionadas con el crecimiento y esporulación del hongo y deberían ser reproducibles partiendo de diferentes sustratos.

Producción de esporas mediante los distintos sustratos estudiados

En la Figura 2 se muestra la producción de esporas de los dos hongos estudiados utilizando los residuos listados en la Tabla 1 como sustratos. Como se puede observar, de los 9 residuos considerados, 7 permitieron una producción de esporas, como mínimo dos órdenes de magnitud superior a la concentración inicial de inóculo ($6.6 \cdot 10^6$ esporas g^{-1} MS). De las fermentaciones realizadas con BB (Figura 2a), la mayor concentración final de esporas se alcanzó con piel de patata ($1.3 \cdot 10^9$ esporas g^{-1} MS), mientras que en el caso de TH (Figura 2b) los valores más elevados fueron los obtenidos

para los bagazos de whisky ($3.2 \cdot 10^9$ esporas g^{-1} MS), cerveza ($7.5 \cdot 10^9$ esporas g^{-1} MS) y las pieles de patata ($6.4 \cdot 10^9$ esporas g^{-1} MS) y naranja ($5.2 \cdot 10^9$ esporas g^{-1} MS), sin que las diferencias entre estas concentraciones fueran estadísticamente significativas. En la Figura 3 se muestran imágenes de los sustratos que presentaron mayores concentraciones de esporas para BB y TH. En comparación con los valores obtenidos en los estudios previos con cáscara de arroz, los resultados con BB fueron similares, mientras que las fermentaciones realizadas con TH presentaron, para todos los residuos, concentraciones finales de esporas más elevadas. Si se comparan BB y TH, los mejores resultados se alcanzaron claramente con TH, excepto en el caso de la cáscara de arroz donde los dos hongos presentaron igual concentración de esporas. TH parece pues un hongo más versátil para la producción de esporas a partir de distintos sustratos. Si bien se pueden encontrar en la bibliografía trabajos realizados con los mismos hongos utilizando cáscara de arroz [18] y paja de trigo [21], los demás residuos no se habían considerado antes como posibles sustratos para el crecimiento y la esporulación de hongos, abriéndose, con el presente estudio, una posible vía de valorización.

En relación a las pruebas realizadas con las fibras de arroz y soja, no se observaron esporas al final de la fer-



mentación ni para BB, ni para TH. Lo que sí se observó fue la presencia de contaminación bacteriana para ambos hongos y sustratos atribuyéndose a esta contaminación la ausencia de crecimiento y esporulación. Los análisis de ácidos nucleicos realizados por un laboratorio externo confirmaron la presencia de *Burkholderia gladioli*, una bacteria que vive normalmente en simbiosis con plantas y hongos y que se encuentra en el suelo, en cultivos como el arroz y en animales. Las condiciones favorables para su crecimiento coinciden con las de TH y BB aunque *B. Gladioli* presenta mayor velocidad de crecimiento imponiéndose a TH y BB en las pruebas realizadas. Como consecuencia de esta contaminación, persistente después de 3 ciclos de autoclave, se descartaron estos dos residuos como sustratos adecuados para la producción de esporas de los hongos estudiados.

Relación entre la producción de esporas y las propiedades de los residuos

Se intentó relacionar la producción de esporas con las características de los distintos sustratos utilizados. Por

Los resultados presentados en este artículo abren la posibilidad a una larga lista de materiales residuales que podrían ser valorizados mediante FES con el mismo objetivo

un lado, con su biodegradabilidad, representada mediante los valores de índice respirométrico dinámico (IRD) y el consumo acumulado de oxígeno (COC). En la Tabla 2 se presentan los valores de IRD para las 24 horas de máxima actividad (IRD₂₄). En general, en las pruebas realizadas con BB se llega al máximo de actividad biológica más tarde que en el caso de TH (1.5-3 días para BB frente a 1-2.5 días para TH), mucho antes del tiempo correspondiente a la máxima concentración de esporas registrada (día 5-6 para TH y día 7-8 para BB). En efecto, no se ha podido establecer ninguna relación entre valores de IRD₂₄ y producción de esporas. Este hecho es muy claro en el caso de las fibras de arroz y soja que presentan los valores de IRD₂₄ más elevados, tanto para BB como para TH, cuando la pro-

(BB)	IRD ₂₄ (gO ₂ kg ⁻¹ MS h ⁻¹)	COC 7d (gO ₂ kg ⁻¹ MS)	(TH)	IRD ₂₄ (gO ₂ kg ⁻¹ MS h ⁻¹)	COC 5d (gO ₂ kg ⁻¹ MS)	AFP inicial (%)
Cáscara de arroz	0.32	1.88	Cáscara de arroz	0.42	1.65	83.0
Pomaza de manzana	0.99	4.7	Pomaza de manzana	1.13	3.84	63.4
Bagazo de whisky	2.55	8.83	Bagazo de whisky	3.61	13.37	64.0
Fibra de soja	3.77	14.65	Fibra de soja	3.74	9.47	50.2
Fibra de arroz	5.02	17.98	Fibra de arroz	3.43	8.64	54.8
Paja de trigo	0.61	1.55	Paja de trigo	0.54	1.48	85.6
Bagazo de cerveza	1.81	15.07	Bagazo de cerveza	1.85	16.76	64.3
Piel de naranja	0.70	2.63	Piel de naranja	1.74	6.8	61.3
Piel de patata	0.68	2.54	Piel de patata	1.78	4.92	58.3

IRD₂₄: Índice respirométrico dinámico, valor correspondiente a las 24 h de mayor actividad; COC: Consumo acumulado de oxígeno calculado desde el inicio de la fermentación hasta el día en que se alcanza la máxima concentración de esporas (día 7 para BB, día 5 para TH); AFP: *Air filled porosity* (espacio libre para el aire) al inicio del proceso, mismo valor para un mismo residuo independientemente del hongo utilizado.

Tabla 2. Valores de los parámetros respirométricos (IRD₂₄ y COC) y porosidad (AFP) en el proceso de FES con BB y TH para los residuos estudiados

ducción de esporas en estos sustratos no es detectable (se atribuye la actividad registrada a *B. Gladioli*). La relación tampoco es observable para la piel de patata (BB y TH) y la de naranja (TH), con valores de índice respirométrico relativamente bajos y producciones de esporas elevadas. En cambio, en el caso del bagazo de whisky y TH, se han registrado IRD24 y producción de esporas elevadas.

La dificultad de correlación entre producción de esporas y biodegradabilidad se confirma también observando los valores de COC (calculados desde el inicio del proceso hasta el día de máxima concentración de esporas, Tabla 2) reproduciéndose las relaciones antes comentadas para IRD24.

Por otro lado, los valores de pH, se mueven entre 5.5 y 8 en la mayoría de los casos excepto para la pomaza y la piel de naranja que presentan pH ácidos. A destacar los valores finales en el caso de BB (4.3 para la pomaza y 3.3 para la piel de naranja), fuera del rango óptimo para el crecimiento de BB y TH, que se encuentra alrededor de la neutralidad, reflejándose en la concentración de esporas final, que es la menor en el caso de BB (exceptuando las fibras por la razón arriba comentada).

Ante la dificultad de establecer relaciones claras, se realizó un análisis estadístico de los datos utilizando PCA, análisis por componentes principales (no se muestra). Los resultados permitieron concluir que, en el caso de BB, los parámetros más relevantes para el crecimiento y producción de esporas eran pH y porosidad (AFP) mientras que, para TH, éstos eran el consumo acumulado de oxígeno, la humedad y el contenido inicial de azúcares totales.

CONCLUSIONES

La utilización como sustratos en fermentación en estado sólido para el crecimiento y la producción de esporas mediante *Beauveria bassiana* (BB) y *Trichoderma harzianum* (TH) se ha demostrado viable para la valorización de distintos residuos agroindustriales. Las mayores concentraciones de esporas se han determinado para las pieles de patata y naranja y los bagazos de cerveza y whisky en el caso de TH y para la piel de patata en el caso de BB, seguida de la cáscara de arroz. La paja de trigo y la pomaza se han demostrado también adecuados. Las fibras de arroz y soja, aunque por su composición podrían ser utilizados también, presentaron problemas de contaminación bacteriológica. Los resultados presentados en este artículo abren la posibilidad a una larga lista de materiales re-

siduales que podrían ser valorizados mediante FES con el mismo objetivo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, a través del proyecto CTM2015-69513-R. Arnau Sala agradece a la Universitat Autònoma de Barcelona la concesión de una beca para la realización de la tesis doctoral.

Abreviaturas

BB: *Beauveria bassiana*

COC: Consumo acumulado de oxígeno

FES: Fermentación en estado sólido

IRD: Índice respirométrico dinámico

MS: materia seca

sOUR: Velocidad específica de consumo de oxígeno

SV: sólidos volátiles

TH: *Trichoderma harzianum*

BIBLIOGRAFÍA

- Russ, W., Schnappinger, M. 2007. "Waste related to the food industry: a challenge in material loops". En: Oreopoulou, V., Russ, W. (Eds.), "Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry". Springer, Boston, pp 1-14.
- Sánchez, A., Artola, A., Gea, A., Barrena, A., Font, X., 2015. "Un nuevo paradigma para la gestión de residuos sólidos urbanos". Ind. Química, Julio/septiembre, 60-63.
- Abu Yazid, N., Barrena, B., Kornilis, D., Sánchez, A. 2017. "Solid-state fermentation as a novel paradigm for organic waste valorisation: A review". Sustainability, 9(2), 224.
- Mascarin, G.M., Jaronski, S.T., 2016. "The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide". World J. Microbiol. Biotechnol., 32, 1-26.
- López-Pérez, M., Rodríguez-Gómez, D., Loera, O., 2015. "Production of conidia of *Beauveria bassiana* in solid-state culture: current status and future perspectives". Crit. Rev. Biotechnol., 35(3), 334-341.
- Rehner, S.A., Minnis, A.M., Sung, G.H., Luangsa-Ard, J.J., Devotto, L., Humber, R.A. 2011. "Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*". Mycologia, 103(5), 1055-1073.
- Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., Valéro, J.R., 2007. "Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control". Biochem. Eng. J., 37, 1-20.
- Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Köhl, J., Marrone, P., Morin, L., Stewart, A. 2012. "Have biopesticides come of age?". Trends Biotechnol., 30(5), 250-258.
- Sharma, P., Sharma, M., Raja, M., Shanmugam, V., 2014. "Status of *Trichoderma* research in India: a review". Indian Phytopathol., 67, 1-19.
- Sala, A., Barrena, R., Artola, A., Sánchez, A., 2019. "Current Developments in the production of fungal biological control agents by solid-state fermentation using organic solid waste". Crit. Rev. Env. Sci. Tec., 49(8), 655-694.
- Novy, V., Longus, K., Nidetzky, B. 2015. "From wheat straw to bioethanol: Integrative analysis of a separate hydrolysis and co-fermentation process with implemented enzyme production". Biotechnol. Biofuels, 8, 1-12.
- De la Cruz Quiroz, R., Roussos, S., Hernández, D., Rodríguez, R., Castillo, F., Aguilar, C.N., 2015. "Challenges and opportunities of the bio-pesticides production by solid state fermentation: filamentous fungi as a model". Crit. Rev. Biotechnol., 35, 326-333.
- Abraham, J., Gea, T., Sánchez, A., 2014. "Substitution of chemical dehairing by proteases from solid-state fermentation of hair wastes". J. Cleaner Prod., 74, 191-198.
- Ballardo, C., Abraham, J., Barrena, R., Artola, A., Gea, T., Sánchez, A., 2016. "Valorization of soy waste through SSF for the production of compost enriched with *B. thuringiensis* with biopesticide properties". J. Environ. Manage., 169, 126-131.
- Marín, M., Sánchez, A., Artola, A., 2019. "Production and recovery of cellulases through solid-state fermentation of selected lignocellulosic wastes". J. Cleaner Prod., 209, 937-946.
- Cerdá, A., Gea, T., Vargas-García, M.C., Sánchez, A., 2017. "Towards a competitive solid state fermentation: cellulases production from coffee husk by sequential batch operation and role of microbial diversity". Sci. Total. Environ., 589, 56-65.
- Bougrier, C., Dognin, D., Laroche, C., Cacho Rivero, J. A. 2018. "Use of trace elements addition for anaerobic digestion of brewer's spent grain". J. Environ. Manage., 223, 101-107.
- Mishra, S., Kumar, P., Malik, A., 2016. "Suitability of agricultural by-products as production medium for spore production by *Beauveria bassiana* HQ917687". Int. J. Recycl. Org. Waste Agric., 5, 179-184.
- Sala, A., Artola, A., Sánchez, A., Barrena, R., 2020. "Rice husk as a source for fungal biopesticide production by solid-state fermentation using *B. bassiana* and *T. harzianum*". Bioresour. Technol., 296, 122322.
- Ponsá, S., Gea, T., Sánchez, A., 2010. "Different indices to express biodegradability in organic solid wastes". J. Environ. Qual., 39, 706-712.
- Mishra, N., Sundari, K., 2017. "Designing low cost SSF strategy for mass production of bioinoculant *Trichoderma harzianum* KSNM with longer shelf life". Asian J. Microbiol. Biotechnol. Environ. Sci., 18, 447-458.

