

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Ambiente y Desarrollo
Ingeniería en Ambiente y Desarrollo



Proyecto Especial de Graduación
**Evaluación de medios de cultivo y cereales para la producción de
semilla de *Agaricus bisporus***

Estudiante

Sindy Cristabel Espinoza Moncada

Asesores

Jacob Vásquez, M.Sc.

Victoria Cortés, Dra.

Honduras, agosto 2025

Autoridades

KEITH ANDREWS

Rector i.a.

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

VICTORIA CORTÉS MATAMOROS

Directora Departamento Académico

JULIO NAVARRO

Secretaría General

Contenido

Índice de Cuadros	5
Índice de Figuras	6
Índice de Anexos	7
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Materiales y Métodos	14
Ubicación del Estudio	14
Comparación del Crecimiento Radial de <i>Agaricus bisporus</i> en Medios de Cultivo	14
Preparación de Medios de Cultivos	14
Propagación de Micelio de Cepa Madre	16
Inoculación de Medios de Cultivo	16
Evaluación de Matrices Biológicas para la Producción de Semilla Primaria	17
Preparación de Matrices Biológicas	17
Inoculación de Matrices Biológicas	18
Evaluación de Dosis de Inóculo para Producción de Semilla Secundaria	19
Inoculación de Semilla Secundaria	19
Diseño Experimental	21
Análisis Estadístico	22
Resultados y Discusión	23
Crecimiento Radial de <i>Agaricus bisporus</i> en Medios de Cultivo	23
Crecimiento Micelial	23
Análisis Estadístico	24
Evaluación de Matrices Biológicas para la Producción de Semilla Primaria	26

Producción de Spawn Primario.....	26
Análisis Financiero	27
Evaluación de Dosis de Inóculo para Producción de Semilla Secundaria	27
Producción de Spawn Comercial	27
Análisis Estadístico	29
Conclusiones	31
Recomendaciones.....	32
Referencias.....	33
Anexos.....	37

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Componentes para preparar 120 ml de medio de cultivo	14
Cuadro 2 Componentes de los dos medios de cultivo comerciales y los tres medios de cultivos construidos	15
Cuadro 3 Análisis comparativo de cinco tratamientos y sus combinaciones, en los medios de cultivos utilizados en la producción micelial.....	25
Cuadro 4 Análisis comparativo de tres dosis de inóculo de semilla primaria y sus combinaciones en granos de sorgo.....	29

Índice de Figuras

Figura 1 Cepa madre en forma de granos y medio colonizado en placas Petri.....	16
Figura 2 Proceso de preparación de las matrices biológicas para preparar semilla primaria: lavado (A), cocción (B), secado (C), aplicación de Triple cal (D) y esterilización (E)	18
Figura 3 Proceso de inoculación de las matrices biológicas (sorgo en el ejemplo) con micelio colonizado	19
Figura 4 Proceso de inoculación de semilla secundaria o comercial (sorgo) con semilla primaria	20
Figura 5 Vista frontal de la disposición aleatoria de las bolsas inoculadas con <i>Agaricus bisporus</i> dentro de la incubadora	21
Figura 6 Comportamiento promedio del micelio de <i>Agaricus bisporus</i> en cinco medios de cultivo, medido en el crecimiento radial diario en cm	24
Figura 7 Comparación de la colonización del micelio al día siete, en dos unidades experimentales de cada tratamiento	28
Figura 8 Efecto de las dosis de inóculo en el tiempo de crecimiento micelial en sorgo como matriz biológica.....	28

Índice de Anexos

Anexo A Ciclo de vida de <i>Agaricus bisporus</i>	37
Anexo B Crecimiento radial diario en cm en Agar de Verdura (V8).....	38
Anexo C Crecimiento radial diario en cm en Agar Avena (AO).....	39
Anexo D Crecimiento radial diario en cm en Medio Completo para Hongos (MCH).....	40
Anexo E Crecimiento radial diario en cm en Papa Dextrosa Agar (PDA).....	41
Anexo F Crecimiento radial diario en cm en Extracto de Malta Agar (MEA).....	42
Anexo G Prueba de normalidad Shapiro Wilk aplicada a los días de colonización de los medios de cultivo.....	43
Anexo H Prueba de Kruskal Wallis aplicada a los días de colonización de los medios de cultivo	44
Anexo I Estadística descriptiva del crecimiento micelial de semilla primaria.....	45
Anexo J Prueba de normalidad Shapiro Wilk aplicada a los días de colonización para tres dosis de inoculación en semilla comercial.....	46
Anexo K Prueba de Kruskal Wallis aplicada a los días de colonización para tres dosis de inoculación en semilla comercial	47

Resumen

La inseguridad alimentaria es uno de los principales problemas en el mundo; para contrarrestarla, es necesaria la transformación de los sistemas agroalimentarios en procesos sostenibles, que permitan diversificar las acciones de manera que los impactos sean menores. En este contexto, la producción de hongos comestibles surge como una alternativa innovadora y nutritiva que entra en el marco de la sostenibilidad, por el uso de residuos agroindustriales como sustrato alternativo para su producción. Este es un mercado creciente y dinámico, pero relativamente nuevo para Latinoamérica. El objetivo principal de esta investigación fue evaluar medios de cultivo y cereales para la producción de semilla de *Agaricus bisporus* o champiñón común. Se comparó el crecimiento radial en cinco medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA), extracto de malta agar (MEA), medio completo para hongos (MCH), agar avena (AO) y agar de verdura V8 (V8); se evaluaron dos matrices biológicas, granos de sorgo y trigo, como soporte para la producción de semilla primaria; y finalmente, se analizó el tiempo de colonización de tres dosis de inóculo en granos de sorgo para producción de semilla secundaria o spawn comercial. En el proceso de generación de micelio y semilla, se siguieron procedimientos controlados y asépticos en laboratorio. Los resultados indicaron que el medio de cultivo V8 presentó un crecimiento micelial significativamente más lento en comparación con los demás medios evaluados. Por otro lado, el sorgo respondió mejor como matriz biológica en la producción de semilla primaria, al registrar tiempos de colonización más cortos. Finalmente, se concluyó que 10 g, equivalente al 2.2% del peso seco del grano, es la dosis más eficiente de inóculo para producir semilla comercial.

Palabras clave: Champiñón común, hongos comestibles, inseguridad alimentaria, micelio

Abstract

Food insecurity is one of the main problems in the world; to counteract it, it is necessary to transform agri-food systems into sustainable processes that allow for diverse actions, thereby mitigating the severity of impacts. In this context, the production of edible mushrooms emerges as an innovative and nutritious and sustainable alternative, due to the use of agro-industrial residues as an alternative substrate for their production. This is a growing and dynamic market, though it is relatively new for Latin America. This study aimed to evaluate culture media and cereals for producing *Agaricus bisporus* also known as the common mushroom spawn. Radial growth was compared in five culture media: potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA), complete medium for fungi (MCH), oat agar (AO), and V8 vegetable agar (V8). Two biological matrices, sorghum and wheat grains, were evaluated as support for primary spawn production. Finally, the colonization time of three inoculum doses in sorghum grains for the production of secondary or commercial spawn was evaluated. Controlled and aseptic procedures were followed in the laboratory during the mycelium and seed generation process. The results indicated that the V8 culture medium had significantly slower mycelium growth than the other evaluated media. On the other hand, sorghum performed better as a biological matrix in primary spawn production registering shorter colonization times. It was concluded that the most efficient inoculum dose for producing commercial spawn is 10 g, equivalent to 2.2% of the dry grain weight of the grain.

Keywords: button mushroom, edible mushrooms, food insecurity, mycelium

Introducción

En un mundo globalizado, donde los problemas traspasan las fronteras, los desafíos como la crisis alimentaria han cobrado mayor relevancia, especialmente ante eventos recientes como el COVID-19 y el cambio climático. Latinoamérica no es ajena a esto, ya que pese a producir el 14% de los alimentos a nivel mundial y ser responsable por 45% de la exportación de productos agroalimentarios, (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2021) sufre de problemas de desigualdad y pobreza que vuelven inaccesibles muchos alimentos (Hernández-Vásquez et al., 2023). A pesar de que ha ido disminuyendo cada año, la región continúa presentando porcentajes altos en inseguridad alimentaria, con 28.2% de su población afectada; mientras tanto, el hambre impacta al 6.2% de sus habitantes (40 millones de personas), lo que representa un aumento de 0.6% respecto al valor previo a la pandemia (FAO, 2024).

Como respuesta ante los problemas alimenticios, se han implementado acciones mundiales dirigidas principalmente por la FAO. Entre estas se encuentran la asistencia internacional: Asistencia Oficial para el Desarrollo (AOD), inversión extranjera y privada, préstamos bancarios, y mecanismos específicos que van desde impulsar la industrialización hasta la transformación y modernización agraria (Goncharova y Merzlyakova, 2022). Esta última es crucial, pues según los mismos autores, al evaluar los resultados, es notable la disminución en la incidencia del hambre en los países que han modernizado e innovado sus prácticas agrícolas en los últimos 20 años. Así, surge la necesidad de la evolución en los sistemas agroalimentarios hacia tendencias más sostenibles y diversificadas con los productos y residuos generados.

En este contexto, la producción de hongos comestibles se presenta como una alternativa viable, con un impacto ambiental mínimo y su contribución a la sostenibilidad ambiental a través de la reutilización de restos forestales y agropecuarios, además de que no se utilizan pesticidas ni fertilizantes, logrando establecerse como una industria global exitosa gracias a todas las innovaciones tecnológicas (Okuda, 2022). Por otro lado, no requiere acceso a suelo agrícola y a pequeña escala, no

necesita de una inversión significativa al producirse en instalaciones simples y controladas (Marshall y Nair, 2009). En este caso, el principal reto es brindar las condiciones ambientales que requiere el cultivo, relacionados con la luz, humedad, CO₂ y temperatura.

Los hongos son un grupo diverso de organismos eucariotas y heterótrofos (no producen su propio alimento), que conforman el reino fungi (Hood, 2006). El reino fungi, a su vez se divide en filos, siendo uno de ellos Basidiomycota, un grupo compuesto por macro hongos y hongos microscópicos, caracterizados por producir esporas (basidiosporas) en el exterior de una célula modificada llamada basidio (Hood, 2006). Los hongos se alimentan a través de una serie de hilos (hifas) y que conforman una red llamada micelio, la que se encuentra bajo el medio de cultivo o sustrato. Los macro hongos presentan una parte visible o cuerpo fructífero (basidiocarpo), el cual puede ser comestible, tóxico, gelatinoso y leñoso; con forma de sombrilla, repisa, nido, entre otros (Bandala et al., 2020). *Agaricus bisporus* o champiñón común se encuentra dentro de este grupo, siendo ampliamente cultivado para su aprovechamiento como alimento y cuyo ciclo de vida se describe en el Anexo A.

Los champiñones se componen comúnmente de 90% agua y 10% de materia seca, son ricos en proteína (35%) fibra cruda (19%), vitaminas, minerales y carbohidratos, pero poseen bajo aporte calórico, poco contenido de grasa (< 0.5) y no contienen almidón, convirtiéndolo en un gran sustituto de la carne para personas veganas o una alternativa para las que sufren de diabetes, hipertensión y presión alta (Thakur, 2020). *Agaricus bisporus* en especial, aparte de su valor nutricional posee importancia medicinal, ya que estudios han demostrado la aplicación de sus compuestos bioactivos con propiedades anticancerígenas, antioxidante y antiinflamatorias (Atila et al., 2017).

La producción de hongos desde el año 2000 ha aumentado más de cinco veces, llegando a las 44 millones de toneladas, siendo China el responsable de producir el 93% de la producción mundial (FAO, 2023). En este contexto, *Agaricus bisporus* representa el 11% de la producción total de hongos comestibles a nivel mundial, siendo Estados Unidos y Europa los mayores productores (Bijla y Sharma, 2023). En Latinoamérica, México es el principal productor con 9.8% a nivel continental y 63.8% a nivel

regional, seguido están Brasil (2.4%) Chile (1.8%) y Colombia (1.2%) (Singh et al., 2021). Por otro lado, la producción crece un 5% anual, siendo el género *Agaricus* el que más se produce, representando el 95% de la producción de la región (Muhammad y Suleiman, 2015).

El proceso productivo de los champiñones empieza con la generación de semilla o material de siembra, que consiste en el micelio colonizado sobre sustratos o matrices biológicas adecuadas, generalmente granos de cereales (Borah et al., 2019). El grano de cereal impregnado con micelio se conoce comercialmente como spawn y se utiliza para inocular el sustrato del cultivo de hongos (Kaur, 2013). La semilla utilizada debe garantizar un buen rendimiento, estar libre de contaminantes y asegurar la viabilidad económica (Borah et al., 2019). En este sentido, mantener la calidad del spawn es crucial, pues es la base para un cultivo exitoso de champiñones y representa la primera etapa en la cadena productiva (Kaur, 2013).

La producción de spawn consiste en tres pasos esenciales: preparación de cultivo puro, preparación de spawn madre (semilla primaria) y multiplicación del micelio / preparación de spawn comercial (semilla secundaria) (Prasad et al., 2024). La obtención del cultivo puro se realiza a través de cultivo de tejidos, con fragmentos de basidioma, o a partir de esporas, en condiciones totalmente asépticas (Moreaux, 2017). El objetivo es asegurar que la especie ha sido aislada y está libre de otros organismos vivos. En esta etapa, se puede incluir una fase de resiembra y obtención de cultivo madre, la cual consiste en propagar el cultivo puro en medios de cultivo; este se usa normalmente como método de conservación a corto plazo, para evitar problemas de contaminación y/o envejecimiento (Sánchez et al., 2007).

El spawn madre o preinóculo consiste en la propagación de micelio del cultivo puro, su trasplante y expansión en barreras biológicas, comúnmente granos (Moreaux, 2017). Esta primera generación de spawn puede ser usada como semilla para sembrar en el sustrato, sin embargo, comercialmente el proceso se alarga una o dos generaciones tomando el spawn como inóculo. Esto para generar más material y suplir la demanda, aunque no se recomienda el realizar más de dos ciclos

productivos de multiplicación, ya que conlleva a pérdidas de vigor, reducción en crecimiento micelial y productividad (Sharma et al., 2014).

El proceso productivo del spawn es complejo debido a factores como la necesidad de infraestructura equipada y conocimiento técnico, alto costo de inversión inicial, sensibilidad del micelio al estrés y el crecimiento exponencial de los riesgos al avanzar en la cadena (Moreaux, 2017). En este contexto, uno de los principales retos es la contaminación por bacterias, virus y otros hongos que pueden introducirse desde el aire, el sustrato, los equipos o la manipulación humana; de ahí la importancia de mantener condiciones asépticas (Prusti, 2025). Todos estos requerimientos son retadores para los productores latinoamericanos, por tanto, la mayoría opta por la compra de spawn importado, exacerbado por el hecho de que la semilla local tiene una eficiencia biológica más baja (Higgins et al., 2017)

El objetivo de esta investigación es evaluar medios de cultivo y cereales para la producción de semilla de *Agaricus bisporus*. Para su logro, se establecieron tres objetivos específicos: i) Comparar el crecimiento radial de *Agaricus bisporus* en cinco medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA), extracto de malta agar (MEA), medio completo para hongos (MCH), agar avena (AO) y agar de verdura V8 (V8); ii) Evaluar dos matrices biológicas, granos de sorgo y trigo, como soporte para la producción de semilla primaria o "Spawn" en *Agaricus bisporus*; y, iii) Evaluar el desempeño de tres dosis de inóculo en granos de sorgo para producción de semilla secundaria

Materiales y Métodos

Ubicación del Estudio

El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, ubicada a 32 km de Tegucigalpa, Honduras. El lugar tiene una temperatura promedio anual de 24 °C, una precipitación anual de 1,100 mm y una altura de 800 msnm. El proceso experimental se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Departamento de Ambiente y Desarrollo.

Comparación del Crecimiento Radial de *Agaricus bisporus* en Medios de Cultivo

Preparación de Medios de Cultivos

En esta investigación se utilizaron cinco medios de cultivo: papa dextrosa agar (PDA), agar extracto de malta (MEA), medio completo para hongos (MCH), agar de verdura (V8) y agar avena (AO). Para preparar los medios de cultivo PDA y MEA, se pesaron los medios en polvo en una balanza semi analítica NewClassic MS Mettler Toledo®, siguiendo las dosis indicadas por el producto para los ml a preparar (Cuadro 1). Al medio MEA se agregó glicerol puro con una micropipeta, en la cantidad indicada por el envase (Cuadro 1). Los medios se diluyeron con agua destilada en un matraz de 500 ml y se introdujo un agitador magnético. Se colocó algodón junto a un tapón de papel trazo para sellar la entrada y se colocaron en placas calefactoras de agitación CORNING® PC-420D a una temperatura aproximada de 300 °C. Cuando llegó a punto de ebullición, se retiró y colocó en el matraz cinta indicadora de esterilización para continuar con el siguiente paso.

Cuadro 1

Componentes para preparar 120 ml de medio de cultivo

Medios de cultivo	Medio en polvo	Glicerol
Papa Dextrosa Agar (PDA)	5.04 g	-
Agar Extracto de Malta (MEA)	3.756 g	0.564 ml

Los matraces con el medio preparado se esterilizaron en una autoclave Sterilmatic® Market Forge STM-E a 121 °C por 15 minutos a 15 psi. El medio se dejó enfriar hasta los 45 °C aproximadamente para proceder con el vertido en las placas Petri estériles. Este proceso se realizó en una cámara de flujo laminar Labconco Purifier Logic+®, que previamente estuvo encendida con luz Ultravioleta (UV) durante 20 minutos para mantener asepsia en el proceso. Luego, se vertieron 24 ml en cada placa Petri de 85 mm y se esperó que solidificaran, indicando estar listos para la inoculación.

Los tres medios de cultivos adicionales: Medio Completo para Hongos (MCH), Agar de Verdura V8 y Agar Avena (AO), fueron elaborados y proporcionados por personal del Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria. Estos no se encontraban de forma comercial, por tanto, se prepararon artesanalmente a partir de los componentes descritos en el Cuadro 2 y siguiendo los protocolos establecidos en el laboratorio. Igualmente, el vertido se dio en placas Petri desechables de igual diámetro que los usados con los otros dos medios. Por cada medio de cultivo se hicieron cinco repeticiones, obteniéndose 25 unidades experimentales.

Cuadro 2

Componentes de los dos medios de cultivo comerciales y los tres medios de cultivos construidos

Componentes	Medio de cultivo				
	Papa Dextrosa Agar (PDA)	Agar Extracto de Malta (MEA)	Medio Completo para Hongos (MCH)	Agar de Verdura V8	Agar Avena (AO)
Infusión de papa	✓				
Dextrosa	✓				
Maltosa		✓			
Dextrina		✓			
Sales de Nitrato			✓		
Elementos Traza			✓		
Glucosa			✓		
Peptona		✓	✓		
Extracto de levadura			✓		
Ácidos casamínos			✓		
Tiamina			✓		
Bacto agar	✓	✓	✓	✓	✓
Jugo V8				✓	
Carbonato de calcio				✓	
Avena					✓

Propagación de Micelio de Cepa Madre

La cepa de *Agaricus bisporus* blanco fue obtenida del cepario del El Colegio de la frontera Sur (ECOSUR) de México. La cepa se recepcionó en granos de sorgo y medio de cultivo colonizado, para su multiplicación. Por tanto, tomando como base el procedimiento descrito anteriormente para preparar PDA y MEA, se prepararon 10 placas Petri, cinco de cada medio de cultivo. Con la ayuda de una cuchara metálica y un bisturí previamente esterilizados junto a los medios de cultivo, se depositó una pequeña porción de granos y pedazos del medio colonizado en el centro de los platos Petri (Figura 1). Se sellaron con una franja de parafina alrededor de la unión entre la base y la tapa, con el fin de evitar la contaminación y darle estabilidad. Finalmente, se incubaron hasta la colonización total en una incubadora Thermo Scientific™ Heratherm a 25 ± 2 °C (Sharma y Kumar, 2011) obteniendo cultivo madre.

Figura 1

Cepa madre en forma de granos y medio colonizado en placas Petri



Inoculación de Medios de Cultivo

En este proceso, se adaptó la metodología descrita por Carrasco et al. (2021). Los 25 platos Petri fueron llevados a la cámara de flujo laminar junto a los elementos necesarios para el proceso: bisturí, mechero, parafina, fósforos; activando luz UV por 20 minutos para desinfectar el área y los materiales. A continuación, placas del cultivo madre obtenido anteriormente, fueron llevadas al área

de trabajo y se encendió el mechero. Se tomaron cuadrados de 1 cm² cortados con el bisturí, se depositaron en el centro de los platos Petri y se sellaron con parafina. Se incubaron en las mismas condiciones anteriores.

La cepa se evaluó en los cinco medios de cultivo con cinco repeticiones de cada combinación, por lo que se tuvieron 25 unidades en evaluación. Durante el tiempo de incubación, se midió diariamente el crecimiento radial en los platos Petri con ayuda de una regla a partir del segundo día, evaluando la rapidez con la que el micelio colonizó en su totalidad cada medio empleado. Para el análisis de los resultados, se elaboraron tablas para cada medio de cultivo en donde se registró el crecimiento acumulado diario en las unidades experimentales. Finalmente, se elaboró una tabla resumen comparativa del crecimiento acumulado diario promedio en los medios de cultivo, permitiendo obtener un gráfico que describe de forma visual el comportamiento diario del micelio en los medios de cultivo hasta su colonización total.

Evaluación de Matrices Biológicas para la Producción de Semilla Primaria

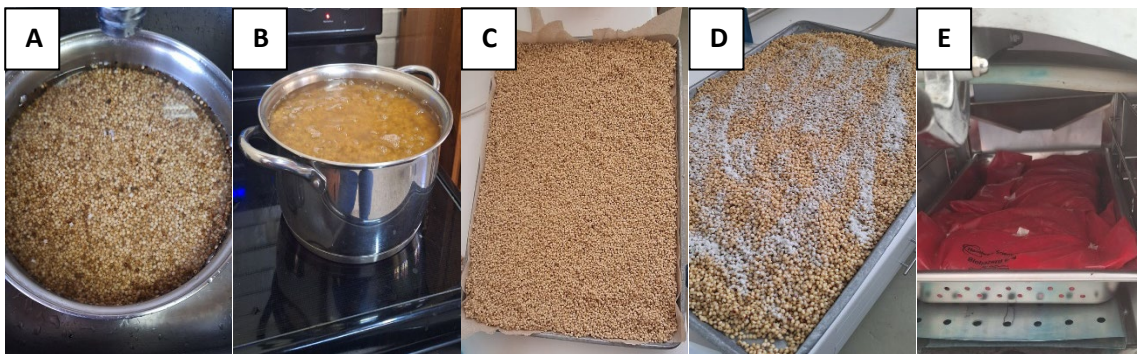
Preparación de Matrices Biológicas

La producción de Spawn se trabajó utilizando dos matrices biológicas, trigo y sorgo, las cuales fueron comparadas midiendo el tiempo en el que el inoculó alcanzó un 100% de colonización. Para ello, se siguió el procedimiento para los granos establecido por Sharma y Kumar (2011). Inicialmente los granos se lavaron para eliminar impurezas o materiales ajenos a la matriz, se dejaron remojar por 20 minutos y se les dio un precocido de 25 minutos. El exceso de agua fue drenado con ayuda de un tamiz y se dejó reposar por una hora para eliminar exceso de humedad. Este paso es crítico, ya que granos muy secos o con exceso de humedad ralentizarán o detendrán el proceso de colonización, por lo que los granos se colocaron en capas delgadas en bandejas cubiertas de papel trazo para su secado (Ardón, 2007). Los granos se mezclaron con Triple cal, como fuente de carbonato de calcio, para mantener el pH neutro (7-7.8) y evitar conglomerados, aplicando el 2% del peso seco de las matrices

como recomienda Carrasco et al. (2021). Finalmente, se depositaron en bolsas que resistían la temperatura del autoclave y se esterizaron por una hora. El proceso se describe en la Figura 2. Con las matrices estériles, se esperó que enfriaran en la cámara de flujo laminar.

Figura 2

Proceso de preparación de las matrices biológicas para preparar semilla primaria: lavado (A), cocción (B), secado (C), aplicación de Triple cal (D) y esterilización (E)



Inoculación de Matrices Biológicas

Para comparar las dos matrices biológicas se utilizaron frascos de vidrio, a los que se les hizo agujeros en las tapas, para propiciar el intercambio de gases. Se esterizaron vacíos, junto a un bisturí, en el autoclave por 40 minutos y se llevaron a la cámara de flujo laminar, con un proceso extra de desinfección con luz UV por 20 minutos. Para la inoculación, se dejó un mechero encendido en todo el proceso para evitar contaminación y esterilizar herramientas dentro de la cámara.

La metodología descrita por Carrasco (s.f) fue tomada como referencia y adaptada en los pasos subsiguientes (Figura 3). Primero, se tomó un plato Petri y utilizando un bisturí, se dividió en seis secciones en cortes triangulares. Se llenó $\frac{1}{4}$ del volumen del frasco con granos y se colocó una de las secciones, posteriormente, se agregaron granos hasta completar $\frac{3}{4}$ del volumen total del frasco. Para permitir el intercambio gaseoso sin riesgo de contaminación, se colocó gasa estéril en la boca del frasco antes de enroscar la tapa. Los frascos fueron incubados a 25 ± 2 °C hasta que se observó una colonización completa del micelio. Una vez alcanzado este punto, los frascos se almacenaron en

refrigeración para su conservación a 4° C, envueltos en papel trazo para evitar daño por luz (Sharma y Kumar, 2011).

Figura 3

Proceso de inoculación de las matrices biológicas (sorgo en el ejemplo) con micelio colonizado



Evaluación de Dosis de Inóculo para Producción de Semilla Secundaria

Inoculación de Semilla Secundaria

La producción de semilla secundaria se desarrolló en bolsas plásticas Oplast® de polipropileno 7 × 14, usando el sorgo como matriz biológica. El procedimiento para los granos fue el mismo que en el paso anterior, excepto por el envase. En este caso, 454 g de granos, fueron depositados en cada bolsa y se les colocó cinta indicadora de esterilización. En total se prepararon 18 bolsas, sometidas a 15 minutos de esterilización (Ardón, 2007). Paralelamente, se sacó de refrigeración un frasco de semilla primaria y se colocó en la cámara junto a los granos esterilizados. Se dejó toda la noche dentro de la cámara, para ambientar el spawn y enfriar los granos, junto a todos los materiales necesarios para la inoculación (cuchara metálica, mechero, tape, balanza, barquillo de pesaje, alcohol, fósforos).

Al día siguiente, continuando el proceso (Figura 4), con ayuda de una cuchara metálica flameada, se empezaron a desmoronar cuidadosamente los granos del frasco, para su manipulación. Para inocular, se tomaron tres dosis diferentes de semilla primaria: 5, 10 y 15 g, siendo equivalente a

1.1, 2.2 y 3.3% respectivamente. Con ayuda de un barquillo de pesaje, se pesaron las dosis correspondientes en una balanza y se depositaron dentro de cada bolsa. Al tener el inóculo dentro la bolsa, se introdujo aire para facilitar su agitación manual y distribuir el micelio de forma uniforme en todos los granos. Seguido, se sacó todo el aire y se envolvió la bolsa, asegurando con tape el ultimo pliegue. Finalmente, se rotularon con el tratamiento aplicado y se incubaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, con las bolsas colocadas de forma aleatoria, como se describe en la Figura 5.

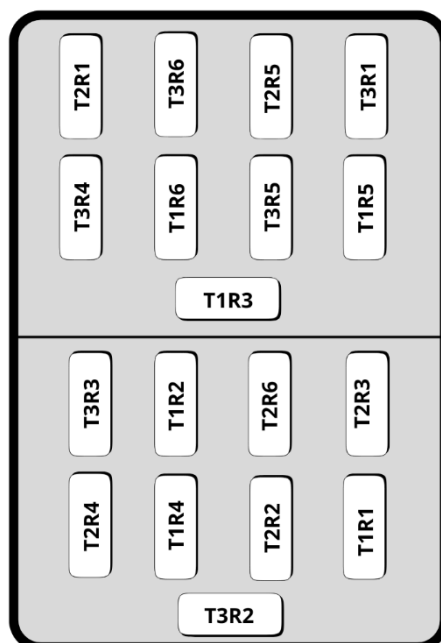
Figura 4

Proceso de inoculación de semilla secundaria o comercial (sorgo) con semilla primaria



Figura 5

*Vista frontal de la disposición aleatoria de las bolsas inoculadas con *Agaricus bisporus* dentro de la incubadora*



Diseño Experimental

En la propagación del micelio se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) de un factor: el medio de cultivo (cinco niveles). Se obtuvieron cinco tratamientos con cinco repeticiones cada uno, para un total de 25 unidades experimentales o cajas Petri inoculadas. Por otro lado, en la producción de semilla primaria se tuvo el mismo diseño con un solo factor: el tipo de cereal (dos niveles). Cada nivel tuvo cinco repeticiones por lo que se tuvieron 10 unidades experimentales, representadas por frascos de vidrio de 1 L llenados hasta tres cuartas partes de su capacidad con grano estéril e inoculados con micelio.

Para la producción de la semilla secundaria se debe evaluar la dosis de inóculo, esto debido a que es importante determinar la que sea más eficiente, es decir, que logre colonizar en menor tiempo y con menos cantidad de semilla primaria. Para determinarla, se experimentó con tres dosis de inóculo, por lo que se aplicó un DCA de un factor, siendo la dosis aplicada con tres niveles. Es decir,

que se tuvieron tres tratamientos con seis repeticiones cada uno, con un total de 18 unidades experimentales. La unidad experimental estaba representada por una bolsa de polipropileno de 7 × 14 con 1 lb de grano esterilizado, ya inoculado con la dosis de semilla primaria correspondiente.

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos, se usó el software Jasp. A los datos obtenidos se aplicó una prueba de normalidad Shapiro Wilk, para su validación. A los datos que presentaban una distribución anormal, se aplicó una prueba de Kruskal Wallis para determinar si existían diferencias entre las medianas de los tratamientos. Finalmente, se aplicó una prueba *Post Hoc* de Dunn, para establecer los tratamientos específicos que presentaron diferencias significativas.

Resultados y Discusión

Para la producción de *Agaricus bisporus*, la obtención de semilla es la primera fase del proceso; ocurre a nivel de laboratorio y debe ser manejada con altos estándares de calidad y asepsia. Esta fase contempla la generación de micelio en medios de cultivos, la cual se utiliza como materia prima para la segunda etapa, que contempla la obtención de semilla primaria en una matriz biológica.

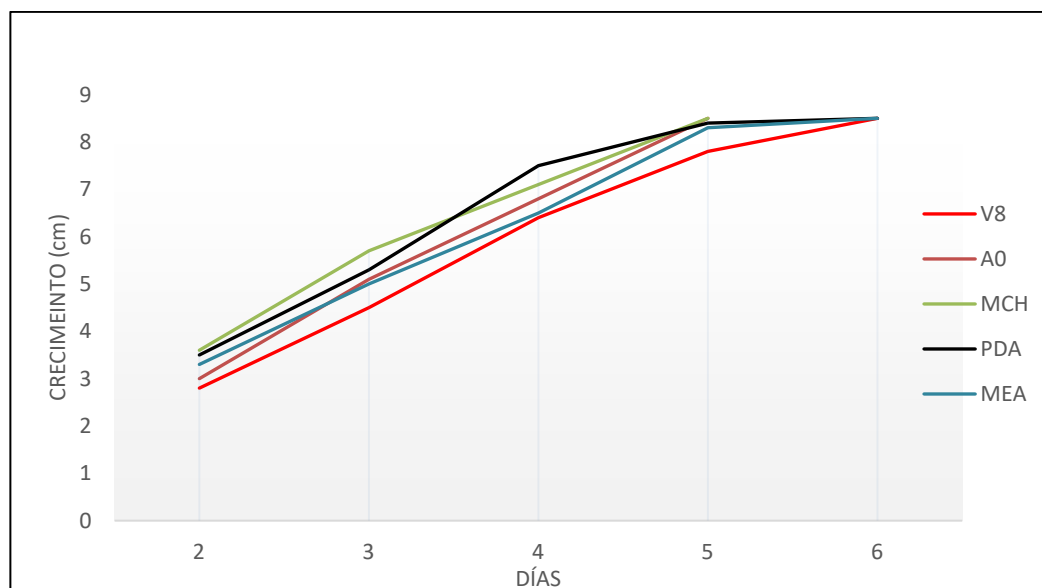
Crecimiento Radial de *Agaricus bisporus* en Medios de Cultivo

Crecimiento Micelial

El crecimiento micelial fue evaluado a través de la colonización en los medios de cultivo, contenido en placas Petri de 8.5 mm de diámetro. Los valores registrados diariamente (Anexos del B al F) reportan que los medios AO y MCH fueron colonizados en 5 días. Sin embargo, PDA, MEA y V8 en 5.2, 5.4 y 6 días respectivamente. El comportamiento promedio diario en cada medio se describe en la Figura 6, donde se ve reflejado a que el crecimiento micelial del medio V8 fue inferior en todas las mediciones. Este carece de aplicaciones en la producción de basidiomicetos, ya que se usa normalmente en el cultivo de Oomycetos, como lo es para el estudio de patógenos como *Phytophthora* spp. (Hardina et al., 2020). Además, concuerda con la recomendación proporcionada por HiMedia Laboratories (2015) sobre el uso de este medio para cultivar levaduras y mohos.

Figura 6

Comportamiento promedio del micelio de Agaricus bisporus en cinco medios de cultivo, medido en el crecimiento radial diario en cm



Análisis Estadístico

Al aplicar una prueba de normalidad de Shapiro Wilk (Anexo G) a los datos, se obtuvo que los medios AO, MCH y V8 fueron idénticos, debido a que todas las repeticiones presentaron el mismo número de días con relación a la medida de crecimiento. Esto impidió calcular la prueba debido a la ausencia de variabilidad (varianza cero). Por otro lado, los medios MEA y PDA, presentaron variación en sus repeticiones, obteniendo valores p menores a 0.05, indicando anormalidad y, por consiguiente, se rechaza el supuesto de la hipótesis nula.

Posteriormente, se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Esta comparó las medianas de los grupos o tratamientos, con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre los medios de cultivo evaluados. La prueba indicó un valor $p < 0.05$, por lo que existen diferencias significativas en los tratamientos (Anexo H). Para identificar específicamente qué grupos diferían entre sí, se realizó una prueba *post hoc* de Dunn, siendo el medio de cultivo V8 el único con diferencia significativa respecto a los demás medios evaluados.

Cuadro 3

Análisis comparativo de cinco tratamientos y sus combinaciones, en los medios de cultivos utilizados en la producción micelial

Comparación	z	Wi	Wj	p	p bonf	p holm
AO-MCH	0.000	9	9	1	1	1
AO-MEA	-1.328	9	14	0.184	1	1
AO-PDA	-0.664	9	11.5	0.507	1	1
AO-V8	-3.321	9	21.5	<0.001***	0.009**	0.009**
MCH-MEA	-1.328	9	14	0.184	1	1.000
MCH-PDA	-0.664	9	11.5	0.507	1	1
MCH-V8	-3.321	9	21.5	<0.001***	0.009**	0.009**
MEA-PDA	0.664	14	11.5	0.507	1	1
MEA-V8	-1.993	14	21.5	0.046*	0.463	0.324
PDA-V8	-2.657	11.5	21.5	0.08**	0.079	0.063

Nota. * = $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Asteriscos muestran diferencias significativas con diferentes niveles de confianza. Z = estadístico de prueba; Wi y Wj = rangos promedios de los grupos

Esto concuerda con lo estipulado por Miles y Chang (2004), quienes mencionan que PDA, MEA, AO y Medio Completo Agar, son los medios más utilizados en la producción de hongos comestibles. Asimismo, Krupodorova et al. (2021) en su revisión de literatura acerca del cultivo de basidiomicetos, concluyeron que los medios PDA y PGA (Papa Glucosa Agar), seguidos de MEA y MCH, eran los que presentaban mejores resultados en el crecimiento micelial. Para explicar esto, es necesario analizar las composiciones de los medios de cultivo y compararlas con las preferencias de *Agaricus bisporus*. En esta línea, la glucosa es la mejor fuente de carbono para la especie, mientras que las mejores fuentes de nitrógeno son extracto de levadura y peptona (Argyropoulos et al., 2022).

El MCH cumple con los requerimientos de carbono y nitrógeno, pues contiene los tres elementos: glucosa, extracto de levadura y peptonas. Adicionalmente, cuenta con un aporte de aminoácidos libres, vitaminas, elementos traza, que forman una mezcla ideal de los nutrientes requeridos para su crecimiento. Esto es relevante, ya que un estudio de Krakowska et al. (2016) determinó que la adición de macronutrientes y micronutrientes representa un aumento productivo de biomasa y un mejor valor nutricional del micelio obtenido. AO tiene carbohidratos (50-70%) como

almidón y otros azúcares simples que incluyen glucosa (Yampolsky y Eliseeva, 2021), proteínas (avenina), grasas y vitamina E que estimulan la bioactividad de los hongos (Poudel et al., 2023).

MEA contiene peptona como fuente de nitrógeno, dextrina y maltosa (disacárido de glucosa) como fuentes de carbono. PDA contiene dextrosa (D-glucosa) como carbohidrato, aunque no contiene una fuente de nitrógeno según Ajdari et al. (2011). Pese a lo antes mencionado, la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en PDA y MEA, siendo los medios estándares para la producción de *Agaricus bisporus*.

Evaluación de Matrices Biológicas para la Producción de Semilla Primaria

Producción de Spawn Primario

En la producción de semilla primaria se utilizaron dos matrices biológicas: sorgo y trigo. En ambos granos se midió el tiempo promedio de colonización total en los frascos de sorgo. Se aplicó estadística descriptiva (Anexo I) validando que la media de las repeticiones en cada tratamiento fue 8 y 10 respectivamente. En base a estos datos, el sorgo se presenta como la mejor opción al tener un menor tiempo de colonización.

Gupta et al. (2016) evaluó los granos de maíz, trigo y sorgo para Spawn en *Agaricus bisporus*, en donde encontró que el mejor crecimiento micelial fue en la matriz a base de sorgo. Asimismo, Borah et al. (2019), menciona que el mijo perla y el sorgo son los mejores granos para producir spawn de hongos comestibles, mientras que el trigo se encuentra en tercer lugar. Lee et al. (2014) evaluaron diversos granos como posibles sustitutos del trigo para la producción de spawn, incluyendo mijo proso, alforfón, mijo cola de zorro, cebada, sorgo, arroz integral, centeno y avena. Los resultados indicaron que la cebada, el mijo cola de zorro y el sorgo representan las alternativas más eficaces. Respecto al sorgo, el mismo estudio destaca la densidad y velocidad de colonización del micelio; además de su tamaño, ya que al ser pequeño permite tener más puntos de inoculación en el sustrato y, por tanto, mayor área superficial para el micelio.

El sorgo presenta un pericarpio más resistente al compararlo con el trigo, el cual es mucho más propenso a romperse al tratarse (Ishani et al., 2021), por lo tanto, es susceptible a la contaminación bacteriana (Borah et al., 2019). En este estudio, no se presentó contaminación en ninguno de los granos, lo cual constituye un indicador del adecuado control de las condiciones del proceso, así como de una correcta selección y preparación del sustrato. El elegir un grano de calidad y darle un adecuado proceso finalizando con la esterilización, es esencial, pues, aunque los granos parezcan limpios contienen microorganismos (Kaur, 2013). Asimismo, el tiempo de cocción fue esencial ya que, si se rompen las capas exteriores del grano, se crean condiciones de humedad ideales para contaminantes, penetrando fácilmente al no existir ninguna barrera protectora (Joie y Ambos, 2023). Además, diversos estudios han demostrado que la semilla en sorgo presenta mayor longevidad al almacenarse, ya que su tamaño y forma le da mayor protección física al micelio, al permitir su entrada por el hilo al interior de la semilla, donde está protegido por el pericarpio (Kaur, 2013).

Análisis Financiero

Sumado a lo antes descrito, la elección de sorgo o trigo como grano para producir spawn está también influenciada por su precio de adquisición y su disponibilidad. El sorgo tiene un valor de USD 0.81/lb y el trigo de USD 2.3/lb. El costo de la matriz biológica es importante para una producción a gran escala, por el impacto en la inversión de una actividad como esta.

Evaluación de Dosis de Inóculo para Producción de Semilla Secundaria

Producción de Spawn Comercial

A partir de la semilla primaria producida, se colonizaron nuevos granos de sorgo para llevar a cabo a la producción de semilla secundaria o Spawn comercial. Se seleccionó sorgo como matriz biológica, dado que fue la que presentó mejor resultado frente al trigo, en términos de días de inoculación durante la fase anterior (observacional). Los tres tratamientos utilizados para la producción de Spawn fueron comparados a través del tiempo de colonización total, obteniendo

crecimientos diferenciados (Figura 7). En el primer tratamiento, correspondiente a una dosis de inóculo de cinco gramos (1.1%), el tiempo de colonización fue de 16.67 días. Para el segundo y tercer tratamiento, que fueron 10 y 15 g (2.2 y 3.3%), el tiempo de colonización fue de 9.33 y 7.17 días. La distribución de los datos en cada tratamiento se resume en la Figura 8, destacando una relación inversamente proporcional entre los días de colonización y la cantidad de inóculo utilizada.

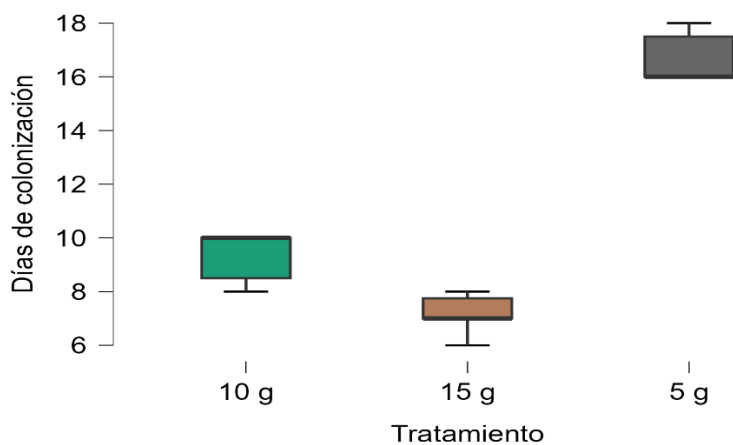
Figura 7

Comparación de la colonización del micelio al día siete, en dos unidades experimentales de cada tratamiento



Figura 8

Efecto de las dosis de inóculo en el tiempo de crecimiento micelial en sorgo como matriz biológica



Análisis Estadístico

A los datos obtenidos, se les aplicó una prueba Shapiro-Wilk (Anexo J), en la cual se determinó que los datos no seguían una distribución normal. Por lo tanto, para establecer si existían diferencias significativas, se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, obteniendo un valor $p > 0.001$, menor que 0.05 (Anexo K), lo que indica que sí existen diferencias significativas entre tratamientos. Para determinar los tratamientos que presentaban las diferencias, se aplicó una prueba post hoc de Dunn, la cual se describe en el Cuadro 4. En este se refleja que existen diferencias significativas en el tratamiento correspondiente a 5 g de inóculo. Carrasco et al. (2021) determinó que la dosis de inoculación debe estar entre 1.2 – 2%, en este caso la dosis de 5 g que representa el 1.1%, está fuera del rango recomendado.

Cuadro 4

Análisis comparativo de tres dosis de inóculo de semilla primaria y sus combinaciones en granos de sorgo

Comparación	z	Wi	Wj	p	pbonf	pholm
10 g – 15 g	1.762	9.167	3.833	0.078	0.234	0.078
10 g – 5 g	-2.093	9.167	15.500	0.036*	0.109	0.073
15g – 5 g	-3.855	3.833	15.500	<0.001***	<0.001***	<0.001***

Nota. * = $p < 0.05$; *** $p < 0.001$. Asteriscos muestran diferencias significativas con diferentes niveles de confianza. Z= estadístico de prueba;

Wi y Wj = rangos promedios de los grupos

Al comparar los tratamientos de 10 y 15 g, no presentaron diferencias significativas. Esto significa que cualquiera de las dos dosis de inóculo puede utilizarse sin afectar significativamente el tiempo de colonización. No obstante, la dosis de 10 g representa la opción más eficiente, ya que permite obtener resultados óptimos utilizando una menor cantidad de semilla primaria, lo que implica una reducción en costos. Ishani et al. (2021), en su metodología para producción de semilla comercial en bolsas de polipropileno, establece un rango de 10 - 15 g de spawn primario como la dosis apropiada, concordando con los datos obtenidos.

(Valencia de Ita et al., 2018) en su estudio evaluó el desempeño de trigo, sorgo, maíz y arroz como matriz para semilla secundaria, analizando el porcentaje de colonización y contaminación. Los mejores resultados fueron encontrados en el tratamiento que era totalmente sorgo, seguido de todos los tratamientos que incluían 50% de sorgo. En este caso, el sorgo consiguió el 100% de la colonización en el menor tiempo y mostró una ausencia total de contaminantes.

Conclusiones

La investigación permitió evaluar el proceso productivo de la semilla comercial de *Agaricus bisporus*, específicamente en función del medio de cultivo utilizado. Con base en los resultados, se determinó que el medio V8 presentó el desempeño más bajo, con un tiempo de 6 días para completar la colonización micelial. En contraste, los medios MCH, AO, PDA y MEA mostraron un comportamiento más eficiente, con tiempos de colonización de 5 días en los dos primeros, y de 5.2 y 5.4 días en los dos últimos, respectivamente. Estos hallazgos indican que cualquiera de estos cuatro medios puede ser una opción viable para el cultivo de *Agaricus bisporus*, dependiendo de la disponibilidad y accesibilidad de los insumos en cada contexto productivo.

El sorgo se identificó como la mejor opción para la producción de semilla primaria, al evidenciar una mayor velocidad de colonización y un costo de mercado más bajo en comparación con el trigo. A estas ventajas se suman sus características físicas, como el tamaño, la forma y la textura, que lo hacen más adecuado para este propósito.

El desarrollo eficiente de la semilla secundaria está directamente relacionado con la dosis de inóculo utilizada, así como con las condiciones de preparación y el manejo del sustrato. En este estudio, la aplicación de 10 g de semilla primaria por cada libra de sorgo resultó ser la opción más efectiva, al lograr una colonización rápida, uniforme y libre de contaminantes. Este resultado indica que las condiciones de humedad, esterilización e intercambio gaseoso fueron adecuadas.

Recomendaciones

Evaluar el efecto de diferentes tiempos de hidratación y tratamientos térmicos de los granos de sorgo, en el crecimiento micelial de *Agaricus bisporus*.

Comparar la producción de semilla secundaria, utilizando diferentes tecnologías locales, así como las utilizadas en la industria.

Evaluar otras matrices biológicas disponibles como maíz y arroz, para determinar el crecimiento micelial.

Realizar la caracterización física y química de los granos a evaluar, determinando parámetros como el contenido nutricional, porcentaje de humedad y otros factores relevantes, con el fin de inferir su posible influencia en el comportamiento y velocidad de colonización del micelio.

Referencias

- Ajdari, Z., Ebrahimpour, A., Abdul Manan, M., Hamid, M., Mohamad, R. y Ariff, A. B. (2011). Nutritional requirements for the improvement of growth and sporulation of several strains of *Monascus purpureus* on solid state cultivation. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2011, 487329. <https://doi.org/10.1155/2011/487329>
- Ardón, C. E. (2007). *La producción de los hongos comestibles* [Tesis de maestría]. Universidad de San Carlos de Guatemala. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/07/07_1932.pdf
- Argyropoulos, D., Psallida, C., Sitareniou, P., Fliemetakis, E. y Diamantopoulou, P. (2022). Biochemical Evaluation of *Agaricus* and *Pleurotus* Strains in Batch Cultures for Production Optimization of Valuable Metabolites. *Microorganisms*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050964>
- Atila, F., Nadhim Owaed, M. y Ali Shariati, M. (2017). The Nutritional and Medical Benefits of *Agaricus Bisporus*: A Review. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 7(3), 281–286. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017/18.7.3.281-286>
- Bandala, V. M., Montoya, L. y Ramos, D. (2020). Hongos Basidiomicetos. En F. Villalobos y W. Dáttilo (Eds.), *Biodiversidad del Santuario del Bosque de Niebla Xalapa, Veracruz* (pp. 131–152). Instituto de Ecología, A.C. https://www.researchgate.net/publication/358283753_Hongos_Basidiomicetos
- Bijla, S. y Sharma, V. P. (2023). Status of mushroom production: Global and national scenario. *Mushroom Research*, 32(2), 91–98. <https://doi.org/10.36036/MR.32.2.2023.146647>
- Borah, T. R., Singh, A. R., Paul, P., Talang, H., Kumar, B. y Hazarika, S. (2019). *Spawn Production and Mushroom Cultivation Technology*. ICAR research complex for NEH region. https://www.researchgate.net/publication/341822811_Spawn_Production_and_Mushroom_Cultivation_Technology
- Carrasco, J. (s.f). *Preparación de semillas con micelio*. Instituto Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario y Forestal (IRIAF).
- Carrasco, J., Zied, D. C., Navarro, M. J., Gea, F. J. y Pardo-Giménez, A. (2021). Commercial Cultivation Techniques of Mushrooms. En K. R. Sridhar y S. K. Deshmukh (Eds.), *Advances in Macrofungi* (pp. 11–40). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003096818-3>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). *Latin America and the Caribbean are “pillar for world food security”*. <https://www.fao.org/newsroom/detail/Latin-America-and-the-Caribbean-are-pillar-for-world-food-security-/en>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). *FAOSTAT Statistics database 2023*. <https://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2024). *The State of Food Security and Nutrition in the World 2024*. FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO. <https://doi.org/10.4060/cd1254en>
- Goncharova, N. A. y Merzlyakova, N. V. (2022). Food shortages and hunger as a global problem. *Food Science and Technology*, 42, Artículo e70621. <https://doi.org/10.1590/fst.70621>

- Gupta, S., Kumar, S [Sandeep], Gupta, M., Mantoo, A. y Singh, R. (2016). Evaluation of different grains and supplements for production of quality spawn of different mushrooms. *Indian Phytopathology*, 69(4s), 706–711. <https://epubs.icar.org.in/index.php/IPPJ/article/view/71428>
- Hardina, N., Kuswinanti, T. y Baharuddin (2020). Modified vegetables extract as substitution of v8-juice medium for cultivation of *Phytophthora* spp. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 486(1), 12149. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/486/1/012149>
- Hernández-Vásquez, A., Visconti-Lopez, F. J., Chacón-Torrico, H. y Azañedo, D. (2023). COVID-19 and Food Insecurity in Latin America and the Caribbean. *Journal of Hunger & Environmental Nutrition*, 18(3), 372–379. <https://doi.org/10.1080/19320248.2022.2086023>
- Higgins, C., Margot, H., Warnquist, S., Obeysekare, E. y Mehta, K. (2017). Mushroom cultivation in the developing world: A comparison of cultivation technologies. En *2017 IEEE Global Humanitarian Technology Conference (GHTC)* (pp. 1–7). IEEE. <https://doi.org/10.1109/GHTC.2017.8239314>
- HiMedia Laboratories. (2015). *V8 Juice Agar: Technical Data Sheet*. https://exodocientifica.com.br/_technical-data/M638.pdf
- Hood, I. A. (2006). The mycology of the Basidiomycetes. En *Proceedings of the Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR)*. https://www.researchgate.net/profile/IanHood/publication/255650347_The_mycology_of_the_Basidiomycetes/links/59dad82e0f7e9b12b36d9058/The-mycology-of-the-Basidiomycetes.pdf
- Ishani, A. A., Kumar, Y. V., Akhilesh, C. y Singh, S. (2021). Role Of Different Grains In Spawn Production For Growing Mushrooms. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 23(3), 460–463. <https://www.envirobiotechjournals.com/AJMBES/v23i32021/AJ-29.pdf>
- Joie, A. A. A. y Ambos, L. A. (2023). Multiplication of Oyster Mushroom Mother Spawn (*Pleurotus Ostreatus* L.) Using Different Boiling Periods of Sorghum. *American Journal of Agricultural Science, Engineering, and Technology*, 6(3), 78–82. <https://doi.org/10.54536/ajaset.v6i3.855>
- Kaur, R. (2013). *Studies on spawn production technology of agaricus bisporus (linge) sing* [Tesis de maestría]. Punjab Agricultural University Ludhiana. <https://krishikosh.egranth.ac.in/assets/pdfjs/web/viewer.html?file=https%3A%2F%2Fkrishikosh.egranth.ac.in%2Fserver%2Fapi%2Fcore%2Fbitstreams%2F6579432d-5538-4c40-b18c-c54849c16397%2Fcontent>
- Krakowska, A., Reczyński, W. y Muszyńska, B. (2016). Optimization of the Liquid Culture Medium Composition to Obtain the Mycelium of *Agaricus bisporus* Rich in Essential Minerals. *Biological Trace Element Research*, 173(1), 231–240. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0638-y>
- Krupodorova, T. A., Barshteyn, V. y Sekan, A. S. (2021). Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 11(1), 494–531. <https://doi.org/10.5943/cream/11/1/34>

- Lee, B.-J., Lee, M.-A., Kim, Y.-G., Lee, K.-W., Lee, B.-E. y Seo, G.-S. (2014). Characteristics and suitability of various cereal grains in spawn production of button mushroom. *Journal of Mushroom*, 12(4), 237–243. <https://doi.org/10.14480/JM.2014.12.4.237>
- Marshall, E. y Nair, N. G. (2009). *Make money by growing mushrooms*. FAO. 272785772_Make_Money_by_Growing_Mushrooms_Food_and_Agriculture_Organisation_Livelihood_Diversification_Booklet_No_7_2009
- Miles, P. G. y Chang, S.-T. (2004). *Mushrooms*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203492086>
- Moreaux, K. (2017). Spawn Production. En C. Z. Diego y A. Pardo-Giménez (Eds.), *Edible and Medicinal Mushrooms* (pp. 89–128). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119149446.ch5>
- Muhammad, B. L. y Suleiman, B. (2015). Global Development of Mushroom Biotechnology. *International Journal of Emerging Trends in Science and Technology*, 2(6), 2660–2669. https://www.researchgate.net/publication/292150359_Global_Development_of_Mushroom_Biotechnology
- Okuda, Y. (2022). Sustainability perspectives for future continuity of mushroom production: The bright and dark sides. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, Artículo 1026508. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.1026508>
- Poudel, S [Sonu], Bhusal, P. y Poudel, S [Sijan] (2023). Evaluation of different culture media on the mycelial proliferation of *Pleurotus ostreatus* in vitro. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 11(4). https://www.scitechnol.com/peer-review/evaluation-of-different-culture-media-on-the-mycelial-proliferation-of-pleurotus-ostreatus-in-vitroem-Ookd.php?article_id=22801
- Prasad, R., Singh, I. y Milan, A. (2024). Production of spawn and storage techniques. En S. Siddiqui (Ed.), *Scientific Inputs in Modern Indian Agriculture* (pp.251–259). Weser Books. https://prabandh.itmuniversity.ac.in/media/chapters/151617._Scientific_Inputs_INTERNATIONAL.pdf
- Prusti, S. (2025). Common Challenges in Spawn Production and How to Overcome Them. *Just Agriculture*, 5(7), 30–34. <https://justagriculture.in/wp-content/uploads/2025/04/04.-Common-Challenges-in-Spawn-Production-and-How-to-Overcome-Them.pdf>
- Rahi, D. K. y Malik, D. (2016). Diversity of Mushrooms and Their Metabolites of Nutraceutical and Therapeutic Significance. *Journal of Mycology*, 2016, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2016/7654123>
- Sánchez, J. E., Royse, D. J. y Lara, H. (2007). *Cultivo, mercadotecnia e inocuidad alimenticia de Agaricus bisporus* (1a). Ecosur. https://www.researchgate.net/publication/256527519_Cultivo_mercadotecnia_e_inocuidad_alimenticia_de_Agaricus_bisporus
- Sharma, V. P. y Kumar, S [Satish]. (2011). Spawn Production Technology. En M. Singh, Vijay Bhuvnesh, S. Kamal y G. C. Wakchaure (Eds.), *Spawn Production Technology: Mushrooms Cultivation, Marketing and Consumption* (pp.35–42). Directorate of Mushroom Research (ICAR). https://www.academia.edu/28101041/Spawn_Production_Technology
- Sharma, V. P., Singh, M., Kumar, R., Kumar, S [Satish], Kamal, S. y Sharma, M. (2014). Effect of spawn to spawn multiplication on productivity of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Research*, 23(1), 27–

30.

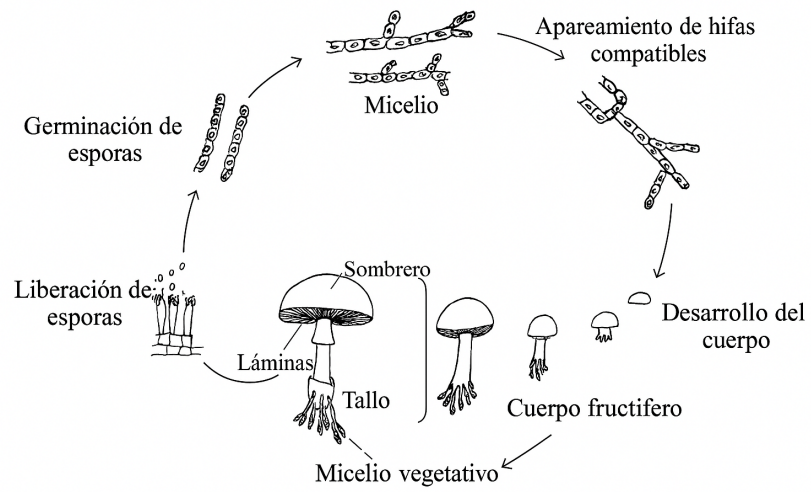
https://www.researchgate.net/publication/337945599_Effect_of_spawn_to_spawn_multiplication_on_productivity_of_Agaricus_bisporus

Singh, M., Kamal, S. y Sharma, V. P. (2021). Status and trends in world mushroom production-III-World Production of Different Mushroom Species in 21st Century. *Mushroom Research*, 29(2), 75. <https://doi.org/10.36036/MR.29.2.2020.113703>

Thakur, M. P. (2020). Advances in mushroom production: key to food, nutritional and employment security: A review. *Indian Phytopathology*, 73(3), 377–395. <https://doi.org/10.1007/s42360-020-00244-9>

Valencia de Ita, M. A., Aranda, D., Lezama, C., Reyes, J., Martinez, A. y 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. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.2.26>

Yampolsky, A. y Eliseeva, T. (2021). Oatmeal. *Journal of Healthy Nutrition and Dietetics*, 1(15), 43–61. <https://doi.org/10.59316/.vi15.97>

Anexos**Anexo A***Ciclo de vida de Agaricus bisporus*

Nota. Tomado de Rahi y Malik (2016)

Anexo B*Crecimiento radial diario en cm en Agar de Verdura (V8)*

Repeticiones	Días				
	2	3	4	5	6
1	3	5	6.5	8	8.5
2	2.5	4	6	7	8.5
3	3	5	7	8	8.5
4	2.5	4.5	6.5	8	8.5
5	3	4	6	8	8.5
Promedio	2.8	4.5	6.4	7.8	8.5

Anexo C*Crecimiento radial diario en cm en Agar Avena (AO)*

Repeticiones	Días			
	2	3	4	5
1	3	5.5	7	8.5
2	3	5.5	7	8.5
3	3	5	6.5	8.5
4	3	4.5	6.5	8.5
5	3	5	7	8.5
Promedio	3	5.1	6.8	8.5

Anexo D*Crecimiento radial diario en cm en Medio Completo para Hongos (MCH)*

Repeticiones	Días			
	2	3	4	5
1	3.5	5.5	7	8.5
2	3.5	6	7	8.5
3	4	6	7.5	8.5
4	3.5	5.5	7	8.5
5	3.5	5.5	7	8.5
Promedio	3.6	5.7	7.1	8.5

Anexo E*Crecimiento radial diario en cm en Papa Dextrosa Agar (PDA)*

Repeticiones	Días				
	2	3	4	5	6
1	3.5	5.5	7.5	8.5	
2	3.5	5.5	7.5	8	8.5
3	3.5	5	7.5	8.5	
4	3.5	5.5	7.5	8.5	
5	3.5	5	7.5	8.5	
Promedio	3.5	5.3	7.5	8.4	8.5

Anexo F*Crecimiento radial diario en cm en Extracto de Malta Agar (MEA)*

Repeticiones	Días				
	2	3	4	5	6
1	3.3	5	6.5	8	8.5
2	3.3	5	6.5	8	8.5
3	3.3	5	6.5	8.5	
4	3.3	5	6.5	8.5	
5	3.3	5	6.5	8.5	
Promedio	3.3	5	6.5	8.3	8.5

Anexo G

Prueba de normalidad Shapiro Wilk aplicada a los días de colonización de los medios de cultivo

	Medio de Cultivo				
	AO	MCH	MEA	PDA	V8
Media	5	5	5.4	5.2	6
Desviación estándar	0	0	0.548	0.447	0
W	NaN ^a	NaN ^a	0.684	0.552	NaN ^a
Valor p	NaN ^a	NaN ^a	0.006	<0.001	NaN ^a

Nota. W= estadístico de prueba; NaN^a= not a number; a= indica que todos los valores son idénticos; $p < 0.05$ = nivel de significancia

Anexo H*Prueba de Kruskal Wallis aplicada a los días de colonización de los medios de cultivo*

Factor	H	df	p
Tratamiento	15.176	4	0.004

Nota. H= estadístico de prueba; df= grados de libertad, $p < 0.05$ = nivel de significancia

Anexo I*Estadística descriptiva del crecimiento micelial de semilla primaria*

Variable	Matriz biológica	N	Media
Días de inoculación	Sorgo	6	8
	Trigo	6	10

Anexo J

Prueba de normalidad Shapiro Wilk aplicada a los días de colonización para tres dosis de inoculación en semilla comercial

	Dosis de inóculo		
	10 g	15 g	5 g
Media	9.33	7.17	16.67
Desviación estándar	1.033	0.753	1.033
W	0.640	0.866	0.640
Valor p	0.001	0.212	0.001

Nota. W= estadístico de prueba; $p < 0.05$ = nivel de significancia

Anexo K

Prueba de Kruskal Wallis aplicada a los días de colonización para tres dosis de inoculación en semilla comercial

Factor	H	df	p
Tratamiento	14.901	2	< 0.001

Nota. H= estadístico de prueba; df= grados de libertad, $p < 0.05$ = nivel de significancia