



Evaluación de varios inóculos para el cultivo de setas comestibles *Pleurotus* spp.

Evaluation of several inoculums for the cultivation of edible mushrooms *Pleurotus* spp.

Roxana Suárez Rodríguez ^a; Armando Antonio Macías González ^a; Yolexis Roberta Cardona Soberao ^a;
Jorge Díaz Sánchez ^a; Amaury Pérez Sánchez ^{a,*}

^a Facultad de Ciencias Aplicadas, Universidad de Camagüey, Carretera Circunvalación Norte, km. 5 ½, e/ Camino Viejo de Nuevitas y Avenida Ignacio Agramonte, CP 74650, Camagüey, Cuba.

* Autor correspondiente: Amaury Pérez Sánchez [amaury.perez84@gmail.com | <https://orcid.org/0000-0002-0819-6760>]
Roxana Suárez Rodríguez [roxana.suarez@reduc.edu.cu | <https://orcid.org/0009-0009-0928-6790>]
Armando Antonio Macías González [amado.macias@reduc.edu.cu | <https://orcid.org/0000-0000-0002-1646-1413>]
Yolexis Roberta Cardona Soberao [yolexis.cardona@reduc.edu.cu | <https://orcid.org/0000-0002-0042-5805>]
Jorge Díaz Sánchez [jorge.diaz@reduc.edu.cu | <https://orcid.org/0000-0003-1193-8873>]

Resumen

Se plantea una metodología para la producción eficiente de inóculos en el cultivo de setas comestibles *Pleurotus* spp, a partir de cuatro tipos de granos, con el fin de mejorar la eficiencia y productividad en la producción de setas. Mediante un diseño experimental se evaluó el crecimiento de *Pleurotus* spp. en cuatro tipos de granos: arroz con cáscara, maíz, cebada y aserrín. Se realizó la preparación e inoculación aséptica de los granos y se monitoreó la colonización micelial durante el periodo de incubación a través de observaciones sistemáticas. Los resultados evidenciaron un desempeño diferencial de los granos como soportes, destacándose la cebada por presentar la mayor eficiencia en términos de crecimiento y propagación del inóculo. El maíz también mostró un buen potencial, aunque con problemas persistentes de contaminación. El arroz con cáscara tuvo un rendimiento intermedio como sustrato, mientras que el aserrín resultó completamente ineficaz para la producción de inóculo. Los hallazgos confirman la importancia crítica de seleccionar adecuadamente el tipo de grano para obtener inóculos con elevada calidad y productividad. Por último, se elaboró una propuesta de procedimiento estandarizado para la obtención de inóculos a partir de granos que integra las mejores prácticas identificadas.

Palabras clave: setas comestibles; *Pleurotus* spp.; inóculo; sustrato.

Abstract

A methodology is proposed for the efficient production of inoculum in the cultivation of edible mushrooms *Pleurotus* spp, from four types of grains, in order to improve efficiency and productivity in mushroom production. Using an experimental design, the growth of *Pleurotus* spp. in four types of grains: paddy rice, corn, barley and sawdust was evaluated. Aseptic preparation and inoculation of the grains was carried out and mycelial colonization was monitored during the incubation period through systematic observations. The results showed a differential performance of the grains as supports, with barley standing out for presenting the greatest efficiency in terms of growth and propagation of the inoculum. Corn also showed good potential, although with persistent contamination problems. Paddy rice had intermediate performance as a substrate, while sawdust was completely ineffective for inoculum production. The findings confirm the critical importance of properly selecting the type of grain to obtain inoculum with high quality and productivity. Finally, a proposal for a standardized procedure was developed to obtain inoculum from grains that integrates the best practices identified.

Keywords: edible mushrooms; *Pleurotus* spp.; inoculum; substratum.



1. Introducción

Desde la antigüedad, los hongos han llamado la atención de la humanidad, debido a sus diversas formas y colores. Se sabe que antiguas civilizaciones de extremo oriente y Mesoamérica (regiones comprendidas desde el Noroeste Central de México hasta el Noroeste de Costa Rica) los utilizaron especialmente en prácticas terapéuticas, actividades religiosas y como alimento (Andrade, 2007).

Las setas son hongos que se desarrollan principalmente sobre troncos en descomposición u otros sustratos vegetales. Cada hongo está formado por una serie de finos filamentos llamados hifas, que en conjunto forman lo que se denomina micelio. En la naturaleza y bajo condiciones favorables de humedad y temperatura, este micelio se transforma en pequeños grumos que van aumentando de tamaño hasta formar la típica seta. El hongo formado tiene la función de producir las estructuras de reproducción llamadas esporas cuya misión es perpetuar la especie (Gaitán-Hernández et al., 2006).

La producción global de setas comestibles cultivadas, según reporta (Niño et al., 2021), ha experimentado un crecimiento sostenido desde 1978. El valor de mercado global de hongo fresco alcanzó USD \$ 38 billones en 2018, siendo China el mayor productor dentro de la región asiática contribuyendo aproximadamente con el 35% del mercado global de hongos. Los países asiáticos contribuyen con el 76% de la producción de hongo, seguida de Europa (17,2%) y Estados Unidos (5,9%) (Mahari et al., 2020). En América Latina, México lidera la producción, seguido por Brasil y Colombia.

Más allá de la producción de setas, los hongos del género *Pleurotus* spp., tienen un panorama muy amplio debido a que el sustrato agotado que se obtiene, durante el proceso de fermentación en medio sólido, puede ser usado de diversas maneras, tales como, la obtención de enzimas, de fertilizantes, de abonos orgánicos, de biorremediadores y de alimento para rumiantes (Coello et al., 2017), así como la producción de plántulas de *Carica papaya* Lin., variedad Maradol Roja, en condiciones de cultivos semiprotegidos (Bermúdez et al., 2021).

Se estima que *Pleurotus* spp. ocupa el tercer lugar entre los hongos con mayor producción y consumo a nivel mundial, luego del hongo botón (*Agaricus bisporus*), el hongo shiitake (*Lentinula edodes*) (Mahari et al., 2020). Según (Maheswari et al., 2020) el hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) constituye el segundo hongo comestible más cultivado a nivel mundial después del *Agaricus bisporus*. El género *Pleurotus* cuenta con numerosas especies distribuidas por todo el planeta en diferentes altitudes que van desde el nivel del mar hasta superior a 3000 metros.

Las especies del género se caracterizan por poseer un alto valor nutricional, potencial nutraceutico y variadas aplicaciones biotecnológicas y ambientales (Niño et al., 2021).

El cultivo artificial de hongos comestibles, especialmente aquellos clasificados como saprófitos, es más común debido a su capacidad para utilizar biomasa vegetal como fuente de carbono y energía. Bajo el género *Pleurotus*, se engloba una variada gama de hongos saprófitos comestibles que han sido exitosamente adaptados para su cultivo en diversos sustratos lignocelulósicos mediante un proceso de preparación simple y rápida (Coello et al., 2017).

Un aspecto crucial en la producción de setas es el proceso de producción de inóculos, ya que este determinará la calidad de los cuerpos fructíferos en etapas posteriores (Calderon, 2010). El inóculo o spawn es el micelio vegetativo de un hongo seleccionado, crecido en un medio conveniente como trigo, mijo, sorgo etc., con la finalidad de obtener una cosecha de hongos. Involucra la preparación de un cultivo puro de hongo a partir de sus tejidos o esporas, los cuales son mantenidos generalmente en agar seguido por su cultivo en granos esterilizados y más adelante multiplicados en más grano. El inóculo comprende entonces, el micelio del hongo y un medio de soporte que provee nutrición a éste durante su crecimiento (Sifuentes, 2014).

La elección de los granos o semillas para la producción de inóculo dependerá de su disponibilidad, bajo costo y calidad. Se pueden emplear semillas de sorgo, trigo, centeno, cebada, avena, mijo y arroz, entre otros (Gaitán-Hernández et al., 2006). Además de grano, se puede utilizar un soporte inerte que facilite la propagación del micelio, como tarugos, aserrín, cartón o trocitos de madera, los cuales representan una ventaja para el cultivo en exteriores (Sifuentes, 2014).

De forma general son muy variados los tipos de sustratos utilizados o evaluados para la producción de setas comestibles, entre los cuales se pueden mencionar residuos de la extracción de oleorresina de ají (*Capsicum* spp.) (Luz et al., 2008); dos formulaciones diferentes de pasto kikuyo, maní forrajero, vaina de frijol y cascarilla de algodón (Garcés et al., 2005); paja de arroz y trigo (Zhang et al., 2002); varias especies de yerba mala tales como *Leonotis* sp. (Lamiaceae), *Sida acuta* (Malvaceae), *Parthenium argentatum* (Asteraceae), *Ageratum conyzoides* (Asteraceae), *Cassia sophora* (Caesalpinaceae), *Tephrosia purpurea* (Papilionaceae) y *Lantana camara* (Verbenaceae) (Das & Mukherjee, 2007); tallo de maíz, residuo de guisante (tijeretas) y hojas de bananas con o sin suplementación de afrecho de arroz y estiércol de pollo (Pokhrel et al.,

2013); funda de maíz + mazorca de maíz + medula de fibra de corteza de coco, paja de cáscara de arroz + y paja de raji, y bagazo de caña de azúcar suplementado con un 10% de afrecho de trigo (Maheswari et al., 2020); maíz, maíz y aserrín (1:1 v/v) y maíz y aserrín (3:1 v/v) (Muslimin et al., 2021); paja de arroz (Plana et al., 2020) y vainas de *Lupinus angustifolius* suplementado con rastrojo de maíz (Martínez & Soto-Velazco, 2015). También, en Akter et al. (2022) se evaluaron cinco residuos agroindustriales: paja de arroz, paja de trigo, mazorca de maíz, aserrín y cáscara de arroz (3:1) y bagazo de caña de azúcar, para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, mientras que en Wergthemmi et al. (2022) se evaluó la influencia de extractos de hojas de oliva y té para medir el diámetro de crecimiento micelial y la tasa de crecimiento lineal de *Pleurotus ostreatus*.

Asimismo, se reporta el empleo de paja de trigo para el cultivo de 14 cepas de nueve especies del género *Pleurotus* bajo condiciones de laboratorio (Shnyreva et al., 2017); el empleo de paja de trigo, paja de algodón, paja de lenteja y afrecho arrocerero para el cultivo de *Pleurotus eryngii* var. *ferulae* (Kirbag & Akyüz, 2008); paja de trigo y paja de banano para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus sajor-caju* (Bonatti et al., 2004); granos de trigo, maíz, arroz y sorgo para cultivar *Pleurotus ostreatus* (Ita et al., 2018); y papel de desecho suplementado con tallo de maíz y afrecho de trigo con el fin de cultivar *Pleurotus ostreatus* (Tsfay et al., 2020).

Debido a sus características nutricionales y medicinales, en Cuba se ha trabajado en la introducción, producción y consumo de setas del género *Pleurotus*, en varias provincias dentro del programa de Agricultura Urbana (Beltrán et al., 2020). En Cuba, el cultivo del hongo comestible *Pleurotus* comenzó en el Instituto Cubano de Investigación para la Caña de Azúcar Derivados (ICIDCA) en 1988, utilizando paja de caña de azúcar y bagazo como sustratos de cultivo, y hoy en día las tecnologías locales están disponibles. En este estudio se demostró que varios subproductos agrícolas disponibles en la región oriental de Cuba pueden ser utilizados para el cultivo de *Pleurotus* spp.

Del ICIDCA se transfiere esta tecnología al Centro de Estudio de Biotecnología Industrial (CEBI), perteneciente a la Universidad de Oriente, Cuba en 1994. Este centro desarrolla la tecnología del cultivo de la seta comestible *Pleurotus* spp., en condiciones naturales y controladas, bajo la marca comercial NORA'S. Sus investigaciones abarcan varias temáticas, entre las cuales se pueden mencionar la evaluación del cultivo de *Pleurotus ostreatus* Florida en varios sustratos agrícolas tales como pulpa de café, cáscaras de cacao y cáscaras de coco (Bermúdez et al., 2001);

la compilación de los procedimientos para la producción de las setas comestibles del género *Pleurotus*, con aplicaciones potenciales desde el punto de vista farmacológico (Beltrán et al., 2020); al evaluación de la productividad de dos cepas de *Pleurotus* utilizando dos tipos de bioreactores: en bolsas y en bandeja y empleando como sustrato la pulpa de café *Coffea canephora* Pierre ex Frhoener (Bermúdez et al., 2018); El estudio cinético de la extracción de compuestos fenólicos a partir de biomasa micelial de *Pleurotus ostreatus* obtenida mediante fermentación sumergida (Ferrer et al., 2019); la evaluación de la capacidad del hongo *Pleurotus* spp. para producir enzima lacasa durante su crecimiento sobre pulpa de café, empleando el dispositivo de fermentación sólida aerobia y las columnas de vidrio descritas por Raimbault, bajo diferentes escalas de fermentación (García et al., 2007); la evaluación de la influencia de las formulaciones de sustratos a base de pulpa de café con virtudes de madera, cáscaras de cacao y coco en la producción de setas comestibles (dos cepas de *Pleurotus ostreatus*) por medio de la fermentación en estado sólido (García et al., 2011); y la evaluación de la producción de lacasa de tres cepas de hongos comestibles: *Pleurotus ostreatus* CCEBI 3021, *Pleurotus ostreatus*, var. Florida CCEBI 3024 y *Pleurotus sajor-caju* CCEBI 3027, cultivadas sobre pulpa de café, efectuando la determinación de la actividad lacasa en las fases de inóculo y colonización (García et al., 2016).

El Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT) lleva adelante un plan de desarrollo de nuevos métodos de cultivo de hongos comestibles con la finalidad de incrementar la producción y el consumo de este nutriente en los hogares cubanos, y también para extender la plantación del champiñón por varias localidades de la Isla. Una vez culminado este proceso de investigación, se realizará un estudio y selección de los subproductos de las cosechas agrícolas de cada región para conocer la materia orgánica disponible en cada territorio. Las especies utilizadas en la experimentación son de los géneros *Auricularia polytricha* (montagne), *Pleurotus ostreatus* (seta de ostra) y *Lentinus edodes* (shiitake), provenientes de China. Especialistas del INIFAT en conjunto con el Instituto de Investigaciones de la Industria Alimenticia de Cuba llevaron a cabo un estudio donde se cultivó el hongo *Pleurotus ostreatus* (cepa P696) en paja de arroz, observándose un crecimiento micelial robusto a los 21 días de incubación en condiciones de oscuridad total y a 37 °C de temperatura (Plana et al., 2020).

En la Universidad de Camagüey, Cuba se reportan varias experiencias en este sentido, siendo el estudio

pionero el reportado por (Benitez et al., 2013) en donde se evaluó el comportamiento y desarrollo de *Pleurotus ostreatus* sobre tres sustratos, a saber: hojas secas de plátano (*Musa* sp.), hojas secas de caña (*Sacharum officinarum*) y el residuo de corte de un césped (*Aristida refracta* Gris) recogida en zonas aledañas a la universidad, dividiendo el trabajo en tres etapas: fermentación, inoculación y producción. En la actualidad existe un proyecto en curso regido por el departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Camagüey, titulado: "Desarrollo de tecnologías para la elaboración de alimentos sanos a partir de setas comestibles" el cual pertenece al Programa de Alimento Humano, mediante el cual se reportan ya varios estudios y resultados, entre los cuales se destacan la validación del proceso de secado y rehidratación de la seta *P. ostreatus* a diferentes temperaturas de secado, empleando para ello cascarilla de arroz hidrolizado como sustrato (Cardona et al., 2022); la definición de los medios de cultivo referidos en la literatura para la proliferación del género *Pleurotus ostreatus* y valorar su aplicación en las condiciones de Cuba (Cardona et al., 2022); la elaboración de un procedimiento para la producción, conservación y mantenimiento de la cepa del género *Pleurotus ostreatus*, con el fin de llevar a cabo estas operaciones de la forma más práctica y eficiente posible (Cardona et al., 2023); y la evaluación de la cascarilla de arroz y el afrecho cervecero como sustratos puros para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, empleando pulpa de café como referencia (Puig et al., 2020). Todos estos estudios responden al proyecto "Desarrollo de tecnologías para la elaboración de alimentos sanos a partir de setas comestibles" perteneciente al Programa de Alimento Humano regido por el departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Camagüey, Cuba.

Actualmente, la producción de inóculos para el cultivo de diferentes especies de *Pleurotus* spp. constituye una tarea que enfrenta diversos desafíos y retos en términos de eficiencia y productividad, especialmente en relación con la propagación de inóculos en diferentes granos y sustratos. Además, se ha identificado que algunos granos utilizados en la producción de inóculos tienen una disponibilidad muy baja en el mercado, lo que limita aún más su uso en la producción de setas a gran escala. Por lo mismo existe una necesidad urgente de investigar nuevas estrategias y metodologías que permitan mejorar la eficiencia y productividad en la producción de inóculos para el cultivo de setas comestible, al mismo tiempo que se busca optimizar el uso de los recursos disponibles.

En este contexto, en el presente trabajo se desarrolla una metodología para la producción eficiente de inóculos en el cultivo de setas comestibles *Pleurotus* spp., a partir de diferentes tipos de granos, con el fin de mejorar la eficiencia y productividad en la producción de setas.

2. Metodología

2.1. Caracterización del área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la Universidad de Camagüey: Laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Aplicadas.

2.2. Materiales, equipos, insumos y herramientas

2.2.1. Cepa utilizada

Se empleó la cepa *Pleurotus ostreatus* (Figura 1).



Figura 1. Cepa de *Pleurotus ostreatus*.

2.2.3. Materiales y equipos utilizados

Los equipos utilizados fueron autoclave vertical digital (LDZX-75KBS), balanza técnica (YP3001N), y un refrigerador de almacenamiento. También se utilizaron las siguientes sustancias químicas: Alcohol al 70%, sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) y óxido de calcio (CaO).

2.3. Tratamientos y diseño experimental

La Tabla 1 muestra los tratamientos utilizados en este estudio para los cuatro tipos de granos evaluados.

Tabla 1

Tratamientos utilizados para la evaluación de diferentes tipos de granos como soportes en la producción de inóculos para el cultivo de setas *Pleurotus* spp.

Tipo de grano	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4
Arroz con cáscara	A1	A2	A3	A4
Maíz	M1	M2	M3	M4
Cebada	C1	C2	C3	C4
Aserrín	S1	S2	S3	S4

Nota: Los tratamientos se han cambiado por "Réplicas" para reflejar con mayor claridad las unidades experimentales utilizadas en el estudio. Cada réplica se identifica con la inicial correspondiente al tipo de grano, seguida del número de réplica (del 1 al 4). Esto permite una mejor identificación y seguimiento de los resultados obtenidos en cada réplica a lo largo del experimento.

2.7. Preparación del inóculo

2.7.1. Selección y adquisición del material de soporte

Se optó por utilizar arroz con cáscara donado por la Empresa Agroindustrial de Granos “Ruta Invasora” ubicada en la provincia de Camagüey. Se empleó también aserrín obtenido de forma gratuita de una carpintería de la localidad. Estos granos, aunque no son los más recomendados en la literatura, ofrecen la ventaja de estar ampliamente disponibles en la región de estudio y presentan un costo más bajo. Adicionalmente, se incluyó el maíz, adquirido en un mercado local. Por último, se incluyó la cebada como un soporte de amplia utilización y con excelente desempeño en la producción de inóculos. La cebada fue una donación igualmente de la empresa de Cervecería Tíñima de la provincia de Camagüey.

2.7.2. Preparación del grano

Los materiales de soporte (arroz en cáscara, maíz, cebada y aserrín) se lavaron con abundante agua y se dejaron en remojo durante 12 horas. Las semillas muertas (color oscuro opaco) y aquellas que flotaban sobre el agua fueron removidas. En el caso de los granos se le realizó un escaldado como pretratamiento adicional con el objetivo de estimular la absorción de humedad y ablandar la cáscara. Para ello se calentó agua hasta el punto de ebullición y se introdujeron los granos, cociéndolos durante 15 min para el arroz con cáscara y 20 min para el maíz y cebada. Una vez que alcanzaron el punto de textura y firmeza adecuado, fueron retirados del agua y a continuación se dejaron escurriendo en un colador metálico de malla fina durante 2 horas.

Seguidamente se pesó en balanza técnica la cantidad de grano necesaria para la producción del inóculo primario. En el caso del arroz con cáscara, la cebada y el maíz se emplearon 200 g, mientras que para el aserrín se utilizaron 130 g. Para el aserrín se utilizó una suplementación de un 5% de sacarosa y un 2% de cal (CaO). Una vez pesado, se depositó el material de soporte previamente pretratado en frascos de vidrio de volumen 400 mL a una capacidad de llenado de 3/4 partes.

2.7.3. Esterilización del grano

Se sellaron los frascos con papel de aluminio y se colocaron en autoclave a 121 °C (50% humedad) durante 45 minutos. Una vez concluido este proceso se dejó refrescar por dos horas en un área aislada y limpia.

2.7.4. Inoculación

Para la inoculación, se utilizaron dos placas Petri diferentes que contenían cepas de la misma especie de *Pleurotus spp.* Ambas cepas presentaban una

vitalidad similar, por lo que se decidió no considerar este factor como una variable a evaluar en el estudio. Sin embargo, se tomó precaución al seleccionar las placas para garantizar una representación adecuada de la cepa utilizada en el proceso de inoculación.

Esta operación se realizó en un cuarto previamente higienizado, donde se siguieron los procedimientos establecidos. El instrumental necesario, incluyendo el bisturí utilizado para los cortes en el micelio, fue esterilizado previamente en autoclave para garantizar la asepsia. Las placas de Petri se prepararon retirando el Parafilm y se realizaron los cortes en el micelio según el patrón seleccionado. Los recipientes de espera se destaparon con cuidado, evitando la contaminación, y se transfirió el micelio agarizado utilizando el bisturí esterilizado. Los frascos se cerraron adecuadamente con papel de aluminio y se agitaron suavemente para promover una colonización uniforme. Se mantuvo un control riguroso de la limpieza y esterilidad en todo momento para evitar cualquier forma de contaminación cruzada.

2.7.5. Incubación

Después de la inoculación, se etiquetaron adecuadamente los frascos en su exterior utilizando un marcador permanente. Cada frasco fue identificado con un número de tratamiento específico, la fecha de inoculación y la especie de *Pleurotus spp.* Correspondiente. Esta etiquetación detallada permitió una correcta identificación y seguimiento de cada muestra a lo largo del proceso de incubación.

El proceso de incubación se llevó a cabo en un cuarto designado para tal fin, aunque cabe destacar que presentaba ciertas limitaciones en cuanto a las condiciones ideales. Aunque se tomó precaución para minimizar la exposición a la luz, algunas ventanas de vidrio en el cuarto permitían el paso de la luz natural durante el día, mientras que se mantenía la oscuridad durante la noche. La humedad relativa se mantuvo en niveles ambientales, sin contar con un sistema de control específico.

El período total de incubación fue de 21 días, durante los cuales se realizaron inspecciones periódicas para evaluar el progreso del crecimiento. Las inspecciones se llevaron a cabo en los días 5, 9, 13, 17 y 21, lo que permitió monitorear el desarrollo del micelio a lo largo del tiempo y realizar observaciones en diferentes etapas del proceso de incubación.

2.8. Variables evaluadas

Variable Independiente

Tipo de Grano: El tipo de grano utilizado como soporte para la producción de inóculo constituye una variable independiente crucial en este estudio. Se explorarán cuatro tipos diferentes: arroz con cáscara,

maíz, cebada y aserrín. La elección de cada tipo de grano se basó en su disponibilidad local y su viabilidad económica, pero se busca determinar cómo afecta cada uno al crecimiento micelial y, por ende, a la eficiencia y calidad de la producción de setas *Pleurotus spp.*

Variables Dependientes

Crecimiento y propagación de Inóculo: Esta variable dependiente se refiere al desarrollo y expansión del inóculo en cada tipo de grano. Se evaluará el progreso del micelio en términos de diámetro de colonia, densidad y ramificación micelial.

Eficiencia y calidad en la producción de setas: La eficiencia se medirá en función de la capacidad del inóculo para generar un rendimiento significativo de setas. Además, se considerará la calidad de las setas producidas en términos de tamaño, textura y apariencia general.

Tiempo de colonización: Se evaluará el tiempo que cada tipo de grano requiere para ser colonizado por el micelio de *Pleurotus spp.* Esta variable dependiente es fundamental para comprender la velocidad de desarrollo del inóculo en diferentes sustratos y su impacto en la eficiencia del proceso de producción.

2.9. Diseño de un procedimiento operativo estandarizado para la elaboración de inóculos

Para el diseño del Procedimiento Operativo Estandarizado (POES) aplicado a la producción de inóculos de *Pleurotus spp.*, se siguieron las siguientes etapas metodológicas:

1. Revisión bibliográfica. Se realizó una exhaustiva revisión de la literatura científica y técnica relevante sobre la elaboración de Procedimientos Operativos Estandarizados.
2. Consulta a expertos. Se entrevistó a expertos en la redacción de documentos normativos, indagando en detalle sobre sus protocolos y estrategias para redactar esta documentación.
3. Observación. Se observaron y documentaron todos los procedimientos durante la realización del experimento, anotando todos los parámetros productivos.
4. Borrador y retroalimentación. Con la información recopilada se redactó un borrador del POES, el cual fue consultado con expertos para recibir retroalimentación y propuestas de mejora.
5. Pruebas experimentales. Se realizaron pruebas controladas aplicando el POES borrador para evaluar su efectividad y facilidad de implementación. Los resultados experimentales evidenciaron la necesidad de realizar algunos ajustes que fueron incorporados.

Implementación del POES y revisión periódica: Una vez establecidos los ajustes pertinentes se implementó la utilización de este procedimiento para su uso en la obtención de inóculos. Se establecieron períodos de revisión periódica para la actualización sistemática del mismo.

3. Resultados y discusión

3.1. Comportamiento de las variables durante el estudio
La presente sección expone los resultados obtenidos en el estudio sobre la influencia de diferentes tipos de granos como soportes en la producción de inóculos para el cultivo de setas comestibles *Pleurotus spp.* Los resultados presentados están respaldados por un riguroso enfoque científico y representan un avance significativo en la comprensión de la eficiencia y productividad en la producción de inóculos para el cultivo de estas setas.

Día 5

Durante la primera inspección (día 5), se observaron los primeros signos de crecimiento micelial (Figura 2). Los soportes de cebada y maíz mostraron los mayores indicios de crecimiento, siendo C4 y M4 los tratamientos con el mejor desempeño en términos de propagación del inóculo de *Pleurotus spp.* Se pudo apreciar un crecimiento en todos los tratamientos de cebada, mientras que el maíz mostró igualmente un crecimiento acelerado en los cuatro tratamientos. Por otro lado, el arroz con cáscara presentó signos de una propagación discreta en los tratamientos A1 y A2. En contraste, el soporte de aserrín no mostró signos de crecimiento alguno.

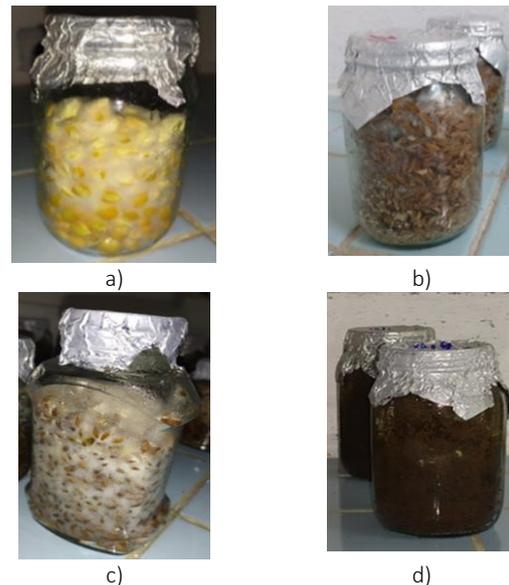


Figura 2. Monitoreo del crecimiento de *Pleurotus spp.* al día 5 de inoculados los sustratos. (a) Maíz. (b) Arroz con cáscara. (c) Cebada. (d) Aserrín.

Se observó la presencia de condensado en los tratamientos M1, M2 y M3, lo cual podría afectar el desarrollo del inóculo. Además, se evidenció la presencia de competidores en los tratamientos M2 y M3 de maíz, lo que podría interferir con el crecimiento del inóculo de *Pleurotus spp.*

Día 9

Se pudo apreciar un avance significativo en la colonización del inóculo de *Pleurotus spp.* en los diferentes tipos de granos. El tratamiento C4 mostró una colonización casi completa de los granos, evidenciando una propagación excelente, seguida en % de colonización por C2 y C1 y mostrándose un crecimiento retardado en C3. Los tratamientos de maíz también presentaron un crecimiento destacado, siendo el tratamiento M4 el que mostró una colonización completa, seguido por los tratamientos M2 y M3. El tratamiento, se encontraba ligeramente rezagado en términos de colonización. Por otro lado, los tratamientos de arroz con cáscara, A1 y A2 no mostraron signos de crecimiento, a pesar de haber presentado signos leves de colonización en inspecciones anteriores. En el aserrín, no se evidenciaron cambios en la colonización del inóculo.

Entre los problemas detectados, persistía la presencia de contaminación en los tratamientos de maíz anteriormente mencionados. Esta contaminación era muy notable y cubría la totalidad de la parte superior de los frascos. Además, se encontró un frasco (C3) con presencia de contaminación. El aserrín, por su parte, se mantuvo sin cambios en cuanto a colonización, sin mostrar signos de contaminación.

Día 13

Se observaron cambios similares a los del día anterior en términos de crecimiento micelial. C4 continuó mostrando una colonización completa y saludable, destacándose como el grano con el mejor desempeño en cuanto a colonización del inóculo de *Pleurotus spp.* Los tratamientos de maíz también presentaron una colonización significativa, con un frasco de maíz y otro de cebada mostrando una buena colonización, y el resto de los tratamientos mostrando un aumento en la colonización en comparación con la inspección anterior, aunque no con la misma intensidad.

Entre los problemas detectados, se evidenció que persistía la contaminación en los tratamientos de maíz. La contaminación era muy notable y cubría la totalidad de la parte superior de los frascos. Además, se encontró contaminación en C3, lo cual indica la presencia de competidores que pueden afectar negativamente el crecimiento y desarrollo del inóculo de *Pleurotus spp.* En cuanto al aserrín, se mantuvo sin cambios en cuanto a colonización, sin mostrar signos de contaminación.

Día 17

Se observaron avances significativos en la colonización del inóculo de *Pleurotus spp.* en los diferentes tipos de granos. El tratamiento C4 mostró una colonización completa, manifestando signos de salud en las hifas y la ausencia de contaminación. En el caso de los tratamientos de maíz, M4 presentó una colonización completa, liderando entre los granos de este tipo, mientras que los otros tres tratamientos mostraron signos de una colonización en progreso. En el arroz con cáscara, se observó crecimiento en algunas secciones del grano en comparación con la inspección anterior. Por último, el aserrín se mantuvo en condiciones iniciales en cuanto a colonización por parte del microorganismo en estudio.

Entre los problemas detectados, el tratamiento C3 y A3 y A4 mostraban la presencia de un líquido viscoso depositado en el fondo del recipiente. Además, los tratamientos M2 y M3 mostraron signos crecientes de contaminación, a pesar de mostrar en la parte inferior del frasco una colonización completa. Dos de los tratamientos de aserrín mostraron signos leves de contaminación por microorganismos competidores.

Día 21

Se realizaron las observaciones finales (Figura 3). Solo 4 tratamientos lograron una colonización completa (C4, M2, M3 y M4). Se pudo observar un aspecto visual óptimo en estos inóculos, con una propagación de hifas adecuada y una mayor masa potencial.

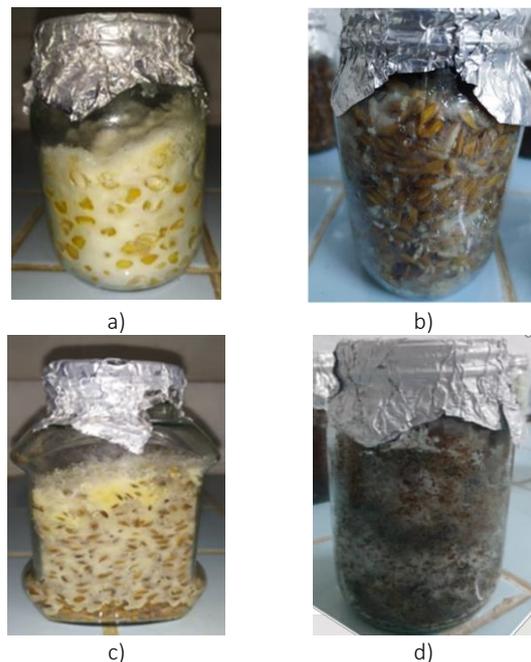


Figura 3. Monitoreo del crecimiento de *Pleurotus spp.* al día 21 de inoculados los sustratos. (a) Maíz. (b) Arroz con cáscara. (c) Cebada. (d) Aserrín.

Seis tratamientos mostraron una colonización parcial (M1, A1, A2, C1, C2 y C3); aunque no se logró una colonización completa, se observó un progreso en la propagación de las hifas de *Pleurotus spp.* Sin embargo, se requiere más tiempo para que el inóculo alcance una colonización completa en estos tipos de granos. Se encontraron seis tratamientos con una colonización nula en el día 21. Esto significa que el porcentaje de colonización del inóculo fue menor al 5% de la masa potencial esperada. Los cuatro frascos de aserrín presentaron una colonización nula, lo que indica que este tipo de grano no es propicio para el crecimiento y propagación del inóculo de *Pleurotus spp.* Además, los tratamientos A3 y A4 también mostraron un nivel de colonización inferior al 5%. Esto refuerza la importancia de seleccionar adecuadamente el tipo de grano utilizado como soporte para la producción de inóculos. Se identificaron serios problemas de contaminación en algunos tratamientos. Dos frascos de aserrín (S1 y S2) (Figura 4) mostraron la aparición de moho, lo que indica una contaminación significativa en estos tratamientos.



Figura 4. Frascos S1 y S2 contaminados conteniendo el sustrato aserrín.

Además, se encontró una contaminación grave en los tratamientos M2 y M3 (Figura 5).



Figura 5. Frascos M2 y M3 contaminados conteniendo el sustrato maíz.

El tratamiento C3 mostró signos de contaminación (Figura 6), aunque de forma más discreta. En los frascos de maíz contaminados se detectó la presencia de agua acumulada en la superficie de los granos, justo encima de la contaminación causada por microorganismos competidores.



Figura 6. Frasco C3 contaminado conteniendo el sustrato cebada.

3.2. Desempeño diferencial de los tipos de grano

La variabilidad en la colonización micelial entre los diferentes tipos de grano destaca la influencia directa de la composición nutricional y las propiedades físicas de los sustratos en el crecimiento de *Pleurotus spp.* Los resultados más sobresalientes fueron observados en cebada (C4) y maíz (M2, M3 y M4), mostrando una colonización completa y saludable. Estos hallazgos sugieren que la selección precisa del tipo de grano es crucial para la obtención de inóculos eficientes.

Los resultados reportados sobre el desempeño del maíz como soporte para la producción de inóculos de *Pleurotus spp.* coinciden con lo reportado por González et al. (2010) en donde se tomaron como referencia los datos experimentales de 2 años de investigaciones, durante los cuales se evaluó in vitro y en casa de producción del INIFAT la adaptación y potencialidades de tres sustratos, *Panicum italyca L* (mijo), *Sorghum bicolor L.* (sorgo) y *Zea mays L.* (maíz) como soportes, reportando como mejor al maíz en cuanto a densidad. Si bien el maíz ha demostrado ser un sustrato adecuado, otros granos como la cebada, el arroz integral o el mijo suelen presentar una mayor eficiencia en términos de crecimiento y colonización micelial según la literatura. La Tabla 2 muestra un resumen de los parámetros evaluados en la producción de inóculo de *Pleurotus spp.* según el tipo de sustrato utilizado.

Ita et al. (2018) concluyeron que el mejor sustrato para la elaboración de inóculo es el sorgo debido al tiempo más corto de colonización y menor porcentaje de contaminación. En este estudio también se indicó que el maíz no constituyó un sustrato viable debido a la lenta colonización mostrada y la elevada incidencia de contaminantes.

Tabla 2

Resultados de los parámetros evaluados en la producción de inóculo de *Pleurotus* spp. según el tipo de sustrato

Soportes	FI 180 g - 200 g	Caracterización del micelio			FC
		Color	Forma	Densidad	
Maíz	4	Blanco	A	Alta	2
Cebada	4	Blanco	MA	Media	1
Arroz	4	Blanco	PA	Baja	-
Aserrín	4	-	NA	Nula	2

FI: Frascos inoculados.; FC: Frascos contaminados. A: algodonosa. MA: Menos algodonosa. PA: Poco algodonosa. NA: No algodonosa.

3.3. Desafíos persistentes con la contaminación

La persistencia de la contaminación, particularmente en los tratamientos de maíz, apunta hacia la presencia de elementos que demandan un escrutinio minucioso. La detección de *Trichoderma* como el principal agente contaminante sugiere la posible presencia de este hongo competidor en el entorno o en los insumos empleados. Para identificarlo, se empleó un medio selectivo conocido como Agar Papa Dextrosa (PDA), reconocido por su capacidad para fomentar el crecimiento de *Trichoderma* spp. mientras inhibe el desarrollo de otros microorganismos.

Varios factores relacionados con las condiciones experimentales podrían haber favorecido el desarrollo de *Trichoderma* y la consecuente contaminación del maíz:

- La ausencia de una cámara de flujo laminar pudo facilitar la entrada de esporas de *Trichoderma* durante la manipulación e inoculación.
- Las temperaturas irregulares y posiblemente elevadas en algunos puntos del proceso pudieron proveer un ambiente propicio para el crecimiento de este contaminante. *Trichoderma* prospera a temperaturas sobre 25 °C.
- Si bien no parece haber problemas en la manipulación en sí, el ambiente del laboratorio podría no haber estado lo suficientemente controlado en términos de limpieza y desinfección profunda antes de la realización del experimento.

Estos resultados sobre la recurrencia de la contaminación por *Trichoderma* en hongos comestibles coinciden con lo reportado por Filippi et al. (2019), quienes señalan que aún con la implementación de tratamientos físicos como la esterilización, si no se mantienen rigurosamente las condiciones de asepsia en el área de incubación, pueden persistir desafíos con el control de hongos antagonistas durante la producción de *Pleurotus* spp. En Romero et al. (2009) también se reporta que es frecuente la contaminación de hongos comestibles (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Lentiumula edodes*) por *Trichoderma* spp.

Tal como evidenciaron los autores de este trabajo, los procesos de esterilización por sí solos no son suficientes para evitar por completo la aparición de contaminantes, siendo crucial complementar con medidas estrictas de manipulación aseptica y ambiente controlado durante la etapa de incubación. De lo contrario, microorganismos oportunistas presentes en el entorno, como *Trichoderma* spp., pueden aprovechar cualquier brecha en las barreras de asepsia establecidas y generar la contaminación recurrente observada en este estudio.

3.4. Fracaso del aserrín como sustrato

El fracaso del aserrín como sustrato para la producción de inóculos de *Pleurotus* spp. en este estudio es un resultado llamativo, considerando que diversos autores previos han reportado el uso exitoso de este material. Sin embargo, es posible que las propiedades físicas y químicas específicas del aserrín empleado aquí hayan sido las causantes de su bajo desempeño. Según (Muslimin et al., 2021) la función principal del aserrín es la de suministrar la celulosa, hemicelulosa y lignina necesaria para el crecimiento del micelio.

Como señala Ardón (2007), el tamaño de partícula del aserrín es un factor determinante para lograr una colonización uniforme y efectiva por parte del hongo. El aserrín de fabricantes de muebles suele presentar alta variabilidad en este aspecto, a diferencia del obtenido directamente de aserraderos.

Es probable que, en este caso, el origen y el tamaño de partícula del aserrín hayan sido inadecuados, conduciendo a una compactación excesiva que impidió la penetración y ramificación del micelio. Realizar una caracterización granulométrica del aserrín empleado podría arrojar luces sobre las causas precisas de su deficiente funcionamiento como soporte.

Asimismo, otros factores como el contenido lignocelulósico, la humedad y la posible presencia de sustancias inhibitorias deberían examinarse en futuras investigaciones para entender por qué este material, a pesar de las recomendaciones positivas, no logró ser colonizado por *Pleurotus* spp. en este caso. Según Ritota & Manzi (2019) el aserrín pudiera a tener una composición química diferente de acuerdo con la madera de la cual es generado, en particular con respecto a los contenidos de lignina, celulosa y hemicelulosa, así como la relación carbono/nitrógeno la cual está en el rango de 150-250. También se especifica que el aserrín presenta un bajo contenido de nitrógeno (0,1% - 0,2%) por tanto es a menudo suplementado con otros sustrato o material como una fuente adicional de nitrógeno.

Muslimin et al. (2021) determinaron que un sustrato compuesto por maíz y aserrín en una relación 3:1 v/v fue el que presentó la colonización completa más rápida y la mayor tasa de crecimiento.

Por último, Ritota & Manzi (2019) declaran que el aserrín es un sustrato adecuado para el cultivo de hongos debido a que es una buena fuente de material lignocelulósico y también debido a que puede mejorar la estructura del medio en crecimiento. Sin embargo, Hoa et al. (2015) confirmaron que el aserrín utilizado solo brindó los peores resultados con respecto al aserrín en combinación son otros residuos o sustratos para el cultivo de *P. ostreatus* y *P. cystidiosus*, debido al hecho de que la suplementación con bagazo de caña de azúcar o mazorca de maíz incrementa el contenido de nitrógeno reduciendo por tanto la relación C/N de los inóculos de crecimiento.

3.5. Propuesta de procedimiento para la obtención de inóculo a partir de granos

En esta sección, se presenta una propuesta detallada del procedimiento estándar destinado a la obtención de inóculo a partir de granos, con el objetivo de optimizar y estandarizar el proceso de producción.

La propuesta se fundamenta en los resultados obtenidos durante la investigación, los cuales revelaron patrones significativos y variables clave que influyen en la calidad y rendimiento del inóculo. Se ha diseñado un protocolo específico que integra las mejores prácticas identificadas, con el fin de mejorar la eficiencia, reproducibilidad y, en última instancia, la productividad del inóculo.

3.5.1. Insumos

Mascarilla, guantes, alcohol 70%, frascos de vidrio, bisturí, mechero y pinzas.

3.5.2. Equipo

Cabina de flujo laminar: se emplea para tener ambientes libres de contaminación con áreas fáciles de desinfectar, debido a que este equipo proporciona aire descontaminado proveniente de filtros HEPA (del inglés *High Efficiency Particulate Air*) de hasta 0,1 μm .

3.5.3. Medios de protección

Usar ropa y zapatos aplicables a la operación y que puedan servir como protección contra la contaminación de los alimentos y una ayuda para la salud y el bienestar del trabajador. Uso de máscaras con filtro para evitar la entrada de esporas en el sistema respiratorio, lentes antiempañantes para locales con alta humedad relativa, sujeciones para el cabello como redcillas, gorros y pañuelos, guantes a utilizar mientras se cultivan y manipulan las setas comestibles. Prohibición de llevar joyas, cadenas y otros objetos personales que puedan caer dentro del producto.

3.5.4. Recomendaciones generales

El operario debe presentar condiciones higiénicas aceptables utilizar ropa limpia y evitar el uso de

prendas y relojes. Antes de comenzar el proceso de elaboración de inóculo, el operario debe lavarse las manos con agua y jabón y luego con alcohol al 70%.

Al adquirir los granos es importante verificar que estos no hayan sido tratados químicamente (plaguicida y/o fungicida). El grano contiene contaminantes ocultos, sin importar cuán fresco sea. Por lo tanto, necesita ser precocado, para liberar estos contaminantes que luego son destruidos por la esterilización. Tener precaución al agitar los frascos, evitando en todo caso agitarlos contra la palma de la mano debido a riegos de accidentes.

3.5.5. Procedimiento

Etapa 1: Preparación del grano

- Lavar el grano y dejarla en remojo por 12 horas en agua de grifo.
- Hervir el grano a fuego lento durante 30 minutos. La textura correcta es cuando aún está firme, pero lo suficientemente suave como para aplastarlo.
- Escurrir con ayuda de un colador o tejido limpio y fino en su defecto.
- Agregar carbonato de calcio (2%) para evitar que los granos se aglomeren luego de la esterilización.
- Pesar la cantidad de grano necesaria para la elaboración del inóculo (10% con respecto a la cantidad de sustrato húmedo).
- Depositar el grano lavado y remojado en frascos de vidrio (tapados con papel aluminio) y amarrados con cuerdas. La capacidad de llenado debe ser hasta 3/4 de su capacidad.

Etapa 2: Esterilización del grano

- Esterilizar los recipientes previamente (rellenándolos hasta las 3/4 partes de su volumen total) a 121 °C (50% de humedad) durante 45 minutos en autoclave. Se pueden emplear bolsas resistentes a la esterilización (polipropileno (PP)) con parches de filtro que permiten la transpiración de gases. En caso de utilizar frascos, estos deben ser igualmente de polipropileno (PP) o de vidrio.
- Dejar refrescar por una hora en un área aislada y limpia, de preferencia en una superficie desinfectada.

Etapa 3: Inoculación.

Limpiar la superficie de trabajo frente a la cabina de flujo laminar con alcohol. Como siempre que se trabaja en la sala limpia, debe haberse duchado y vestir ropa limpia.

Para inóculo primario

- Tome una placa de Petri y retire el Parafilm (si se usa).
- Caliente la punta del bisturí en el mechero fisher hasta que esté roja para esterilizar el metal y deje

enfriar luego de esta operación frotando contra borde de la placa. Este proceso debe realizarse cada vez que se vaya a introducir en una placa.

- Levante la tapa de la placa con la cepa madre y corte siguiendo el patrón seleccionado en el micelio (cuñas o dados). Si no está utilizando Parafilm para sellar las placas, dejar una tira de micelio de 5 mm alrededor del borde del plato; esto es en caso de que los contaminantes hayan entrado en el plato por el borde y hayan caído sobre la placa. Al concluir los cortes cerrar la placa, evitando así la entrada de partículas o agentes contaminantes.
- Prepare los recipientes para la inoculación, para ello destapar las cuerdas con cuidado de no introducir los dedos dentro del frasco.
- Retire la tapa de la placa nuevamente y, con el bisturí, tome una porción de micelio agarizado e introducirlo rápidamente en el recipiente de espera.
- Repetir esta operación hasta que se haya transferido la cantidad total del micelio en diferentes frascos.
- Tapar correctamente el frasco, amarrando con cuerda el papel aluminio colocado en la boca del frasco.
- Una vez cerrado, agitar suavemente para que el micelio viaje a través del grano, lo cual resulta en una colonización uniforme.

Para inóculo secundario

- Seleccionar un frasco de inóculo primario completamente colonizados.
- Desinfectar la superficie exterior del mismo con alcohol.
- Si los granos se encuentran fuertemente compactados utilizar una herramienta como cuchara o pala de pequeño tamaño (previamente desinfectada con alcohol) para desprender los trozos de inóculo primario. En caso de que no se encuentren tan fuertemente adheridos bastará con una agitación para desprender los granos.
- Distribuir de forma equitativa el inóculo primario en los frascos con granos previamente desinfectados. Tener en cuenta el porcentaje de inoculación seleccionado.
- Tapar correctamente el frasco, amarrando con cuerda el papel aluminio
- Una vez cerrado, agitar suavemente para que grano colonizado viaje a través del grano, lo que resulta en una colonización uniforme.

Etapas 4: Incubación

- Etiquete el exterior de los frascos apropiadamente con un marcador permanente.

- Incubar en la oscuridad hasta que el micelio cubra totalmente la semilla; (15 o 20 días) con una temperatura en el intervalo de 20 a 25 °C y 70% de humedad relativa.
- Los frascos deben tener una separación de al menos 12 mm, debido a que los frascos demasiado empaquetados se auto calientan y fomentan la contaminación.
- De 3 a 4 días después de la incubación, cada frasco se agita nuevamente hacia abajo en espiral. Esta técnica envía los granos superiores a lo más profundo de los huecos inferiores de la jarra, rotando y mezclando la masa del grano.

De 7 a 10 días después de la incubación, volver a inspeccionar cada frasco para determinar la dispersión uniforme de los sitios de crecimiento. Si algunos frascos muestran regiones de crecimiento y no crecimiento, es necesario volver a sacudirlos.

4. Conclusiones

Mediante esta investigación se obtuvo una comprensión más profunda acerca de cómo diversos tipos de granos afectan la producción de inóculos para el cultivo de las setas *Pleurotus* spp. La evaluación de distintos granos como soportes para inóculos de *Pleurotus* spp. reveló que la cebada demostró el mejor rendimiento en términos de crecimiento y propagación del inóculo. La presencia de contaminación, especialmente en tratamientos de maíz, señala limitaciones que deben abordarse en futuras investigaciones para optimizar las condiciones de cultivo. A pesar de que la cebada mostró la máxima eficiencia, el maíz podría considerarse más viable desde un enfoque práctico, teniendo en cuenta su disponibilidad y precio bajo las condiciones actuales de Camagüey. La propuesta de procedimiento para la elaboración de inóculos integra las mejores prácticas identificadas, buscando la estandarización y optimización del proceso productivo. Se recomienda explorar combinaciones de diferentes tipos de granos como soportes de inóculo, buscando posibles sinergias que mejoren el crecimiento micelial. Estudios previos sugieren que ciertas mezclas de granos presentan mejor desempeño. Evaluar la posibilidad de mejorar la precisión de las mediciones de crecimiento diametral de las colonias fúngicas y de la velocidad mediante métodos más avanzados, como el uso de software de análisis de imágenes para determinar el diámetro y el área de las colonias con mayor precisión.

Referencias bibliográficas

- Akter, M., Halawani, R. F., Aloufi, F. A., Taleb, M. A., Akter, S., & Mahmood, S. (2022). Utilization of Agro-Industrial Wastes for the Production of Quality Oyster Mushrooms. *Sustainability*, 14, 994. <https://doi.org/10.3390/su14020994>

- Andrade, C. (2007). *Descripción de las características macroscópicas, de cultivo in vitro y producción de inóculo en paja y granos de trigo de Agrocybe aegerita (Brigant) Singer*. (Tesis de Diploma), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Ardón, C. E. (2007). *La producción de hongos comestibles*. (Tesis de Maestría), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Beltrán, Y., Morris, H., Llauroadó, G., Bermúdez, R. C., & García, N. (2020). Procedimientos para la producción de setas del género *Pleurotus* con potencial aplicación farmacológica. *Revista Cubana de Química*, 32(2), 245-261.
- Benitez, T., Fleitas, M., Batista, L., & Plana, L. (2013). Evaluación de sustratos para la producción de hongos comestibles. *Revista Pakamuros*, 1(1), 20-28.
- Bermúdez, R. C., García, N., Agbozouhoue, K. K., & Serrano, M. (2018). Evaluación de la productividad de dos cepas de *Pleurotus* spp sobre pulpa de café coffea canephora pierre ex frhoener. *Tecnología Química*, 38(2), 248-255.
- Bermúdez, R. C., García, N., Gross, P., & Serrano, M. (2001). Cultivation of *Pleurotus* on agroicultural substrates in Cuba. *Micología Aplicada Internacional*, 13(1), 25-29.
- Bermúdez, R. C., García, N., López, Y., Mustelie, I., & Serrano, M. (2021). Evaluación del sustrato remanente de setas *Pleurotus* sp. en la producción de posturas de *Carica papaya* Lin. *Tecnología Química*, 41(2), 428-442.
- Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. M., & Furlan, S. A. (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, 88, 425–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.050>
- Calderon, N. B. (2010). *Guía para el Establecimiento y Control de Buenas Prácticas para la producción de inóculo de hongos comestibles (Pleurotus spp)*. (Tesis de Maestría), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Cardona, Y. R., Cardoso, L. M., Crespo, L. M., Macías, A. A., & Pérez, A. (2023). Procedimiento para la producción, conservación y mantenimiento de las cepas *Pleurotus ostreatus*. *Biorrefinería*, 6(1), 51-61.
- Cardona, Y. R., Crespo, L. M., Matos, L., Puig, Y., & Pérez, A. (2022). Secado y rehidratación de la seta comestible *Pleurotus ostreatus*. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 32(3), 29-34.
- Cardona, Y. R., Díaz, J., Cardoso, L., & Pérez, A. (2022). Culture media used in the proliferation of edible mushrooms of the *Pleurotus* genus. *Nexo*, 35(4), 881-894. <https://doi.org/10.5377/nexo.v35i04.15525>
- Coello, C. D., Avellaneda, J. H., Barrera, A. E., Peña, M. M., Yépez, P. F., & Racines, E. R. (2017). Evaluación del crecimiento y producción de biomasa de dos cepas del género *Pleurotus* spp., cultivadas en un medio agar con diferentes sustratos. *Ciencia y Tecnología*, 10(2), 33-39.
- Das, N., & Mukherjee, M. (2007). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plants. *Bioresource Technology*, 98, 2723-2726. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.061>
- Ferrer, J. C., Mas, S. M., Beltrán, Y., Morris, H. J., & Díaz, U. (2019). Estudio cinético de la producción de biomasa y compuestos fenólicos por *Pleurotus ostreatus* en fase sumergida. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 16-30.
- Filippi, M. V., Cavolo, F., Maldonado, J. F., Martínez, D. A., & Bugliope, M. B. (2019). *Control de contaminantes durante el proceso de producción de hongos comestibles*. Paper presented at the XVII CONGRESO CYTAL 2019 XXI CONGRESO ALACCTA 2019, Buenos Aires, Argentina.
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez, R., & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas*. Veracruz, México: Instituto de Ecología, A. C.
- Garcés, A. M., Velez, N., Ruiz, S., Serna, J. G., & Suarez, E. (2005). Evaluación de algunos residuos orgánicos como sustrato para el cultivo de hongos comestibles. *Revista Lasallista de Investigación*, 2(2), 15-20.
- García, N., Bermúdez, R. C., Augur, C., Roussos, S., & Perraud-Gaime, I. (2007). Producción de lacasa extracelular, remoción de fenoles y cafeína por *Pleurotus* spp. cultivado en pulpa de café. *Tecnología Química*, XXVII(3), 83-91.
- García, N., Bermúdez, R. C., Castillo, I., Serrano, M., & Perraud, I. (2016). Evaluación de la producción de lacasa de *Pleurotus* spp. *Tecnología Química*, 36(1), 79-83.
- García, N., Bermúdez, R. C., & Serrano, M. (2011). Formulación de sustratos en la producción de setas comestibles *Pleurotus*. *Tecnología Química*, XXXI(3), 15-22.
- González, N., Castañeda, R. F., Caraballo, M., Ramos, B., Sosa, A., Plana, L., . . . Garbey, R. (2010). *Estudio de tres alternativas en la producción de semilla comercial de hongos comestibles en el INIFAT*. Paper presented at the XVII Congreso Científico INCA, La Habana, Cuba.
- Hoa, H. T., Wang, C. L., & Wang, C. H. (2015). The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, 43, 423-434. <http://dx.doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.4.423>
- Ita, M. A. V. d., Aranda, D. P. B., Lezama, C. P., Reyes, J. R. T., Martínez, A. I., & Romero-Arenas, O. (2018). Evaluation of Substrates in the Elaboration of Secondary Inoculum for the Cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 679-686.
- Kirbag, S., & Akyüz, M. (2008). Evaluation of agricultural wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. var. ferulae Lanzi. *African Journal of Biotechnology*, 7(20), 3660-3664.
- Luz, C., Hoyos, O. L., & Bazante, W. E. (2008). Evaluación de residuos de ají (*Capsicum* spp.) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 6(1), 42-53.
- Mahari, W. A. W., Peng, W., Nam, W. L., Yang, H., Lee, X. Y., Lee, Y. K., . . . Lam, S. S. (2020). A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. *Journal of Hazardous Materials*, 400, 123156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123156>
- Maheswari, S., Rajarajan, P., Pandian, P. M., Sheeba, E., & Bayineni, V. K. (2020). Influence of different substrates on growth and yield of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Applied Horticulture*, 22(3), 215-219. <https://doi.org/10.37855/jah.2020.v22i03.38>
- Martínez, C. A., & Soto-Velazco, C. (2015). Cultivo de *pleurotus columbinus* sobre vainas de *lupinus angustifolius* adicionadas con rastrojo de maíz. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 4(1), 1-7.
- Muslimin, R., Hartono, H., Rachmawaty, R., Ali, A., Junda, M., Pagarra, H., . . . Jumadi, O. (2021). The effect of different substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) spawn growth. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 911, 012044. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/911/1/012044>
- Niño, D., Villalba, M., Barraza, B., & Medina, A. M. (2021). *Pleurotus: Un hongo comestible con propiedades Nutricionales, Medicinales e Importancia Ambiental*. *MICROCIENCIA Investigación, desarrollo e innovación*, 10, 134-148.
- Plana, L., Hernández, E., Caraballo, M., García, D., Meléndez, O., Llera, L., & Duarte, C. (2020). Cultivo en paja de arroz (*Oryza sativa* L.) de la cepa P969 de *Pleurotus ostreatus* (JACQ.) P. Kumm. *Agrotecnia de Cuba*, 44(1), 26-32.
- Pokhrel, C. P., Kalyan, N., Budathoki, U., & Yadav, R. K. P. (2013). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* using different agricultural residues. *International Journal of Agricultural Policy and Research*, 1(2), 1-23.
- Puig, Y., Crespo, L. M., Cardona, Y. R., Matos, L., & Serrano, M. (2020). Evaluación de tres residuos agroindustriales como

- sustratos para cultivo de *Pleurotus ostreatus* var. Florida. *YACHASUN*, 4(7), 164-176.
- Ritota, M., & Manzi, P. (2019). Pleurotus spp. Cultivation on Different Agri-Food By-Products: Example of Biotechnological Application. *Sustainability*, 11, 5049. <https://doi.org/10.3390/su11185049>
- Romero, O., Huerta, M., Damián, M. A., Domínguez, F., & Arellano, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XI(2), 143-151.
- Shnyreva, A. A., Kozhevnikova, E. Y., Barkov, A. V., & Shnyreva, A. V. (2017). Solid-State Cultivation of Edible Oyster Mushrooms, *Pleurotus* spp. under Laboratory Conditions. *Advances in Microbiology*, 7, 125-136. doi:10.4236/aim.2017.72010
- Sifuentes, E. M. (2014). *Producción de inóculo de Pleurotus ostreatus para uso en biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo*. (Tesis de Diploma), Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Tesfay, T., Godifey, T., Mesfin, R., & Kalayu, G. (2020). Evaluation of waste paper for cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with some added supplementary materials. *AMB Express*, 10(15), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13568-020-0945-8>
- Werghemmi, W., Fayssal, S. A., Mazouz, H., Hajjaj, H., & Hajji, L. (2022). Olive and green tea leaves extract in *Pleurotus ostreatus* var. Florida culture media: Effect on mycelial linear growth rate, diameter and growth induction index. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 1090, 012020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1090/1/012020>
- Zhang, R., Li, X., & Fadel, J. G. (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology*, 82, 277-284.