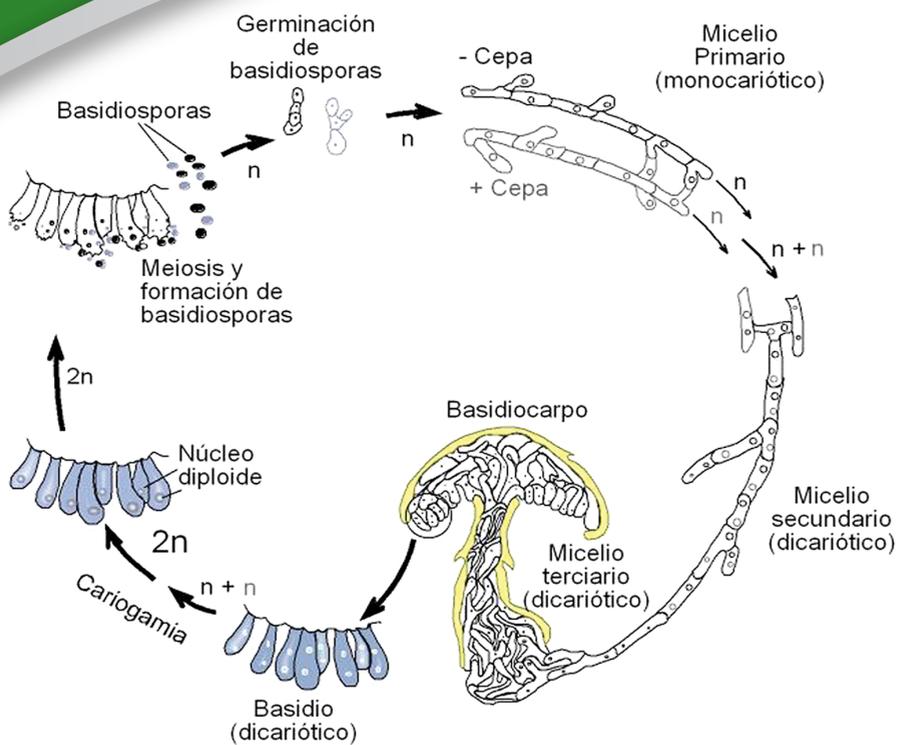




Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

Guía práctica para el cultivo de Setas



José María Barba Chávez

Javier Isidoro López Cruz



Guía práctica para el cultivo de Setas

José María **Barba Chávez**

Javier Isidoro **López Cruz**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Dr. Eduardo Peñalosa Castro
Rector General

Dr. José Antonio de los Reyes Heredia
Secretario General

UNIDAD IZTAPALAPA

Dr. José Octavio Nateras Domínguez
Rector de Unidad

Dr. Miguel Ángel Gómez Fonseca
Secretario de Unidad

Dra. Edith Ponce Alquicira
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Dra. Milagros Huerta Coria
Coordinadora de Extensión Universitaria

Lic. Adrián Felipe Valencia Llamas
Jefe de la Sección de Producción Editorial

Primera Impresión 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina,
Del. Iztapalapa, C.P 09340, México D.F. Tel.: 5804 4600

Impreso y hecho en México/*Printed in Mexico*

Índice

Prólogo	5
Introducción	7
Generalidades	9
Preparación de medios de cultivos.....	13
Agar con extracto de malta	
Agar con papa y dextrosa	
Obtención de cepas	17
Aislamiento vegetativo	18
Aislamiento esporico	19
Preparación de “semilla” o “blanco de hongo”	21
Preparación de inóculo (micelio primario).....	23
Preparación de inóculo (micelio secundario).....	23
Tratamiento del sustrato, siembra, incubación, fructificación y cosecha de <i>P. ostreatus</i>	25
Indicadores de producción de hongos.....	29
Resumen gráfico de los procesos de cultivo	31
Procesamiento de hongos	35
Hongos en escabeche	35
Deshidratación de hongos	39
Bibliografía	45
Anexo	
Proveedores de medios de cultivo y material de laboratorio	

Prólogo

Esta guía tiene como propósito, brindar el conocimiento que la naturaleza nos ofrece y aprovechar esta comprensión, para generar un beneficio social, cultural y alimenticio. Actualmente en México el interés que existe en un gran sector social, referente a la producción de diversos hongos comestibles es bajo. Una de las intenciones que presenta esta guía es precisamente coadyuvar en la cultura y tradición micófila, aprovechando la abundancia de residuos agroindustriales como materia prima y la diversidad climática que se registra a lo largo del país.

La inquietud, estriba en iniciar un negocio que fructifique expectativas económicas y que con la dedicación y cuidado apropiados, pueda ser de rentabilidad favorable, esto es porque en nuestro país existe el comercio, donde los productos naturales orgánicos tienen una preferencia considerable. El cultivo de diversas variedades de hongos es un negocio discreto, aún con un nivel intermedio de tecnología. La inversión en planta, genera un beneficio en todos los campos, prometedor a mediano o largo plazo y por lo tanto puede generar recursos para muchas familias.

El cultivo y comercio de los hongos comestibles en el mercado, quizás esté “cubierto” en variedades importantes de hongos como el champiñón (*Agaricus bisporus*), sin embargo, en la actualidad es importante continuar con la cultura del cultivo de otras especies como la seta (*Pleurotus* spp.), comúnmente conocida en México y la variedad llamada Shiitake (*Lentinula edodes*), además de otras especies que en diferentes partes del mundo ya se cultivan.

Bajo este concepto, este manual plantea fundamentos y técnicas sencillas bien desarrolladas e ilustradas, que pueden aplicarse en la instrucción de alumnos o asistentes de unidades de enseñanza aprendizaje, que pertenezcan a las licenciaturas en Biología (Micología), Ingeniería Bioquímica Industrial e Ingeniería de los Alimentos (Microbiología General o Microbiología de los Alimentos), así como una guía que es útil en talleres y asesorías en este campo. Cada uno de los temas se presenta de manera descriptiva y confiable para que sea apreciada por los interesados en conocer y practicar una actividad más, que puede ser alternativa a sus labores comunes. El manual contempla que al obtener un producto alimenticio, como son los hongos, los procesos unitarios de envasado y deshidratación se adaptan mejor para conservar o aumentar la vida de anaquel de estas hortalizas. El tema por sí mismo demanda el interés general de mucha gente y aunque la parte práctica se ha planteado para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, este desarrollo experimental puede ser aplicado a otras especies.

Con este precedente, tenemos confianza que la información inquiete y estimule la aplicación de los procesos que en este manual se presentan, ya que la Universidad busca propuestas para coadyuvar a un conocimiento con expectativas. Esperamos que este texto resulte benéfico, ya que el objetivo primordial es el apoyar a la docencia, la investigación y también difundir más esta actividad loable.

Introducción

En México el cultivo de los hongos comestibles se inició desde mediados de la década de los 30's, sin embargo la industria actual en nuestro país data de apenas 40 años y cultivando solamente champiñón, con técnicas y cepas extranjeras. No fue sino a partir de 1974, cuando el cultivo de las "Orejas blancas" o setas (*Pleurotus ostreatus*), inquietó a pequeños y medianos cultivadores. Sobre todo porque este tipo de hongos marco un interés, dada la ventaja de que estos hongos crecen sobre materiales baratos como esquilmos y productos agro-industriales, que se utilizan como sustratos¹.

Pleurotus spp., es un género de hongos comestibles, cuyas características morfológicas en la tonalidad del sombrero es variable y los hay desde el blanco, amarillo, café, gris hasta el azul pálido. Éste mide de 6 a 15 cm de diámetro, ya que su tamaño varía de acuerdo a la edad y a las condiciones en las que ha crecido. La forma del sombrero, también depende de la edad, al principio es redondeada y después se va abriendo y ensanchando, éste se hace cada vez más convexo hasta que se aplanan, después el borde se va levantando y el conjunto acaba teniendo concavidad semejante a un plato.

En la parte inferior del sombrero existe un conjunto de estructuras llamadas láminas, que son de color blanco y que forman el himenio y donde se encuentran los basidios. Éstos últimos contienen las esporas que son sexuales considerada la parte fértil. Las esporas vistas al microscopio son alargadas, casi cilíndricas y miden de 7 a 11.5 X 3 a 5.6 μm de diámetro². El sombrero y el pie, también tiene una cubierta superficial que los recubre y es llamada cutícula. Regularmente, el hongo que presenta un pie o estípite algo corto, es de sabor agradable.

Por otro lado, todo el hongo es llamado el cuerpo fructífero y está formado interiormente de una masa de hebras llamadas hifas, que son filamentos que en su interior presentan tabiques transversales, en formas y número regular. El conjunto de hifas recibe el nombre de micelio y éste puede disponerse ordenada o desordenadamente de acuerdo a la función que tenga. Las hifas presentan distintas estructuras, grosor, contenido, fragilidad etc., según la especie que se trate. Estas estructuras son de gran importancia por la secreción de enzimas y porque pueden introducirse en espacios microscópicamente pequeños de los sustratos.

El género *Pleurotus*, presenta la propiedad de colonizar algunos sustratos como rastrojos u otros materiales de bajo costo y con alto contenido en lignina y celulosa, además de la hemicelulosa. Se caracteriza por romper enzimáticamente los enlaces y convertir metabólicamente estos compuestos, por ello son considerados como degradadores primarios de descomposición, porque son capaces de utilizar directamente los desechos de las plantas o materia orgánica en su forma natural, sin que hayan sido sujetas a algún proceso de degradación bioquímica o microbiológica previa. Esta situación no sucede con el cultivo del género *Agaricus* (como el Champiñón, Portobello y Cremini) y otras especies, en las que es indispensable el tratamiento y acondicionamiento previo de los sustratos, mediante la fermentación y composteo, de ahí que sean degradadores secundarios. La utilización de estos sustratos lignocelulósicos como fuente para la producción de hongos comestibles y en específico de las setas, representa una amplia posibilidad biotecnológica para la obtención de alimento humano^{3,4}.

El valor nutritivo de los hongos comestibles es alto. Según estudios realizados por especialistas en alimentos, tienen 19 - 35% de proteínas aprovechables en peso seco, en comparación con los vegetales (hortalizas y frutas), que solamente tienen 7.3 - 13.2%, con excepción de la soya que tiene 39.1%¹.

En México existen más de 300 especies de hongos comestibles, que se recolectan de los bosques considerados de consumo particular o para comerciar durante la temporada de lluvias (julio a septiembre). La visita a los mercados durante esa temporada, nos permite conocer la gran variedad de especies, las cuales varían de región a región.

El cultivo de *P. ostreatus* ha tenido un desarrollo rápido y buena aceptación en el mercado por sus propiedades nutricionales, sabor y consistencia, en la pequeña y mediana industria por la variedad de residuos y materiales orgánicos en los que es capaz de crecer, y sobre todo con intervalos de temperatura amplios.

Generalidades

Morfología general de *Pleurotus ostreatus*

En el hongo hay que diferenciar dos partes fundamentales: el cuerpo vegetativo y el cuerpo reproductor. El cuerpo vegetativo, que se encuentra colonizando el sustrato o en algunos hongos silvestres se encuentra bajo el suelo, está formado por unos filamentos llamados hifas que pueden ser unicelulares, están formados por septos conteniendo dos núcleos, que se comunican entre sí a través de un conducto llamado fibula. Al conjunto de todas las hifas es a lo que se le llama micelio (figura 2). La función del micelio es absorber las sustancias minerales del suelo para alimento propio, excretando enzimas con acción sobre el rompimiento enzimático de los compuestos como la lignina y la celulosa, a través de la cooperación de enzimas como las ligninasas y celulasas. El micelio en realidad es el hongo, ya que la seta (comúnmente llamado hongo), es su aparato reproductor. Por lo tanto, la seta (carpóforo) es la parte reproductora que sale al exterior de los hongos superiores. El carpóforo (figura 1), está conformado por un sombrero o píleo es la parte superior, generalmente tiene forma de paraguas, aunque pueden adoptar diversas formas. Bajo el sombrero se encuentra el himenio que es una membrana que cubre a los elementos fértiles que son los basidios, que a su vez contienen a las esporas (figura 2). Es por ello que a la mayoría de los hongos que poseen estas estructuras se les llama basidiomicetos. El himenio puede presentar diferentes ornamentaciones: tubos, pliegues, etc, en el género *Pleurotus* como en muchos otros están acomodadas en forma de láminas, como se observa en la figura 1. En ciertas especies de hongos, cuando son jóvenes, el sombrero se ve envuelto en una telilla, que se rompe cuando éste aumenta de tamaño, quedando restos en el pie (estípite), dando lugar a lo que se denomina el anillo. La volva es como una envoltura en la parte inferior del pie^{5,6}.

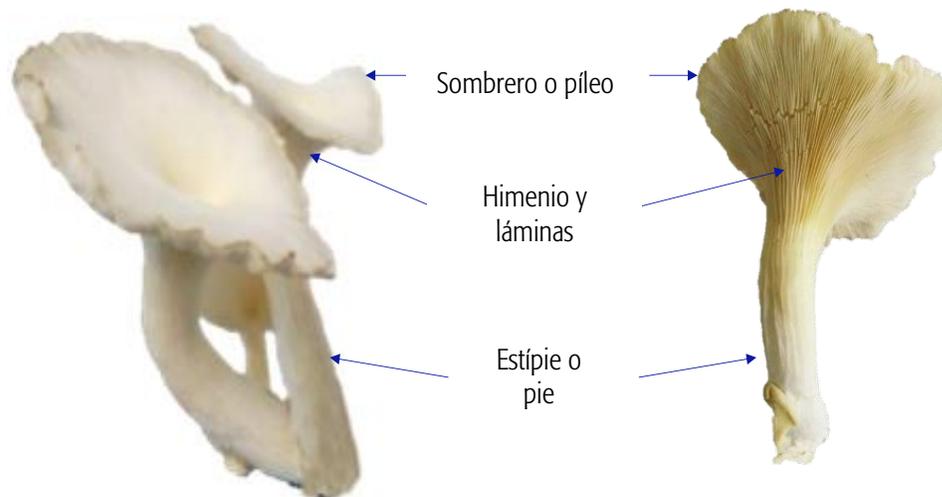


Figura 1. Partes del hongo *P. ostreatus*

Ciclo reproductivo de *Pleurotus* y de otros hongos

Los hongos macroscópicos se reproducen por esporas. Estos hongos superiores poseen unas células madre localizadas en el himenio que son las encargadas de producir las esporas sexuales. Las esporas de los basidios, son lanzadas al exterior para la propagación de la especie y empezar el nuevo ciclo biológico. Si la spora se deposita en un lugar cuyas condiciones sean favorables dará origen al micelio. Éste crecerá bajo el suelo o entre la hojarasca, se ramificará y se entremezclará con los micelios producidos de otras esporas de la misma especie. En el terreno donde la humedad, temperatura, nutrientes y condiciones del medio sean óptimas, crecerá un hongo que portará en su himenio los basidios que expulsarán al exterior las esporas. La figura 2 ilustra el ciclo biológico general de un hongo basidiomiceto⁷.

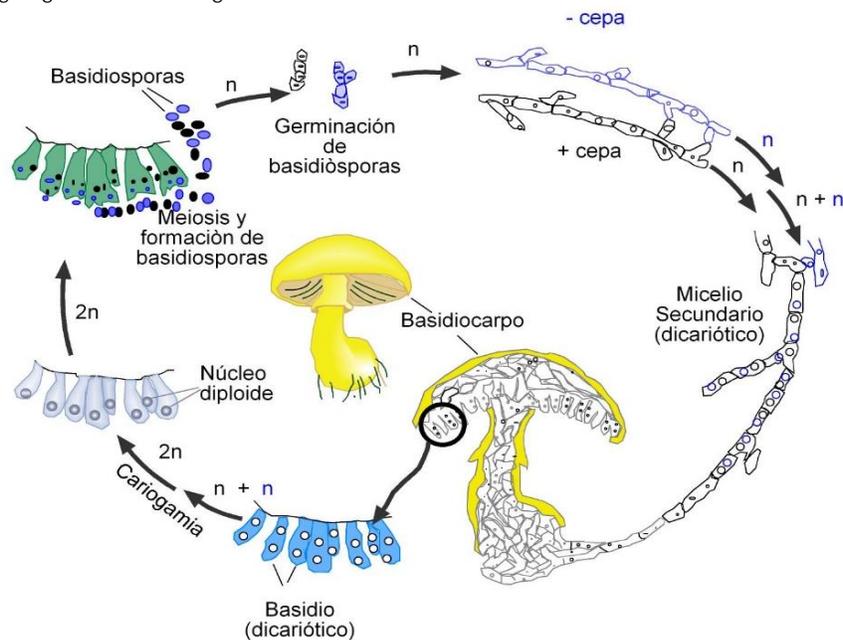


Figura 2. Ciclo Reproductivo de *Pleurotus*⁸

Características generales del carpóforo de *Pleurotus*

Los carpóforos de *Pleurotus ostreatus* no presentan anillo ni volva. El píleo o sombrero es de 5 a 10 cm de diámetro, en forma de "ventilador", ampliamente convexo y algunas veces casi plano en la madurez; de margen lobulado a casi ondulado, especialmente cuando joven; la superficie es lisa, de color blanca a café grisáceo; la carnosidad es blanca y con olor "anisado". Las laminillas o lamelas están formadas por agallas decurrentes de color blanco, amarillentas en estado avanzado de desarrollo, no pubescentes. El estípite constituye el pie, el cual es a menudo ausente, cuando se presenta es corto y grueso, de 0.5 a 3.0 cm de longitud, de 0.5 a 2.0 cm de espesor, excéntrico o lateral con "pelillo blanco" y densos en la base. Se cree que *P. ostreatus* es una especie compleja⁹. Los carpóforos típicos del hongo, se observan en la figura 3.



Figura 3. Setas representativas de la especie *P. ostreatus*

Taxonomía de *Pleurotus ostreatus*

La diversidad del género *Pleurotus* abarca al menos 30 especies¹⁰, entre ellas, *P. djamor*, *P. florida*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-cajou*, *P. citrinopileatus* y *P. ostreatus*. La clasificación taxonómica de *Pleurotus ostreatus* se denota en la tabla 1.

Reino:	<i>Fungi</i>
División:	<i>Basidiomycota</i>
Subdivisión:	<i>Basidiomycotina</i>
Clase:	<i>Basidiomycetes</i>
Subclase:	<i>Holobasidiomycetidae</i>
Orden:	<i>Agaricales</i>
Familia:	<i>Tricholomataceae</i>
Género:	<i>Pleurotus</i>
Especie:	<i>ostreatus</i> (Jacq.: Fr) Kummer.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Pleurotus ostreatus*.

Contenido nutricional y aporte alimenticio de *Pleurotus ostreatus*

En lo que respecta al contenido nutricional, *P. ostreatus* contiene la mayoría de los aminoácidos esenciales y minerales; contiene vitaminas como la tiamina (B₁), riboflavina (B₂), ácido ascórbico, ácido nicotínico y ácido pantoténico; ácido fólico, tocoferol, pirodoxina, cobalamina y provitaminas como la ergosterina y carotenos^{11,12}. Por su parte, Crisan y Sands en 1978, citado por Miles & Shu-Ting (1997), realizaron una recopilación de varias fuentes de investigación, y diseñaron un perfil del contenido de aminoácidos de una serie extensa de hongos, entre los que se encuentra *P. ostreatus* y concluyeron que las setas contienen todos los aminoácidos esenciales que comprenden del 25 al 40 por ciento del total. Este género, contienen lisina, leucina y valina, con 72.09, 71.57 y 51.28 mg/g de proteína cruda total (un factor de Nitrógeno total de 4.38). También contienen minerales indispensables como el calcio, fósforo, potasio y hierro, además de su bajo contenido en grasas, carbohidratos y sodio, lo que lo hacen valioso contra padecimientos cardiovasculares e hipertensión¹², además que se caracteriza por sus propiedades organolépticas, reflejada en su aspecto, aroma agradable, utilización para la elaboración de numerosos platillos.

El contenido de proteína de *P. ostreatus* se relaciona significativamente con el contenido de nitrógeno del sustrato donde crezca este hongo. Los minerales se concentran fuertemente en los cuerpos fructíferos. Por ejemplo, el potasio 3.2 veces, el sodio 1.64, el fósforo 1.7 y el cadmio 2.75, en comparación con la concentración de estos minerales en el sustrato.¹² Hiroi en 1982, citado por Breene en 1990, encontró poca diferencia en el contenido de lípidos totales entre cepas silvestres de *Pleurotus* y las cepas de *P. ostreatus* cultivadas; ambas presentaron de 3 a 5 por ciento de lípidos totales en base seca, predominando un mayor contenido en el pileo. Del total de lípidos, el 70-80 por ciento corresponde al ácido linoleico (esto representa una relación 18:2). Los principales fosfolípidos de *P. ostreatus* son fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. De acuerdo con Miles y Shu-Ting¹³ *P. ostreatus* contiene 57.6 por ciento de carbohidratos totales, 47.5 por ciento de carbohidratos libres de nitrógeno, 11.5 por ciento de fibra cruda, 10.1 por ciento de ceniza, y 345 Kcal por cada cien gramos de hongo en peso seco.

Infraestructura, equipo y materiales

Para iniciar a desarrollar el micelio y obtener el cultivo de diversas especies de *Pleurotus* y otros hongos, lo ideal es poder contar con un ambiente pequeño o laboratorio, aislado de los insectos, de acceso restringido, también sitios, lugares o espacios específicos que puedan asearse y desinfectarse fácilmente. Es recomendable el uso de bata limpia, cubrebocas o en su caso mascarilla para aumentar las precauciones; cofias (cubrepelo), zapatos o botas que resistan el uso de desinfectante. Los equipos como olla de presión o si se puede tener una autoclave, campana de flujo laminar o en su defecto una cámara de transferencia confeccionada con dos orificios para guantes por el frente, con cubierta superior de vidrio grueso y con lámpara pequeña o tubo fluorescente de luz ultravioleta en su interior, para desinfectar previamente por irradiación antes de efectuar las maniobras.

Reactivos líquidos como desinfectantes líquidos (cloro, alcohol y detergentes), que se apliquen y retiren fácilmente. Medios de cultivo para el laboratorio como Agar con dextrosa y papa (PDA), Agar con extracto de malta (EMA), Agar dextrosa saboraud (ADS), Peptona de caseína o de carne, o en su caso Agar-Agar. El material de vidrio que es básico poseer son algunos tubos de ensayo o cajas de Petri, probeta, matraz Erlenmeyer de volumen diverso, frascos o botellas de vidrio, otros como parilla eléctrica, lámparas de alcohol o mecheros para gas, utensilios de metal como bisturí con navaja, asa bacteriología con filamento de platino, aguja de disección, espátulas de diversos tamaños, cucharas y material como algodón y papel para envolver. Material complementario como sellador para las cajas de Petri por ejemplo papel parafilm y plástico adherente, bolsas de polipapel y bolsas de plástico.

Equipo como incubadora, estantería de madera o preferentemente de metal, un sitio para incubar y fructificar el hongo, entre otros equipos e instalaciones adecuadas, trituradora, instalaciones de gas o eléctricas. Todo este equipamiento y utensilios dependerán del nivel de proceso al que deseamos llegar y de la economía con la que contemos ya sea una actividad personal o de grupo (sociedad, comunidad etc.).

Es de resaltar que inicialmente debemos contar con un carpoforo del hongo *P. ostreatus* o de otro hongo, con excelente calidad de apariencia, sin defectos, tales como deformaciones visibles, picaduras de insectos u otros que pudieran influir en la calidad del producto final¹⁴. Otras formas de inicio de los procesos, es conseguir una cepa con micelio ya desarrollado, pueden usarse esporas o inóculos específicos donde exista invasión micelial.

Desarrollo Práctico

A continuación se presentan los desarrollos prácticos de manera ordenada, iniciando con la preparación de medios, la forma en que se inoculan estos medios para obtener una cepa, la elaboración de semillas invadidas con micelio y el proceso de siembra en el sustrato y, también los procesos de incubación y las condiciones de fructificación de los cultivos de *P. ostreatus* y el acondicionamiento del producto final de los cuerpos fructíferos. Es de resaltar que para otros hongos como el Shiitake (*Lentinula edodes*) y otros hongos, que pertenezcan al grupo de los degradadores primarios se utiliza el mismo desarrollo experimental que se muestran en esta guía. Los sustratos que se pueden emplear para el cultivo pueden ser paja de trigo o cebada, rastrojo de caña, bagazos, viruta de madera, olote de maíz quebrado o combinaciones de los mismos, cuidando el tratamiento térmico, humedad y que éstos no se compacten demasiado, para que el micelio del hongo pueda colonizarlos e invadirlos. También se incluyen algunos proveedores de material de vidrio, reactivos y de diversos equipos, para efectuar su cotización, que pueden ajustarse a las posibilidades económicas.

Preparación de medios de cultivos

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que proporcionan las sustancias necesarias para el desarrollo de microorganismos como bacterias, mohos, hongos microscópicos y macroscópicos. La diversidad metabólica de estos microorganismos es tan grande, que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos. Lo primordial es desarrollar un solo microorganismo y en específico para nuestros fines, el micelio del hongo, sin crecimientos de otros microorganismos.

Constituyentes y acondicionamiento de medios de cultivo

A continuación, se da una idea general sobre algunos de los constituyentes habituales que sirven como nutrientes o medios de cultivo que se usan frecuentemente para el crecimiento y desarrollo de microorganismos.

Agar. Se utiliza como agente gelificante y proporciona solidez a los medios de cultivo. En el agar bacteriológico el componente dominante es un polisacárido que se obtiene de ciertas algas marinas y que presenta la indudable ventaja de servir como soporte para el crecimiento de microorganismos, proporcionando la humedad necesaria. Un gel de agar a concentración del 1 a 2% se licua alrededor de los 100°C y gelifica alrededor de los 40°C, dependiendo de su grado de pureza.

Extractos. Su preparación consiste en que ciertos órganos o tejidos animales o vegetales (frecuentemente de carne, hígado, cerebro, semillas), son extraídos con agua y calor y posteriormente concentrados hasta la forma final de pasta o polvo. Estos preparados deshidratados son a menudo empleados en la elaboración de los medios de cultivo. Los más utilizados son el extracto de carne, de levadura y el de malta.

Peptonas. Son mezclas complejas de compuestos orgánicos, nitrogenados y sales minerales, que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales (carne, soya, caseína). Las peptonas son muy ricas en péptidos y aminoácidos, pero pueden ser deficientes en determinadas vitaminas y sales minerales.

Sistemas amortiguadores. Se utilizan para mantener el pH dentro del rango óptimo del crecimiento bacteriano a veces, es necesario añadir algunos componentes al medio de cultivo. Debido a que la mayoría de los hongos no son neutrófilos, se suelen emplear sales del tipo de los fosfatos disódicos ó dipotásicos u otras sustancias como las peptonas para prevenir cambios bruscos en el pH.

Indicadores de pH. Son compuestos incorporados al medio de cultivo, que al metabolizarse por el mismo crecimiento de los microorganismos, tiene por objeto detectar variaciones en el pH, provocando un cambio de coloración, por las variaciones ácido-base. Ello permite detectar el crecimiento de los microorganismos en alguna zona del medio de cultivo y en algunas ocasiones identificar microorganismos característicos y específicos. Los siguientes indicadores ácido-base como: anaranjado de metilo, azul de metileno, rojo de fenol, fucsina básica, sales biliares, ácido láctico, son los más utilizados, entre otros.

Agentes reductores. Con el objetivo de crear en los medios de cultivo condiciones que permitan el desarrollo de los gérmenes microaerófilos ó anaerobios se añaden estos agentes reductores siendo, los más empleados la cisteína y el tioglicolato entre otros.

Agentes selectivos. La adición de determinadas sustancias a un medio de cultivo puede convertirlo en selectivo. Así, por ejemplo, la adición de cristal violeta, sales biliares, azida sódica, telurito potásico, antibióticos, etc., a la concentración adecuada harán que actúen como agentes selectivos y se inhiba el crecimiento de determinados microorganismos, que pueden crecer y actuar como competidores.

En la actualidad, la mayoría de los medios de cultivo se encuentran comercializados; normalmente bajo la forma de liofilizados a los que es preciso rehidratar. En estos casos la preparación del medio de cultivo se lleva a cabo pesando la cantidad deseada del mismo liofilizado y disolverla en agua destilada, siguiendo las indicaciones de preparación del fabricante.

Antes del proceso de esterilización, los medios líquidos se reparten en los recipientes adecuados (tubos, matraces, etc.). Si es un medio sólido y se ha de distribuir en tubos o en matraces. Si es necesario fundir el agar en baño María u horno microondas, una vez fundido y homogeneizado, se distribuye en caliente a los tubos ó matraces (no en placas de Petri) se tapa y se esteriliza en autoclave o en una olla de presión (que posea un indicador de presión) a 121°C y 1.05 kg/cm² (15 psi) por 15 min. Hay que

tomar en cuenta que algunos medios no se esterilizan por calor húmedo y en su caso son rehidratados en agua, esterilizados por filtración y vaciados en recipientes. Regularmente los medios para el cultivo de hongos pasan por esterilización en autoclave. Es indispensable no sobrepasar el tiempo y temperatura, ya que los azúcares en los nutrientes pueden sufrir oscurecimiento o caramelización por causa de la temperatura y no ser aprovechados por el microorganismo u hongo que se sembrara en ellos.

Una vez finalizada la esterilización los medios se dejarán enfriar a una temperatura en la cual se permita vaciarlos en las cajas de Petri y en el caso de medios sólidos contenidos en tubos deberán, en su caso, inclinarse para que al solidificarse adopten la forma de agar inclinado o pico de flauta (slant), si tal es su finalidad. Las sustancias termolábiles, como los *agentes selectivos*, se esterilizan por filtración y se añaden al resto de los componentes después de que éstos hayan sido previamente esterilizados en autoclave y enfriados a temperatura ambiente a 40-50°C si se trata de medios con agar y se reparte en las cajas de Petri o en los tubos de vidrio.

El vaciado en las cajas de Petri (figura 6), se realiza en condiciones asépticas, con el medio ya estéril y todavía en estado líquido. La apertura de la caja se realiza en la proximidad de la llama de un mechero Bunsen. Es conveniente homogeneizar el medio de cultivo durante el transcurso de la operación para evitar grumos o sedimentos durante el vaciado y que éste se distribuya por igual en todas las cajas.

Los caldos y medios sólidos pueden conservarse, una vez esterilizados, a temperatura ambiente pero para reducir su deshidratación y el consiguiente cambio en las concentraciones de sus componentes es preferible conservarlos a 4.0°C.

Para el cultivo de setas es importante conocer algunos materiales para el proceso que nos pueden presentar la facilidad de realizar la preparación de dicho medio. Estos pueden ser de adquisición barata o un poco más cara por lo comercial. A continuación se describe el material que se debe tener en cuenta para el buen desarrollo en el proceso de preparación medios de cultivo.

Material	Reactivos
30 Cajas de Petri estériles	Agar con Extracto de malta (EMA)
10 Tubos de ensaye con tapa de rosca	Agar con papa y dextrosa (PDA)
1 Matraz Erlenmeyer de 1000 mL	Agar-Agar
1 Vaso de precipitados de 100 mL	Malta Tostada
3 Mecheros con alcohol o Bunsen	Extracto de levadura
1 Parrilla eléctrica	Hipoclorito de levadura
1 Agitador de vidrio o agitador magnético	Alcohol etílico
1 Espátula	Agua potable o destilada
1 Balanza o báscula	
1 Olla exprés o autocable	
1 Soporte de vaporera o base para autoclave	
1 Par de guantes de asbesto	

Formulación de los medios de cultivo

Para que se comparen costos en la preparación de los medio de cultivo, se preparan tres medios con diferente formulación. Uno es con insumos que se pueden conseguir a bajo costo y los otros dos son medios de formulación comercial.

Se prepara el siguiente medio de cultivo no comercial, utilizando materia prima de bajo costo con la siguiente formulación:

- 20 g de malta tostada
- 2.0 g de levadura
- 20 g de agar-agar
- 0.10 g de gentamicina al (60-68 % pureza) incorporados después de la esterilización final

Un segundo medio se prepara con producto comercial conocido como Agar con Extracto de Malta (EMA) de la marca DIFCO®, en el cual se pesan 33.6 g por cada litro de agua.

El tercer medio de cultivo sugerido es el conocido como Agar con papa y dextrosa (PDA) de la marca DIFCO®, en el cual se pesan 39 g por cada litro de agua.

Una vez pesado, se incorporan los ingredientes para cada medio en un litro de agua caliente y se hierve un minuto, agitando manualmente de forma circular para evitar que se dispare el hervor y se desparrame el líquido. Este proceso se puede realizar en una parrilla y agitando constantemente. El objetivo es disolver completamente el sólido agregado como se observa en la figura 4.



Figura 4. Disolución y agitación del medio de cultivo bajo mechero

Esterilización

La esterilización es un proceso importante, el cual permite la destrucción de todo microorganismo, por la transferencia de calor a través del vapor. Se debe llevar a cabo con mucho cuidado, ya que no se puede descuidar el control de calentamiento. Es importante cumplir con la temperatura, la presión indicada y el tiempo requerido.

Se inicia, colocando en una olla exprés un lecho de agua potable y colocando una base de metal en su interior donde se colocará el material. La olla exprés se calienta como se observa en la figura 5 y una vez preparado los materiales de vidrio, o los materiales de metal o aquel material que se va a esterilizar, la olla es cerrada herméticamente. Este procedimiento es el mismo si se utiliza una autoclave. El material que se va a esterilizar se prepara de la manera siguiente:

- a) **Tubos de ensaye:** El medio de cultivo preparado y en su estado líquido, se coloca en tubos de ensaye. El medio debe ser solo el necesario, es decir, que cuando se incline el tubo el medio no se desborde por la boca del mismo. Los tubos deben ser con tapa de rosca y estos se cierran no herméticamente. Precaución la presión de vapor en el interior del tubo cerrado o apretado puede hacer que exploten en el interior de la olla. La esterilización se realiza en el autoclave a 1.05 kg/cm² o 15 psi a una temperatura de 121°C durante 15 min. Una vez terminado este proceso de esterilización. Los tubos se colocan en una superficie previamente sanitizada y dejan enfriar inclinados para que el medio solidifique. El micelio o el inóculo serán colocados con una aguja de disección o con asa bacteriológica.
- b) **Cajas de Petri:** Si se prepara un litro de medio de cultivo, se recomienda dividirlo en tres porciones en matraces de 500 mL tapados por la boca con papel aluminio y una liga, para evitar que se derrame en el interior de la olla cuando se realice el proceso de esterilización y también facilite el vaciado en las cajas de Petri. El proceso de esterilización se realiza como anteriormente se mencionó. El medio es depositado o vaciado en las cajas cuando llegue a una temperatura aproximada de 35-40°C. Las cajas de Petri pueden ser de vidrio y deben esterilizarse o se pueden usar cajas estériles comerciales. Al vaciar el medio a las cajas de Petri, cada caja debe contener de 20–25 mL de medio de cultivo (figura 6), evitando que las tapas de las cajas de Petri se mojen con el medio de cultivo. Cada litro del medio preparado alcanza para preparar aproximadamente de 40 a 45 cajas de Petri.



Figura 5. Calentamiento de olla exprés si no se realiza en parrilla, se puede realizar con dos mecheros Fisher.



Figura 6. Forma de vaciar el medio a las cajas de Petri, cuidando que al bajar la caja no se impregne de medio la tapa.

Obtención de cepas

La forma de reproducción de los hongos es a través de las esporas, los hongos superiores poseen en el himenio unas células madres que son las encargadas de producir las esporas, en el caso de los basidiomicetos, estas son llamadas basidios.

Las esporas son lanzadas por el himenio al exterior, si se depositan en lugares húmedos y de condiciones favorables, al realizar la fusión o entrecruzamiento compatible entre ellas darán origen al micelio, éste crecerá bajo tierra o leños dando lugar a una seta con basidios en su himenio y se producirán las esporas para que sean nuevamente liberadas al exterior y se complete el ciclo de reproducción (figura 2).

El micelio de los hongos lo podemos encontrar en dos fases distintas. La primera es el micelio vegetativo, lo podemos ver como filamentos generalmente blancos a manera de hilos o de una telaraña inmerso en el sustrato ya sea madera en descomposición, hojarasca, humus del suelo del bosque, etc. Su función es captar alimento mediante la colonización del sustrato y aumentar el área cubierta por él. Si el alimento es uniforme en el sustrato el micelio puede adoptar una forma circular, como sucede en el laboratorio al cultivarlo en una caja de Petri.

La segunda fase depende obligadamente de la primera y es el arreglo del micelio vegetativo para formar cuerpos más o menos sólidos y erectos sobre el sustrato (cuerpos fructíferos o fructificaciones). Este micelio es denominado micelio reproductivo y su función es la producción de hongos, por lo tanto es diferente fisiológicamente del micelio vegetativo cuya función es colonizar.

Para su crecimiento micelial, las mejores fuentes de carbono son el almidón, glucosa, fructosa, maltosa, manosa, sacarosa, pectina y celulosa. Las fuentes de nitrógeno utilizadas por el microorganismo son la peptona, licor de maíz, polvo de torta de soya, polvo de levadura, sulfato de amonio, asparagina, serina, alanina y glicina. Las temperaturas óptimas de crecimiento del micelio son cercanas de 25°C a 28°C y el rango de pH es alrededor de 5.5 a 6.5.

Una de las funciones de las fructificaciones muy aparte de enriquecer la cultura por el cultivo y el consumo, es indudablemente la función de producir "esporas microscópicas" que son dispersadas por el aire como elementos de distribución y simiente de la especie que permitirá la sobrevivencia a través del tiempo en la naturaleza; por lo que estas mismas esporas pueden dar origen al micelio si de estas se obtiene una muestra, es posible reproducirlas como una cepa siempre y cuando las esporas sean suspendidas en un vehículo dispersante como el agua estéril y sembrarlas en medios nutritivos.

El objetivo principal de este proceso es aislar y sembrar un fragmento o tejido del cuerpo fructífero (hongo) dando margen a producir sobre los medios preparados, durante la incubación el desarrollo del micelio en el interior de la caja. Una vez desarrollado el micelio sobre el medio de cultivo se ha obtenido en conjunto una cepa. Otra forma de obtener una cepa, es desarrollar el micelio a partir de las esporas que sean compatibles para generar un micelio secundario capaz de producir el cuerpo fructífero.

Para llevar a cabo la obtención de cepas, se necesita material similar al anterior y además algunos otros materiales que se describen a continuación:

Material	Reactivos
Cuerpos fructíferos jóvenes (setas)	Agua destilada estéril
Cartulina blanca y/o negra	Alcohol etílico
Bisturí con navaja estéril	
Pinzas de disección estéril	
Cinta adhesiva	
Algodón	
Manta cielo	
Círculos de papel estéril	
10 Caja de Petri con medio de cultivo	
1 Vaso de Precipitados 100 mL	
Cubre bocas	
Cofias o cubrepelo	
Tijeras estériles	

Aislamiento vegetativo

Se entiende por aislamiento vegetativo, el procedimiento de cortar finamente un trocito del tejido interno del hongo y depositarlo sobre la superficie del medio de cultivo preparado realizando los siguientes puntos.

1. Con las manos limpias, se parte por la mitad un ejemplar del hongo, evitando tocar el interior expuesto (figura 7). El interior es cortado longitudinalmente con una navaja estéril y con ayuda de unas pinzas de disección con puntas delgadas estériles, se extrae un fragmento de unos 2 mm de la zona central del cuerpo fructífero y se coloca inmediatamente en una caja de Petri (figura 8) o tubo de ensaye con medio de cultivo inclinado. Se puede colocar hasta seis aislamientos por cada caja de Petri, en forma repartida en toda la superficie (figura 8) o un inóculo por tubo. Este proceso se realiza en un ambiente de absoluta asepsia.



Figura 7. Corte y extracción del tejido del píleo



Figura 8. Fragmentos colocados en el medio de cultivo.

2. Las cajas se sellan con cinta adhesiva o con parafilm (figura 9a) y los tubos se tapan con algodón o con su tapadera de rosca para evitar la contaminación y se incuban en un sitio muy limpio a temperatura ambiente y en penumbra u oscuridad total (figura 9b). Al día siguiente las cajas de Petri se colocan en posición invertida, para evitar que se contaminen y se siguen incubando.
3. Si los aislamientos se realizan correctamente, en dos o tres días se observará crecimiento micelial sobre la superficie del medio, lo que nos indicará un desarrollo normal del hongo que se ha sembrado. Si existen contaminaciones se

manifestaran como colonias brillantes o cremosas, en caso de que el micelio no sea blanco hay que retirar esas cajas de la incubación y desactivar por esterilización.

- Al quinto día se toma una de las cajas de Petri con el crecimiento normal del micelio y se inoculan nuevas cajas de Petri con una porción del medio de cultivo, tomada de las orillas o de la frontera de crecimiento (figura 10a). Este procedimiento se repite dos veces más.

De 2 a 3 semanas después de la última transferencia, cuando el micelio invadió toda la superficie del medio del cultivo contenido en las cajas de Petri (figura 10b), es entonces cuando ya se puede elaborar la semilla o blanco de hongos, en este caso de *P. ostreatus*.



Figura 9a. Sellado de cajas de Petri una vez inoculado



Figura 9b. Incubadora para crecimiento micelial

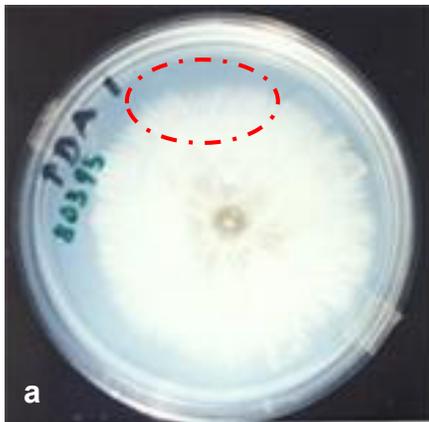


Figura 10a y 10b. Estado de crecimiento de micelio del hongo entre los 12 a 20 días

Aislamiento esporico

Las cepas se desarrollan a partir de las esporas del hongo. Para obtener las esporas sobre una hoja de papel estéril (conocida como esporada), tratando que todo el procedimiento se realice en cámara de flujo laminar o en zona estéril se realizan los siguientes puntos.

- Se realizan cortes de papel en blanco y negro (cartulina) en forma circular del tamaño más pequeño que el diámetro interno de una caja de Petri.
- El cuerpo fructífero seleccionado se le retira el estípite con una navaja y se coloca sobre el papel estéril con la superficie de las láminas hacia abajo y dentro de la caja de Petri. Dicha superficie con láminas es la parte fértil del hongo (el

himenio) y es la que produce las esporas (figura 11). El papel debe contrastar con el color de las esporas, es decir para obtener la esporada de:

- a. Champiñón (*Agaricus bisporus*) se utiliza un papel blanco
 - b. Setas (*Pleurotus ostreatus*) se utiliza un papel negro
 - c. Shiitake (*Lentinula edodes*) se utiliza un papel blanco
3. La superficie sobre la cual se coloca la caja de Petri, se debe limpiar perfectamente y de ser posible desinfectarla con alcohol.
 4. Para que la descarga de esporas se capte bien sobre el papel, se debe mantener el sombrero del hongo aislado de corrientes de aire y de la desecación, lo que puede lograrse tapando el hongo y la hoja de papel con un recipiente de vidrio (figura 11).
 5. Transcurrido un día, se retira del papel el sombrero del hongo y éste tendrá dibujada sobre la superficie la impresión de las esporas, a través de las láminas del hongo (figura 11).



Figura 11. Obtención de esporas de hongos¹⁴

6. Con unas tijeras, se corta un cuadro de 1 cm² del papel de la esporada y se deposita en agua estéril, ayudándose con unas pinzas de disección y se agita fuertemente. De inmediato el agua se enturbia por la presencia de las esporas. Se ha obtenido así una disolución de esporas.
7. Con una pipeta se toman 0.5 mL de la disolución obtenida y se colocan en una caja de Petri con el medio de cultivo seleccionado. La caja se moverá con cuidado unos segundos, para distribuir uniformemente el agua de la disolución en toda la superficie del medio.
8. Las cajas obtenidas se sellan con una cinta adhesiva y se incuban en posición normal, es decir con una tapadera hacia arriba. Los primeros dos días se moverán nuevamente para redistribuir la disolución. A los 6 - 8 días se debe observar la aparición de los monospóricos (que no forma cuerpos fructíferos), es decir micelios originados a partir de una esporada. Estos estarán distribuidos en toda la caja. Una vez que dichos micelios han crecido y que no hay contaminantes en la caja de Petri, se toma un fragmento del medio de cultivo con el micelio y se siembra en una caja con el medio de cultivo fresco. Las especies de hongos que se sabe forman micelio dicariótico tienden a formar fíbulas, siendo necesario comprobar que dichas estructuras están presentes en el micelio. Ya que de faltar, indicará una irregularidad en el micelio, o este es un contaminante.

Preparación de “semilla” o “blanco de hongo”

Cuando sometemos al micelio de los hongos a condiciones diferentes a las de su medio natural, puede degenerar, cambiar sus cualidades naturales (por ejemplo no fructificar) o incluso morir. A este tipo de micelio domesticado y preparado para el cultivo le llamamos “micelio activo” que es originalmente aislado a partir de esporas, obtenidas de un cuerpo fructífero por medio de técnicas de cultivo en las prácticas anteriores.

Hay dos tipos de semilla: la “semilla madre” o micelio madre, master o primaria y la secundaria o semilla para la siembra. La semilla primaria, por su fortaleza fisiológica sirve como base para la propagación vegetativa. También conocida como inóculo primario, proviene directamente del micelio del hongo cultivado sobre un medio de cultivo a base de agar, esto significa que para su preparación, el substrato empleado se inocula con un trozo de agar (micelio de la cepa). Algunas veces el mismo material es usado como primario y secundario. Para evitar confusión entre unos y otros, se pueden utilizar diferentes tipos de recipientes, por ejemplo los primarios en botellas y los secundarios en bolsas termoresistentes³.

A este micelio, que se sometió a un proceso minucioso de selección, adaptación, mejoramiento, etc., natural y artificial, antes de poder ser utilizado como punto de partida para el cultivo de hongos comestibles, se le conoce como “micelio activado” o “spawn” en inglés.

La producción comercial de micelio activado (comercialmente conocido a nivel internacional como “spawn”), es una actividad tan importante que de ella depende toda la industria del cultivo de hongos.

El cultivo de *P. ostreatus* incluye dos etapas, la obtención de la semilla o inóculo, la cual se realiza en condiciones de laboratorio y la producción de carpóforos. Un cultivo de inóculo puro significa que la cepa utilizada es de origen conocido y libre de organismos contaminantes. Para la producción del inóculo o “blanco de hongo” se emplean diversos materiales como semillas o gramíneas. Algunos ejemplos de estos materiales son semillas de trigo, sorgo, centeno, maíz, trocitos de madera (taquetes) etc. La elección de un material adecuado para el inóculo es un factor importante a considerar y los aspectos que determina esta elección es la disponibilidad que exista de este material y el costo de la misma; el sorgo es el cereal que más se utiliza de manera comercial^{4,14}.

Por otro lado, en la agricultura las semillas son parte fundamental para llevar a cabo el cultivo de especies de importancia y por ello, cuando las personas se interesan por el cultivo de los hongos comestibles, lo primero es reproducir la “semilla de hongo”, que es un vehículo formado por una gramínea y el micelio, que se está alimentando principalmente de la cutícula de la semilla y del almidón que éste contiene. A esto en términos de reproducción se le conoce como “inóculo”

Para evitar la germinación de las semillas y también evitar las contaminaciones por otros hongos de crecimiento rápido y dar humedad a este nutriente, es necesario esterilizar las semillas en una autoclave, antes de la siembra del micelio activo.

El objetivo principal es conocer la preparación de “semilla” como se le conoce o “blanco de hongo”, que es el vehículo principal para sembrar el hongo. Preparándose a partir de las semillas de trigo o sorgo para su inoculación.

Como en los procedimientos anteriores, también aquí se enlista los requerimientos para desarrollar esta técnica anotando algunos diferentes a los anteriores.

Material	Reactivos
1 Rollo de bolsas de polipapel 15x25 cm	Agua
2 Recipientes de plástico (palanganas)	Etanol
1 Olla Exprés	
2 Vasos de precipitados 200 mL	
20 Frascos de boca ancha	
3 Mecheros Bunsen o Fisher	
3 Agujas de disección estériles	
3 Bisturí con navajas estériles	
3 Cucharas de metal	
3 Cepas de <i>P. ostreatus</i>	
1 Bolsa o frasco con blanco de <i>Pleurotus</i>	
Cinta adhesiva o ligas	
Trigo o sorgo (5 kg)	

Selección y preparación del material

El inóculo o “semilla”, es el desarrollo masivo del micelio del hongo sobre un sustrato determinado como lo pueden ser granos o semillas de gramíneas u otros materiales dentro de un frasco, botella o bolsas resistentes a altas temperaturas conocidas como de polipapel.

Para las semillas o granos que se seleccionarán debe considerarse el tiempo de almacenamiento, dureza y humedad de los mismos. También deben estar libres de contaminación biológica (otros hongos) y/o química (antifúngicos, por ejemplo).

Técnica para acondicionar y esterilizar los granos o semillas

1. Limpiar las semillas y eliminarles cualquier partícula ajena, mediante enjuagues continuos con abundante agua.
2. Sumergir el grano en agua fría durante 2 o 36 horas dependiendo de su dureza. Granos duros más tiempo y granos suaves o que capten humedad rápidamente menos tiempo. Esto se hace en un recipiente de plástico.
3. Transcurrido el tiempo de hidratación, se escurre bien el exceso de agua, mediante una coladera. En esta etapa los granos tienen una hidratación aproximada de 50 a 55% de humedad, lo cual se podrá descubrir al reventarlo fácilmente con los dedos. Es muy importante controlar la humedad del grano, ya que mientras más alto contenido de agua exista, se promoverá la presencia de contaminantes como las bacterias, mohos u hongos micromicetos, por el contrario la baja hidratación repercutirá en un bajo crecimiento del micelio de *P. ostreatus* en la preparación de nuestra “semilla”.
4. Depositar los granos en frascos de vidrio con boca ancha y capacidad de medio o un litro; se llenarán los frascos dos terceras partes de su capacidad con semilla hidratada, que es equivalente a aproximadamente 400g en frascos de un litro. Cantidades mayores no son recomendables, ya que en caso de contaminación, las pérdidas serán severas o provocarán un desarrollo excesivo del micelio, debilitándolo y disminuyendo su rendimiento. Se coloca la tapa en los frascos, que también puede sustituirse por una tapa de papel aluminio y una liga. El grano también se puede colocar en bolsas de polipapel (no de plástico), a la mitad de su volumen y sellar (solamente envueltas).
5. Los frascos o bolsas con el grano son esterilizados en olla exprés o autoclave a 121°C y/o 15 libras de presión. El tiempo será mayor, cuanto más cantidad de frascos o bolsas con el grano sean esterilizadas y será desde 30 a 45 min. El tiempo también depende de la dureza del grano. Para colocar bolsas evite que estas se encuentren amontonadas o encimadas, el vapor debe de propagarse libremente. Coloque separadores de metal para crear niveles o separe las bolsas.

6. Sacar los frascos o bolsas y colocarlos en un sitio que previamente se haya sanitizado y dejarlos enfriar a temperatura ambiente.
7. Una vez que se ha enfriado la semilla en los frascos, éstos se agitan vigorosamente con la finalidad de separar éstas entre sí y favorecer una aireación e hidratación homogénea.

Preparación del inóculo (micelio primario)

Después de haber acondicionado los granos en forma masiva, se procede a la inoculación de los mismos. Este proceso deberá realizarse en un área aséptica, de preferencia cerrada y ajena de corrientes de aire y con equipo esterilizado. Se recomienda usar una cámara de flujo laminar o en su defecto dos o tres mecheros Fisher, colocados de tal manera que originen una zona estéril o aséptica en el área de la mesa donde se trabaja. El material estéril que se emplea son agujas de disección, bisturí, navajas y asas de platino, y se deben reesterilizar por calor seco; esto se realizará flameándolo en la llama del mechero y dejándolo enfriar antes de su uso.

Se puede usar un vaso de precipitados con alcohol para depositar ahí estos utensilios. El hongo que se sembrará en los frascos o bolsas con semilla, es el micelio que se obtuvo en el desarrollo de "La preparación de inóculos y cepas". El procedimiento para inocular o sembrar el micelio en los granos es el siguiente:

1. Con la ayuda del bisturí o navaja se cuadrificará a través de cortes el micelio desarrollado en el agar y que está contenido en la caja de Petri seleccionada, con la finalidad de obtener porciones o cubos con un área aproximada de 1 cm². Estos son llamados también inóculos.
2. Con ayuda del bisturí se recogen aproximadamente entre 5 y 10 inóculos y se depositan sobre la superficie de los granos de cada uno de los frascos o bolsas que lo contienen (figura 12a).
3. Los frascos o bolsas se tapan rápidamente y se agitan cuidadosamente para que los inóculos se dispersen entre los granos. Las bolsas son selladas con cinta adhesiva o amarrados. Es importante llevar un control de la fecha, especie y variedad de *Pleurotus* u otro hongo que se siembre.
4. Posteriormente se incuban los frascos o las bolsas entre 25 a 30°C, el proceso debe ser en la oscuridad y en un sitio muy limpio, hasta que el micelio cubra totalmente los granos, lo cual ocurre en dos o tres semanas. Durante este período deben realizarse inspecciones continuas para detectar cualquier irregularidad, como contaminaciones, anaerobiosis, fructificación temprana. En el caso de cualquier contaminación se recomienda desactivar dichos frascos a través de la esterilización.

Preparación del inóculo (micelio secundario)

Con los granos de trigo y sorgo preparados anteriormente, que constituyen el micelio primario, se procede a inocular nuevo cereal dentro de bolsas de polipapel de preferencia A esto se le denomina inoculación de grano a grano.

El crecimiento micelial será definitivamente más rápido en grano secundario que en el primario, porque el micelio se habrá adaptado al sustrato después de haber crecido sobre el primario que se usó como inóculo. Además obtenemos mayor cantidad de semilla para la siembra definitiva.

En el interior de una bolsa polipapel de 1.75 L (17 cm de ancho y 24 cm de alto), se colocaron 200 g de sorgo acondicionado de la manera indicada anteriormente. El sistema bolsa-grano se esteriliza en autoclave a 121°C y 15 (psi), durante 15 min, y luego se procede a inocular como se realizó anteriormente dentro de una cámara de flujo laminar, o con ayuda de mecheros Fisher. A

la bolsa con el grano se adiciona 1 cucharada cafetera de micelio primario de *P. ostreatus*, similar a como dispusieron la forma que se muestra en la figura (12 b y c)

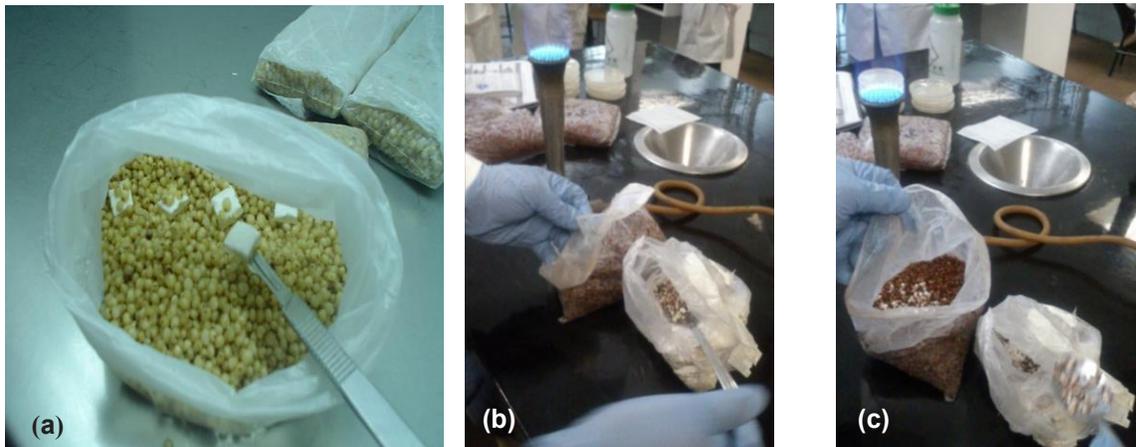


Figura 12.- Siembra de micelio secundario en bolsas de polipapel.

La bolsa fue doblada, tratando que los granos se acomoden lo suficientemente compactados. Las bolsas se sellan con cinta adhesiva y se colocan en la cámara de incubación a una temperatura de 26°C, donde permanecen durante de 2 a 4 semanas, hasta que el micelio coloniza completamente los granos de sorgo¹⁵ (figura 13).



Figura 13. Bolsas inoculadas e incubadas en la cámara de incubación a 26°C

Tratamiento del sustrato, siembra, incubación, fructificación y cosecha de *P. ostreatus*

Material	Reactivos
3 Arpillas cebolleras o 3 m ² de tela de alambre	Alcohol
1 Bolsa de plástico transparente (80 x 50 cm)	Agua
4 Frascos con Spawn o bolsas con "blanco de <i>P. ostreatus</i> "	
2 Mecheros Fisher	
1 Paca de paja	
2 Quemadores con base	
1 Tanque de gas con instalación de gas	
2 Tambos de metal (100 o 200 L)	
2 Pedazos de plástico de 2.5 m ²	
Alambre o cuerda	
1 Termómetro	
1 Piceta con alcohol	
1 Bisturí estéril	
Cinta adhesiva	
Tijeras	

Tratamiento del sustrato, siembra, incubación y fructificación

Es importante este paso ya que da a conocer el tipo de sustrato a emplearse y como debe tratarse para una mejor siembra-cosecha.

1. Con una trituradora, se corta la paja en fragmentos más o menos 5 a 8 cm, no muy pequeños y se coloca en bolsas tipo malla de plástico o de tela de alambre, o arpillera cebollera (figura 14a). Algunas veces al sustrato o a la paja se le efectúa un proceso de prefermentación agregándole agua, amontonándolo y dándole volteos que van desde los 3-10 días, para una mejor asimilación de los sustratos.
2. Para efectuar el proceso térmico a través de vapor, la bolsa o arpillera que contiene la paja es depositada dentro de un tambo, que contiene una base de metal (figura 14b, 14c) y en el interior del tambo hay un lecho de agua (a manera de vaporera). El tambo se calienta mediante un quemador hasta que el interior registre caliente a 80°C. La temperatura se va tomando mediante un termómetro. El tratamiento térmico dura 2 h, modulando la temperatura.





Figura 14. Paja triturada y depositada en una bolsa para el tratamiento térmico a través de vapor. Al final del proceso, la paja es depositada en una mesa limpia.

3. Una vez terminado el proceso térmico, la paja se deposita sobre una mesa, en un lugar aseado y ajeno de corrientes de aire. Se extiende y distribuye en donde se dejará enfriar por unos minutos, hasta alcanzar poco menos de 35°C (figura 14d).
4. Se procede a la inoculación o siembra. Este proceso se realiza a través de una mezcla ordenada en capas de la paja y del blanco del hongo, dentro de bolsas de plástico transparentes de dimensiones 80 x 50 cm. Agregando la paja en la bolsa tratando de formar capas o “camas” de 1 a 2 pulgadas y dispersando el “Blanco de hongo” sobre ésta. Las capas o camas formadas en la bolsa deben de cubrir casi el volumen de la bolsa sin llenarla (figura 14e).
5. A continuación se cierra bien la bolsa ejerciendo cierta presión para medio compactar y eliminar aire, se amarra o sella con cinta adhesiva y etiqueta con la fecha de siembra y se acomoda en un estante en condiciones de oscuridad y a una temperatura de alrededor de los 22-28°C, para empezar el proceso de incubación en un cuarto (figura 15a, b).
6. Al segundo día del proceso de sembrado en las bolsas, se perforan con un bisturí estéril para facilitar la aireación y el desarrollo del micelio (figura 15c). Es indispensable que durante la incubación se tenga cuidado de la limpieza del lugar y también del aseo personal y de la inspección visual de las bolsas, para evitar contaminaciones. A partir de la tercera semana, la paja o el sustrato que se emplee es colonizado por el micelio de *P. ostreatus*, la invasión depende de la vigorosidad y de la buena adaptación del micelio. En caso de contaminaciones es deseable retirar la bolsa con el sustrato para efectuar el tratamiento térmico y confinarlo para efectuar una composta o algún abono.



Figura 15 Secuencia del seguimiento de siembra: a) bolsas sembradas se compactan, se etiquetan o se les marca fecha de siembra, b) colocación en esantes y en condiciones de oscuridad y, c).

7. Cuando se presenten los pequeños primordios en la paja, es decir los pequeños cuerpos fructíferos del hongo, las bolsas se acondicionan bajo la luz indirecta del sol o luz blanca de las lámparas del sitio y deberán regarse con agua potable con un sistema de manguera y aspersor. La humedad relativa ambiental debe oscilar entre 40-50 y la del sustrato entre 50 - 70%. La temperatura de incubación y fructificación debe ser entre 22 a 28°C, dependiendo de la variedad de *Pleurotus* y además con buena ventilación. Es importante evitar que se introduzcan insectos o voladores y otros animales al sitio donde están fructificando los hongos.
8. Después de 3 a 5 días, los primordios se convierten en racimos grandes. Se puede retirar totalmente la bolsa de plástico, pero eso implicará un riego cuidadoso, para evitar la sequedad de los cultivos. En su estado adulto, los hongos quedando listos para su cosecha (figura 16a). Cada bolsa soporta entre tres a cuatro cosechas en intervalos entre 10 a 15 días y en forma decreciente de eficiencia biológica, hasta que se desechan por ser poco productivas. Durante todo este tiempo hay que vigilar la humedad y temperatura, los riegos con agua, la limpieza del lugar y personal, además de las contaminaciones.

Cosecha

La temperatura ambiental se debe mantener entre 20 y 26°C, la frecuencia de riego debe incrementarse cuando se presentan las fructificaciones, se sugiere el riego por aspersión de gota fina. El área de producción permanecerá ventilada, se recomienda cambiar el aire de 2 a 3 veces por día porque las altas concentraciones de bióxido de carbono repercuten en un desarrollo anormal de los carpóforos. En época de frío, deberá tenerse cuidado con los cambios de temperatura y riego. Para efectuar la cosecha, el corte se hace con una navaja desde la base del pie, cuando el sombrero tiene una consistencia compacta y está totalmente extendido (figura 16b), pero sin tener el margen enrollado hacia arriba¹⁵.

1. Una vez observando los hongos de buen tamaño, evitando que estos tomen una coloración ocre en las orillas del sombrero, se procede a cortarlos con un bisturí o navaja, evitando dañar el micelio formado, puesto que puede ser una zona de nuevas fructificaciones.
2. Una vez cosechados los hongos están listos para su consumo o bien para su conserva por alguno de los procesos, deshidratación o por la preparación de una salmuera.



Figura 16. Cosecha de hongos

Indicadores de la producción de hongos

Eficiencia biológica (EB)

Para expresar el grado de bioconversión de energía a partir de la biodegradación del sustrato, el concepto generalmente aceptado es la eficiencia biológica; que es la relación en porcentaje, entre el peso fresco de hongos producidos y el peso seco de sustrato empleado (ecuación 1).

Por ejemplo, si en tres cosechas se registran 7.5 Kg de hongo fresco en un cultivo que contiene un equivalente de paja de 4.0 kg húmedos al 50% (es decir 2.0 Kg de paja seca), la eficiencia biológica calculada con la ecuación resulta de 375%. Este indicador relaciona la naturaleza biológica del hongo respecto a su metabolismo y aprovechamiento del sustrato donde crece¹⁴. La eficiencia biológica depende esencialmente, de las características fisicoquímicas del sustrato a utilizar¹⁵. La calidad productiva de un sustrato se percibe como aceptable a partir de eficiencias biológicas arriba del 100 por ciento. Sin embargo, al cultivar *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café previamente fermentada durante 6 días, se han obtenido eficiencias biológicas hasta de 176 por ciento, y de 97 por ciento de eficiencia biológica cuando se mezcla con bagazo de caña en proporciones de 50% para cada uno³. La eficiencia biológica¹⁶ está dada por la siguiente ecuación:

Ecuación 1

$$EB = \frac{Pfc}{Pss} 100$$

Donde:

EB: Eficiencia biológica en porcentaje.

Pfc: Peso fresco de carpóforos.

Pss: Peso seco del sustrato.

Tasa de producción de hongos (TP)

Este indicador provee información importante del recambio que existe entre cada lote que se cultiva y se relaciona con la efectividad del proceso, a través del tiempo de siembra, incubación, fructificación y cosecha. La tasa de producción es la relación en porcentaje, entre la eficiencia biológica y el tiempo requerido para la cosecha, es decir, representa la eficiencia biológica diaria³. La tasa de producción se calcula mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 2

$$TP = \frac{EB}{T} 100$$

Donde:

TP: Tasa de producción en porcentaje.

EB: Eficiencia biológica en porcentaje

T: Los días desde la inoculación hasta la última cosecha.

Retomado el ejemplo anterior donde se obtuvo una eficiencia biológica del 200% en tres cosechas. Si el tiempo que paso al obtener estas tres cosechas es de 35 días cosechas es de 571.4%. Esto es indicativo que al obtener un valor porcentual mayor la tasa es mejor y las cosechas totales se dan en un intervalo menor de tiempo, lo que indica que los procesos de siembra, incubación y fructificación, metabolismo del sustrato se están desarrollando adecuadamente.

Resumen gráfico de procesos de cultivo

PREPARACIÓN DE SEMILLA



Selección lavado y remojo



Esterilización



Inoculación



Incubación del inóculo



Blanco de hongo para siembra

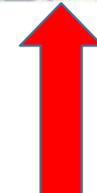
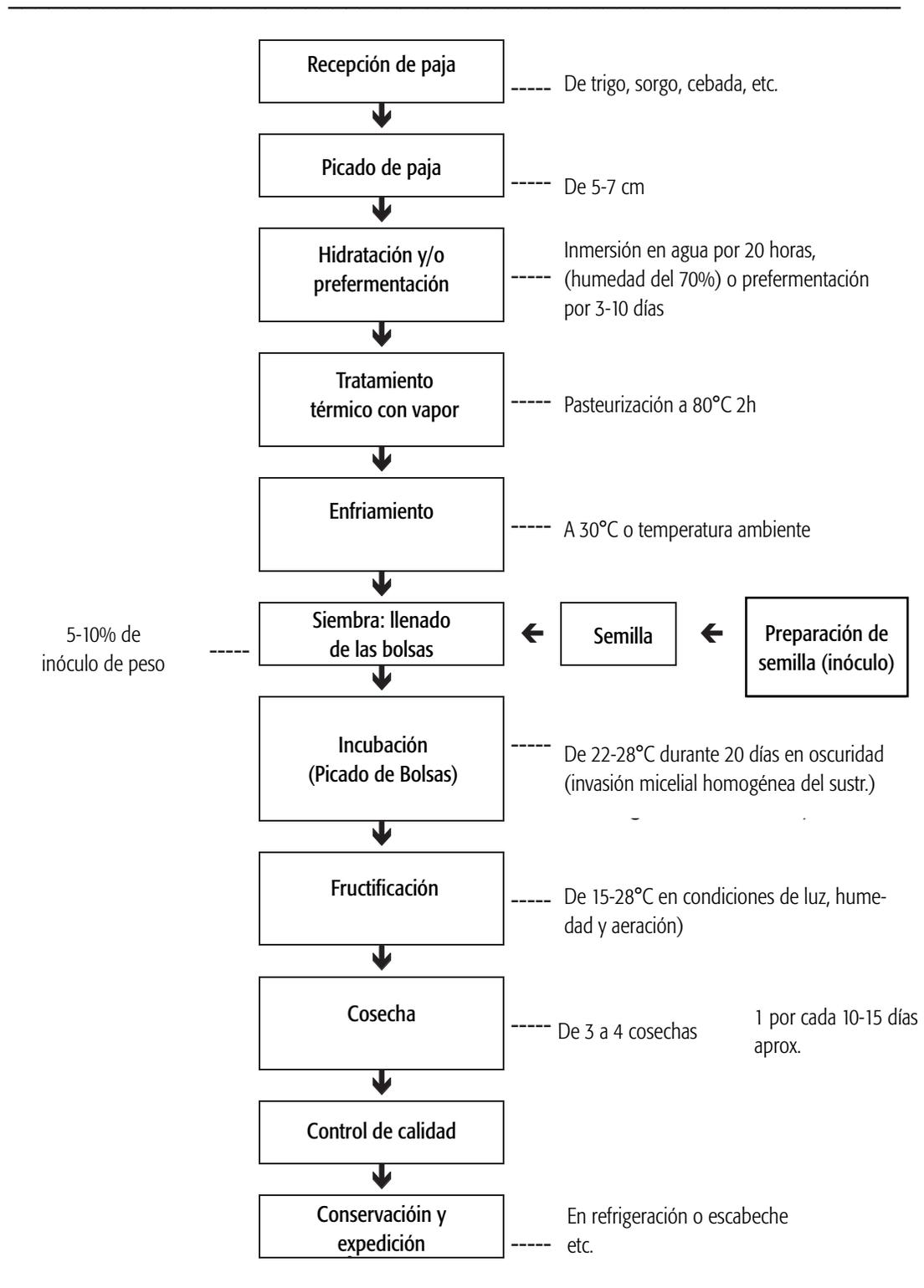




Diagrama de bloques para la producción de *Pleurotus ostreatus*.



Procesamiento de hongos

Hongos en escabeche

Escabeche es aquel producto que está elaborado con vinagre, aceite vegetal, sal y agua pudiendo adicionarse verduras y especias. Encurtido es aquel producto que puede prepararse sin fermentación (escabeche) o bien se prepara con una fermentación parcial^{17,18}. Para prepararlo se necesitan tratar las hortalizas mediante el proceso de escaldado. Escaldar (del latín *excald re*: "introducir algo en agua hirviendo"), es una técnica culinaria consistente en la cocción de los alimentos en agua o líquido hirviendo durante un periodo breve de tiempo (entre 10 y 30 segundos), en algunos casos. Suele tener el objetivo que las hortalizas escaldadas sean más fáciles de pelar.

Materiales para el escabeche

Este material es para 10 frascos con peso neto de 1 Kg

Material	Reactivos
5 Kg Hongo	2 Garrafrones con agua
2 Kg Zanahoria	4 L Vinagre de manzana
2 Kg Brócoli	Guayacol
6 Cebollas	Etanol
2 Manojos de hierbas de olor	Ácido cítrico
2 Cabezas de ajo	Peróxido de hidrógeno o agua oxigenada al 30%
50 g Pimienta en grano	1 L de aceite de comer
1 Matraz aforado 100 mL	Sal
1 Matraz Erlenmeyer de 250 mL	
5 vasos de precipitado 100 mL	
1 Probeta de 100 mL	
1 Mortero	
3 Pipetas graduadas 5 mL	
3 Pipetas graduadas 1 mL	
Utensilios de cocina	
	Cuchillos
	Peladores
	Ollas
	Cucharones
	Sartenes
	Tabla para cortar verduras
	Balanza o báscula
	Estufa
	Gasa
10	Frascos de vidrio estériles con capacidad para 350 g

Preparación de las hortalizas

1.- Preparación de las Hortalizas

Seleccione las hortalizas, lávelas al chorro del agua, sumérlas en agua con desinfectante para hortalizas por el tiempo indicado, elimine el exceso de agua (figura 17)¹⁹.

2.-Pelado y reducción de tamaño

Hongos: Corte el estípite maltratado en los hongos y córtelos en tiras o rodajas dependiendo el hongo a procesar.

Zanahoria: Utilice un pelador y quite la cutícula y elimine las puntas de la zanahoria. Corte en rodajas.

Brócoli: Separar las flores del tallo. Solo deje un centímetro del tallo.

Cebolla y ajo: Pelar y cortar la cebolla en rodajas y el ajo en láminas

3.-Escalde

Los hongos se sumergen por 4 min en el agua de escalde, que contiene 1.0% de ácido cítrico²⁰. La zanahoria y brócoli 5 minutos en esa misma solución. Y por otro lado la cebolla y ajo acitronados en aceite evitando quemarlos (el punto es cuando se observan brillosos). A estas hortalizas se les efectúa la prueba de la enzima peroxidasa.



Figura 17. Hortalizas seleccionadas y acitronadas para la preparación del escabeche

Determinación cualitativa de la enzima peroxidasa

Esta prueba se realiza a las hortalizas como la cebolla (cuando se acitrona en aceite) y algunas otras que se oxidan cuando se cortan y que deben someterse al proceso de escaldado. Las enzimas peroxidadas que contiene estas hortalizas provocan el oscurecimiento de los alimentos procesados; con ello aumenta su vida útil o de anaquel. Para detectar su presencia se utilizan la mezcla de dos soluciones:

1. Preparar una solución alcohólica de guayacol al 0.5% (0.5 mL de guayacol aforado con etanol a 96% al 100 mL)
2. Preparar una solución de peróxido de hidrogeno al 0.8% (0.2 mL de peróxido de hidrogeno 30 volúmenes, aforado con agua destilada a 100 mL)

La determinación se realiza cuando la hortaliza no se ha sometido al escaldado; este será el tiempo cero (control sin escaldar), así como cada minuto durante el proceso de escalde. Se coloca un pequeño pedazo de la hortaliza tratada o sin tratar en un mortero, se macera y se le agregan las soluciones y si aparece oscurecimiento el proceso de escaldado no ha terminado y es necesario continuar el proceso. El procedimiento es el siguiente:

1. Pesar 10 g de muestra.
2. Medir 30 mL de agua en una probeta.
3. Colocar la muestra en un mortero adicionar el agua y macerar.
4. Filtrar con una manta de cielo.
5. Adicionar 2 mL de filtrado a 20 mL de agua en un matraz aforado de 100 mL.
6. Adicionar 1 mL de solución alcohólica de guayacol al 0.5%, evitando mezclar
7. Adicionar 1 mL de peróxido de hidrogeno al 0.08%, evitando mezclar.
8. Tapar el matraz, invertir para mezclar.
9. Esperar el desarrollo de color rojo ladrillo, si este no aparece en 3.5 minutos considere la prueba negativa y el producto correctamente escaldado. Si aparece es positiva.
10. Si la prueba fue positiva para alguna de las hortalizas volver a escaldar por un tiempo de 1 a 2 minutos y vuelva a evaluar la eficiencia de escalde.

5.-Preparacion del vinagre

La concentración de los vinagres comerciales es de 5.0% de ácido acético. La Norma Oficial Mexicana (NOM), señala que estos productos deben tener una concentración de 2.0% de ácido acético (vinagre), por lo que se requiere diluir el vinagre en agua.

Por cada litro de vinagre añadir 1.5 L de agua para obtener la concentración de 2%.

Añadir 1.0% de sal.

Calentar el vinagre y adicionar las hierbas de olor y pimienta envueltas en manta de cielo.

6.-Envasado

Cada frasco con su tapa previamente lavado y esterilizado deberá llenarse con los ingredientes (figura 18) de la siguiente manera:

Colocar en cada frasco

De 110 a 120 g de hongos

De 30 a 33 g de zanahoria

7 g de cebolla



Figura 18. Envasado de hongos y verdura para el escabeche final.

Al gusto si se desea colocar pimienta y algunas hierbas de olor para ser más activo el producto. Completar el llenado con el vinagre que deberá estar caliente, debe estar a nivel del cuello del frasco, cerrar (las tapas deben estar secas) y almacenar como mínimo 7 días para consumirlo.

Deshidratación de hongos

La deshidratación es un método de conservación de alimentos el cual se basa en la disminución de la actividad de agua, de esta manera se bloquea el crecimiento y desarrollo de microorganismos, inhibiéndose reacciones químicas y bioquímicas perjudiciales para el alimento. Existen diferentes métodos de deshidratación, el que se elija dependerá del tipo de alimento, del nivel de calidad deseado y del costo que pueda ser justificable. En el proceso de deshidratación deben tenerse ciertas consideraciones que son fundamentales para llevarlo a cabo, estas consideraciones son:

- La naturaleza de la materia prima
- Área de superficie
- La temperatura de secado
- La velocidad del aire de secado
- La sequedad del aire

Materiales

Hongos frescos
 Parrillas o resistencias eléctricas
 Rejillas
 Ventiladores
 Huacales o mesa
 Manta de cielo o gasa
 Papel aluminio o papel bond
 Bolsas de polipapel
 Secador solar



Figura 19. Lado superior izquierdo: hongo fresco; lado superior derecho: sistema para el deshidratado; lado inferior: se separan los hongos por tamaño.



Figura 20. Los hongos se colocan con el sombrero hacia abajo.

Los alimentos deshidratados son productos cuyos costos de transporte, almacenamiento y manejo se reducen considerablemente, teniendo además la ventaja de poder utilizarse como materia prima para la elaboración de otros productos y tener disponibilidad en cualquier época del año.

Procedimiento de deshidratación solar

Una de las formas más sencillas para deshidratar hongos, es colocarlos en forma ordenada sobre una superficie limpia, que puede ser una mesa o rejilla. Seleccione y clasifique los hongos por tamaño, distribúyalos en la superficie en chicos medianos y grandes. La superficie deberá estar cubierta de un papel muy limpio. Los hongos ya colocados, serán cubiertos con una manta de cielo para que se absorba la humedad y sobre de ella, otro pliego de papel. El lugar donde se coloquen deberá ser directo al sol y debe estar aireado. La humedad será absorbida por la manta de cielo y a su vez el papel absorberá la humedad y éste se seca por acción del sol. Es recomendable que después de un día de secado, los hongos sean girados para que su secado sea homogéneo y evitar el ennegrecimiento. Los procedimientos de secado al sol, pueden ser diversos, como se muestra en las figuras 19 y 20.

Diseño de un deshidratador solar y secado de hongos

Otra forma es colocarlos en el deshidratador²¹ de tal manera que la rejilla de los grandes quede más cercana al medio de calentamiento. Un deshidratador es un dispositivo que remueve la humedad de los alimentos para ayudar a su preservación por períodos prolongados. La mayoría de los alimentos son deshidratados a temperaturas alrededor de 54°C, aunque puede variar dependiendo del alimento.

Se presenta una alternativa de un secador solar sencillo a partir de un refrigerador. Su construcción es muy sencilla y tiene gran capacidad de secado. Consiste en un reutilizar la estructura de un refrigerador fuera de uso al cual se le colocan bandejas de madera, y una malla plástica como soporte para el producto a secar. En la parte superior se coloca un vidrio para dejar pasar los rayos del sol. Se puede colocar un ventilador en la parte inferior o superior para aumentar la velocidad de deshidratación, retirando la humedad rápidamente.

Registrar la temperatura que se genera en el deshidratador dejarlos el tiempo requerido hasta que el sombrero del hongo sea crujiente. Para ello deberá moverse el mueble dirigido hacia el sol en forma manual durante todo el tiempo de secado. Una vez deshidratados dejarlos enfriar²².

El empaquetado de los hongos puede ser en bolsa de polietileno eliminando el aire para evitar contaminación del producto. También se pueden colocar en frascos.

Secadores

La manera más barata y fácil de secar los alimentos es dejar que el sol haga todo el trabajo. El secado al sol se hace en unos marcos de madera cubiertos de manta de cielo o gasa. Se ponen los alimentos sobre la manta de cielo o gasa y para que no se llenen de moscas se cubren con otra manta de cielo, que a su vez se sostiene con piedras para que no se las lleve el viento (figura 21 y 22).

Sin embargo, lo mejor es tener un secador solar que atrape el calor del sol más eficientemente. Puede ser una caja con tapa de vidrio o un mueble más formal con entrada para aire frío (por la parte de abajo) y una salida de aire caliente (por la parte de arriba) del mueble. Con una lámina de hierro ondulada pintada de negro que se coloca enseguida de la entrada de aire fresco y una serie de bastidores con manta de cielo en las que se colocan los alimentos.

Con el secado nada se agrega a los alimentos (en este caso los hongos Shiitake), únicamente se les quita el agua, entre un 80 y 90% del agua, con lo que los microorganismos se pueden desarrollar.

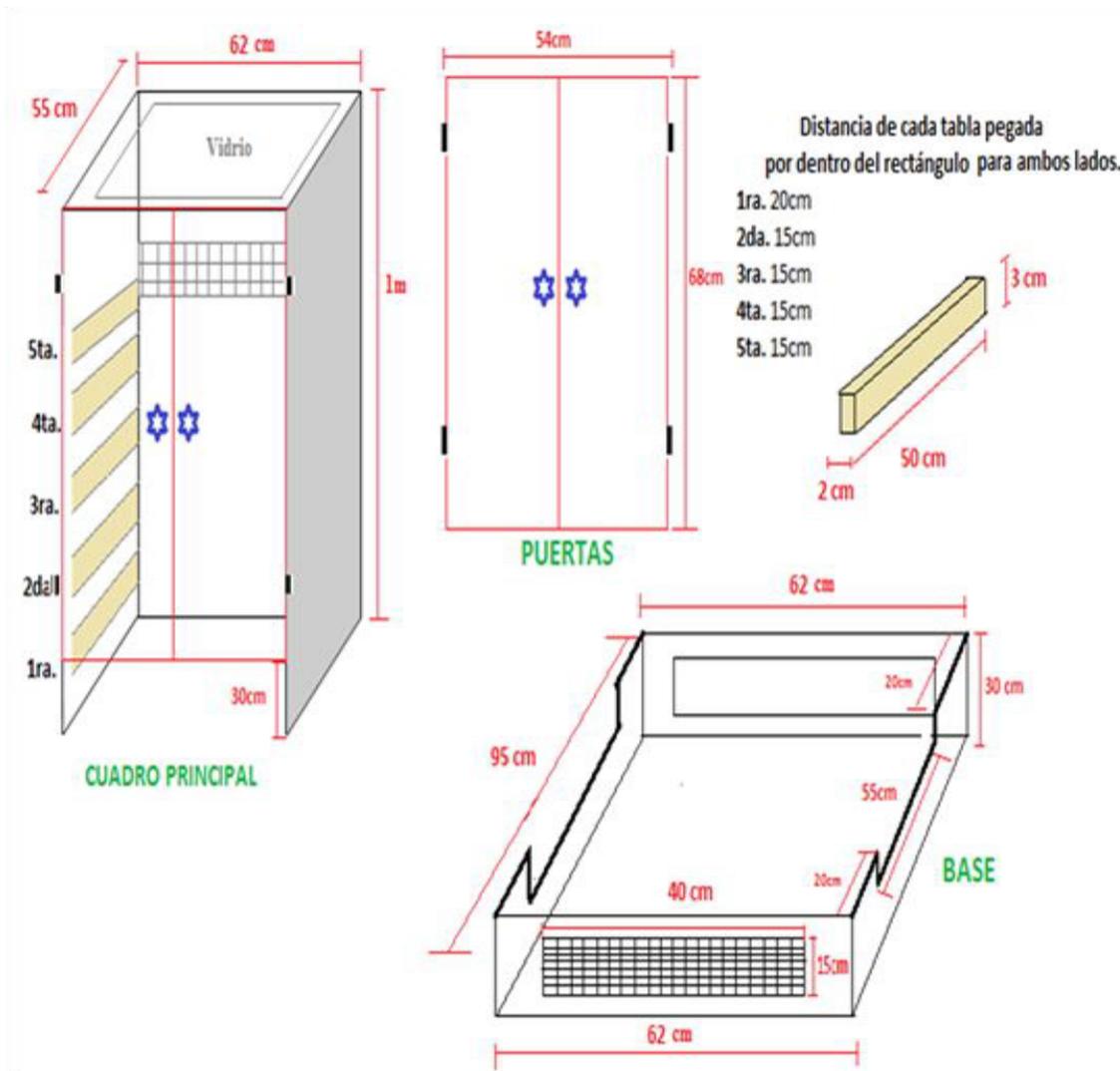


Figura 21. Deshidratadores solares caseros a partir de un refrigerador



Figura 22. Se presenta un costo aproximado de los materiales necesarios para la construcción de un deshidratador solar a partir de un refrigerador

Costos de construcción para el deshidratador solar a base de un refrigerador

Material	Costo (\$)
Base de madera y puertas	700
Pintura	100
Tela de mosquitero	110
Ruedas para base	80
Vidrios	86
Ángulo para ruedas	180
Lámina galvanizada	150
Tachuelas	30
Ángulo para canastillas	120
Total	1556

El secado es popularmente usado en la fruta, por ejemplo los famosos orejones, que son duraznos, manzanas, chabacanos secados. Las pasas son uvas secas y las ciruelas pasas, ciruelas secas. Pero también se secan los higos, mangos, papayas, plátanos y muchas otras frutas, que preferentemente se secan como si fueran rodajas. Así también se secan Chiles secos, como el mulato, chipotle, guajillo etc., también se secan jitomates, zanahoria, calabacitas y todas las demás verduras. Las frutas secas así se comen, porque resultan más dulces, más que cuando están frescos, porque su azúcar está más concentrada y saben muy ricos. También las verduras se deshidratadas se pueden comer rehidratándolas, colocándolas en agua por un rato o sumergiéndolas en agua caliente, generalmente se preparan en sopas

Las frutas y verduras secas tienen una vida larga de por lo menos un año, guardadas en bolsas de papel o plástico que ocupan poco espacio.

Es importante mencionar que existen otras formas de dar el tratamiento final a los hongos, regularmente la creatividad y las nuevas tecnologías deben aplicarse a los alimentos perecederos. El pronto consumo de los hongos es lo mejor. Pero se pueden diseñar productos similares a los que existen en el mercado. Por ejemplo, se pueden adicionar ingredientes y aditivos, como sal, chile en polvo y algunos ajos salteados y semillas como cacahuates y pepitas enchilados y colocar un porcentaje alto de hongos deshidratados. Esto puede ser una golosina rica que permite utilizar los hongos deshidratados.

Otros son el simplemente venderlos deshidratados con el fin de elaborar diversas comidas, en donde los hongos deberán rehidratarse en agua caliente y mezclarlo con los alimentos que se preparan.

Las perspectivas son muchas y es de esperarse que el cultivador de hongos busque las mejores alternativas para el consumo, venta y cerrar el ciclo de proceso, recordar que la inteligencia del hombre no tiene límites.

Bibliografía

- 1.- GUZMÁN G., MATA G., SALMONES D., SOTO-VELASCO C. Y GUZMÁN-DÁVALOS L. (1993) *El cultivo de hongos comestibles*. Instituto Politécnico Nacional. México. p. 245.
- 2.- DE LEÓN-CHOCOJO R., GUZMÁN G. Y MARTÍNEZ-CARRERA D. (1988) "Planta productora de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) en Guatemala". *Revista Iberoamericana de Micología* 4: 297-301.
- 3.- SÁNCHEZ J E, ROYSE D. (2002) *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* México. Noriega Editores.
- 4.- VALENCIA DEL TORO G. Y GARIN A, M. E. (2001) *Aspectos generales del cultivo de Setas comestibles de Pleurotus ostreatus* (en línea). México, Guyunusa. Disponible: http://www.guyunusa.com/articulos_pleotus.htm .
- 5.- ARDÓN L. C. E. (2004). *Evaluación del pericarpio de jacaranda (Jacaranda mimosaeifolia) y pasto estrella africana (Cynodon plectostachyus), para el cultivo artesanal de hongos ostra (Pleurotus ostreatus, Ecosur-0112)*. Tesis Ingeniería en Agronomía. Guatemala.
- 6.- SOTO-VELAZCO C. Y ARIAS A. (2004) *El cultivo de setas (Pleurotus spp.) Tecnología de producción de alimentos*. Ediciones Cuellar. México.
- 7.- WOOD M. Y STEVENS F. (1996) *Fungi of the San Francisco bay area: Pleurotus ostreatus* (en línea). San Francisco, California, US. Consultado 8 ene. 2000. Disponible en: http://www.mykoweb.com/CAF/species/Pleurotus_ostreatus.html
- 8.- *Biología y geología*. (2010). Ciclo Biológico de un Hongo Basidiomiceto (en línea). Consultada el 5 de febrero de 2016. Disponible en: <http://biogeo1bach.blogspot.com/2010/03/blog-post.html>.
- 9.- BELT P. (1998). *Mushroom field guide: Pleurotus spp.* (en línea). Nueva Zelanda. Consultado 18 mar. 2000. Disponible en <http://plug.con.nz/mush/index.htm>
- 10.- VOLK T. (1998). *Tom Volk s fungi; introduction to the kingdon fungi: classification of fungi*. Wisconsin, US, University of Wisconsin-La Crosse. Consultado 24 nov. 1999. Disponible en <http://www.wisc.edu/botany/fungi/volkmyco.html>
- 11.- MILES P. G. Y CHANG S. T. (1997). *Mushroom biology. Concise basic and current developments*. Word Science. Singapore. First Edition.
- 12.- BREENE, W.M. (1990). "Nutritional and medicinal, value of specialty mushrooms". University of Minesota, Sf. Paul, M.N. En: *Journal of Food Protección*. (USA), Vol.53(10):883-894
- 13.- CARDONA URREA L. F. (2001). "Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*". *Crónica Forestal y del Medio Ambiente* 16 (6): 99-119.
- 14.- LÓPEZ R. A. (1995). *Cultivo de Setas: alternativa alimenticia de la economía familiar*. Universidad Veracruzana, Centro de Genética Forestal.
- 15.- SALMONES D., GAYTAN R., PÉREZ R., GUZMÁN G. (1997). "Interacción entre crecimiento micelial y productividad". *Revista Iberoamericana de Micología* 14:173-176.
- 16.- KAWAI H., MATSUZAWA M., TSUTAGAWA Y., SASAKI H., KASUGA A. AND AOYAGI Y. H. (1994). "Relationships between fruiting bodies composition and substrate in hiratake and maitake mushrooms cultivated on sawdust substrate beds". *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 41 (6): 419-424.
- 17.- CODEX ALIMENTARIUS (1992). *Hongos Comestibles y sus Productos*. División 4 (Codex Stan 38-1981).

- 18.- Codex Alimentarius Abreviado (1989). FAO y ONU. Roma.
- 19.- ARTHEY D. (1992). Procesado de Hortalizas. Edit. Acribia.
- 20.- BOSQUES M. E. Y COLINA M. L. (1999). *Fundamentos y aplicaciones del procesamiento térmico de frutas y hortalizas*. Publicaciones UAM.
- 21.- BARBOSA C. G. Y VEGA-MERCADO H. (2000). *Deshidratación de alimentos*. Edit. Acribia.
- 22.- LESUR L. (2004). *Manual de conservación de alimentos*. Edit. Trillas.

Anexo

Proveedores de medios de cultivo y material de laboratorio

BIOXON: Becton Dickinson de México S.A. de C. V. Autopista México-Querétaro. Km 37.5, Complejo Industrial Cuamatla, Cuautitlan Izcalli, Estado de México. C.P. 54730. Méx.

MCD-LAB: Centro industrial No. 1017. Fraccionamiento Industrial "Puente de Vigas". CP. 54070. Tlalnepantla. Estado de México. Tel. y Fax: 53 84-2095, - 2070, y - 2050.

mcd@mcd.com.mx

Distribuidor Bioquímico S.A. de C. V. Calle Oriente 249, No 163. Col. Agrícola Oriental. C.P. 08500. Del. Iztacalco México. D.F. Tel (01) 55 55493668.

distribuidorbioquimico@yahoo.com

alberto_db01@yahoo.com

Guía práctica para el cultivo de Setas

Se terminó de imprimir en octubre de 2017,
con un tiraje de 200 ejemplares, más sobrantes para reposición.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Av. San Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina
C.P. 09340, Del. Iztapalapa, México D.F.
Tel.: (01) 58044600