

**DESARROLLO DE MEDIOS DE CULTIVO ARTESANAL PARA EL  
CRECIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus pulmonarius***



**JOHANNA ALEXANDRA RODRIGUEZ AVILA  
2151637**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AMBIENTALES  
PROGRAMA ADMINISTRACIÓN AMBIENTAL  
SANTIAGO DE CALI  
2020**

**DESARROLLO DE MEDIOS DE CULTIVO ARTESANAL PARA EL  
CRECIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus pulmonarius***



**JOHANNA ALEXANDRA RODRIGUEZ AVILA**

**Proyecto de grado para optar al título de  
Administrador Ambiental**

**Director  
ADRIANA MARIA CHAURRA ARBOLEDA  
PhD QUÍMICA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AMBIENTALES  
PROGRAMA ADMINISTRACIÓN AMBIENTAL  
SANTIAGO DE CALI  
2020**

**Nota de aceptación:**

**Aprobado por el Comité de Grado en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad Autónoma de Occidente para optar al título de Administrador Ambiental**

**GERMAN ANDRES CALBERTO**

---

**Jurado**

**CAROLINA GOMEZ**

---

**Jurado**

**Santiago de Cali, 22 de septiembre de 2020**

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer principalmente a Dios por guiar mi camino.

A mis padres y hermanos por creer en mí y por su apoyo incondicional a mis amigos y compañeros que estuvieron presentes durante el recorrido de este camino, el cual es un paso más para culminar esta etapa.

De igual forma agradecer a la profesora Adriana María Chaurra Arboleda, con quien de su mano culmino este gran proyecto, al profesor Julio Molina por tenerme en cuenta y colaborarme en este proceso con sus conocimientos, a los diferentes docentes por sus enseñanzas, los cuales me permitieron tener el conocimiento y adquirir una ética profesional.

Así mismo agradecer a la universidad Autónoma de Occidente por facilitarme los espacios requeridos para el desarrollo del proyecto.

## LISTA DE CONTENIDO

	pág.
<b>RESUMEN</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>13</b>
<b>1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>14</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>15</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
<b>3.1 OBJETIVO GENERAL</b>	<b>16</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>16</b>
<b>4. MARCO DE REFERENCIA</b>	<b>17</b>
<b>4.1 ESTADO DEL ARTE</b>	<b>17</b>
<b>4.2 MARCO TEORICO</b>	<b>20</b>
<b>4.2.1 REPRODUCCIÓN Y CICLO BIOLÓGICO DE LOS HONGOS</b>	<b>28</b>
<b>5. METODOLOGÍA</b>	<b>34</b>
<b>5.1 ZONA DE ESTUDIO.</b>	<b>34</b>
<b>5.2 ACTIVIDADES, MÉTODOS, TÉCNICAS.</b>	<b>34</b>
<b>5.3 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO ARTESANAL COMO FUENTE DE NUTRIENTES DEL HONGO <i>PLEUROTUS PULMONARIUS</i>:</b>	<b>39</b>
<b>6. RESULTADOS Y ANALISIS</b>	<b>40</b>

<b>6.1 EVIDENCIA FOTOGRAFICA DEL PROCESO DE DESARROLLO Y CRECIMIENTO DEL MICELIO EN LOS MEDIOS DE CULTIVO ARTESANAL ELABORADOS.</b>	<b>46</b>
<b>6.2 COMPARACION DE PRECIOS DE UN MEDIO DE CULTIVO COMERCIAL Y UN MEDIO DE CULTIVO ARTESANAL.</b>	<b>48</b>
<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>51</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>52</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>56</b>

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1. Estructura Química del AGAR</b>	<b>18</b>
<b>Figura 2. Desarrollo del carpóforo de <i>Amanita caesarea</i></b>	<b>28</b>
<b>Figura 3. <i>Crecimiento promedio de medios de cultivo artesanal. Replica 1 (Carbonato de sodio)</i></b>	<b>41</b>
<b>Figura 4. <i>Crecimiento promedio de medios de cultivo artesanal. Replica 2 (Bicarbonato de sodio)</i></b>	<b>42</b>
<b>Figura 5. <i>Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de habichuela</i></b>	<b>43</b>
<b>Figura 6. <i>Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de zanahoria.</i></b>	<b>43</b>
<b>Figura 7. <i>Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de café.</i></b>	<b>44</b>
<b>Figura 8. <i>Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de harina de maíz.</i></b>	<b>44</b>
<b>Figura 9. <i>Tiempo promedio del crecimiento de los medios de cultivo artesanales</i></b>	<b>46</b>
<b>Figura 10. Medio de cultivo artesanal de zanahoria.</b>	<b>47</b>
<b>Figura 11. Medio de cultivo artesanal de harina de maíz.</b>	<b>47</b>
<b>Figura 12 Medio de cultivo artesanal de habichuela.</b>	<b>47</b>
<b>Figura 13. Medio de cultivo artesanal de café.</b>	<b>48</b>
<b>Figura 14. <i>Comparación de precio de Medios de cultivo artesanales y Medio de cultivo convencional</i></b>	<b>49</b>
<b>Figura 15. Portada cartilla Protocolo de medios de cultivo artesanal para crecimiento y desarrollo del micelio <i>Pleurotus pulmonarius</i>.</b>	<b>50</b>

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1. Clasificación de los hongos en el reino Fungí</b>	<b>23</b>
<b>Tabla 2. Clasificación de los hongos de acuerdo a su nutrición</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 3. Características hongo <i>Pleurotus pulmonarius</i></b>	<b>27</b>
<b>Tabla 4. Tipo de clasificación del medio de cultivo según su consistencia.</b>	<b>29</b>
<b>Tabla 5. Clasificación según el uso del medio de cultivo.</b>	<b>30</b>
<b>Tabla 6. Medios de cultivo según su composición.</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 7. Medios de cultivo según su origen</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 8. Medios de cultivo artesanales propuestos para evaluar la eficiencia del crecimiento de micelio del <i>pleurotus pulmonarius</i></b>	<b>35</b>



## LISTA DE ANEXOS

pág.

**Anexo A. Cartilla de metodología de medios de cultivo artesanal. (Ver  
archivo adjunto)**

**56**

## RESUMEN

En este trabajo de grado se desarrollaron medios de cultivo económicos con materiales de la canasta familiar (zanahoria, habichuela, café, harina de maíz, almidón de yuca y gelatina), se realizó en el laboratorio de la universidad Autónoma de Occidente con el fin de tener un medio de cultivo artesanal para que así todas las personas que quieran generar hongos utilicen esta técnica.

Los medios de cultivo artesanales antes mencionados se realizaron teniendo en cuenta los parámetros físico-químicos (temperatura, pH y consistencia) los cuales ayudan al crecimiento y desarrollo del micelio del hongo *Pleurotus pulmonarius*. Al realizar varias muestras de cada uno de los medios artesanales y realizar su debido proceso de inoculación se hace una comparación con el medio de cultivo comercial Papa Dextrosa Agar (PDA) para determinar la eficiencia del medio de cultivo artesanal, dado esto se fija los días en los cuales se debe medir el crecimiento del micelio, esto se da entre 2 a 4 días dependiendo del medio de cultivo artesanal. Posteriormente se evaluó el crecimiento del micelio del hongo comestible *Pleurotus pulmonarius* en cada uno de los medios de cultivo preparados, se estableció que el crecimiento del hongo se dio más rápidamente en el medio de cultivo de habichuela con un promedio de 15 días, por otra parte el crecimiento más lento se presentó en el medio de cultivo elaborado a base de harina de maíz con un promedio de crecimiento de 22 días

### Palabras clave:

Medios de cultivo artesanal, *Pleurotus pulmonarius*, evaluación de medios de cultivo

## INTRODUCCIÓN

El medio de cultivo de hongos es importante para el desarrollo de micelio ya que contiene una mezcla de nutrientes tales como carbono, nitrógeno, azufre, fósforo, elementos trazas, vitaminas, pH las cuales en concentraciones adecuadas propician el desarrollo y crecimiento de este. Otros factores importantes para el desarrollo del micelio son temperatura, oxígeno, humedad, presión osmótica, presión hidrostática y radiación (Avendaño Morales, 2010). Los medios de cultivo fueron utilizados por primera vez por el micólogo Brefeld, quien consiguió aislar y cultivar esporas de hongos en medios de cultivos solidos realizados a base de gelatina, lo cual conllevó a que diferentes micólogos tuvieran la capacidad de consultar y experimentar sobre el tema. (Laboratoria Linsan S.A, 2012)

El objetivo de este trabajo de grado fue realizar medios de cultivo artesanal eficiente para el crecimiento y desarrollo del micelio de *Pleurotus pulmonarius* el cual pueda ser utilizado por cualquier persona interesada en la generación y producción de macromicetos, para ello se toma como testigo un medio de cultivo comercial (PDA) el cual nos va ayudar a determinar la eficiencia del medio de cultivo artesanal.

La importancia de este proyecto radica en que los medios de cultivo artesanal (habichuela, zanahoria, café, harina de maíz) elaborados pueden ser adquiridos por personas de escasos recursos que trabajan en la generación y producción de hongos debido a que los costos de producción de los medios de cultivo son reducidos en un 98% comparados con los medios de cultivo comerciales (PDA) con resultados comprobables en el crecimiento del micelio.

Existen limitaciones en el uso de medios de cultivo comercial como su alto costo, la alta probabilidad de contaminación del medio debido a la falta de asepsia, carencia de conocimiento de la preparación del medio de cultivo comercial (PDA), y/o no tener las condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo del micelio, generando grandes pérdidas económicas (Hernandez Corredor y Lopez Rodriguez, s.f).

Los medios de cultivo artesanales desarrollados en este trabajo fueron preparados en el laboratorio de micropropagación de la Universidad Autónoma de Occidente, se realizaron ensayos con los diferentes medios de cultivo artesanal con el fin de definir y ajustar los parámetros físico- químicos como temperatura. pH, y consistencia adecuados para el crecimiento del micelio.

Posteriormente, se realizó la inoculación de cada medio de cultivo artesanal (proceso donde se inserta un trozo del hongo *Pleurotus pulmonarius* de cada caja Petri que contenía medio de cultivo) para determinar el tiempo de crecimiento del micelio en cada medio de cultivo artesanal, con el propósito de realizar una comparación de la eficiencia. El mismo día de inoculación de los medios de cultivo artesanal se inocula un testigo el cual es una caja Petri con un medio de cultivo comercial (PDA). Se realiza el seguimiento del crecimiento cada 2 o 4 días dependiendo del medio de cultivo artesanal realizado. Con base en los resultados, se establece cual es el medio de cultivo artesanal óptimo.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El hongo comestible y medicinal como el *Pleurotus pulmonarius* puede ser una alternativa para contribuir a combatir la inseguridad alimentaria a nivel global. La inseguridad alimentaria es un tema que afecta las metas y objetivos para el progreso y desarrollo sostenible de cada país ya que se cuenta con un mundo que tiene problemas graves de hambre, inseguridad alimentaria y malnutrición en cualquiera de sus formas, debido a la corrupción, desempleo, cambio climático, etc. . (FAO, OPS, WFP y UNICEF, 2019)

135 millones de personas de 55 países sufren de hambre extrema, ( ONU, 2020) en Colombia persisten problemas relacionados con la inseguridad alimentaria de algunos grupos poblacionales (indígenas, campesinos, población desplazada, víctimas del conflicto armado, mujeres de la tercera edad, niños, afrodescendientes, etc.) especialmente los más pobres y vulnerables ubicados en zonas rurales y las periféricas urbanas en el que el consumo y la disponibilidad de alimentos de la canasta familiar básica son escaso y el precio para adquirirlo es muy alto en dichas zonas . (FAO, 2020)

Una de las mayores causas de la inseguridad alimentaria en Colombia no radica tanto en la escasez de alimentos, sino en la imposibilidad de acceder a ellos, parte de esto se debe al bajo nivel de ingresos de la población vulnerable la cual se ve cada día más afectados por las disfunciones de los sistemas agroalimentarios relacionados con el abastecimiento y la distribución de alimentos que en ocasiones generan alzas notables e injustificada de precios. (FAO, 2020)

Los hongos constituyen un alimento de alto valor nutricional, muchos empresarios nacionales (setas comestibles illari-Pasto Nariño) como internacionales (hongos el cid-México) comercializan orellanas o también conocidas como setas, pero la producción de estos en nuestro país es escasa, esto se debe a que los hongos tiene varias etapas para la generación del macromicetos y a que no se tiene el conocimiento adecuado del proceso de producción de setas.

La producción de hongos consta de varias etapas, una de ellas es la generación de micelio en la cual se usan medios de cultivo comercial costosos como PDA (papa dextrosa agar) y de difícil consecución para los campesinos. El uso de medios de cultivo comercial encarece los costos de producción, por ello existe la necesidad de desarrollar medios de cultivo artesanales con ingredientes de fácil adquisición presentes en la canasta familiar de los colombianos (agua, gelatina sin sabor, almidón de yuca, café, zanahoria, harina de maíz, habichuela, azúcar, bicarbonato de sodio y/o carbonato de sodio).

## 1.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál de los medios de cultivo artesanales propuestos en la experimentación, es el más eficiente para la reproducción del micelio de *Pleurotus pulmonarius*?

## 2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente el hongo se ha considerado un complemento alimenticio de un aceptable valor nutricional, ya que sus proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales, por lo que debe ser incluido en la dieta diaria. El *Pleurotus pulmonarius* es rico en carbohidratos, vitaminas, fibra y minerales, además de que posee un bajo contenido de grasas. Presenta entre el 57 y 61 % de carbohidratos con base a su peso seco, 26% de proteína y un contenido de fibra del 11.9 %. Contiene vitaminas como la niacina, tiamina (vitamina B1), vitamina B12 y la vitamina C o ácido ascórbico. Además se le han detectado minerales como el potasio, fósforo, calcio, entre otros. Su contenido de grasas es de 0.9 a 1.8 % con base en su peso seco y su valor nutricional en relación con otros alimentos como pollo, res, cerdo, leche, frijol, calabaza, maíz y papas. (Gaitan Hernandez, Salmones, Perez Merlo , y Mata, 2006) (Cano Estrada y Romero Bautista, 2016) (Jaramillo , Yepes, Llanos, Velazco, y Velez, 2011) (Mayett y Martinez Carrera , 2010) (Sanchez Palacios, 2015)

La producción de hongos comestibles tiene el potencial de contribuir a la generación de ingresos en familias vulnerables (campesinos, desplazados, madres cabeza de hogar, etc.) y el consumo diario de setas podría mejorar las condiciones nutricionales de las familias.

Dado lo anterior, se infiere que la producción de setas puede contribuir a estrechar la brecha de seguridad alimentaria en varias regiones con vulnerabilidad y déficits alimentarios. Pero los altos costos de los medios de cultivo comercial usados para el desarrollo y crecimiento del micelio de hongos comestibles encarecen la producción de setas, por ello claramente existe la necesidad de producir medios de cultivo artesanales con ingredientes de fácil adquisición (agua, gelatina sin sabor, almidón de yuca, café, zanahoria, harina de maíz, habichuela, azúcar, bicarbonato de sodio y/o carbonato de sodio) presentes en la canasta familiar de los colombianos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar medios de cultivo artesanal eficientes para el crecimiento y desarrollo del micelio del *Pleurotus pulmonarius*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir y ajustar los parámetros físico químicos cruciales en los medios de cultivo artesanales para el crecimiento del micelio de *Pleurotus pulmonarius*.
- Comparar el crecimiento del micelio de *Pleurotus pulmonarius* en los diferentes medios de cultivos artesanales con el comercial (PDA) (testigo) para determinar tiempo de crecimiento del micelio y su eficiencia en medios de cultivo artesanal.
- Comparar precios de los medios de cultivo artesanales y comercial (PDA) para determinar el porcentaje de ahorro.
- Crear una cartilla especificando el protocolo de los dos medios de cultivo artesanal óptimos



## 4. MARCO DE REFERENCIA

### 4.1 ESTADO DEL ARTE

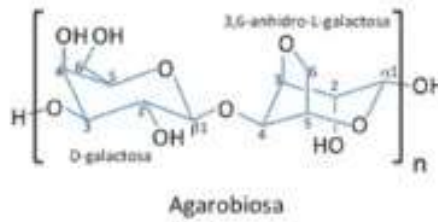
Teniendo en cuenta que la micología es la ciencia que se especializa en el estudio de los miembros del reino fungí, dentro de esta ciencia se vio la necesidad de reproducir hongos en laboratorios con el fin de realizar diferentes trabajos sobre su tamaño, forma y función (Tendencias Media, 2019).

El desarrollo de medios de cultivo “mezclas de nutrientes que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de los microorganismos” (ECURED, S.F) permite la reproducción de hongos en el laboratorio bajo condiciones controladas.

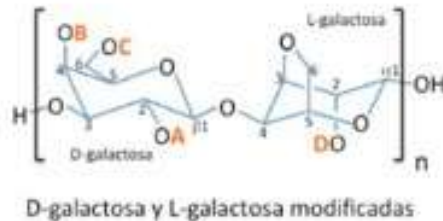
En 1878 el micólogo Brefeld consiguió aislar y cultivar esporas de hongo en medios sólidos realizados a base de gelatina, Posteriormente en 1881 el micólogo Kock utilizó rodajas de patata como soporte nutritivo sólido añadiendo gelatina logrando de esta manera un medio sólido transparente ideal para la observación de la morfología macroscópica de las colonias microbianas. En el año 1882 el médico Alemán Walter Hesse introduce el agar- agar (polisacárido extraído de algas rojas) como solidificante (Universidad de Granada, 2005).

Los medios pueden ser sólidos o líquidos. Para conseguir un medio sólido se debe agregar una sustancia solidificante como el agar (gelatina vegetal) o el agar agar (polisacáridos provenientes de algas), el cual no tiene valor nutritivo y que sirve simplemente para mantener la humedad por un tiempo prolongado, lo cual es fundamental para el desarrollo de los hongos. (Cañedo y Ames, 2004).

(a) Agarosa



(b) Agaropectina



- A) H, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- B) H, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, COOH
- C) H, CH<sub>3</sub>, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, COOH
- D) H, CH<sub>3</sub>, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>

### Figura 1. Estructura Química del AGAR

Tomado de “Manual de prácticas de microbiología básica. Ingeniería biológica”, por Bonilla, M, Pajares, S, Viguera, G, Sigala, J, y Le Borgne, s, 2016. Recuperado de Universidad Autónoma Metropolitana (UAM)-Unidad Cuajimalpa

La humedad es fundamental para el desarrollo de los hongos, la disminución de ésta hace que la formación de micelio también disminuya, por ello una de las características con la que cuenta el hongo es que asegura la perpetuidad formando estructuras propagativas (esporas, conidios) y de conservación (clamidosporas). (Diy science do science at home, 2011)

Hay que tener en cuenta que el hongo de cualquier género y/o familia se desarrolla comúnmente en un medio de cultivo tradicional (papa, dextrosa, agar ) (PDA) que está compuesto de agar el cual empieza a derretirse a partir de 80 °C y soporta temperaturas altas sin descomponerse, solidificándose entre los 35 y 50 °C (Cañedo y Ames, 2004).

En 1887 Petri uno de los ayudantes de Kock utilizó placas de cristal planas, y desde entonces se llama caja Petri. estas cajas son las más utilizadas en la actualidad para elaborar diferentes experimentos y medios de cultivo (ECURED, S.F).

Los medios de cultivo se vierten en placas Petri o en tubos inclinados. Los primeros ofrecen la ventaja de tener mayor superficie para el desarrollo del hongo y se utilizan para trabajos rutinarios de aislamientos, desarrollo de la forma del hongo en el medio de cultivo, velocidad de crecimiento, etc. sin embargo, son más fáciles de contaminarse. Los tubos, a pesar de tener una superficie mucho más reducida, ofrecen seguridad en su manipulación y buena resistencia a la deshidratación y a la contaminación. Por lo general este tipo de placas se utilizan más que todo en laboratorio para conservar cultivos por tiempo prolongado, el medio a utilizar (placas Petri o tubos) se seleccionan con base al tipo de muestra que se quiere reproducir. (Cañedo y Ames, 2004)

En la actualidad existen protocolos diseñados para la elaboración de medios de cultivos a base de ingredientes naturales (habichuela, avena, harina de maíz, frijol calentano, entre otros) muestra de ello, el centro internacional de agricultura tropical (CIAT) desarrollo en el marco de los métodos de investigación en fitopatología una serie de pasos para la preparación de medios de cultivo utilizando como solidificante peptonas y AGAR. (Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, s.f)

En España una página web para diferentes temas científicos llamada Diy science do science at home especifican como preparar un medio de cultivo con gelatina ya que es un producto de bajo costo y que contiene muchos nutrientes para que los hongos se desarrollen normalmente. (Diy science do science at home, 2011)

Según estudios realizados por una micóloga llamada Else Vellinga da a conocer que se utiliza una amplia gama de medios para el cultivo de hongos. La mayoría de los micólogos desarrollan preferencias por ciertos tipos de medios, los cuales son basados en la experiencia y peculiaridades del tipo de hongos que se cultivan habitualmente en los laboratorios. En la experiencia de esta micóloga antes mencionada expresa que Los medios afectan la morfología y el color de la colonia, ya sea su forman o su estructura particular, Por ejemplo, algunos hongos carecen de las enzimas necesarias para utilizar diferentes fuentes de carbono. Todos los hongos requieren varios elementos específicos para su crecimiento y reproducción. (Mycology, 2020)

Los requisitos para el crecimiento del micelio y del macromicetos son generalmente menos estrictos que para la esporulación (es el término que se usa para describir o definir al tipo de reproducción asexual de los hongos que conlleva una serie de

etapas. En primer lugar, mediante la mitosis se duplica el material genético, es decir, el ADN, de manera equitativa. Seguidamente, empieza a formarse el septo o pared de la espora, que divide de forma completa o incompleta una estructura o cavidad en otras más pequeñas. Luego, la membrana plasmática empieza a rodear el ADN, el citoplasma y la membrana aislada que es rodeada por el septo, dando espacio a la forespora. A continuación, se forma una capa de peptidoglucano entre las membranas, y surge como un cuerpo refractario rico en Dipicolinato de Calcio. Tras todo este proceso, llega el momento en el cual la espora se cubre de una cubierta de resistencia y se libera la endospora de la célula, por medio de lisis celular.) (Briceño, 2019), por lo que a menudo es necesario probar varios tipos de medios cuando se intenta identificar un hongo en cultivo. (Mycology, 2020)

La mayoría de los hongos prosperan con el agar dextrosa de papa (PDA), este producto puede ser demasiado rico para muchos hongos, por lo que se obtiene un crecimiento micelial excesivo a expensas de la esporulación.

En estudios realizados por el científico micólogo Stevens R.B encontró que la mayoría de los hongos aislados del suelo, o de sustratos en el suelo, es decir, plantas, crecen bien en agar harina de maíz (CMA), un medio relativamente débil en comparación con PDA. De manera similar, los hongos que habitan la madera y los hongos dematiáceos (pigmentados oscuros) a menudo esporulan mejor en CMA o Agar de avena, los cuales tienen menos facilidad de digestión. (Stevens, 1991)

Ahora bien, una de las virtudes de los hongos es que distribuyen la celulosa para así conservar su capacidad para producir esta cuando se cultiva en un medio débil como Wáter Agar (WA) o Potato Agar de zanahoria (PCA) con un trozo de papel de filtro estéril, paja de trigo o tallo de altramuz colocado en la superficie del agar. La introducción de trozos de tejido, como papel de filtro, trigo, paja, arroz, granos, hojas o estiércol, a menudo produce una buena esporulación dependiendo del organismo cultivado. (Watling, 1977)

## **4.2 MARCO TEORICO**

El uso de hongos por parte de la humanidad se remonta al Paleolítico. Pocas personas, incluso los antropólogos, comprenden cuán influyentes los hongos han afectado el curso de los seres humanos evolución. Los hongos han jugado un papel fundamental en la antigua Grecia, India y Mesoamérica. Fieles a su naturaleza seductora, los hongos tienen siempre suscitó profundas respuestas emocionales: de la adulación de aquellos que los entienden al miedo absoluto de los que no los entienden. (Stamets, 1983)

El ciclo de vida de los hongos permanece en gran parte invisible para la mayoría de los cazadores de hongos; cosa que no aplica para los cultivadores. El cultivador de hongos sigue el camino del ciclo de vida de los hongos de principio a fin. (Stamets, 1993)

Para que los hongos sobrevivan en nuestro mundo altamente competitivo, donde legiones de otros hongos y bacterias buscan nichos ecológicos comunes, a menudo se producen millones de esporas por hongo. Con los agárlicos más grandes, los números se vuelven astronómicos. Dado que los hongos se reproducen a través de esporas, el éxito del ciclo de vida del hongo depende de su producción. (Stamets, 1993)

Como bien se puede saber el reino fungí (hongos) son organismos eucariontes carentes de clorofila cuyas paredes celulares se encuentran formadas por quitina, entre los que se cuentan las setas, levaduras y los mohos, estas setas antes mencionadas son clasificados como osmótrofos lo que significa que desarrollan una digestión externa que implica la secreción de enzimas las cuales son después reabsorbidas estas enzimas son fundamentales para la obtención de nutrientes provenientes de materiales complejos encontrados en tejidos muertos o vivos de plantas y animales. (Pérez Porto y Merino, 2014)

Otras características de los hongos son la presencia de orgánulos celulares y vacuolas, la falta de cloroplastos y la producción de esporas. Hay hongos que resultan parecidos a las bacterias, mientras que otros se asemejan a las plantas, su reproducción es asexual fundamentalmente a través de las esporas. (Pérez Porto y Merino, 2014)

En general, los hongos son terrestres y se desarrollan en zonas oscuras y húmedas dado esto el reino fungí se divide en dos grandes grupos:

Hongo superior: trufas, basiomicetes que se hallan en los bosques como los champiñones, y estos hongos se identifican porque cuentan con una membrana quitinosa, porque posee filamentos.

Hongo inferior: conocidos como Oomicofitos, integrado por hongos como lo son los mohos acuáticos y los zigomicofitos con mohos como mayor exponente (Pérez Porto Y Merino, 2014)

De igual manera se debe resaltar que el reino fungí tiene ciertas características como: carecen de movilidad propia (necesitan de un suelo, superficie o materia orgánica en descomposición y se mantiene siempre en un mismo lugar), posee una pared celular (núcleo celular definido y pared celular rígida). Se reproducen de manera asexual por gemación, fundamentalmente a través de lo que son esporas (Pérez Porto y Merino, 2014)

La clasificación de los hongos se ha cambiado a lo largo de la historia de la biología debido a las diferentes técnicas mejoradas que ayudan al reconocimiento de los hongos en cuanto a otras formas de vida protista y cromista que se les asemeja. (Pérez Porto y Merino, 2014)

**Tabla 1.**

***Clasificación de los hongos en el reino Fungi***

<b>Tipo de hongo</b>	<b>Características</b>
Hongo basidiomicetes (basidiomycota)	Se nutre de la descomposición de materia orgánica de desecho, ya sea específica o no, es decir, de cierto tipo exclusivo de materia orgánica o de cualquiera en general.
Hongo glomeromicetos (glomeromycota)	Se nutren mediante una relación simbiótica con las plantas, colonizando sus raíces e intercambiando con ellas diferentes nutrientes minerales y agua, generados por el hongo, a cambio de carbohidratos y vitaminas que el hongo es incapaz de sintetizar por su cuenta. Esto se conoce como micorriza.
Hongo ascomicetes (ascomycota)	Aquellos que en un lugar de setas tienen ascas, células sexuales productoras de esporas.

Tabla 1. (Continuación)

Hongo zigomicetes (zygomycota)	Mohos que forman zigosporas, es decir esporas capaces de soportar condiciones adversas durante mucho tiempo hasta que finalmente puedan germinar.
Hongos quitridiomycetos (chytridiomycota)	Aquellos hongos microscópicos y primitivos, generalmente acuático, que se reproducen por esporas flageladas.

**Nota:** En esta tabla se muestra la clasificación actual del reino fungí. Adaptado de “Reino fungí” por M.Raffino.2019. Recuperado de <https://concepto.de/reino-fungi/>



**Tabla 2.**

***Clasificación de los hongos de acuerdo a su nutrición***

<b>Hongo</b>	<b>Características</b>
Hongos saprofitos	Se nutren de la descomposición de materia orgánica de desecho, ya sea específica o no, es decir, de cierto tipo exclusivo de materia orgánica o de cualquiera en general.
Micorrizógenos	Se nutren mediante una relación simbiótica con las plantas, colonizando sus raíces e intercambiando con ellas diferentes nutrientes minerales y agua, generados por el hongo , a cambio de carbohidratos y vitaminas que el hongo es incapaz de sintetizar por su cuenta,. Esto se conoce como micorriza

Tabla 2 (Continuación)

Liquenizados	Se nutren a través de relaciones simbióticas producto de la unión del hongo y una alga o cianobacteria, estableciendo una relación tan estrecha que pueden considerarse un mismo individuo. son semejantes a la micorriza.
Parásitos	Se nutren directamente del cuerpo de otros seres vivos ya sea establecidos en su superficie o colonizando el interior de su cuerpo, causandoles diversos daños que pueden ser leves o incluso letales.

**Nota: Los hongos son organismos heterótrofos lo cual significa que obtienen los nutrientes de otros organismos mediante la descomposición de la materia orgánica y su incorporación en diferentes rutas metabólicas. Adaptado de, “Reino fungí” por M.Raffino.2019. Recuperado de <https://concepto.de/reino-fungi/>**

**Tabla 3.**

**Características hongo *Pleurotus pulmonarius***

Ficha Micológica <i>Pleurotus pulmonarius</i>					
Familia	Orden	Clase	Subclase	Nombres populares	Descripción macroscópica
Lentinaceae	Poriales	Basidiomycotina	Aphyllophoromycetes	Pleuroto de verano, pulmonado. ostra de verano, de pulmón, india, italiana. hongo de phoenix. belarri zuriska (eusk.)	Sección: <i>Pleurotus</i> . Sombrero 2-12 (hasta 15-18), de convexo a aplanado o algo deprimido, en forma semicircular de pulmón, concha o abanico. Cutícula viscosa de joven, de color variable, de color blanco-beige-pardo-claro, poco oscuro. Láminas blanquecinas, muy decurrentes y prietas. Pie muy corto 1-7 (a veces sésil), aunque evidente, normalmente excéntrico. Carne blanca, gruesa, densa. Aroma fúngico muy particular, sabor suave.

**Nota:** Adaptado de “Fichas micológicas” por Asociación cultural "Baxauri" Kultur elkartea. Mikologia. Bajauri,2017. Recuperado de: <http://www.fichasmicologicas.com/?micos=1&alf=P&art=163>

#### 4.2.1 REPRODUCCIÓN Y CICLO BIOLÓGICO DE LOS HONGOS

Los macromicetos o setas se componen de dos partes, el micelio y el carpóforo.

El micelio, formado por una serie de filamentos o hifas, en general de color blanco, que vive bajo tierra entre el humus o rodeando raíces, sobre hojas o madera muerta e incluso sobre otros hongos, plantas o animales. Constituye la parte vegetativa del hongo. Estos filamentos o hifas crecen radial e indefinidamente en todas las direcciones, formando en algunos casos círculos completos que fueron denominados “corros de brujas o de hadas” debido a su fructificación espontánea y misteriosa (Adesper, 2007)

El carpóforo o vulgarmente denominado seta. Del extremo de los micelios fructifica el cuerpo fructífero: “seta o carpóforo”, formado, en su mayoría, por un tejido estéril. Solo una pequeña parte de la seta o carpóforo es fértil, la zona conocida como “himenio”, que se corresponde con la láminas, los tubos, los agujones, y, en ciertos casos, con una superficie lisa o ligeramente arrugada. (Adesper, 2007).

En el himenio se producen las esporas que permiten la difusión de una especie. Cuando la espora madura cae sobre el sustrato que puede ser el adecuado o no. En la mayoría de los casos las esporas se pierden por no encontrar unas condiciones adecuadas. Si todo le es favorable germina, produciendo un filamento finísimo (filamento primario) que al entrar en contacto con otro producido simultáneamente por otra espora con signo sexual contrario, se fusionan y forman un nuevo filamento (filamento secundario) y el conjunto de filamentos o hifas recibe el nombre de micelio (Adesper, 2007)



**Figura 2. Desarrollo del carpóforo de *Amanita caesarea***

Tomado de “Biodiversidad fúngica” por COPYRIGHT, 2007. Recuperado de <http://www.adesper.com/projects/biodiversidadfungica/02.ciclo.php>

De este micelio o cuerpo vegetativo del hongo se desarrolla finalmente el cuerpo fructífero, es decir, la seta que vemos en el exterior y que recogemos. Un solo carpóforo o cuerpo fructífero (seta) produce decenas de millares de esporas y, en algunos casos, hasta billones de esporas (*Langermannia gigantea*). Cada vez que estas esporas, cuando están maduras caen al suelo y concurren las condiciones necesarias, comienza un nuevo ciclo. (Adesper, 2007)

#### 4.2.1.1 Medios de cultivo

Los medios de cultivo son una sustancia que contiene los nutrientes necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar los microorganismos bajo condiciones favorables como temperatura y pH, el desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que en algunos casos, son ajenos al propio medio tales como; disponibilidad de nutrientes adecuados, consistencia adecuada del medio, presencia (o ausencia) de oxígeno y otros gases, condiciones adecuadas de humedad, luz ambiental, pH, temperatura, esterilidad del medio. (Cerra, 2013)

**Tabla 4.**

***Tipo de clasificación del medio de cultivo según su consistencia***

Consistencia	Definición
Líquido	Como se presentan en ese estado son llamados también caldos
Sólido	Se preparan a través de medios líquidos agregándoles un agente gelificante. Los más utilizados son la gelatina y el agar.  La gelatina es una proteína animal obtenida de los huesos. Tiene la limitación de que es hidrolizada por muchas bacterias y porque su punto de fusión es bajo. El agar es un polímero de azúcares obtenido de algas marinas. Es una molécula insoluble en agua fría pero soluble en agua caliente. Una solución de 1,5 % forma un gel firme entre 32 y 39 °C.

**Tabla 4. Continuación**

Semisólido	Se preparan a partir de los medios líquidos agregándoles un agente solidificante en una proporción menor que para preparar medios sólidos. Uno de sus principales usos es para la investigación de la movilidad de los microorganismos. Poseen 0,15 % de agar.
------------	--

**Nota:** Adaptado de “Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos “por “H.CERRA” Recuperado de: <https://www.aam.org.ar/download-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>.

**Tabla 5.**

***Clasificación según el uso del medio de cultivo.***

Según su uso	Definición
Medios comunes	Son aquellos que poseen los componentes mínimos para que pueda producirse el crecimiento de microorganismos que no necesiten requerimientos especiales. El más conocido es el agar nutritivo o agar común, resultante de la adición de agar al caldo nutritivo.
Medios de enriquecimiento	Son aquellos que, además de las sustancias nutritivas normales, incorporan una serie de factores indispensables para el crecimiento de microorganismos.
Medios Selectivos	Son aquellos utilizados para favorecer el crecimiento de ciertos microorganismos inhibiendo el desarrollo de otras, ya que poseen una sustancia inhibitoria

**Tabla 5. Continuación**

Medios diferenciales		Se utilizan para poner en evidencia características bioquímicas que ayuden a diferenciar géneros o especies. Contienen compuestos químicos o indicadores sobre los que determinados microorganismos adquieren coloraciones específicas o reaccionan de una manera determinada.
Medios de identificación	de	Son aquellos que se utilizan para poner en evidencia alguna cualidad bioquímica que nos permite reconocer la identidad de un microorganismo
Medios de conservación	de	Se utilizan para conservar una cepa microbiana
Medios de Transporte	de	Se usan por ejemplo para el transporte de muestras clínicas e hisopos que fueron utilizados en el control de superficies que no pueden sembrarse inmediatamente

**Nota:** Adaptado de “Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos “por “H.CERRA” Recuperado de: <https://www.aam.org.ar/download-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>.

**Tabla 6.**

***Medios de cultivo según su composición.***

<b><i>Composición</i></b>	<b><i>Definición</i></b>
Complejos o Indefinidos	Son aquellos cuya composición química exacta se desconoce ya que son el producto de realizar infusiones y extractos de materiales naturales complejos. Son medios muy ricos nutricionalmente aunque indefinidos químicamente

**Tabla 6. Continuación**

Sintéticos Definidos	o	Son aquellos que contienen en su composición exclusivamente sustancias químicas conocidas y disueltas en agua en proporciones determinadas, resultando un medio de composición perfectamente definida.
Semisintéticos		Es una mezcla de los medios anteriores. Llevan algunas sustancias químicas cuya naturaleza y cantidad conocemos, junto con sustancias de naturaleza y composición indefinidas.

**Nota:** Adaptado de “Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos” por “H.CERRA” Recuperado de: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>.

**Tabla 7.**

**Medios de cultivo según su origen.**

<b>Origen</b>	<b>Definición</b>
Naturales	Son los preparados a partir de sustancias naturales de origen animal o vegetal.
Sintéticos	Son los que contienen una composición química cualitativa y cuantitativamente definida. Se utilizan para obtener resultados reproducibles.



**Tabla. 7 Continuación**

Semisintéticos	Son los medios sintéticos a los cuales se les agregan factores de crecimiento bajo una forma de extracto orgánico complejo, como por ejemplo extracto de levadura.
----------------	--

**Nota:** Adaptado de “Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos “por “H.CERRA”  
Recuperado de: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>.

#### **4.2.1.2 Composición de la gelatina sin sabor y el almidón de yuca.**

La gelatina sin sabor es una mezcla semisólida (coloide), incolora y desabrida, la gelatina se obtiene del colágeno, que se encuentra en los huesos, tendones, cartílagos y piel de animales como el cerdo, res y pescado, que a través de una serie de procesos es separada de la grasa. Es una proteína compleja porque está compuesta de aminoácidos y está considerada una proteína en estado puro, siendo esta su mayor propiedad, su composición es 84-90% proteína proveniente del colágeno, 1-2% sales minerales y agua. (Quintero, 2015)

Los científicos utilizan gelatina sin sabor o agar como solidificante para realizar medios de cultivo para el estudio de microorganismos, es un buen sustituto pues este proporciona un medio de crecimiento para diferentes tipos de hongos, bacterias entéricas o enterobacterias, protozoos, etc. (Labbe, 2018).

Por otra parte la naturaleza del almidón de yuca es heterogénea, tiene 2 componentes, un componente menor denominado amilosa que tiene esencialmente una estructura lineal y un componente mayor denominado amilopectina con una estructura ramificada. La amilosa y amilopectina difieren en muchas de sus propiedades, las diferencias son debidas principalmente a la presencia de un 4-5% de enlaces entre las cadenas de las moléculas ramificadas de amilopectina. La composición química del almidón de yuca es: 13% humedad, 0,1% lípidos, 0,1% proteína, 0.01% fosforo, no tiene sabor ni olor. (Almidones de Sucre S. A. S, 2015)

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 ZONA DE ESTUDIO.

Este proyecto se desarrolló en la Universidad Autónoma de Occidente en el laboratorio de micropropagación de la facultad de ciencias básicas, el cual cuenta con un área de 30 metros cuadrados aproximadamente y equipos especializados como cámara de flujo laminar, pH metro, autoclaves, reactivos para identificar hongos, luxómetro, medidor de CO<sub>2</sub>, higrómetro entre otros

Con ayuda del semillero de investigación en “Hongos Comestibles y Medicinales” , el cual por medio de trabajos e investigaciones a lo largo de varios años que lleva conformado ha aportado resultados de estudios los cuales ayudan al medio ambiente, biocultural y socio-económico.

### 5.2 ACTIVIDADES, MÉTODOS, TÉCNICAS.

Para realizar los medios de cultivo artesanal, se tuvo que definir y ajustar los parámetros físico-químicos (pH, temperatura y consistencia) cruciales para el crecimiento y desarrollo del micelio del *Pleurotus pulmonarios* para dicho ajuste se realizó varias muestras de los medios de cultivo artesanal (zanahoria, habichuela, café, harina de maíz) los cuales contienen aminoácidos, glucosa natural, carbohidratos, fósforo, potasio y nitrógeno que ayudan al crecimiento del micelio en estos medios de cultivo artesanal.

Para obtener un pH adecuado se realizaron dos réplicas de medios de cultivo artesanal, la primera con carbonato de sodio con la cual se obtuvo un pH entre 2,5 a 3,9 y una segunda replica con bicarbonato de sodio el cual dio como resultado un rango entre 4 a 6 el cual es un rango óptimo para el desarrollo y crecimiento del micelio.

Se determinó que la temperatura a la cual deben ser sometidos los ingredientes no puede ser mayor a 100°C (punto de ebullición al calor de la estufa) puesto que después de esta temperatura los productos pierden sus propiedades, se degradan las proteínas y el crecimiento del micelio se verá retardado.

Al determinar los parámetros físico químicos y no observar contaminación alguna en el medio de cultivo se procede a inocular (proceso donde se inserta un pedazo pequeño de micelio dentro de las cajas Petri que contienen el medio de cultivo

artesanal). Al haber realizado este proceso antes mencionado (inoculación) se toma un rango entre 2 a 4 días para observar el proceso de desarrollo y crecimiento del micelio *Pleurotus pulmonarius* en cada uno de los medios de cultivo artesanal creados. (Habichuela, zanahoria, café, harina de maíz)

El proceso de inoculación de medios de cultivo artesanal se llevó a cabo el mismo día de la inoculación de un medio de cultivo comercial (Papa dextrosa agar) (PDA), este último servirá como testigo. Este procedimiento se llevó a cabo con el fin de realizar la comparación del tiempo de crecimiento del micelio en este medio con respecto al medio de cultivo artesanal, y poder determinar la eficiencia de cada uno.

El proceso de asepsia para la elaboración de medios de cultivo en el laboratorio se hizo con base al manual práctico del cultivo de setas, aislamiento, siembra y producción de los autores Rigoberto Gaitán, Dulce Salmenes, Rosalía Pérez y Gerardo Mata, publicado en el año 2002, durante el cual el semillero de hongos comestibles y medicinales de la Universidad Autónoma de Occidente han realizado trabajos de investigaciones siguiendo y mejorando continuamente su trabajo y protocolos de asepsia

**Tabla 8.**

***Medios de cultivo artesanales propuestos para evaluar la eficiencia del crecimiento de micelio del *Pleurotus pulmonarius****

Medios de cultivo artesanales propuestos para evaluar la eficiencia del crecimiento de micelio del <i>pleurotus pulmonarius</i>			
Medio de cultivo de habichuela	Medio de cultivo de zanahoria	Medio de cultivo de café	Medio de cultivo de harina de maíz
habichuela: 100 gramos	Zanahoria: 200 gramos	café: 20 gramos	Harina de maíz: 200 gramos

**Tabla 8. Continuación.**

Gelatina sin sabor: 40 gramos	Gelatina sin sabor: 40 gramos	Gelatina sin sabor: 40 gramos	Gelatina sin sabor: 40 gramos
Almidón de yuca: 60 gramos	Almidón de yuca: 60 gramos	Almidón de yuca: 60 gramos	Almidón de yuca: 60 gramos
Azúcar: 10 gramos	Azúcar: 10 gramos	Azúcar: 10 gramos	Azúcar: 10 gramos
Bicarbonato o carbonato de sodio: 0,1 gramos	Bicarbonato o carbonato de sodio: 0,1 gramos	Bicarbonato o carbonato de sodio: 0,1 gramos	Bicarbonato o carbonato de sodio: 0,1 gramos
Agua: 250 ml	Agua: 250 ml	Agua: 250 ml	Agua: 250 ml

En la anterior tabla se muestra las cantidades que se emplearon para realizar los diferentes medios de cultivo artesanal.

Se utilizaron diferentes materiales de la canasta familiar ( zanahoria, harina de maíz, café, habichuela) reactivos (papa dextrosa agar, (PDA)) y elementos como balanza con precisión de 0,01 g el cual nos ayudó a pesar las cantidades que se requirieron para la preparación del medio de cultivo artesanal, un pH metro que muestra si la solución es alcalina o acida, plancha de calentamiento, debido a que se trabajó en un laboratorio este artefacto reemplazo el uso de la estufa, vasos de precipitación ya que el material con el que está elaborado ayuda ya que se trabaja con temperaturas altas (100° C, (punto de ebullición)).

Se utilizó una espátula con el fin de sacar ciertas cantidades de los productos (gelatina sin sabor, almidón de yuca, harina de maíz, azúcar, café),este artefacto también ayuda a mezclar el medio de cultivo artesanal en el proceso de preparación,

el Erlenmeyer es aquel en el cual se vierte el medio de cultivo artesanal ya culminado para realizar el proceso de esterilización, esto facilita que el medio tenga menos riesgo de contaminación en el proceso de servirlo en las cajas Petri

Otro artefacto que se utilizó fue la auto clave, esta máquina es la que realiza el proceso de esterilización de instrumentos a utilizar (Erlenmeyer, espátulas, cajas Petri, vasos de precipitación) la licuadora y cernidor estos se usan debido a que 2 ingredientes (zanahoria, habichuela) para realizar los medios de cultivo artesanal se necesitan llevarlo a estado líquido sin ningún tipo de grumo.

El papel Parafilm es con el cual se sella las cajas Petri que contienen medio de cultivo, por último, se utiliza papel vinipel y aluminio el cual se colocó para cubrir los medios de cultivo y no exponerlos a contaminación y ayuda a conservar la temperatura

### **Protocolo para realizar medios de cultivo artesanales**

- Esterilizar el lugar donde se va a realizar el medio de cultivo artesanal
  
- Esterilizar los utensilios que se vayan a usar
  
- Colocar en la estufa la olla con la cantidad de agua
  
- Agregar el azúcar y revolver hasta que no quede ningún grumo
  
- Dejar 1 min a fuego lento sin revolver
  
- Agregar la harina de maíz o café y revolver o en el caso de la zanahoria y/o habichuela cortarla y pelarla, luego llevarla a la licuadora con agua con azúcar que se encuentra previamente en la olla, Cuando ya se tenga la mezcla de la licuadora, cernir y solo llevar el líquido que sale de esta sin ningún tipo de residuo, Tener la sustancia preparada hasta el momento (jugo) a fuego medio alto y revolver suavemente
  
- Aplicar el almidón en cantidades pequeñas para evitar la formación de grumos

- Aplicar el bicarbonato

- Aplicar la gelatina sin sabor también en pequeñas dosis para evitar la formación de grumos

Finalmente se esteriliza el medio colocándolo en un envase de vidrio y sumergirlo en agua y ponerlo a hervir, se deja hasta que el agua hierva, se envasa en las cajas Petri se cierran y se deja unos días para observar si no presentan contaminación, y poder realizar el proceso de inoculación.

### **Metodología para realizar la inoculación**

- Esterilización del área que se va a utilizar para realizar la inoculación
- Esterilización de implementos que se requieran para realizar la inoculación. (pinzas y/o agujas de inoculación, bisturí, cajas Petri)
- Colocar dos o tres mecheros en forma de triángulo, esto para ayudar a que el medio de cultivo no se contamine.
- Limpiar las cajas Petri que contienen el medio de cultivo artesanal con alcohol al 70% he hipoclorito para desinfectar.
- Flamear las cajas Petri con el medio de cultivo en uno de los mecheros antes mencionados a 4 cm de la llama.
- Flamear las agujas y después introducirlas a un recipiente con hipoclorito para evitar contaminación.
- Llevar las agujas flameadas he introducidas en el recipiente en el hipoclorito a la caja Petri que contiene la cepa.
- Cortar y coger pedazos pequeños y llevar este pedazo al medio de cultivo que se quiera inocular. (una vez sacado el pedazo, cerrar inmediatamente la caja donde se contiene la cepa con la que se quiere inocular)

- El inóculo se coloca en la parte central y se tapa inmediatamente y se puede utilizar papel Parafilm o papel vinípedo para así evitar contaminación

### **5.3 EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL MEDIO DE CULTIVO ARTESANAL COMO FUENTE DE NUTRIENTES DEL HONGO *Pleurotus pulmonarius*:**

Al realizar los medios de cultivo artesanales antes mencionados y medios de cultivo comercial (testigo), se hace la debida inoculación del hongo que se quiere obtener (*Pleurotus pulmonarius*) y seguido a esto se llevará a cabo un seguimiento al crecimiento del micelio, el cual es de 2 a 4 días dependiendo del medio de cultivo artesanal que se efectuó, para determinar el tiempo de desarrollo de este comparándolo con el medio de cultivo comercial (testigo).

Se realiza una comparación de precios tanto de los medios de cultivo artesanales como el comercial (PDA) para una cantidad de 500 gramos de cada medio de cultivo para determinar el porcentaje de ahorro, por último se realiza un cartilla en la cual muestra el protocolo de preparación de los 2 medios de cultivo artesanal que mostraron mejor crecimiento del micelio.

## 6. RESULTADOS Y ANALISIS

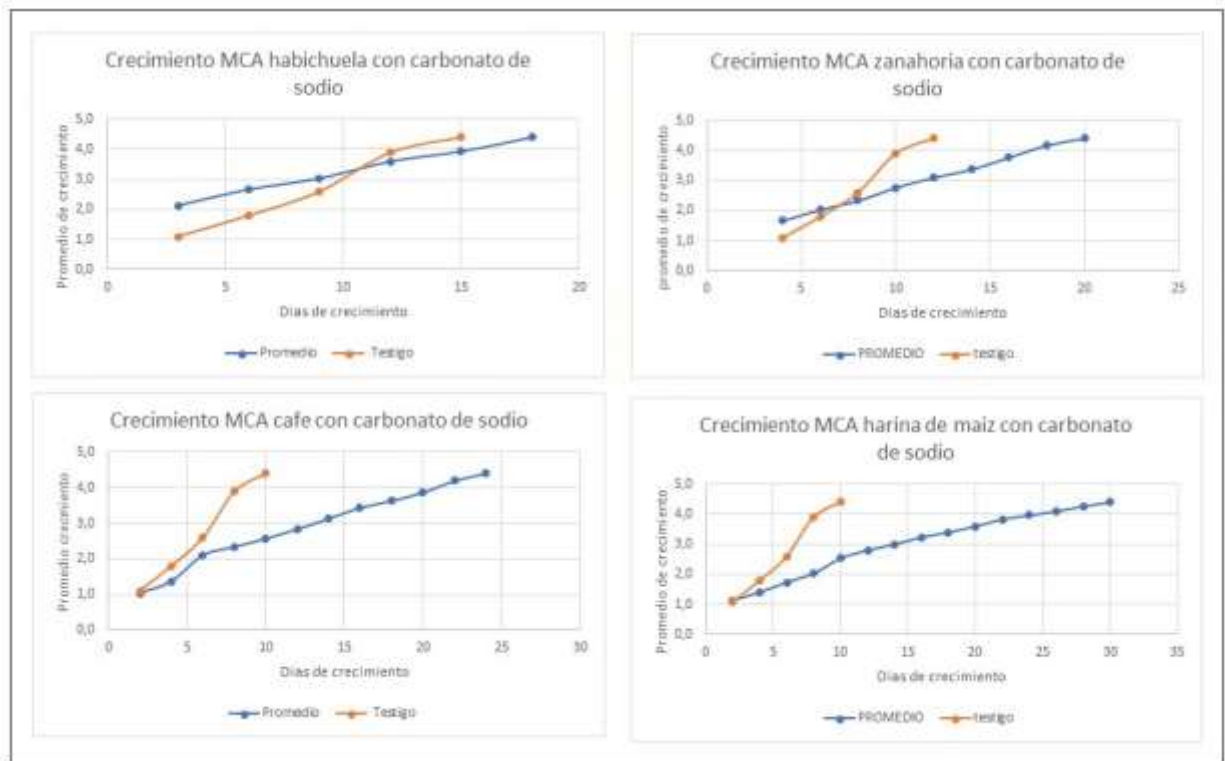
Del ajuste de los parámetros físico químicos se obtuvieron 4 medios de cultivos artesanales (Habichuela, zanahoria, café, harina de maíz) totalmente sólidos, y resistentes a temperatura ambiente del laboratorio de la Universidad Autónoma de Occidente (23°C).

Al ajustar el pH se evaluaron dos replicas, la primera replica con carbonato de sodio con un pH entre 2,5 a 3,9 y la segunda con bicarbonato de sodio con un pH entre 4 y 6 siendo este el más optimo, se llevó a cabo el proceso de inoculación con sus debidos testigos ((PDA) Medio de cultivo comercial),teniendo como resultado el tiempo de crecimiento que se toma cada M.C.A con respecto al comercial (10 días).

El medio de cultivo artesanal que presento crecimiento más rápido del micelio fue el de habichuela pues el micelio se desarrolló en 18 días en la réplica 1 la cual contiene carbonato de sodio y 15 días en la réplica 2 la cual contiene bicarbonato de sodio, la habichuela cuenta con vitaminas C, B-9, B-3, proteínas y minerales los cuales ayudan al desarrollo y crecimiento del micelio del hongo *Pleurotus pulmonarius*. 100 gramos de habichuela contiene 60,0 gramos de carbohidratos, 24,9 gramos de fibra, 23,58 gramos de proteína, 24 miligramos de sodio, y 11,75 gramos de agua, lo cual hace que sea un ingrediente valioso en el medio de cultivo artesanal ya que aporta dichos nutrientes para el crecimiento y desarrollo del micelio (N.A, 2020).

A continuación, se muestra las gráficas del crecimiento promedio de los medios de cultivo artesanal con su respectivo testigo (PDA). La grafica 1, replica 1, muestra los medios de cultivo con carbonato de sodio y la gráfica 2, replica 2, medios de cultivo con bicarbonato de sodio.



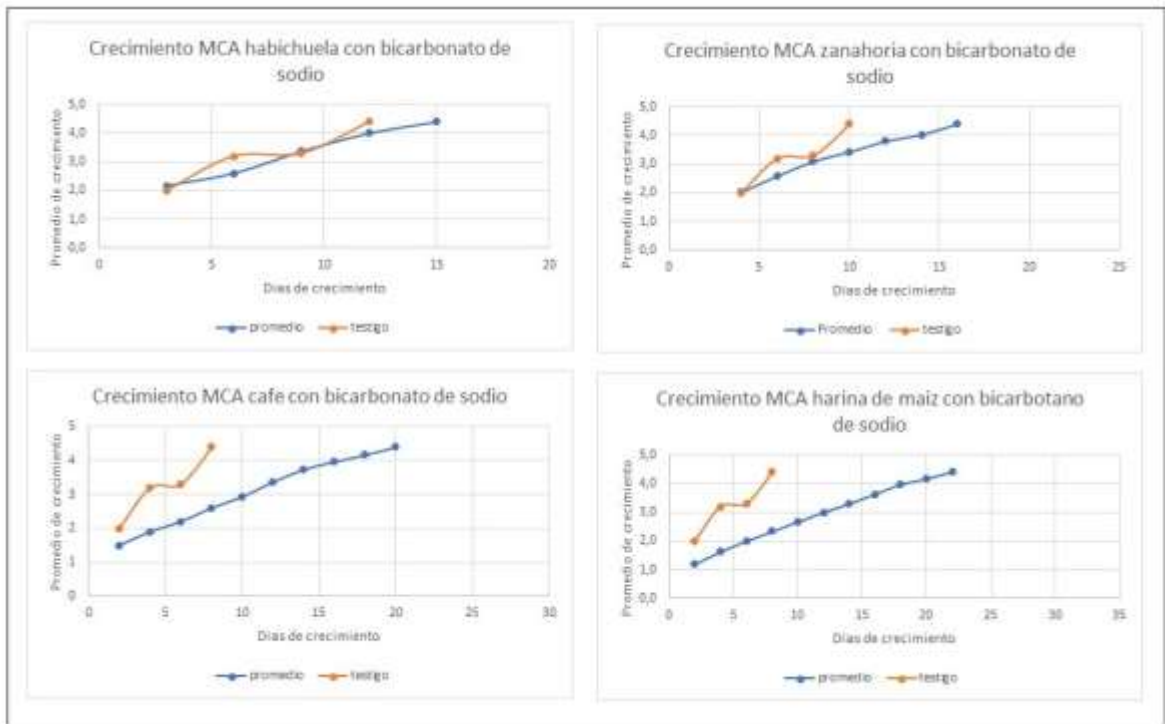


**Figura 3. Crecimiento promedio de medios de cultivo artesanal. Replica 1 (Carbonato de sodio)**

**Grafica de crecimiento promedio de los medios de cultivo replica 1 (carbonato de sodio) con su respectivo testigo.**

En la gráfica anterior se evidencia el crecimiento promedio de los medios de cultivo artesanales realizados (habichuela, zanahoria, café, harina de maíz) se observa que los medios de cultivo artesanal tienen un crecimiento regular exponencial, mientras que el comercial ((PDA) testigo) tiene un crecimiento exponencial variable en cuanto a los días en que muestra crecimiento.

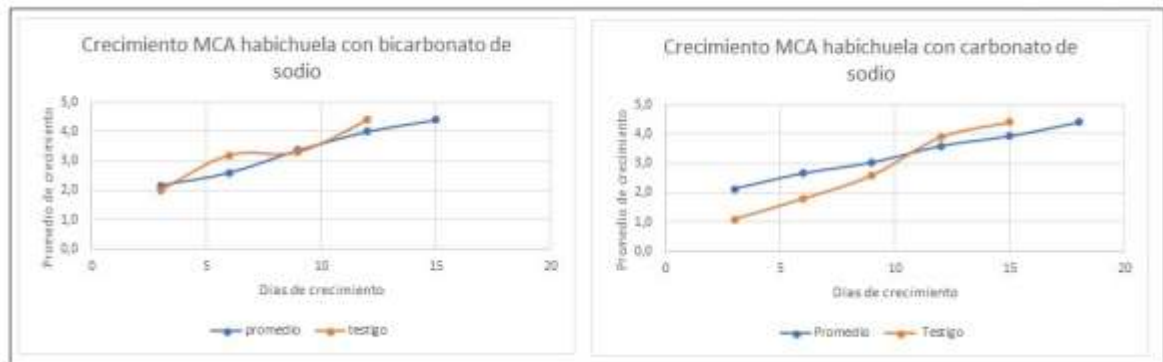
La gráfica 2 se muestra el crecimiento de los medios de cultivo artesanal con su respectivo testigo, esto hace referencia a la réplica 2 en la cual se utilizó bicarbonato de sodio, se observa que al igual que con el carbonato de sodio se tiene un crecimiento exponencial continuo, mientras que el medio de cultivo comercial (PDA, testigo) muestra un crecimiento frecuencial variable.



**Figura 4. Crecimiento promedio de medios de cultivo artesanal. Replica 2 (Bicarbonato de sodio)**

**Grafica de crecimiento promedio de los medios de cultivo replica 2 (bicarbonato de sodio) con su respectivo testigo.**

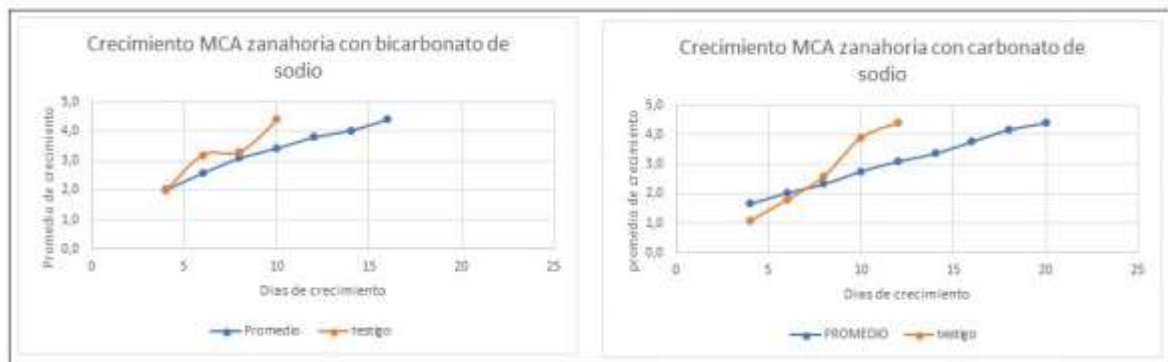
Para comparar el crecimiento del micelio del *Pleurotus pulmonarius* en los diferentes medios de cultivo artesanal con el comercial para determinar el tiempo de crecimiento y su eficiencia en medios de cultivo artesanal se realiza el siguiente análisis



**Figura 5. Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de habichuela**

**Comparación entre réplicas 1 y 2 del crecimiento promedio del medio de cultivo de habichuela con su respectivo testigo.**

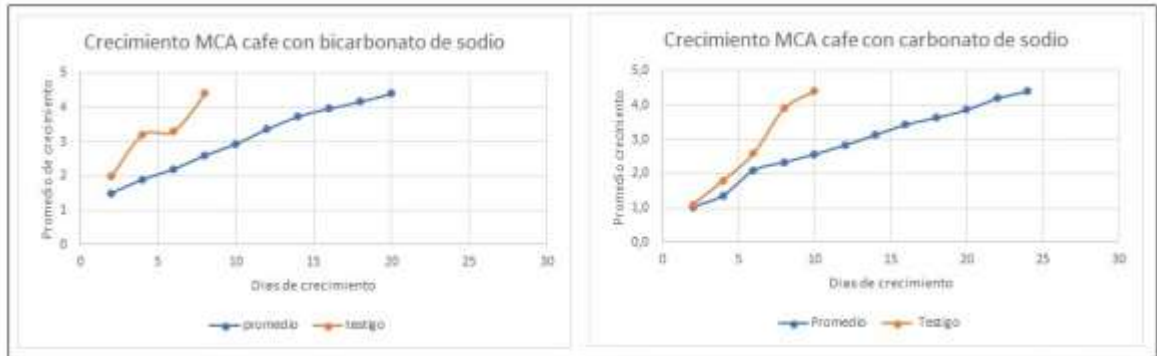
En las gráficas se muestra el crecimiento promedio del medio de cultivo artesanal de habichuela el cual tiene un crecimiento similar respecto al testigo (12 a 15 días aproximadamente) en la réplica 1 el medio de cultivo artesanal tardó 18 días para que el micelio del hongo *Pleurotus pulmonarius* invadiera completamente la caja Petri, en la réplica 2 tardó 15 días para desarrollar y crecer el micelio del hongo *Pleurotus pulmonarius*.



**Figura 6. Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de zanahoria.**

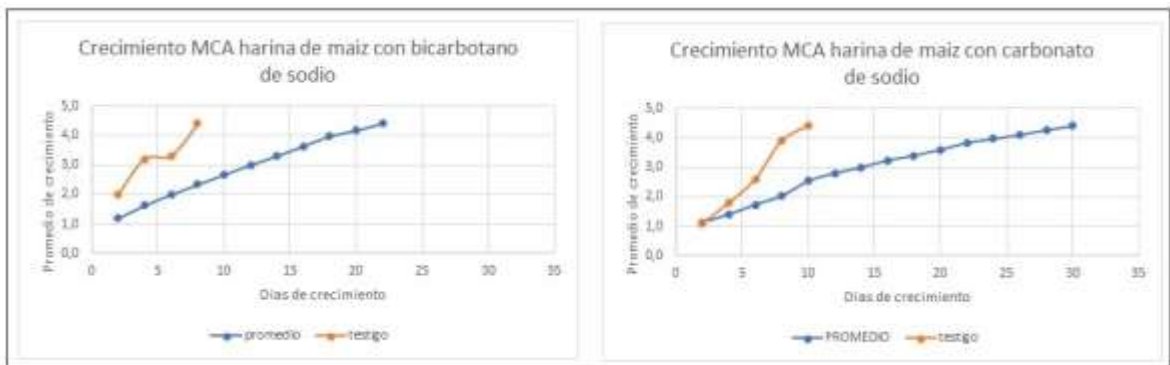
**Comparación entre réplicas 1 y 2 del crecimiento promedio del medio de cultivo de zanahoria con su respectivo testigo**

E medio de cultivo de zanahoria se denomina el segundo medio de cultivo optimo puesto que el crecimiento del micelio e invasión de la caja Petri tardó 20 días en la réplica 1 y 16 días en la réplica 2



**Figura 7. Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de café.**

Comparación entre réplicas 1 y 2 del crecimiento promedio del medio de cultivo de café con su respectivo testigo



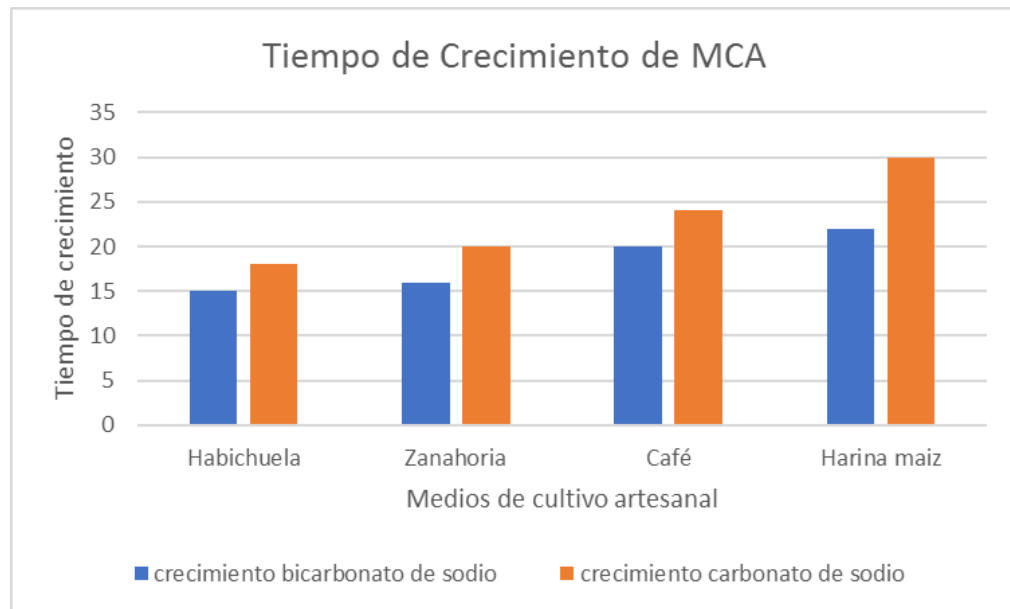
**Figura 8. Comparación de crecimiento de réplicas del medio de cultivo de harina de maíz.**

La invasión total del micelio en la caja Petri con medio de cultivo artesanal elaborado con café tardó 24 días en la réplica 1 y 20 días en la réplica 2, en el medio de cultivo artesanal de harina de maíz, tardó 30 días en crecer y desarrollar micelio de *Pleurotus pulmonarius* (replica 1) y 22 días en la réplica 2. se debe resaltar que estos medios de cultivo artesanal dan resultado de un crecimiento y desarrollo del micelio, pero se debe disponer de un tiempo mayor para ver resultados y no tener retraso en la producción de macromicetos.

Según estudios sobre el crecimiento de micelio de hongos se muestra que el pH es una parte importante para el crecimiento y desarrollo del micelio ya que es un determinante en el comportamiento de las especies de hongos ectomicorrícicos *in vitro*, cada especie posee sus propios valores óptimos de pH, (Reyes, Bran , y Morales , 2011), en las graficas se observa que el MCA de habichuela es el medio de cultivo más eficiente, pues este tardo menos tiempo en crecer y desarrollar micelio, 15 días con bicarbonato de sodio y 18 días con carbonato. El bicarbonato de sodio tiene la capacidad de regular el pH del medio de cultivo alrededor de 6,1, valor que dio en este medio. el cual se encuentra entre los valores óptimos reportados para el desarrollo y crecimiento del micelio que son entre 5.0 y 6.5.

Si se compara el crecimiento y desarrollo del micelio de los testigos y de los MCA, el tiempo empleado en el medio de cultivo comercial (PDA) es de 15 días, este medio de cultivo muestra rápido crecimiento probablemente debido a que posee las cantidades óptimas para el desarrollo y crecimiento del micelio,

En el futuro, debe realizarse análisis del contenido de Carbono y Nitrógeno en los medios de cultivo para evaluar el contenido de nutrientes, no se realizaron debido al surgimiento de la pandemia y la orden de confinamiento obligatorio



**Figura 9. Tiempo promedio del crecimiento de los medios de cultivo artesanales**

El tiempo promedio de cada medio de cultivo se dio de la siguiente manera, habichuela, crecimiento con bicarbonato de sodio 15 días, con carbonato de sodio 18 días, zanahoria crecimiento con bicarbonato 16 días, con carbonato de sodio 20 días, café, crecimiento con bicarbonato de sodio 20 días, con carbonato de sodio 24 días, harina de maíz, crecimiento con bicarbonato 22 días, con carbonato de sodio 30 días.

### **6.1 EVIDENCIA FOTOGRAFICA DEL PROCESO DE DESARROLLO Y CRECIMIENTO DEL MICELIO EN LOS MEDIOS DE CULTIVO ARTESANAL ELABORADOS.**

En las siguientes imágenes se muestra los resultados del proceso de desarrollo y crecimiento del micelio del *Pleurotus pulmonarius* en los diferentes medios de cultivo artesanal, que se elaboraron.

**Proceso de crecimiento de medios de cultivo**



**Figura 10. Medio de cultivo artesanal de zanahoria.**

**Fotografías tomadas por: Johanna Alexandra Rodriguez Avila**



**Figura 11. Medio de cultivo artesanal de harina de maíz.**

**Fotografías tomadas por: Johanna Alexandra Rodriguez Avila**



**Figura 12 Medio de cultivo artesanal de habichuela.**

**Fotografías tomadas por: Johanna Alexandra Rodriguez Avila**



**Figura 13. Medio de cultivo artesanal de café.**

**Fotografías tomadas por: Johanna Alexandra Rodriguez Avila**

## **6.2 COMPARACION DE PRECIOS DE UN MEDIO DE CULTIVO COMERCIAL Y UN MEDIO DE CULTIVO ARTESANAL.**

Como se habló al principio del trabajo de grado, el alto costo de los medios de cultivo comercial para el desarrollo y crecimiento de hongos tiene un precio promedio de 1.200.000 pesos Colombianos para un frasco de 500 g.

Se establece el siguiente comparativo con respecto a los precios de los medios de cultivo artesanal. (zanahoria,19.000) (habichuela 19000) (café 25000) (harina de maíz 21000) para una cantidad de 500 g de cada uno de los medios tanto convencional como artesanal.

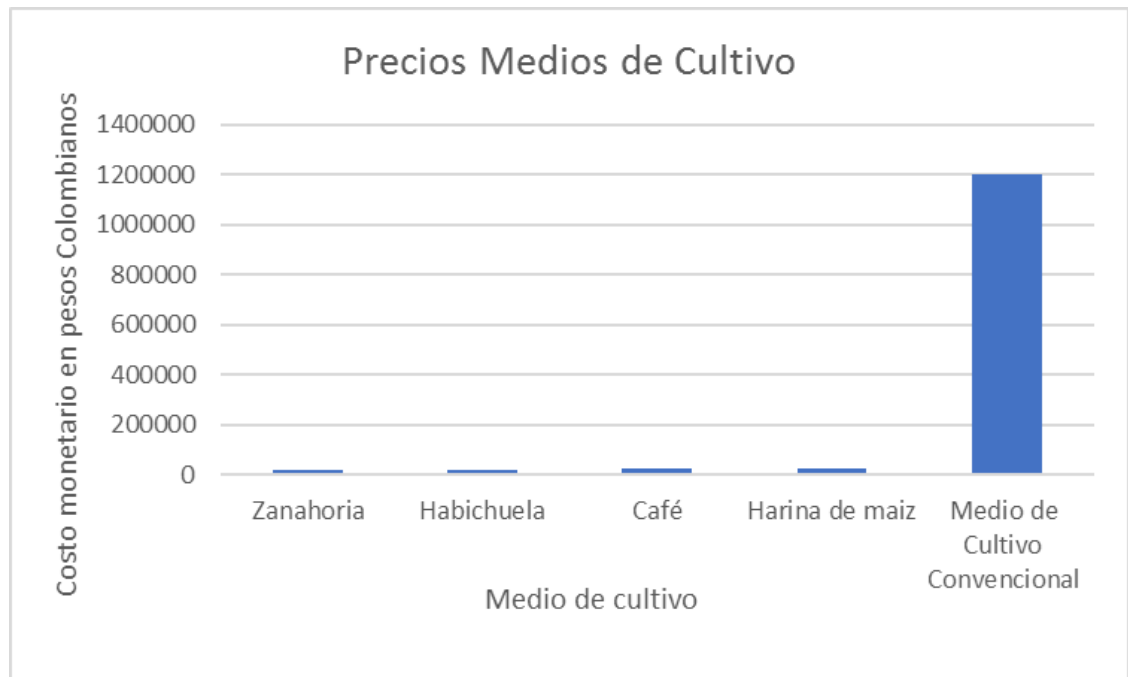
Medio de Cultivo de zanahoria: 98,5% más económico

Medio de cultivo de habichuela: 98,5% más económico

Medio de cultivo de café:98 % más económico

Medio de cultivo de harina de maíz:98,25% más económico





**Figura 14. Comparación de precio de Medios de cultivo artesanales y Medio de cultivo convencional**

Comparación de precios de los medios de cultivos artesanal (habichuela, zanahoria, café, harina de maíz) con el medio de cultivo convencional (PDA), con una cantidad de producción de 500 gramos.

Finalmente se elabora una cartilla especificando el protocolo de los 2 medios de cultivo óptimos.



**Figura 15. Portada cartilla Protocolo de medios de cultivo artesanal para crecimiento y desarrollo del micelio *Pleurotus pulmonarius*.**

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tras el proceso realizado en el laboratorio de la universidad Autónoma de Occidente se puede concluir que el medio de cultivo artesanal es una alternativa viable para el desarrollo y crecimiento del hongo *Pleurotus Pulmonarius* por ser económico y por la fácil obtención en el mercado de los productos utilizados para su fabricación.

Aunque los costos de producción de MCA son menores su elaboración toma más tiempo que la preparación de PDA, por ende, se debe disponer de mayor tiempo para realizar este procedimiento.

El procedimiento realizado permitió definir y ajustar los parámetros físico químicos son aptos para el crecimiento y desarrollo del micelio de *Pleurotus pulmonarios*.

El pH óptimo para el crecimiento del micelio fue de 6.1 observado en el medio de cultivo de habichuela con bicarbonato de sodio.

Los medios de cultivo preparados mostraron buen desempeño para el desarrollo del micelio de *Pleurotus pulmonarios* a temperatura 23°C

El medio de cultivo artesanal de habichuela fue el más eficiente con un tiempo de 18 y 15 días para la colonización total del micelio, dependiendo del uso de Carbonato o bicarbonato de sodio.

El medio de cultivo más eficiente es el preparado con base en habichuela. El precio en la producción de 500 g es de 19.000 pesos con un 98,5% más económicos que la producción de 500 g de medio de cultivo tradicional.

Se sugiere tener una buena asepsia tanto del lugar como en el proceso de elaboración de los medios para evitar cualquier tipo de contaminación.

## REFERENCIAS

- Adesper. (2007). Biodiversidad fúngica Obtenido de <http://www.adesper.com/projects/biodiversidadfungica/02.ciclo.php>
- Almidones de Sucre S. A. S. (2015). *Almidones de sucre, un amigo más*. Obtenido de <http://almidonesdesucre.com.co/es/>
- Avendaño Morales, B. (2010). *Fermentacion en sustrato sólido con hongos filamentosos para la produccion de ácidos grasos insaturados*. [Tesis de grado] Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada Obtenido de <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/492>
- Cano Estrada , A., y Romero Bautista, L. (2016). *Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres*. *Revista chilena de nutrición*. Chile. 43.(1) Obtenido de [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182016000100011](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182016000100011)
- Cañedo, V., y Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. Lima, Peru. Obtenido de <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>
- Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. (s.f). *Preparación de medios de cultivo* . Cali.
- Cerra, H. Fernández M.C, Horak C, Lagomarsino M, Torno C y Zarankin, E. (2013). *Manual de microbiología aplicada a la industria farmacéutica, cosmética y de producción medicos*. Argentina. Obtenido de <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>
- Diy science do science at home. (11 de 04 de 2011). Obtenido de Diy science do science at home.
- Ecured. (s.f). *Medio de cultivo (Microbiología)* Obtenido de [https://www.ecured.cu/Medio\\_de\\_cultivo\\_\(Microbiolog%C3%ADa\)](https://www.ecured.cu/Medio_de_cultivo_(Microbiolog%C3%ADa))

FAO. (2020). *Colombia en una mirada* Obtenido de <http://www.fao.org/colombia/fao-en-colombia/colombia-en-una-mirada/es/>

FAO, OPS, WFP y UNICEF. (2019). *Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el* Obtenido de <http://www.fao.org/3/ca6979es/ca6979es.pdf>

Gaitan Hernandez, R., Salmones, D., Perez Merlo , R., y Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas aislamiento, siembra y producción*. Veracruz, Mexico. Obtenido de [http://www1.inecol.edu.mx/cv/CV\\_pdf/libros/Manual\\_PleurotusGaitan.pdf](http://www1.inecol.edu.mx/cv/CV_pdf/libros/Manual_PleurotusGaitan.pdf)

Hernandez Corredor, R. A., y Lopez Rodriguez, C. (s.f). Evaluacion del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de cundinamarca. cundinamarca. *Revistas. Javeriana* Obtenido de <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/1417>

Hernandez, R. L. (08 de 2004). *Slideshare*. Obtenido de Propiedades Medicinales y Nutricionales de los Hongos Comestibles: Obtenido de <https://es.slideshare.net/gftaognosticaespiritual/05-02-17-propiedades-medicinales-y-nutrisiertales-de-los-hongos-comestibles-wwwgftaognosticaespiritualorg>

Jaramillo , D. I., Yepes, L. V., Llanos G, A. H., Velazco A., M., y Velez, L. M. (Julio – Diciembre, 2011). *Desarrollo de productos a partir de la orellana (Pleurotus ostreatus)* *Investigaciones aplicadas*. 5(2) <https://revistas.upb.edu.co/index.php/index/login?source=%2Findex.php%2Finvestigacionesaplicadas%2Farticle%2Fview%2F912>

Labbe, M. (01 de 02 de 2018). *¿Cómo hacer células bacterianas con gelatina?* Obtenido de <https://www.geniolandia.com/13127288/ideas-para-proyectos-de-ciencias-biologicas>

Laboratoria Linsan S.A. (2012). *Manual Microdiagnóstica tercera parte*. Obtenido de [https://www.lablinsan.cl/manual/MANUAL\\_PARTE\\_3.pdf](https://www.lablinsan.cl/manual/MANUAL_PARTE_3.pdf)

Mayett, Y., y Martinez Carrera , D. (2010). El consumo de hongos comestibles y su relevancia en la seguridad alimentaria de México. *Biblioteca Básica de*

Agricultura Obtenido de  
[https://www.researchgate.net/publication/280090066\\_El\\_consumo\\_de\\_los\\_hongos\\_comestibles\\_y\\_su\\_relevancia\\_en\\_la\\_seguridad\\_alimentaria\\_de\\_Mexico](https://www.researchgate.net/publication/280090066_El_consumo_de_los_hongos_comestibles_y_su_relevancia_en_la_seguridad_alimentaria_de_Mexico)

Mushroom's Value S.L. (2014). EL cultivo de hongos en Colombia Obtenido de <http://www.mushroomsvalue.com/el-cultivo-de-hongos-en-colombia/#>

Mycology, G. (2020). *Culture media for fungi*. Obtenido de <https://www.biomerieux-diagnostics.com/culture-media-fungal-infections>

Todo Alimentos. (2020). Tabla Nutricional: Habichuelas Obtenido de Todoalimentos: <http://www.todoalimentos.org/habichuelas/>

ONU. (21 de 06 de 2020). La pandemia del coronavirus puede duplicar el número de personas que padecen hambre extrema Obtenido de <https://news.un.org/es/story/2020/04/1473162#:~:text=Cifras%20clave%20de%20no%20adoptarse%20medidas%20r%C3%A1pidas&text=Estos%20diez%20pa%C3%ADses%20representaban%20el,decir%202088%20millones%20de%20personas>

Parada plug R.(2020) Esporulación: en plantas, en hongos y en bacterias Obtenido de: <https://www.lifeder.com/espulacion/>

Pérez Porto, J., y Merino, M. (2014). Reino fungi Obtenido de <https://definicion.de/reino-fungi/>

Quintero, R. (2015). *Qué es la gelatina sin sabor?* Obtenido de <https://clubdereposteria.com/es-gelatina-sin-sabor/>

Reyes, C., Bran , M., y Morales , O. (2011). Evaluación del crecimiento micelial de las cepas nativas de *Agricybe cylindraceu* (DC.:Fr) Maire, en diferentes medios de cultivo y pH. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 21(2). 56-61 Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5069954>

- Sanchez Palacios, A. (2015). *Producción de hongos comestibles del género Pleurotus a partir de los residuos vegetales provenientes de la plaza de mercado del municipio de Quibdó*. [Tesis de Maestría] Universidad de Manizales. Manizales. Obtenido de <https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/2204/Tesis%20Annerys%20-%2026%20de%20mayo%20de%202015%20%281%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Stamets, P. (1993). *Growing gourmet and Medicinal mushrooms*. Obtenido de [https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=M9Mz99pAdXMC&oi=fnd&pg=PR13&dq=Stamets,+P.+\(1993\).+GROWING+GOURMET+and+MEDICINAL+MUSHROOMS.&ots=WRa1Rdv73i&sig=6oudwnFEWuwq6UtU\\_2kyqA8R46Y#v=onepage&q=Stamets%2C%20P.%20\(1993\).%20GROWING%20GOURMET%20and%20MEDICINAL%20MUSHROOMS.&f=false](https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=M9Mz99pAdXMC&oi=fnd&pg=PR13&dq=Stamets,+P.+(1993).+GROWING+GOURMET+and+MEDICINAL+MUSHROOMS.&ots=WRa1Rdv73i&sig=6oudwnFEWuwq6UtU_2kyqA8R46Y#v=onepage&q=Stamets%2C%20P.%20(1993).%20GROWING%20GOURMET%20and%20MEDICINAL%20MUSHROOMS.&f=false)
- Stamets, P. a. (1983). *The Mushroom Cultivator. A Practical Guide to*. Obtenido de [https://library.uniteddiversity.coop/Permaculture/Mushroom\\_Cultivator-A\\_Practical\\_Guide\\_to\\_Growing\\_Mushrooms\\_at\\_Home.pdf](https://library.uniteddiversity.coop/Permaculture/Mushroom_Cultivator-A_Practical_Guide_to_Growing_Mushrooms_at_Home.pdf)
- Stevens R. B. (1991). *Mycology Guidebook*. University of Washington Press,. Obtenido de <https://files.eric.ed.gov/fulltext/ED174459.pdf>
- Espada B. (2019). ¿Que es la microbiología? definición, que estudia, para que siirve, ramas, historia. Obtenido de <https://elblogverde.com/que-es-la-micologia-definicion-que-estudia-para-que-sirve-ramas-historia/>
- Universidad de Granada. (09 de 05 de 2005). Introducción al concepto y contenido de la microbiología Obtenido de [https://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/01historia.htm#\\_Toc52370983](https://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/01historia.htm#_Toc52370983)
- Watling, R. (1977). *How To Identify Mushrooms to Genus V: Cultural and Developmental Features*. Eureka, California: Mad River Press Obtenido de <http://psnz.umt.edu.my:8080/neuaxis/Record/000949557-6/Description>

## **ANEXOS**

**Anexo A. Cartilla de metodología de medios de cultivo artesanal. (Ver archivo adjunto)**