

FORMULACIONES DE SUSTRATOS EN LA PRODUCCIÓN DE SETAS COMESTIBLES PLEUROTUS

Dra. C. Nora García-Oduardo, nora@cebi.uo.edu.cu, Dra. C. Rosa Catalina Bermúdez-Savón, Lic. Migdalia Serrano-Alberni

Centro de Estudio de Biotecnología Industrial (CEBI), Universidad de Oriente, Santiago de Cuba

Se evalúa la influencia de las formulaciones de sustratos a base de pulpa de café, con viruta de madera, cáscaras de cacao y coco en la producción de setas comestibles. Se emplean dos cepas de Pleurotus ostreatus, utilizando la fermentación en estado sólido (FES) como técnica biotecnológica. La pulpa de café resultó ser el sustrato que ofrece la mayor eficiencia biológica con 1,68 g setas frescas/g sustrato seco, superior al resto de los sustratos solos. Los otros sustratos mejoraron sus valores de eficiencia biológica cuando se mezclaron con pulpa de café. Se logra una influencia positiva en la producción de setas comestibles, al mezclar la pulpa de café con otros sustratos lignocelulósicos, al disminuir el número de bolsas contaminadas, haciendo más sanitaria y económica su producción.

Palabras clave: formulaciones, sustratos, pleurotus, producción de setas comestibles.

The influence of formulation's substrates of coffee pulp with cedar chip, coconut and cocoa shells in the edible mushrooms production was investigated, using two strains of Pleurotus ostreatus and solid-state fermentation (SSF) techniques as an efficient biotechnological process for Pleurotus cultivation, because this technique every day is more used for agricultural wastes valorized. The best biological efficiency was obtained with the coffee pulp 100 %, 1,68 g fresh edible mushrooms/g dry substrate, being superior at the rest of substrates; these improve yours biological efficiency values where it's were mixture whit coffee pulp, also the cost of contaminate substrate was eliminated, being more sanitary and economic the edible mushrooms production.

Key words: formulations, substrates, pleurotus, edible mushrooms production.

Introducción

El cultivo de setas comestibles *Pleurotus* sobre sustratos lignocelulósicos es una buena alternativa para producir alimentos. Las setas comestibles convierten los desechos agrícolas en alimentos, por lo que son considerados como una fuente barata de proteína. La mayoría pueden ser producidos en un corto período de tiempo a bajo costo y en áreas reducidas. Además, el desarrollo del cultivo de setas a pequeña escala en países en desarrollo necesita una tecnología sencilla, de condiciones poco sofisticadas. Después del proceso de cultivo y la cosecha de las setas, el sustrato remanente es aprovechable como abono orgánico, por su alto contenido en nitrógeno, fósforo y potasio /1/.

La pulpa de café, la viruta de madera, las cáscaras de cacao y coco son empleados como sustratos naturales en la fermentación en estado sólido (FES) para la producción de setas comestibles /2-4/. Ellos pueden ser obtenidos en un corto

período de tiempo, a bajo costo y en áreas reducidas. La pared celular de sus tejidos vegetales está compuesta de celulosa, hemicelulosas y lignina que son polímeros difíciles de degradar y que solamente los hongos y las bacterias descomponen debido a que poseen enzimas que rompen tales moléculas y liberan a la celulosa y hemicelulosa de la lignina.

Los cuerpos fructíferos de las setas *Pleurotus*, son muy bien valorados por su textura y aroma, su riqueza en contenido de minerales, propiedades medicinales, corto ciclo de producción y reproducibilidad.

La producción mundial de setas representa en la actualidad cerca de tres millones de ton por año, dos de ellas corresponden a setas cultivadas. El crecimiento del sector es cercano al 5 % por año. La producción de setas *Pleurotus* es la más prometedora, ya que ocupa el segundo lugar en la producción de setas comestibles (25 % del total de la producción mundial) y es la que más ha crecido desde sus comienzos /1/.

La fermentación sólida en medio natural, brinda la posibilidad de mejorar los rendimientos de la producción de setas con adecuada composición nutricional, a la vez que se ahorran recursos al emplearse estos sustratos que son subproductos disponibles y fáciles de manipular. A diferencia de otros estudios que suplementan los sustratos con sales inorgánicas y/o nutrientes orgánicos /8, 9/ para elevar los rendimientos, en este trabajo se realiza la evaluación de formulaciones de sustratos naturales. Para ello fueron investigados parámetros productivos como: rendimiento, eficiencia biológica y tasa de producción de las setas, en las diferentes formulaciones analizadas.

Fundamentación teórica

La seta comestible *Pleurotus* es de una gran versatilidad, ya que soporta grandes variaciones térmicas, existen variedades resistentes a plagas y enfermedades que puede ser cultivada prácticamente sobre cualquier sustrato lignocelulósico; la calidad de su proteína, presencia de vitaminas, macro y microelementos y sus propiedades organolépticas la hacen muy superior al champiñón, por lo que es considerada como un alimento saludable /5/. Estas características permiten que esta seta pueda ser cultivada con una tecnología sencilla, disminuyendo considerablemente la inversión inicial y los costos operacionales, lo cual se ha traducido en una expansión rápida del cultivo en el mundo.

El cultivo del café está muy desarrollado en numerosos países tropicales, en plantaciones cuyo destino es la exportación. El café es uno de los principales productos de origen agrícola comercializados en los mercados internacionales. Se estima que la producción mundial del ciclo de cosecha 2008-2009 fue de 127 millones de sacos /6/. La pulpa de café representa el 40 % del fruto de café que se despulpa. Por su composición química rica en

azúcares, presenta potencialidades para ser empleada como materia prima en diferentes tecnologías de FES, las que permiten utilizar un sustrato disponible y barato, eliminar con su aprovechamiento posibles contaminaciones y a su vez generar beneficios en el orden económico, social y ambiental /1, 7/.

Aunque los volúmenes de la viruta de madera y las cáscaras de cacao y coco no se equiparan con el de la pulpa de café, actualmente no existe ningún tratamiento o aprovechamiento con los sustratos antes mencionados y su disposición final en el terreno de cultivo, trae aparejado una descomposición lenta, por su fermentación espontánea.

Los materiales elegibles para ser utilizados como sustratos en la producción de setas comestibles *Pleurotus* deben poseer propiedades como: disponibilidad en cantidad, características físico-químicas regulares, localización fácil y cercana, y facilidad para transportarlos y manejarlos /5/.

Materiales y métodos

Cepas de *Pleurotus*: Se utilizaron las cepas *Pleurotus ostreatus* CCEBI 3023 y CCEBI 3024 (referencia), de la colección de cultivos del CEBI, Universidad de Oriente, Cuba.

Preparación de las formulaciones

Se estudiaron sustratos naturales recolectados en la provincia Santiago de Cuba y tratados según la metodología descrita en /9/. Estos son: Pulpa de café (*Coffea arabica* L.) (0,8-2 mm), cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.) (1,25-4 mm), cáscaras de coco (*Cocos nucifera*, Lin.) (3-5 cm) y viruta de cedro (*Teona ciliata* Roem). Para facilitar la comprensión de la influencia de las 12 formulaciones se dividió el estudio en tres grupos (tabla 1).

Tabla 1
Diferentes formulaciones (% base húmeda) de los sustratos

Grupo	Formulaciones	Pulpa de café	Cáscara de cacao	Cáscara de coco	Viruta de cedro	
I	1	100	-	-	-	
	sustratos	2	-	100	-	
	solos	3	-	-	100	
		4	-	-	-	100
II	5	75	-	25	-	
	con	6	50	-	50	-
	Pulpa de café	7	25	-	75	-
		8	50	50	-	-
		9	50	-	-	50
III	10	-	50	50	-	
	sin	11	-	50	-	50
	Pulpa de café	12	-	-	50	50

Producción de setas comestibles

Se realizó en la planta de investigación-producción del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Oriente. La metodología de preparación de inóculos se realizó según /9/.

Luego de escurridos, los sustratos se mezclaron con el inóculo (10 % peso húmedo del sustrato), se colocaron en bolsas de polietileno transparentes (40 x 70 cm) y se ubicaron en estantes dentro del cuarto de colonización. Se prepararon tres réplicas por cada cepa y por cada formulación estudiada. La metodología de producción de setas se realizó según /9/.

Control de la producción de setas comestibles

Cada bolsa constituye una muestra. Se registraron las observaciones sobre el crecimiento del

micelio, la aparición de contaminaciones, el día de aparición de los primordios (precocidad), las cosechas producidas, el tiempo de producción y el peso del sustrato remanente. Para cada bolsa se llenó un formulario con los datos de la producción y los parámetros de control: producción de setas comestibles, eficiencia biológica, rendimiento y tasa de producción.

Precocidad (P)

Definida como el tiempo que transcurre entre el día de la inoculación y el día en que aparecen los primeros primordios o carpóforos.

Producción

Los elementos de entrada y salida para el balance de masa, durante la producción de setas en las bolsas de polietileno se presentan en la figura 1.



Fig. 1 Elementos de entrada y salida para el balance de masa durante la producción de setas comestibles.

Para la fase biótica:

$$X_1 + R \times S_1 + R \times S_2 = X_2 \quad (1)$$

donde:

- S_1 = Sustrato en el inóculo (g)
- S_2 = Sustrato para fructificación (g)
- X_1 = Biomasa del inóculo (g)
- X_2 = Biomasa total producida (g)
- X_2 = micelio (X_m) + setas obtenidas (X_3)
- R = Rendimiento biomasa/sustrato.

Como: $S_1 \ll S_2$ y $X_1 \ll X_2$ el rendimiento puede calcularse como: $R = X_2/S_2$

Para la producción de setas comestibles se estima que $X_m \ll X_3$

Producción promedio por bolsas

Definida como peso total de las setas frescas cosechadas entre el número de bolsas que produjeron.

$$\text{Eficiencia biológica, EB} = (\text{masa de setas frescas} / \text{masa de sustrato seco}) \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Rendimiento, R} = (\text{masa de setas frescas} / \text{masa de sustrato húmedo}) \times 100. R = (X_3/S_2) \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Tasa de producción, TP} = (\text{EB} / \text{tiempo de producción}) \times 100 \quad (4)$$

Criterio de bioconversión

Volviendo a la figura 1 y realizando balance de masa global del sistema se tiene:

$$S_2 + (S_1, X_1) + \text{Agua} + O_2 = X_2 + S_3 + CO_2 + \text{Agua de salida}$$

Donde se hicieron las siguientes consideraciones /5/:

- la cantidad de inóculo (S_1, X_1) es el 10% del sustrato (S_2),

- la biomasa (X_2) son las setas obtenidas,
- el agua y el O_2 de entrada son tomados por el hongo para su crecimiento,
- el CO_2 y el agua de salida, son obtenidas por cálculo.

La bioconversión se analizó mediante:

$$\text{Sustrato} = \text{Setas obtenidas} + \text{Sustrato remanente} + (CO_2 + \text{Agua de salida}) \quad (5)$$

Tratamiento matemático y estadístico de los resultados

Para el procesamiento de los parámetros muestrales se utilizaron los estadígrafos media aritmética y desviación estándar. Se utilizó el paquete informático *Statgraphics Plus* versión 5,1/Abril 2002. Todas las pruebas se realizaron con el criterio que define la significación estadística de tipo 1, $p < 0,05$.

Resultados y discusión

Grupo I Sustratos solos

Dado el éxito de la tecnología de cultivo de setas *Pleurotus* con la cepa CCEBI 3024, sobre pulpa de café /9/, se estudió el empleo de otros sustratos naturales.

Las características de sustratos naturales como las cáscaras de coco y cacao, son adecuadas para la propagación del micelio y la formación de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* /10/, ya que son sustratos lignocelulósicos de composición en lignina semejante, y además son propios de la región. Una de las principales características de estos sustratos es la poca probabilidad de presen-

cia de microorganismos, a pesar de exponerlos al medio ambiente durante el proceso de secado. Esto resulta una ventaja para ellos, con respecto a la pulpa de café que se contamina fácilmente dada su composición rica en azúcares.

Criterio de biodegradación

La pérdida de la materia orgánica es el criterio más simple adoptado para evaluar la extensión de la biodegradación del sustrato /11/ ya que simultáneamente con el crecimiento y fructificación de las setas sobre subproductos lignocelulósicos, se presenta un decremento en el contenido de mate-

ria orgánica. Esto es debido a las pérdidas de CO₂ y H₂O durante el metabolismo de los hongos y también a la remoción de materiales del sustrato por la formación de las setas (figura 1).

Un balance de masa del sistema permitió evaluar la bioconversión de los sustratos solos, notándose la reducción de los mismos. Se muestra que por cada tonelada de sustrato fresco: pulpa de café, cáscara de cacao y coco, se obtienen como promedio 272, 206 y 124 kg de setas frescas, respectivamente (tabla 2); superior al referido por /12/ que plantean que por cada tonelada de sustrato fresco que involucre pulpa de café en un 50 % o más, se podrán obtener como promedio 100 kg de setas frescas.

Tabla 2
Bioconversión (en %) de los sustratos con la cepa CCEBI 3024

Sustratos puros	Setas	Sustrato remanente	CO ₂ y H ₂ O
Pulpa de café	27,2	56,7	16,1
Cáscara de cacao	20,6	27,9	51,5
Cáscara de coco	12,4	70,3	17,3

De la evaluación realizada con las cepas CCEBI 3024 y CCEBI 3023 para producir setas (tabla 3) se destaca que todas las formulaciones

son factibles de ser explotadas económicamente porque cumplen el criterio R>10 %, /13/ y la mayoría, EB>50 %, /14/.

Tabla 3
Resultados de la producción de setas comestibles sobre las formulaciones de sustratos

Grupo	Formulaciones	P (días)	R (%)	EB (%)	TP (%)	
I	1	25	42	168	2,7	
	sustratos	2	16	84	1,8	
	puros	3	17	95	1,8	
		4	20	21	67	1,1
II	5	20	48	114	2,5	
	con	6*	18	110	2,5	
	Pulpa de café	7	18	101	2,0	
		8*	16	18	51	1,3
		9*	16	15	43	0,7
III	10*	12	11	30	0,8	
	sin	11*	21	61	1,0	
	Pulpa de café	12*	23	11	31	0,6

*con la cepa CCEBI 3023. Cada valor es el promedio de tres determinaciones.

La primera cosecha de setas sobre las cáscaras de coco y cacao, se obtuvo a los 17 y 16 d, respectivamente, mientras que, sobre la pulpa de café demoró 25 días. Las primeras generaron menores rendimientos (R) de setas con respecto a la pulpa de café (tabla 3), aunque se debe señalar que el hongo se desarrolló más rápidamente sobre éstas que sobre la pulpa de café. Esta diferencia en la velocidad de crecimiento se observó desde la fase de colonización, donde el micelio del hongo mostró una rápida activación sobre estos sustratos, lo cual puede estar motivado por el menor contenido de los fenoles totales, lo que facilita el acceso del hongo a los nutrientes.

En el caso de las cáscaras de coco, influye decisivamente el estado de división del sustrato, al ser mayores las partículas, con gran cantidad de fibras que dificultan la reducción de tamaño y la absorción de la humedad necesaria para el sustrato.

Se demuestra el empleo de este residuo para cultivar setas *Pleurotus* con la ventaja de poseer el menor tiempo de colonización y por consiguiente un ciclo productivo más corto. La EB obtenida coincide con el valor (88,6 %) referido por /15/ empleando *Pleurotus ostreatus* (florida) sobre fibra de coco no fermentada.

Los resultados obtenidos sobre cáscaras de cacao coinciden con otros autores /16, 3/ para este tipo de sustrato y condiciones similares. Este no ha sido muy explotado en la producción de setas *Pleurotus* y con esta investigación queda demostrado que posee características idóneas para ello.

Anteriormente se comentó que las cáscaras de cacao y coco poseen pocos azúcares y son menos susceptibles a la fermentación por microorganismos. Estas características permitieron la producción de setas en todas las bolsas de polietileno que fueron inoculadas, a diferencia de lo que sucede con la pulpa de café; con la cual se han tenido experiencias en las que hasta un 25 % de las bolsas de polietileno inoculadas se desechan por contaminarse con mohos y mosquitas /10/.

Las cáscaras de cacao, coco y la viruta de cedro mostraron menores pérdidas por bolsas contaminadas, siendo casi nula la cantidad de bolsas desechadas por invasión de mohos y moscas. Aun-

que se plantea que la pulpa de café no es muy utilizada en el ámbito industrial por la contaminación con *Trichoderma* /17/ y conociendo los resultados superiores de esta en el cultivo de setas comestibles /18/, se evaluó la influencia de las mezclas usando pulpa de café con los otros sustratos.

Grupo II Formulaciones con pulpa de café

La experiencia en el uso de subproductos agrícolas para la producción de setas abarca desde la utilización de los subproductos puros, hasta la mezcla o suplementación de estos. Las mezclas mejoran las condiciones físicas del sustrato /19/. Se afirma que la pulpa de café debe ser mezclada o suplementada con otros subproductos agrícolas (pajas de cebada y trigo, bagazo de caña de azúcar y rastrojo de maíz) para favorecer la fermentación aerobia de la misma y elevar los rendimientos. El uso de las mezclas se hace económicamente factible si se emplean subproductos de fácil adquisición y procedentes de la misma zona o cercanas.

El grupo I de formulaciones (1-4) muestra un decrecimiento de la EB desde la pulpa de café (168 %) hasta la viruta de cedro (67 %) pasando por las cáscaras de coco (95 %) y cacao (84 %); sin embargo, el II grupo de formulaciones mejora los valores de EB al mezclar con la pulpa de café, tal es el caso de las formulaciones 5, 6 y 7, que consisten en diferentes proporciones de cáscaras de coco con pulpa de café, con valores de 114, 110 y 101 %, respectivamente. Otros autores /15/ cultivaron setas *Pleurotus* sobre las mezclas cáscara de coco: pulpa de café (1:2) y (1:1) obteniendo 152 % y 120 % de EB, respectivamente. Ellos, a diferencia de este trabajo, realizaron una pre-fermentación de los subproductos.

La precocidad (P) de las formulaciones binarias con pulpa de café (5-9) es menor (18-20 d) con relación a la pulpa de café sola (25 d) (tabla 3), cuestión que es interesante destacar, por ser la fase de colonización el punto crítico de la producción de setas.

En el cálculo de la tasa de producción (TP) interviene el tiempo de cultivo (invasión del micelio sobre el sustrato y fructificación de las setas), el

cual es necesario disminuir para reducir los costos de producción. Las TP de las formulaciones 5, 6 y 7 son similares a la obtenida en la pulpa de café 100 %, cuestión que también favorece el uso de las formulaciones con pulpa de café. Este resultado indica la influencia positiva que posee la composición del sustrato de siembra sobre la TP (tabla 3).

Para la cepa CCEBI 3023, los valores de EB decrecen desde la pulpa de café 100 % (148 ± 25) hasta la viruta de cedro 100 % (9 ± 1); la TP de la formulación 8 muestra superioridad estadísticamente significativa (ANOVA; $F=350,30$; $p < 0,05$) sobre la 1, pero no ocurre igual en cuanto a la EB, ya que los valores no difieren estadísticamente ($p > 0,05$) en las formulaciones 6 y 8 (figura 2).

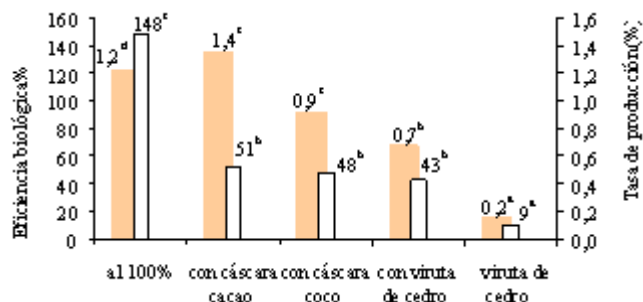


Fig. 2 Influencia de las formulaciones con pulpa de café (1:1) sobre la EB (●) y la TP (○) en la producción de setas.

En esta figura se muestran los resultados de las formulaciones 1 y 4 como criterio de comparación. Cada valor graficado es el promedio de tres determinaciones y las letras indican grupos homogéneos de significación estadística, según prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p < 0,05$). Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre las medias. Los resultados corresponden a la cepa CCEBI 3023.

Grupo III Formulaciones sin pulpa de café

Las formulaciones (10-12) donde la pulpa de café está ausente presentaron menores resultados en cuanto a R y EB (tabla 3). La formulación 10 (cáscaras cacao-coco) debe tenerse en cuenta al presentar una P de 12 días y favorecer la composición del sustrato de siembra en cuanto a textura y porosidad de la cama de sustrato.

Conclusiones

1. Se logró una influencia positiva en la producción de setas al mezclar la pulpa de café, con otros sustratos lignocelulósicos, al disminuir el número

de bolsas contaminadas y aumentar la cantidad de setas por unidad de sustrato y tiempo.

2. Se logró con el empleo de la fermentación sólida en medio natural establecer el procedimiento tecnológico de producción de setas comestibles, ampliando la variedad de subproductos lignocelulósicos a utilizar y las técnicas para su procesamiento, ofreciendo una vía de valorización de estos subproductos.

Bibliografía

1. CHANG, S. T. "Mushroom cultivation using the "ZERI" principle: potential for application in Brazil", en revista *Micología Aplicada Internacional*, vol. 19, núm. 2, 2007, págs. 33-34.
2. POPPE, J. "Capítulo 5 Sustrato. En: Manual del cultivador de hongos." Publicado por MushWord, Corea. 2005. Págs. 83-93.
3. BERMÚDEZ, R.C., RAMOS, I., DONOSO, C., GARCÍA, N., MARTÍNEZ, C.E. "Fermentación sólida de la cáscara de cacao por *Pleurotus* sp." *Revista Tecnología Química*, Universidad de Oriente, vol. xxii, núm. 3, 2002. Págs.53-58, ISSN 0041-8420.
4. BERMÚDEZ, R. C., GARCÍA, N., MOURLOT, A. "Fermentación sólida para la producción de *Pleurotus* sp. sobre mezclas de pulpa de café y viruta de cedro". *Revista Tecnología Química*, Universidad de Oriente, vol. xxvii, núm. 2, 2007. Págs. 55-62, ISSN 0041-8420.

-
5. SÁNCHEZ, J. E., ROYSE, D. *La biología y el cultivo de Pleurotus sp.*, ECOSUR/LIMUSA, México, 2001.
 6. OIC., Organización Internacional del Café, *Carta del Director Ejecutivo, Informe sobre el mercado del café*, Mayo 2008. <http://www.ico.org/documents/>.
 7. GARCÍA, N., R.C. BERMÚDEZ, S. RODRÍGUEZ, I. AGUILERA, A. KOUROUMA. "Potencial biotecnológico de la pulpa de café para producir enzimas ligninolíticas por FES". *Revista Tecnología Química*, Universidad de Oriente, vol. XXX, núm. 2, 2010. Págs. 102-107, ISSN 0041-8420.
 8. HATVANI, N., P. KESSERÚ, I. MÉCS. "Effects of different inorganic salts and organic nutrient components on the growth of *Lentinula edodes* (Shiitake) mycelium on solid medium". *Journal of Science Food and Agriculture*, vol. 83, 2003. Págs. 1439-1444.
 9. BERMÚDEZ, R.C.; GARCÍA, N., "Cultivo de setas comestibles (*Pleurotus*) en el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), Cuba." Capítulo 27. págs. 489-512. En: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales & V. M. Mora. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo. ISBN 970-9752-01-4.
 10. GARCÍA, N., *Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con Pleurotus spp.* Tesis de Doctor en Ciencias Técnicas, Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Universidad de Oriente, 2008. Pág. 150.
 11. BROCK, T., M. MADIGAN, J. MARTINKO, J. PARKER, *Biology of microorganisms*, seventh edition, New Jersey, Prentice-Hall International, Inc., Englewood Cliffs, 1994. Págs. 909.
 12. RODRÍGUEZ, N., V. JARAMILLO. "Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera". *Boletín Técnico No.27*, Centro Nacional de Investigaciones del Café, Chinchiná-Caldas-Colombia. Pág. 56.
 13. TSCHIERPE, H. J., K. HARTMANN. "A comparison of different growing methods", en *Mushroom Journal*, vol. LX, 1977. Págs. 404-416.
 14. PATRA, A. K., B. K. PANI. "Evaluation of banana leaf as a new alternate substrate to paddy straw for oyster mushroom cultivation". *Journal of Phytopathology Research*, vol. 8, 1995. Págs. 145-148.
 15. GONZÁLEZ, T. B., M. S. DOMÍNGUEZ, S. BAUTISTA. "Cultivo del hongo comestible" *Pleurotus ostreatus* var. Florida sobre fibra de coco y pulpa de café." *Revista Mexicana de Micología*, vol. 9, 1993. Págs. 13-18.
 16. CALVO, L., J. SÁNCHEZ-VÁZQUEZ. *Producción de hongos comestibles en condiciones rústicas bajo un cacaotal y utilizando cáscara de coco como sustrato*, Proceed. 11 th Int. Cocoa Res. Conf. 18-24 July, Cocoa Producers Alliance, Yamoussoukro, Ivory Coast, 1993.
 17. MURRIETA, D., M., MATA, G., L. IGLESIAS. "Cambios en la producción de lacasa por el hongo *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. cultivado en pulpa de café en confrontación con *Trichoderma viride* Pers., un moho contaminante". *Foresta Veracruzana*, vol. 4, núm. 1, 2002. Págs. 47-52.
 18. MARTÍNEZ-CARRERA D, A. AGUILAR, W. MARTÍNEZ, M. BONILLA, P. MORALES, M. SOBAL. (2000) Commercial production and marketing of edible mushrooms cultivated on coffee pulp in Mexico. Capítulo 45 En: *Coffee Biotechnology and Quality*. Sera T, Soccol CR, Pandey A, Roussos S. (eds.) Kluwer Academic Publisher. Págs. 471-488
 19. SOBAL, M., P. MORALES, M. BONILLA, W. MARTÍNEZ, F. GALVÁN, D. SIHUANCA, F. QUIRIZ, M. JUÁREZ, D. MARTÍNEZ-CARRERA. Formulaciones para la producción intensiva de *Lentinula edodes* y *L. boryana* en México. Capítulo 13. Págs. 89-102. En: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. D. Martínez-Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales & V. M. Mora. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales: Producción, Desarrollo y Consumo. ISBN 970-9752-01-4.