

REUTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS COMO SUSTRATO PARA EL CRECIMIENTO DEL HONGO
COMESTIBLE *Lentinula edodes* (SHIITAKE) CULTIVADO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES EN UNA
PLANTA PILOTO

CAMILO ALBERTO PINILLA ORTEGA

ID: 000331110

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA – SECCIONAL BUCARAMANGA

ESCUELA DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Bucaramanga

2023

REUTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS COMO SUSTRATO PARA EL CRECIMIENTO DEL HONGO
COMESTIBLE *Lentinula edodes* (SHIITAKE) CULTIVADO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES EN UNA
PLANTA PILOTO

CAMILO ALBERTO PINILLA ORTEGA

ID: 000331110

Proyecto de grado presentado como requisito para optar el título de:

INGENIERO AMBIENTAL

Director del proyecto

PhD Angélica María Muskus Morales

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA – SECCIONAL BUCARAMANGA

ESCUELA DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Bucaramanga

2023

AGRADECIMIENTOS

A la vida misma por permitirme culminar mi proyecto de grado con una nueva visión del mundo, con una vocación descubierta, con los ánimos y conocimientos necesarios para ejercer mi profesión desde temprana etapa y, dedicarle mis esfuerzos a proyectos de investigación y emprendimiento como Ingeniero Ambiental.

A mi familia, amigos y hermanos de Ikarrango que son parte fundamental de mi ser, gracias por todo el apoyo incondicional y por ser fuente de inspiración en mi vida personal y profesional.

A la Universidad Pontificia Bolivariana, a la Cámara de Comercio y a todos los docentes asociados a este proyecto de investigación por hacer posible la realización de un proyecto con tan gran potencial de impacto en nuestra comunidad (social, económica, medioambiental, productivo, seguridad alimentaria), proyecto que hace parte del punto de partida para el desarrollo de próximos proyectos que beneficiarán a nuestra faculta de Ingeniería Ambiental y territorio.

Agradecimiento para los docentes Yolanda Gamarra, Angélica Muskus, Edwin Córdoba y compañeros, Zadem Pinto, Oscar Arismendi y Andrés Montes por su participación y apoyo en el desarrollo de este proyecto, profundas gracias. Al Laboratorio de Estudios Ambientales y todo su equipo por la colaboración y siempre disposición para el avance y desarrollo del proyecto. Especial mención a mi directora de grado Angélica Muskus, por su guía y acompañamiento durante todas las etapas de este proyecto y a mi compañera Zadem Pinto por todo el apoyo y horas de dedicación a este proyecto.

A mi querido compañero de pregrado y actual socio de proyectos, Juan "Spirulino" Carvajal, por los últimos años de amistad, investigación y profundización en el campo de acción como ingenieros ambientales y por darme esta nueva visión de emprendimiento aprovechando los conocimientos de un egresado de Ingeniería Ambiental.

Contenido

INTRODUCCIÓN	22
OBJETIVOS	24
Objetivo general.....	24
Objetivos específicos.....	24
ANTECEDENTES	25
MARCO TEÓRICO.....	31
Hongos comestibles	31
Shiitake (Lentinula edodes).....	32
Orellana (Pleurotus Ostreatus)	34
Sistemas de cultivo.....	36
Fase 1. Preparación del medio de cultivo	38
Fase 2. Inoculación y llenado de contenedores	38
Fase 3. Incubación o corrida de micelio	39
Fase 4. Colonización completa	40
Fase 5. Iniciación y fijación (pineo)	40
Fase 6. Maduración y cosechado	40
Fase 7. Descanso	41
Condiciones ambientales para el cultivo de hongos comestibles.....	41
Condiciones ambientales para el cultivo de shiitake (Lentinula edodes)	41
Condiciones ambientales para el cultivo de orellana (Pleurotus ostreatus)	42

METODOLOGÍA.....	42
Supervisión y control de variables ambientales. Identificación y formulación de sustratos.....	42
Descripción del área de trabajo	42
Definición y control de variables ambientales	45
Selección de cepas	47
Proceso de elaboración de sustratos	49
Etapas de cultivo y seguimiento.....	66
Incubación	66
Fructificación.....	68
Cálculos y análisis de indicadores de cultivo.....	68
Cosecha, pesaje y análisis.....	68
Seguimiento	69
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	75
Formulación y análisis de sustratos. Supervisión y control de variables ambientales.	75
Análisis y formulación de sustratos.....	75
Supervisión y control de variables ambientales.....	76
Resultados etapas de cultivo y seguimiento	94
Etapa I. Unidades experimentales I (preliminar).....	94
Etapa II. Unidades experimentales II.....	98
Etapa III. Unidades experimentales III.....	102

Análisis de indicadores de cultivo y diferencias morfológicas en el cultivo de Pleurotus Ostreatus	108
Efectos de los sustratos en las características morfológicas de Pleurotus Ostreatus	108
Pesaje final y análisis de indicadores	121
CONCLUSIONES	131
RECOMENDACIONES	133
BIBLIOGRAFÍA	136
ANEXOS	141

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Número de especies de HSC y medicinales.....	32
Tabla 2. Cuerpos activos del hongo shiitake.....	33
Tabla 3. Condiciones ambientales para el cultivo de Lentinula edodes (shiitake).	41
Tabla 4. Condiciones ambientales para el cultivo de Pleurotus Ostreatus (Orellana).	42
Tabla 5. Sensores y equipos instalados en el sistema de control y supervisión.....	44
Tabla 6. Condiciones ambientales en el cultivo de Lentinula edodes (shiitake).	46
Tabla 7. Resumen de las cepas de hongos comestibles empleadas en el proyecto.....	49
Tabla 8. Etapa I. Caracterización de subproductos del procesamiento y cultivo de café utilizados en la formulación de unidades experimentales I. preliminar.	54
Tabla 9. Etapa I. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales I. preliminares.	55
Tabla 10. Etapa I. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales preliminares, blancos.	55
Tabla 11. Etapa II. Caracterización de materiales añadidos a la formulación de unidades experimentales II.....	55
Tabla 12. Etapa II. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales II.....	56
Tabla 13. Caracterización de materiales añadidos a la formulación de unidades experimentales III.	57
Tabla 14. Etapa III. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales III.....	57
Tabla 15. Formulación de sustratos utilizadas para cada montaje de unidades experimentales....	59

Tabla 16. Bolsas adquiridas para el cultivo de hongos comestibles en las diferentes etapas del proyecto.	63
Tabla 17. Tasa de inoculación empleada por etapa del proyecto.	65
Tabla 18. Resolución de problemas, causas y soluciones a problemas típicos del cultivo de hongos.	70
Tabla 19. Análisis de materiales empleados en la formulación de unidades experimentales en la etapa I. y etapa II.	75
Tabla 20. Análisis de sustratos empleados en las unidades experimentales de la etapa III.	76
Tabla 21. Significado de resalto de colores en gráficos de resumen de variables críticas.	78
Tabla 22. Configuraciones programadas en equipo de supervisión y control para todas las etapas del proyecto (I., II., III.)	79
Tabla 23. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.	81
Tabla 24. Etapa I. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.	82
Tabla 25. Etapa I. Resumen días de fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales I. preliminares. Temperaturas superiores a 30°C.	83
Tabla 26. Etapa II. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.	87
Tabla 27. Etapa II. Resumen días fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Humedad relativa inferior a 40%.	88
Tabla 28. Etapa II. Resumen días de fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Temperaturas superiores a 30°C.	88

Tabla 29. Etapa II. Resumen días fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Temperaturas inferiores a 15°C.	88
Tabla 30. Etapa III. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.	92
Tabla 31. Etapa III. Significado de resalto de colores en gráficos de resumen de variables críticas.	94
Tabla 32. Significado de resalto de colores en tablas de seguimiento a la colonización.	94
Tabla 33. Etapa I. Estado de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales I. preliminares.	95
Tabla 34. Cuadro comparativo entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.	96
Tabla 35. Etapa I. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales I. preliminares.....	98
Tabla 36. Etapa II. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales II.....	99
Tabla 37. Etapa II. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales II.....	101
Tabla 38. Etapa III. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales III.....	102
Tabla 39. Etapa III. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales III.....	105
Tabla 40. Ensayo III. Medición de cuerpos fructíferos de Pleurotus Ostreatus por unidad experimental.	109
Tabla 41. Ensayo III. Medición promedio de cuerpos fructíferos de Pleurotus Ostreatus por sustrato.	110

Tabla 42. Ensayo III. Peso por unidades experimentales y promedio de pesos de cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus Ostreatus</i> por sustrato.	114
Tabla 43. Etapa III. Causas y soluciones a los problemas más frecuentes encontrados en la etapa de fructificación de hongos comestibles medicinales.	119
Tabla 44. Etapa III. Pesaje de cuerpos fructíferos completamente desarrollados en unidades experimentales III.....	122
Tabla 45. Etapa III. Cálculo de análisis de indicadores de cultivo de hongos comestibles.	123

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes del hongo <i>Lentinula edodes</i> (shiitake).....	34
Figura 2. Cultivo y fructificación de <i>Pleurotus Ostreatus</i> (Orellana)	35
Figura 3. Resumen de técnicas para el cultivo de hongos comestibles.....	37
Figura 4. Las siete (7) etapas del cultivo de hongos.	37
Figura 5. Vista superior y frontal (izquierda a derecha) de planta piloto con respecto al Centro de Desarrollo Tecnológico (CDT).....	43
Figura 6. Vista lateral y superior de la planta piloto.	43
Figura 7. Paneles utilizados en la construcción de la planta piloto.	44
Figura 8. Equipo de control y supervisión de condiciones ambientales "caja controladora".	44
Figura 9. Interfaz de aplicación para el control de variables ambientales "Shiitake V1.0." y configuración de etapas en la interfaz.	47
Figura 10. Ruta de seguimiento para la selección de cepas de hongos.....	48
Figura 11. Comparación de las cepas utilizadas en el proyecto de cultivo de hongos comestibles.	48
Figura 12. Fotografías de salida de campo a fincas San Sebastián, La Pradera y Buena Vista.	49
Figura 13. Etapa I. Formulación de sustratos en unidades experimentales I. preliminares.....	54
Figura 14. Ensayo II. Formulación de sustratos, unidades experimentales II.....	56
Figura 15. Etapa III. Formulación de sustratos, unidades experimentales III.	57
Figura 16. Formulaciones de sustratos para el cultivo de hongos comestibles.	58
Figura 17. Recepción y secado de materiales enviados por las fincas caficultoras orgánicas. A: Pulpa de café, B: Cisco, C: Madera con corteza, D: Madera sin corteza.....	60
Figura 18. Recepción de materiales considerados posteriormente en la formulación de unidades experimentales B y C. A: Borra de café, B: Cascarilla de arroz, C: Salvado de trigo, D: Vaina de frijol, E: Vaina de arveja.....	61

Figura 19. Herramientas y procesamiento de maderas de cafeto. A: Máquina trituradora de residuos orgánicos referencia “TE200”, B: Corte en mitades de maderas de cafeto, C: Verificación de diámetros de las ramas para su procesamiento, D y E: Madera procesada y triturada, tipo aserrín.	61
Figura 20. Proceso de desintoxicación o remoción de cafeína de la pulpa de café. A: Hervido de material, B: Reposo de pulpa de café desintoxicada.	62
Figura 21. Etapa I. Bolsas de cultivo empleadas en las unidades experimentales preliminares. A: Bolsas de cultivo “Mycobag” calibre 2 con filtro 0,5 micras, B: Bolsas de cultivo con sustratos, C: Doblado de bolsa para esterilización en autoclave.....	63
Figura 22. Etapa II. Bolsas de cultivo empleadas en las unidades experimentales II., calibre 1. A: Bolsas de polipropileno calibre 1. B y C: Esterilización de sustratos, método alternativo en botellas.	64
Figura 23. Etapa III. A. Bolsas de cultivo utilizadas en unidades experimentales III. B y C. Empaquetado de sustratos en bolsas de cultivo y doblado para esterilización de unidades experimentales III.....	64
Figura 24. Sistema de intercambio de gases propuestos en bolsas de cultivo sin filtro. Unidades experimentales II y III. A: Preparación de sistema de intercambio, algodón sintético. B: Fijado con goma elástica, C: Vista final de bolsas de cultivo con sistema de intercambio de gases propuesto	64
Figura 25. Equipo empleado para la esterilización, autoclave.	65
Figura 26. Equipos y proceso para la inoculación de sustratos estériles con semilla de <i>Lentinula edodes</i> . A. Cámara de flujo laminar, B y C: Inoculación de sustratos con semilla, D: Sustrato inoculado.....	66
Figura 27. Tamaño y formas del shiitake al cosecharse.....	69
Figura 28. Ejemplo de gráfico del control de variables ambientales.....	77

Figura 29. Ejemplo de reporte de información semanal variables críticas (temperatura y humedad)	78
Figura 30. Ejemplo de reporte información de configuraciones programadas en sistema de control y supervisión. Información tipo calendario.....	81
Figura 31. Etapa I. Resumen de configuraciones utilizadas en sistema de control y supervisión en unidades experimentales I. preliminares. Información tipo calendario.	82
Figura 32. Montajes de unidades experimentales I. preliminares. Etapa de incubación semana 0-1.	85
Figura 33. Muerte del micelio de Lentinula edodes por acción de las altas temperaturas, coloración amarilla en micelio y daños perceptibles.....	85
Figura 34. Estado de unidades experimentales I. antes de ser descartadas, invasión de micelio nula, estructura miceliar con daños irreparables.	86
Figura 35. Etapa II. Resumen de configuraciones utilizadas en sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Información tipo calendario.	87
Figura 36. Montajes de unidades experimentales II. Etapa de incubación semana 0-1.	90
Figura 37. Unidades experimentales II. Etapa de incubación semana 1. Avance de la invasión micelial del hongo Lentinula edodes.....	90
Figura 38. Unidades experimentales II. Etapa de incubación, semana 1. Efectos del fallo en el control de la temperatura. Comparación, estructura micelial con daños y estructura micelial en buen estado.....	90
Figura 39. Etapa III. Resumen de configuraciones utilizadas en sistema de control y supervisión en unidades experimentales III. Información tipo calendario.	92
Figura 40. Etapa III. Resumen semanal, unidades experimentales III.....	93

Figura 41. Tinción de Gram de unidades experimentales preliminares. Identificación de bacterias gran negativas.	97
Figura 42. Identificación de hongos, <i>Penicillium</i> . Aspecto de hongo <i>Penicillium</i>	97
Figura 43. Etapa II. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales II.....	100
Figura 44. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales III.	103
Figura 45. Etapa III. Avance de la invasión del micelio en las unidades experimentales. Comportamiento general.....	104
Figura 46. Medición de cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus Ostreatus</i>	109
Figura 47. Ensayo III. Promedio de cuerpos fructíferos generados de <i>Pleurotus Ostreatus</i> por sustrato.	111
Figura 48. Ensayo III. Promedio de las dimensiones del estípite o tallo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	111
Figura 49. Ensayo III. Promedio de las dimensiones del píleo o sombrero de <i>Pleurotus ostreatus</i>	112
Figura 50. Ensayo III. Promedio de pesos de cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus Ostreatus</i>	115
Figura 51. Fructificación del hongo comestible <i>Pleurotus Ostreatus</i> en el ensayo III.	115
Figura 52. Evidencia de las diferencias morfológicas en los cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus Ostreatus</i>	117
Figura 53. Ejemplificación de las características morfológicas de los cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus Ostreatus</i> a diferentes concentraciones de CO ₂	118
Figura 54. Eficiencia Biológica (EB) en unidades experimentales III.	124
Figura 55. Rendimiento (R) en unidades experimentales III.....	124
Figura 56. Unidades experimentales TQ, etapa III.....	125

Figura 57. Balance de materia en los sustratos empleados en la etapa III.....	126
Figura 58. Tasa de producción (TP) en unidades experimentales III.	128
Figura 59. Ciclo de Cultivo (CC) en unidades experimentales III.....	128
Figura 60. Ensayo III. Vista estereomicroscopio de unidades experimentales contaminadas.	130
Figura 61. Ensayo III. Vista microscópica de unidades experimentales contaminadas.	130

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Determinación de la Humedad Gravimétrica (HG).....	51
Ecuación 2. Determinación del contenido de Materia Orgánica (MO) en muestras.....	51
Ecuación 3. Determinación del contenido de Carbono (C) en la muestra.....	51
Ecuación 4. Determinación del contenido de Nitrógeno (N) en la muestra.....	52
Ecuación 5. Determinación de la relación carbono nitrógeno (C/N) en combinación de materiales	53
Ecuación 6. Eficiencia Biológica (EB).....	69
Ecuación 7. Rendimiento (R).....	69
Ecuación 8. Tasa de producción.....	69

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Etapa I. Resumen semanal, seguimiento de semillas cepa #1 en proceso de colonización para su inoculación	141
Anexo 2. Etapa I. Resumen semanal, unidades experimentales I. preliminares	143
Anexo 3. Etapa II. Resumen semanal, unidades experimentales II	145
Anexo 4. Etapa I. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales I. preliminares.....	149
Anexo 5. Etapa II. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales II.....	152
Anexo 6. Etapa III. Medición de cuerpos fructíferos obtenidos e información de número de cuerpos fructíferos abortados. Información por unidad experimental	156
Anexo 7. Etapa III. Registro fotográfico del seguimiento de la colonización del micelio de Pleurotus Ostreatus en la etapa de incubación.....	159

TITULO: REUTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGRÍCOLAS COMO SUSTRATO PARA EL CRECIMIENTO DEL HONGO COMESTIBLE *LENTINULA EDODES* (SHIITAKE) CULTIVADO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES EN UNA PLANTA PILOTO

AUTOR(ES): Camilo Alberto Pinilla Ortega

PROGRAMA: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): Angelica María Muskus Morales

RESUMEN

El proyecto de investigación tiene como propósito estudiar el aprovechamiento de los residuos agrícolas generados en el cultivo y procesamiento del café por medio del cultivo de hongos comestibles, con la participación de fincas cafeteras con certificado orgánico ubicadas en los municipios de Aratocha y Pinchote, Santander. El proyecto estuvo constituido por tres etapas (etapa I. preliminar, etapa II. y etapa III.), donde los resultados con más información y avance fueron obtenidos en la etapa III. En la etapa III., se realiza la formulación de siete (7) combinaciones de residuos agrícolas (TK, TL, TM, TN, TO, TP, TQ) cada unidad experimental es realizada por triplicado. El desarrollo del ciclo de vida de los hongos comestibles fue llevado a cabo en la planta piloto equipada con un sistema de supervisión y control de las variables ambientales (temperatura, humedad relativa, iluminación, concentración de dióxido de carbono CO₂) para la emulación de las condiciones ambientales específicas para cada etapa del cultivo del hongo

comestible, esta planta piloto es localizada en la Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) seccional Bucaramanga. El sustrato que obtuvo mejores indicadores de cultivo corresponde al TP, este presentó valores de Eficiencia Biológica de 20,383% y Rendimientos de 12,637% en promedio, esta formulación contiene en su mayoría (52%) aserrín de cafeto, siguiendo con borra de café (24%), pulpa de café (16%) y vaina de frijol (6%), los resultados generales muestran mejores indicadores de cultivo en sustratos con alta concentración de residuos maderables y menor aporte de los demás residuos agrícolas.

PALABRAS CLAVE:

residuos agrícolas, hongos comestibles, café, cultivo, sustrato

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: REUSE OF AGRICULTURAL RESIDUES AS A SUBSTRATE FOR THE GROWTH OF THE EDIBLE MUSHROOM *LENTINULA EDODES* (SHIITAKE) GROWN UNDER ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN A PILOT PLANT

AUTHOR(S): Camilo Alberto Pinilla Ortega

FACULTY: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR: Angelica María Muskus Morales

ABSTRACT

The research project aims to study the use of agricultural residues generated in the cultivation and processing of coffee through the cultivation of edible mushrooms, with the participation of coffee farms with organic certification located in the municipalities of Aratocha and Pinchote, Santander. The project consisted of three phases (preliminary stage I, stage II. and stage III.), where the results with more information and progress were obtained in phase III. In stage III., the formulation of seven (7) combinations of agricultural residues (TK, TL, TM, TN, TO, TP, TQ) each experimental unit is carried out in triplicate. The development of the life cycle of edible mushrooms was carried out in the pilot plant equipped with a monitoring and control system of environmental variables (temperature, relative humidity, lighting, CO₂ carbon dioxide concentration) for the emulation of the specific environmental conditions for each stage of the edible mushroom cultivation, this pilot plant is in the Bolivian Pontifical University

(UPB) Bucaramanga sectional. The substrate that obtained better crop indicators corresponds to the TP, this presented values of Biological Efficiency of 20.383% and yields of 12.637% on average, this formulation contains mostly (52%) coffee sawdust, following with coffee grounds (24%), coffee pulp (16%) and bean pod (6%), the general results show better indicators of cultivation in substrates with high concentration of wood residues and lower contribution of other agricultural residues.

KEYWORDS:

agricultural residues, edible mushrooms, coffee, cultivation, substrate

INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria según el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) se define como: “Existencia de condiciones que posibilitan a los seres humanos tener acceso físico, económico y de manera socialmente aceptable a una dieta segura, nutritiva y acorde con sus preferencias culturales, que les permita satisfacer sus necesidades alimentarias y vivir de una manera productiva y saludable” (Brathwaite, 2009). En América Latina existe actualmente una paradoja frente a esta temática ya que este continente tiene el reto de ser un exportador neto de alimentos para la población creciente del mundo mientras al mismo tiempo 50 millones de sus ciudadanos padecen de un estado de subnutrición (FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) et al., 2020). Esto denota la necesidad de investigar en sistemas de producción de alimentos alternativos, nutritivos y eficientes.

América Latina tendrá un papel importante en la seguridad alimentaria mundial, porque disponen de una base de recursos naturales, humanos y de conocimientos para aportar a la oferta de alimentos que se requerirá satisfacer para una población de aproximadamente 9000 millones de habitantes en el año 2050 (IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura), 2012).

El desarrollo agrícola actual ha permitido alimentar a una población mundial en crecimiento exponencial, pero a un gran costo ambiental en algunos lugares del mundo, la agricultura es considerada una de las principales causas de la degradación ambiental global. Esto es consecuencia de la intensificación de los cultivos (monocultivos) y del uso masivo de productos químicos agrícolas (fertilizantes y plaguicidas) que ocasionan la pérdida de la materia orgánica del suelo y diversidad genética, erosión del suelo, la contaminación de los medios bióticos, acidificación y salinización de los suelos y aguas. Por lo que el desarrollo de sistemas de agricultura

sostenible que tenga la capacidad de alimentar a las generaciones venideras requiere de nuevas técnicas y estrategias que respeten el medio ambiente y la salud humana (Kopittke et al., 2019).

El cambio climático puede afectar la disponibilidad de alimentos en el mundo, esto sucede, en el corto plazo, por la reciente vulnerabilidad climática y en el mediano-largo plazo, con los impactos del cambio climático sobre los rendimientos de la producción y los cambios en las condiciones de producción. La agricultura es un sistema muy sensible a los cambios y variabilidad climática, los aumentos en temperaturas y el cambio en los patrones de las lluvias junto a la disponibilidad de agua tienen una incidencia directa en la cantidad y la calidad de los alimentos producidos por unidad de área (IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura), 2012).

Por estas razones es necesario plantear alternativas para satisfacer las necesidades alimentarias en un planeta afectado por el cambio climático y el impacto ambiental de la agricultura convencional. El cultivo de hongos comestibles a partir de residuos agrícolas es una opción viable al poder producir alimentos de alto valor nutricional y combatir el cambio climático al darle un aprovechamiento a la gran cantidad de residuos agrícolas que actualmente están siendo desaprovechados y están generando gases de efecto invernadero contribuyendo al cambio climático, además, se mitigan los demás potenciales impactos ambientales asociados al mal manejo de los residuos agrícolas que son contaminación de fuentes hídricas, suelos y aire, mientras se genera una fuente de ingresos y empleo a partir del cultivo de hongos comestibles en residuos agrícolas.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el crecimiento y producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en sustrato formulado a partir de residuos de origen agrícola en condiciones ambientales controladas

Objetivos específicos

- Identificar las características adecuadas del sustrato formulado a partir de los residuos agrícolas y las condiciones ambientales requeridas para el cultivo de *Lentinula edodes*.
- Analizar el efecto de las diferentes combinaciones de sustratos en las características morfológicas de *Lentinula edodes* durante el ciclo de vida.
- Determinar el sustrato con mayor productividad de cuerpos fructíferos de *Lentinula edodes* mediante el análisis de indicadores.

ANTECEDENTES

Los estudios realizados en el área de aprovechamiento de residuos para el cultivo de hongos son variados, en algunos se han analizado especies, sustratos y composiciones diferentes. En un estudio realizado en Medellín-Colombia se evaluó la producción del hongo Shiitake mediante bloques sintéticos utilizando mediante 55 combinaciones de sustratos, con “dos residuos agroindustriales (motosa de algodón y cascarilla de cacao), un suplemento maderable (viruta de roble), una fuente de nitrógeno (salvado de trigo), un controlador de pH (CaCO_3) y un estimulador de crecimiento (CaSO_4)” con el cual lograron identificar una variable del tiempo de colonización relacionada con la formulación del sustrato, en donde el elemento con mayor reducción del tiempo de colonización fue la viruta de roble y se determinó que los cuerpos fructíferos se formaron mayormente en los tratamientos que contenían un alto porcentaje de viruta de roble que puede ser igual o superior al 75 %, combinado con salvado de trigo o motosa de algodón (Villegas Escobar et al., 2007).

En el estudio de la “Optimización de la metodología para la producción de hongos comestibles” llevado a cabo en Bilbao-España se evaluó el aserrín *Eucalyptus globulus* como sustrato variable para el cultivo de los hongos *Lentinula edodes* y *Agrocybe aegerita*, principalmente fueron cultivadas cada una de las especies en bolsas de polipropileno en las que se utilizaron 6 tipos de combinaciones que contaban principalmente con el 80% de la proporción de la bolsa en aserrín, el 65 % de agua y suplementos en los que se varió su composición, se utilizó el salvado de trigo, mijo, azúcar y yeso, el controlador de pH (CaCO_3 , carbonato de calcio) y el estimulador de crecimiento (CaSO_4 , sulfato de calcio). Se concluyó que la mezcla con una mayor efectividad de producción de *L. edodes* fue la que contenía azúcar y yeso, y el salvado de trigo mostró más eficiente para *A. aegerita* (García Lavis, 2014).

En Medellín-Colombia se realizó un estudio en el que se evaluó el crecimiento del hongo Shiitake *Lentinula edodes* trabajando con tres factores de diseño, los cuales fueron el tipo de medio, pH y el porcentaje de aserrín de eucalipto *Eucalyptus globulus* para el cultivo del hongo. Se realizó mediante fermentación sólida de mezclas de residuos agroindustriales con el fin de establecer la composición en la que se mostró un mayor crecimiento y aportes nutricionales al hongo. Estos residuos junto con viruta de roble fueron variados en porcentajes de 25,50 y 75%; el salvado de trigo varió en porcentajes de 20 y 25%; el CaSO_4 y CaCO_3 entre 0, 2.5 y 5% en peso seco (Arredondo Peña & Perez Martinez, 2007).

En este estudio se identificó que la variación del pH (5 y 5.5) y los porcentajes de aserrín (0.2%, 0,3%) no fueron factores diferenciales que determinaran el alto grado del micelio del hongo ya que el medio de cultivo fue el que determinó esto, siendo un mejor medio de cultivo el MYA (Malta Nutritional Yeast agar, o Malta + levadura nutricional) y OMYA (Oatmeal Yeast Agar Petri, o levadura de avena) debido a sus aportes nutricionales con altos contenidos de carbohidratos complejos. Adicionalmente, encontraron con que el micelio del hongo creció en todas las combinaciones en las que se presentaba semillas de trigo y este brindaba una buena calidad y vigorosidad al hongo (Arredondo Peña & Perez Martinez, 2007).

En el estudio que se llevó a cabo en Puebla-México, se inoculó la cepa CP-CA1 del hongo *Lentinula edodes* en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) para posteriormente ser evaluadas las fórmulas de sustratos C-Agro 1, C-Agro 2 y C-Agro 3 dispuestas en bloques sintéticos, estas estaban compuestas de residuos agroforestales como el aserrín de encino (*Quercus sp.*), restos de hojas y tallos, olote triturado de maíz (*Zea mays*) mezclados con yeso comercial (Romero Arenas, Martínez Guerrero, Damián Huato, Ramírez Valverde, & López Olguin, 2015).

Los resultados que se obtuvieron en la cepa CP-CA1 reflejaron un buen crecimiento del micelio en los bloques sintéticos, se obtuvo una tasa de producción de 0.38, 0.33 y 0.31% respectivamente para las muestras C-Agro 1, C-Agro 2 y C-Agro3; en el tratamiento dado por C-Agro 2 mostró una eficiencia biológica mayor con respecto a los otros tratamientos debido a que fue de 100.50%, con presencia de un 85% de cuerpos fructíferos y un peso promedio de 40 a 70 gramos por unidad (Romero Arenas, Martínez Guerrero, Damián Huato, Ramírez Valverde, & López Olguin, 2015).

En Almaguer-Colombia se desarrolló un estudio que consistía en evaluar el uso de algunos residuos agrícolas como cáscara de papa, bagazo de caña y plátano como sustratos para la producción de *Pleurotus ostreatus*. El diseño de los sustratos a analizar consistió en cuatro tipos de muestras, la primera T1, contenía bagazo de caña panelera en un 75%, 23% de salvado de maíz y 2% de cal agrícola; T2 contenía 38% de bagazo de caña panelera, 37% de cáscara de plátano, 2% de cal agrícola y 23% de salvado de maíz; T3 contenía 38% de bagazo de caña panelera, 37% de cáscara de papa, 23% de salvado de maíz y 2% de cal agrícola; y por último T4 contenía 37% de bagazo de caña panelera, 19% de cáscara de plátano, 19% de cáscara de papa, 23% de salvado de maíz y 2% de cal agrícola. Los diseños que presentaron un mejor comportamiento de las variables productivas del hongo fueron T1 y T2, esto debido a su composición en la que se incluyó carbohidratos estructurales que al generaron un desarrollo favorecedor del hongo (Rivera Omen et al., 2013).

En Colombia, Cenicafé planteó un proyecto de innovación y desarrollo tecnológico llamado “Adaptación e implementación de 5 cepas de hongos comestibles en diferentes subproductos agrícolas para mejorar la productividad y competitividad de la Asociación de productores de hongos comestibles de Colombia ASOFUNGICOL”, tuvo como propósito la formulación y evaluación de diferentes formulaciones de sustratos para hongos comestibles a partir de los

residuos agrícolas generados en mayor abundancia en el departamento del Huila e identificar, a su vez, las cepas de hongos comestibles de mayor rendimiento, estas semillas fueron suministradas por el Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, las genéticas compartidas fueron: *Lentinula edodes* (L54) y *Lentinula edodes* (L4055), *pleurotus pulmonarius*, *pleurotus ostreatus*, *pleurotus sajor caju* (Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006).

Estos experimentos son realizados en tres diferentes ubicaciones, en Teruel la mejor cepa fue *Pleurotus Ostreatus* cultivada sobre todas las formulaciones con adecuación del sustrato por fermentación anaeróbica, con rendimientos de cultivo entre 74 y 114%. En el caso de optar por la esterilización, la mejor cepa fue *Pleurotus Ostreatus* cultivada sobre las formulaciones 1, 2, 3, 4 y 6 (en base de hojas y ramas de yuca, tallos de maíz, vástago de plátano, pasto maralfalfa, pulpa de café, carbonato de calcio), con rendimientos medios de cultivo entre 72 y 95% (Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006).

En la finca Rivera la cepa que mejores resultados obtuvo fue la de *Pleurotus Sajor Caju* cultivada sobre las formulaciones 1 y 6, esto cuando el sustrato es adecuado por fermentación anaeróbica, obteniendo rendimientos de cultivo de 50 a 60%. Cuando los sustratos son esterilizados por vapor, se obtienen mejores resultados con *Pleurotus Ostreatus* cultivado sobre las formulaciones 1, 2, 3, 4 y 5, consiguiendo rendimientos de cultivo entre 73 y 87%. Los sustratos formulados están hechos a partir de pulpa de café, residuos de maíz, vástago de banano, bagazo de caña, cáscara de cacao, carbonato de calcio (Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006).

En la ubicación de la Tesalia, por vía de la fermentación anaeróbica la cepa que obtuvo mejores resultados es la de *Pleurotus Pulmonarius* en las formulaciones 1 y 2, alcanzando rendimientos de cultivo de 54 y 64%. En el caso de la adecuación por esterilización por vapor, se

tienen los mejores resultados para la cepa *Pleurotus Pulmonarius* de las formulaciones 1, 2, 3 y 4, con rendimientos de cultivo de 70 a 107% (Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006).

Cenicafé, además de realizar este estudio, realizó múltiples ensayos en diferentes locaciones de Colombia reutilizando residuos agrícolas para el cultivo de hongos comestibles. Específicamente para los residuos de café presentan la investigación científica titulada “Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera, boletín técnico N28” (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005b). En este estudio, como el título lo menciona, está enfocado en el cultivo de hongos de tipo medicinal, planteando el cultivo de shiitake y ganoderma como una opción válida para el aprovechamiento de residuos agrícolas y la generación de alimentos de alta calidad.

En este experimento, se puso a prueba las materias primas de pulpa de café, aserrín de cafeto, borra de café, salvado de maíz y salvado de trigo. En este experimento, para el cultivo de shiitake, los tratamientos T1, T2 y T7 obtuvieron los mayores rendimientos cuando se realiza la adecuación del sustrato por tratamiento térmico, en el caso de la esterilización, se tienen mejores resultados con el tratamiento T3, los rendimientos medios por encima del 50% (valor límite mínimo para establecer una producción de hongos óptima) se obtuvieron para las formulaciones T2 (52,76%) y T1 (49,6%), con tratamiento térmico. Los mejores resultados se obtuvieron para el sustrato T2 que contenía 28% aserrín de cafeto, 50% borra de café y 19% salvado de trigo. En el caso del ganoderma, se encuentran los mejores rendimientos con las formulaciones T12 en tratamiento térmico (13,1%), continuando con el tratamiento T1 por vía de esterilización (11,10%) y seguido por el tratamiento T12 por vía de esterilización (10,81%) (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005b).

Para el seguimiento y apoyo del proyecto durante cada una de sus etapas, se emplean los protocolos planteados por el proyecto “Adaptación e implementación de 5 cepas de hongos

comestibles en diferentes subproductos agrícolas para mejorar la productividad y competitividad de la Asociación de productores de hongos comestibles de Colombia ASOFUNGICOL”:

- Protocolo preparación de sustrato para hongos comestibles y medicinales (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006g)
- Protocolo esterilización y siembra de hongos comestibles y medicinales (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006b)
- Protocolo incubación de hongos comestibles y medicinales (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006e)
- Protocolo fructificación de hongos comestibles y medicinales (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006c)
- Protocolo manejo postcosecha de hongos comestibles y medicinales (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006f)
- Protocolo identificación de los hongos contaminantes más frecuentes en el cultivo de setas comerciales y medicinales (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006d)

Estos protocolos pueden ser consultados en el repositorio digital del Centro Nacional de Investigación de Café, Cenicafé.

MARCO TEÓRICO

Hongos comestibles

Los hongos comestibles hacen parte de los Alimentos para el Uso Específico de la Salud (FOSHU por sus siglas en inglés), término que fue acuñado bajo el concepto de alimento funcional. Esto propició la investigación sobre los alimentos para eliminar los que eran menos favorables para la salud e incrementar el contenido de los que son positivos para la salud (Cano Estrada & Romero Bautista, 2016).

Dado la actual preocupación por la seguridad alimentaria, se ha ampliado la visión en los hongos comestibles, que por su interés medicinal ha sido investigado desde décadas anteriores, con una mayor intensidad de investigación y uso en el oriente. Estas investigaciones han permitido describir y encontrar diversas propiedades nutraceuticas de los macrohongos, como lo son las propiedades anticancerígenas y antitumorales, antioxidantes, hipocolesterolémicas, inmunomoduladores, entre muchas otras. Y se ha podido indagar en sus propiedades nutricionales, teniendo un elevado contenido proteico, permitiendo que sea el sustituto de algunas legumbres y de la carne, además poseen todos los aminoácidos esenciales y un alto contenido de vitaminas y minerales (López Pino, 2016). Siendo entonces, una opción muy viable para atacar la inseguridad alimentaria.

En el mundo existe una muy amplia variedad de hongos que podrían estar dispuestos al uso del humano, a continuación, en la tabla 1 se enumeran las especies de Hongos Silvestres Comestibles (HSC) y medicinales de los cuales se tienen registro.

Tabla 1. Número de especies de HSC y medicinales.

Categoría	N° de especies	Porcentaje total [%]
1. Solo comestibles	1009	43
2. Comestibles y medicinales	88	4
3. Solo alimento	820	35
4. Alimento y medicinal	249	11
5. Solo medicinal	133	6
6. Otros usos (diferente a los anteriores)	29	1
TOTAL, especies silvestres útiles	2327	100
TODOS solo comestibles (1+2)	1097	47,14
TODOS alimentos (3+4)	1069	45,94
TODOS medicinales (2+4+5)	470	20,20

Fuente: (Boa, 2005)

La cantidad de especies mostradas en la tabla, bajo la categoría “TODOS alimentos” en la anterior tabla podría proporcionar un complemento a las dietas en poblaciones afectadas por la pobreza y desnutrición de los países en vía de desarrollo y, además, de la posibilidad de establecer un modelo de ingresos en la población mediante su cultivo, recolección y posterior comercialización (Boa, 2005).

Shiitake (Lentinula edodes)

El *Lentinula edodes*, es una seta comestible de orígenes asiático, que recibe otros nombres como seta fragante, seta deliciosa o hongo negro del bosque. El nombre proviene de “Shii” madera y “take” hongo. Es un hongo de pudrición blanca que se cultiva alrededor del mundo en diferentes sustratos. Siendo la madera su forma típica ancestral, sin embargo; en la actualidad, se han establecido diferentes métodos de cultivo que utilizan sustratos de subproductos agrícolas y forestales con el fin de disminuir los residuos y obtener hongos de buenos estándares de calidad (L. I. Hinestroza & A. López, 2008).

El shiitake es bastante apetecido a nivel mundial ya que posee propiedades alimenticias y medicinales que son importantes. Destacando sus características organolépticas, su contenido de proteínas y un componente (lentinan) que ha demostrado ser un agente anti-infeccioso y anti-cancerígeno. Además, que presenta glicemia, vitaminas esenciales como B1, B2, B6, B12, riboflavina, niacina, hierro y minerales que activan el sistema inmune, reducen el colesterol también (Romero Arenas, Martínez Guerrero, Damián Huato, Ramírez Valverde, & López Olguín, 2015). Estos compuestos activos son descritos en la tabla 2.

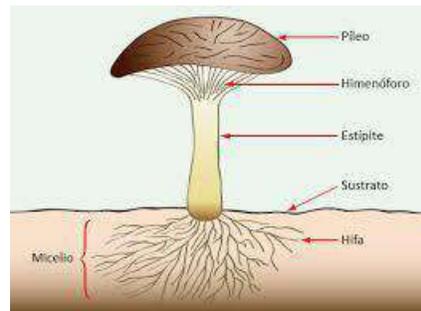
Tabla 2. Cuerpos activos del hongo shiitake

Compuesto	Grupo funcional	Bioacción
Eritadenina	Derivado acíclico de la adenosina	Hipolipidémico, reduce el colesterol en la sangre por excreción
Lentinan	Polisacárido	Antibacterial, antiviral, inmunoactivo
Emitanina	Polisacárido	Inmunoactivo
Quitina	Ácidos nucleicos	Antiviral
Ergosterol	Triterpeno	Provitamina D-2

Fuente: (Romero Arenas, Martínez Guerrero, Damián Huato, Ramírez Valverde, & López Olguín, 2015)

Del shiitake el píleo o sombrero del hongo es lo más apetecido de su totalidad, mientras que su estípite o tallo generalmente es separado y desechado, no siendo incluido en la comercialización, esto se da ya que en su composición hay alto contenido de fibra. El píleo (sombrero) corresponde al 75% del hongo y el estípite (tallo) al 25% en base seca (Rivera et al., 2017).

Figura 1. Partes del hongo *Lentinula edodes* (shiitake).



Fuente: (Almendros Redondo, 2012)

En numerables estudios se ha reportado que el píleo es quien tiene mayores ventajas nutricionales y sensoriales, sin embargo, existen otros reportes que indican las propiedades nutricionales y funcionales en el estípite, ya que está compuesto por bioactivos como β -Glucanos, quitina, eritadenina, ergosteroles, fibra dietaría soluble y ácidos grasos (Rivera et al., 2017). Por lo que de este hongo comestible se puede consumir el 100% de su cuerpo fructífero.

Orellana (Pleurotus Ostreatus)

La orellana es un hongo comestible encontrado a lo largo de todo el mundo, es uno de los más comunes. Hongo de tipo saprófito, a menudo de color blanco o marrón, crece directamente sobre la madera viva o en maderas muertas. En su morfología el tallo está unido lateralmente al sombrero (Russell, 2014). Una de sus principales características es su rápida tasa de crecimiento y adaptabilidad a una amplia variedad de sustratos. Estos hongos pueden ser entrenados o adaptados a diferentes condiciones ambientales y a diferentes sustratos de cultivo, dado a todos estos beneficios es la especie de hongo más cultivada por principiantes y proyectos ya que son considerados uno de los hongos que más rápido fructifican en todo el planeta (Cotter, 2014).

Las principales fuentes nutricionales de la orellana son la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. La orellana requiere de mucho carbono y menos fuente de nitrógeno, tiene la capacidad

de crecer en una amplia variedad de relación C/N (50 – 500). Naturalmente, estas especies crecen como parásitos o saprófitos en sustratos que son pobres en nutrición y vitaminas, pero tiene la capacidad de aprovechar los nutrientes mediante la descomposición de los complejos lignocelulósicos.

Los rendimientos varían entre especies de este mismo hongo, y en la misma especie varían según el sustrato que se esté utilizando con las mismas especies, y a su vez, los rendimientos también pueden variar según las condiciones ambientales del cultivo.

La importancia económica de este hongo radica en su fácil y rápida producción, como sus beneficios por ser un alimento funcional. El pleurotos se considera como un alimento de alto poder nutricional debido a su composición de proteínas, fibras, minerales, rico en vitamina C, complejo B, presenta la mayoría de las sales minerales que el cuerpo necesita diariamente. Los valores de proteínas para especies de *Pleurotus Ostreatus* están entre 10,5 y 30,4 % (dependiendo de las condiciones de cultivo). Presenta aproximadamente un 72% de ácidos grasos insaturados, posee un alto contenido de fibra. De él se pueden aislar sustancias como la pleurotin que es un compuesto policíclico y posee propiedades antibióticas, posee propiedades antitumorales, se puede incluir en dietas terapéuticas para la hiperlipemia y la diabetes (Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006). El contenido de niacina es hasta diez veces mayor que cualquier otro vegetal.

Figura 2. Cultivo y fructificación de *Pleurotus Ostreatus* (Orellana)



Fuente: (Russell, 2014)

A diferencia del shiitake, este tipo de hongos no requiere de una esterilización por autoclave de sus sustratos (durante la esterilización se eliminan todos los microorganismos del sustrato), es posible realizarlo mediante una pasteurización para no eliminar por completo los microorganismos asociados a los sustratos ya que estos podrían tener beneficio y potenciar el cultivo. Los organismos asociados a la micósfera no son solamente bacterias y/o otros hongos, sino que también pueden coexistir con protozoarios, nemátodos, micoplasmas, partículas virales, entre otros. Con fines prácticos, estos microorganismos se pueden clasificar como: 1) patógenos e inhibidores de crecimiento, 2) inocuos y 3) benéficos (excretadores de sideróforos, solubilizadores de fósforo, excretadores de hormonas, fijadores de nitrógeno, productores de antibióticos y consumidores de 1-octen-3-ol (Sánchez & Royse, 2017).

Sistemas de cultivo

Todos los hongos requieren una fuente de energía o comida, a esto se le denomina medio o sustrato de cultivo. Los hongos son omnívoros y se alimentan de casi cualquier cosa, pero cada especie tiene ciertas preferencias. En el caso del Shiitake tiene bastante afinidad por los sustratos maderables, pero también se ha demostrado buenos rendimientos en cultivos con sustratos formulados a partir de residuos agroindustriales de los procesos de paja de trigo, paja de arroz, maíz, tomate, entre otros. Por lo cual existe una amplia posibilidad de cultivarlo (Cotter, 2014).

El cultivo de hongos comestibles se puede realizar de diferentes formas, la más típica es en sistema de bolsas, otras posibilidades son en el tocón de un árbol, en montículos, en madera, en columna, en paredes y en bandejas. El proceso de forma general es ilustrado en la figura 3.

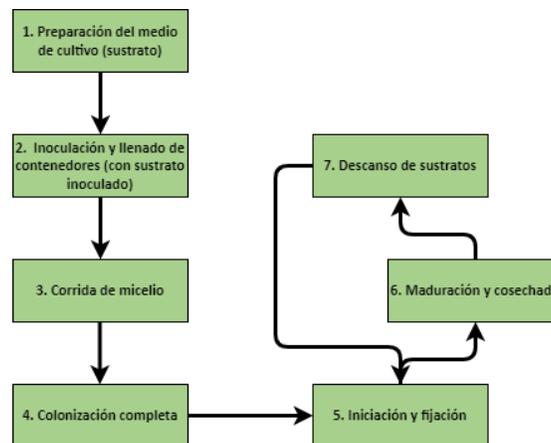
Figura 3. Resumen de técnicas para el cultivo de hongos comestibles.



Fuente: (MushWorld, 2005)

Cada método de cultivo tiene sus respectivas consideraciones (condiciones ambientales, requerimientos nutricionales, adecuación de sustrato), pero el proceso de cultivado es igual. Las etapas de cultivo se pueden enumerar en 7, estas están basadas en las etapas del ciclo de vida del hongo, por lo cual, comprender correctamente el ciclo de vida del hongo a cultivar es sumamente importante, con este conocimiento se podrá tener fluidez y facilidad durante el cultivo.

Figura 4. Las siete (7) etapas del cultivo de hongos.



Fuente: (Cotter, 2014)

Partiendo del diagrama se define cada una de las etapas de forma general. Las condiciones ambientales específicas son descritas en las tablas 3 y 4 en el siguiente apartado. A continuación, se describen las consideraciones de cada una de estas siete etapas del cultivo de hongos presentadas en la anterior figura.

Fase 1. Preparación del medio de cultivo

La elección adecuada del medio de cultivo y cómo prepararlo es indispensable para poder obtener resultados en el cultivo. El método en interiores es más intensivo y requiere que los sustratos estén relativamente nuevos (con el fin de evitar contaminación), sean esterilizados a vapor en autoclaves para asegurar la limpieza. La esterilización se realiza a 250 °F/ 121°C, el tiempo dependerá de la cantidad de sustrato. Otros hongos comestibles requieren de pasteurización (no matar por completo los microorganismos asociados al sustrato) en lugar de esterilización por lo que es requerido definir cuál vía (esterilización por autoclave o pasteurización) es la necesaria para el hongo que se quiera cultivar (Cotter, 2014).

Otro aspecto para considerar en el sustrato a utilizar es que sea fino y denso, en lugar de esponjoso y aireado. Un sustrato de partículas finas hará que suceda una compactación en el medio de cultivo impidiendo la colonización y creando condiciones anóxicas que no favorecerán el cultivo. La elección del sustrato debe ofrecer partículas que sean lo suficientemente pequeñas para permitir el paso fácil del micelio, pero no tan pequeñas que resulte en la compactación (Cotter, 2014).

Fase 2. Inoculación y llenado de contenedores

Se debe asegurar toda la inocuidad del proceso para evitar cualquier tipo de contaminación. La inoculación se va a realizar en un sustrato ya esterilizado por lo que se debe estar seguro de que no exista contaminación en el inóculo, la limpieza es clave. Se debe contar con

herramientas limpias, manos limpias, pisos limpios, contenedores limpios, todo limpio (Cotter, 2014).

Para condiciones de interior, la inoculación del medio básicamente es mezclar la semilla (micelio) en el sustrato y transferir la mezcla a los recipientes, asegurando una mezcla homogénea, otra forma de realizarlo es mediante el uso de herramientas una vez ya esté empacado el sustrato sin inocular, realizando agujeros e ir introduciendo las semillas. Se debe optar por el proceso más rápido de inoculación para evitar mayores exposiciones del sustrato (Cotter, 2014).

Llenado de contenedores. El material de los contenedores dependerá de la cantidad de sustrato que se piensa utilizar en cada medio de cultivo y de la disponibilidad local del mismo, se recomienda que sean transparentes con el fin de poder llevar un seguimiento del crecimiento de los hongos y cualquier indicio de contaminación. El llenado de los recipientes de sustrato inoculado se realiza empaquetando densamente para evitar bolsas de aire. Cuando se termine este proceso se debe etiquetar los recipientes con la fecha de inoculación para poder llevar el registro del ciclo de cultivo (Cotter, 2014).

Fase 3. Incubación o corrida de micelio

Desde el momento en que se inocular el sustrato comenzará el tiempo de colonización o periodo de generación (Cotter, 2014).

La humedad idealmente debería estar en el rango de 60 a 80%, lo suficientemente húmedo para evitar que el sustrato se seque, pero no tan alto como para iniciar la formación de primordio. La temperatura debe mantenerse en 21-27°C, esto dependerá de la cepa utilizada (Cotter, 2014).

En esta fase es importante la observación diaria de la sala donde se esté realizando el proceso para poder responder a cualquier problema de forma efectiva (Cotter, 2014).

Fase 4. Colonización completa

Finalizada la colonización comienza una etapa de reposo en el que el hongo cambia su proceso metabólico. Se debe continuar con la observación diaria para detectar cualquier fuente de contaminación, se recomienda retirar cualquier bolsa de cultivo sospechosa de contaminación ya que es más viable desechar un medio de cultivo a afectar todo el lote. La colonización está completa cuando todo el sustrato es recubierto por la red micelial del hongo (Cotter, 2014).

Fase 5. Iniciación y fijación (pineo)

Los hongos comienzan a formarse en el área superficial del sustrato, este proceso es llamado fijación, la iniciación sucede por cambios en las condiciones ambientales (temperatura, la humedad y la luz). En operación en interiores controlados se tienen dos opciones: mantener las condiciones lo más estable posibles es una sala general o crear salas más pequeñas para el intercambio de gases, las temperaturas y el riego del sustrato sea más sencillo (Cotter, 2014). En esta etapa se da la formación de protuberancias o pineo en el sustrato.

Fase 6. Maduración y cosechado

La maduración máxima está a decisión del cultivador, el punto ideal es cuando el crecimiento ya sea el máximo y no se produzca la descomposición. Un aspecto diciente es la maduración del margen (borde exterior) del píleo del hongo. El shiitake se forma con píleo en forma convexa, el borde cambiará de forma a medida que se acerca la madurez, cuando el margen se gira ligeramente hacia arriba es hora de recogerlo (Cotter, 2014).

Para el proceso de recolección, tome firmemente la base del hongo o del racimo de los hongos y realice torsión o se puede realizar usando una herramienta afilada, recorte los trozos del

tallo que estén cubiertos de sustrato y evite ensuciar los demás hongos que no estén en contacto del sustrato (Cotter, 2014).

Fase 7. Descanso

El sustrato debe almacenarse en condiciones cálidas y secas con menos luz de la requerida en la fructificación, se debe reducir el riego y aumentar la temperatura, dar condición de oscuridad en la habitación. La duración de esta etapa de descanso dependerá de la especie de hongo que se esté cultivando y la temperatura a la que se esté realizando este descanso (Cotter, 2014).

Condiciones ambientales para el cultivo de hongos comestibles

Condiciones ambientales para el cultivo de shiitake (Lentinula edodes)

En la tabla 3 se resumen las condiciones ambientales que se deben propiciar durante el cultivo de *Lentinula edodes*.

Tabla 3. Condiciones ambientales para el cultivo de *Lentinula edodes* (shiitake).

	Incubación o corrida del micelio	Formación de primordios o inducción a la fructificación	Formación de cuerpos fructíferos	
			Cepa de temperatura fría	Cepa de temperatura cálida
Temperatura	21 – 27 °C constante todo el día	10 – 16 °C	10 – 21 °C	16 – 27 °C
Luz a 370-420[nm]	50 – 100 lux	500 – 2000 lux	500 – 2000 lux	
Humedad (H.R.)	95 – 100% dentro de la bolsa	95 – 100%	60 – 80%	
Suministro de aire fresco	0 – 1 por día	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	
Tolerancia a CO₂	> 10000 ppm	< 1000 ppm	< 1000 ppm	
Tamaño de partículas	1 – 5 mm	1 – 5 mm	1 – 5 mm	
Duración	35-70 días o más (dependiendo de la cepa)	5 – 7 días	5 – 8 días	

Fuente: (MushWorld, 2005)

Condiciones ambientales para el cultivo de orellana (*Pleurotus ostreatus*)

En la siguiente tabla se enlistan las condiciones medioambientales requeridas para el cultivo de orellana.

Tabla 4. Condiciones ambientales para el cultivo de *Pleurotus Ostreatus* (Orellana).

	Incubación o corrida del micelio (TODAS las cepas)	Fructificación de <i>Pleurotus Ostreatus</i>	Fructificación de <i>Pleurotus pulmonaris</i>	Fructificación de <i>Pleurotus sajor caju</i>
Temperatura	21 – 27 °C	15 – 21 °C	18 – 24 °C	18 – 25 °C
Luz a 370-420[nm]	No requiere	12 horas a 100 – 200 LUX	12 horas a 100 – 200 LUX	12 horas a 100 – 200 LUX
Humedad (H.R.)	95 – 100% dentro de la bolsa	85 – 95%	85 – 95%	85 – 95%
Suministro de aire fresco	0-1 por día	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂
Tolerancia a CO₂	> 10000 ppm	< 1000 ppm	< 1000 ppm	< 1000 ppm
Tamaño de partículas	5 – 20 mm	5 – 20 mm	5 – 20 mm	5 – 20 mm
Duración	20 – 40 días (dependiendo de la cepa)	5 – 8 días	5 – 8 días	5 – 8 días

Fuente: (Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006)

METODOLOGÍA

Supervisión y control de variables ambientales. Identificación y formulación de sustratos.

Descripción del área de trabajo

Para el cultivo de hongos comestibles en condiciones controladas fue construido un módulo-planta piloto de emulación que tiene la capacidad de controlar las variables ambientales de humedad, temperatura, dióxido de carbono (CO₂), iluminación y presión. Este módulo fue construido en la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga ubicado en el Centro

de Desarrollo Tecnológico (CDT) con coordenadas geográficas según Google Earth de 7°02'25'N 73°04'17''W. La empresa contratada para la construcción de la planta piloto es “Proyectos y Controles de Ingeniería S.A.S.”.

Figura 5. Vista superior y frontal (izquierda a derecha) de planta piloto con respecto al Centro de Desarrollo Tecnológico (CDT).



Figura 6. Vista lateral y superior de la planta piloto.



Fuente: (Arismendi Osorio & Montes Alvarez, 2021)

El módulo es construido a partir del ensamble de paneles de marca “Kingfrigo” que están constituidos por un núcleo de aislamiento térmico Kingspan de 50mm de espesor, recubierto en sus dos caras por láminas galvanizadas (ver figura 7), este tipo de construcción permite garantizar las condiciones dentro del recinto durante el control de las variables ambientales. Las dimensiones de la planta piloto son de: 3 [m] de largo, 2,5 [m] de ancho y 2,5 [m] de alto.

Figura 7. Paneles utilizados en la construcción de la planta piloto.



Fuente: Cotización enviada por “Proyectos y Controles de Ingeniería S.A.S.”.

En el interior del módulo se encuentra la “caja controladora” diseñada y construida (ver figura 8) en el proyecto de grado titulado “Desarrollo de un sistema de control y supervisión de las variables ambientales requeridas en el crecimiento del hongo shiitake (Arismendi Osorio & Montes Alvarez, 2021)” que por su diseño y programación será la encargada de mantener las condiciones ambientales según sean programadas, operando con el uso de sensores y equipos para garantizar el control de las variables ambientales (ver tabla 5):

Figura 8. Equipo de control y supervisión de condiciones ambientales "caja controladora".



Fuente: (Arismendi Osorio & Montes Alvarez, 2021)

Tabla 5. Sensores y equipos instalados en el sistema de control y supervisión.

Sensores	Referencia
Sensor de humedad relativa y temperatura	HTU21D
Sensor de luz	BH1750
Sensor de CO ₂	CCS811
Sensor de presión	MPL115A2
Equipos	Referencia
Aire acondicionado	Mirage Life +

Calentador eléctrico	MZ45-FJ400-ZK
Humidificador ultrasónico 1 membrana (x2)	Ultrasonic Mist Maker
Luces	---

Fuente: Adaptado de (Arismendi Osorio & Montes Alvarez, 2021)

Además de los sensores, como se observa en la tabla 5 se cuenta con la instalación de equipos para lograr el control de las variables ambientales.

El procesamiento, formulación, elaboración, esterilización, empaquetado, esterilización e inoculación (proceso de cultivo) fueron realizados en los laboratorios de microbiología (K-610) y laboratorio de suelos (K-611) de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga.

Definición y control de variables ambientales

De acuerdo con la literatura consultada se definen las condiciones ambientales requeridas para el crecimiento del hongo *Lentinula edodes* (Shiitake) durante sus etapas de cultivo, estas condiciones son emuladas por el sistema de control y supervisión. Adecuado el sitio de la planta piloto, se comienzan a realizar las pruebas preliminares del funcionamiento del equipo de control y supervisión durante un periodo de un mes para conocer el comportamiento del sistema.

Según lo consultado en el marco teórico se definen las condiciones ambientales necesarias y las etapas que se deberán simular con el equipo de control y supervisión, estas condiciones son expuestas en la siguiente tabla:

Tabla 6. Condiciones ambientales en el cultivo de *Lentinula edodes* (shiitake).

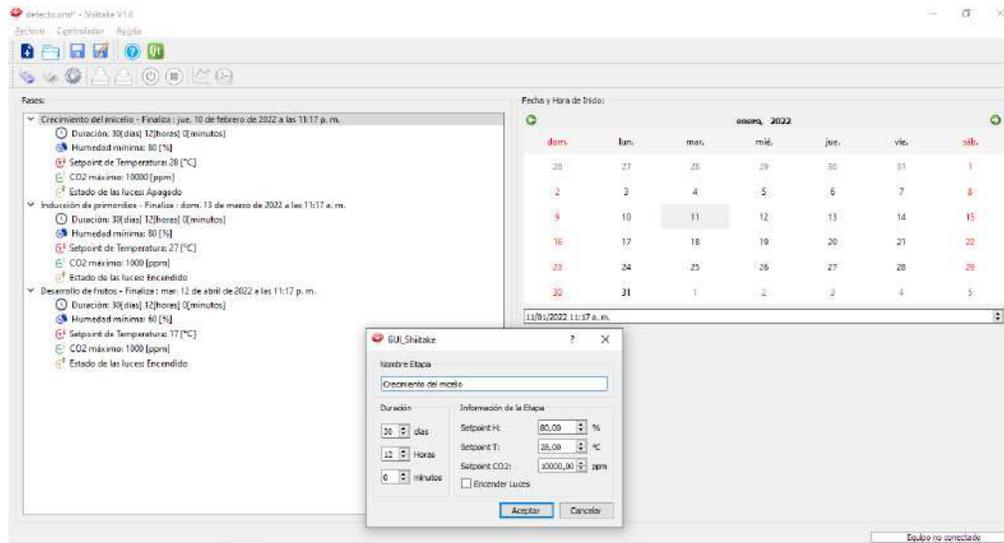
	Corrida del micelio o incubación	Formación de primordios	Formación de cuerpos fructíferos	
			Cepa de temperatura fría	Cepa de temperatura cálida
Temperatura	21-27 °C constante todo el día	10-16 °C	10 – 21 °C	16 – 27 °C
Luz a 370-420[nm]	50 – 100 lux	500 – 200 lux	500 – 2000 lux	
Humedad (H.R.)	95-100% dentro de la bolsa	95-100%	60 – 80%	
Suministro de aire fresco	0-1 por hora	4-7 por hora	4-8 por hora	
Tolerancia a CO₂	> 10000 ppm	< 1000 ppm	< 1000	
Duración	35-70 días o más (dependiendo de la cepa)	5-7 días	5-8 días	

Fuente: (MushWorld, 2005)

Uno de los aspectos más importantes en el cultivo de hongos comestibles es seguir protocolos de limpieza y asepsia en todo el ciclo de vida del hongo. Las paredes, techo y suelos deben estar libres de polvo y contaminantes, se debe realizar barrido y limpieza de todo lo que ingrese al cuarto, en este caso se hizo uso de una solución de hipoclorito de sodio y agua 1:10 para limpiar los suelos y paredes del cuarto, se desinfecta también el equipo control y supervisión (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006a).

Las tres etapas del cultivo de *Lentinula edodes* (incubación, formación de protuberancias-browning y fructificación) se desarrollarán en la misma sala realizando cambios en la configuración del sistema de control y supervisión en su aplicativo (ver figura 9) y el aire acondicionado que es programado de forma manual.

Figura 9. Interfaz de aplicación para el control de variables ambientales "Shiitake V1.0." y configuración de etapas en la interfaz.

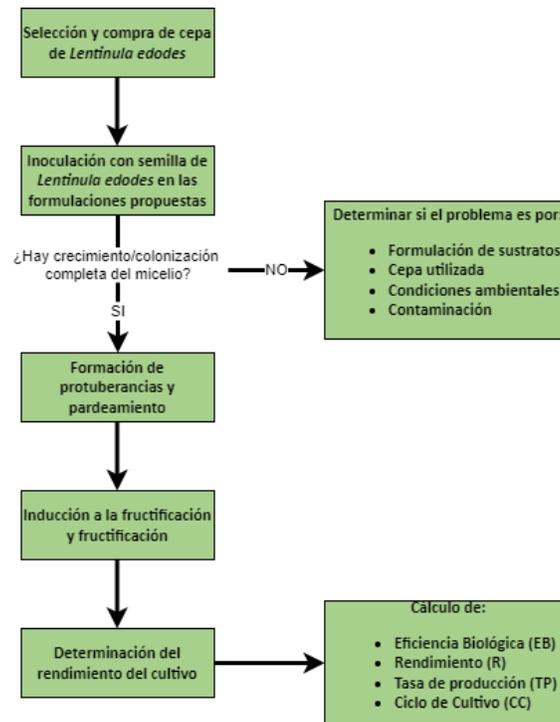


Fuente: Autor

Selección de cepas

Para la selección de cepas para el proyecto se emplea la ruta planteada en la figura 10. siguiendo la ruta expuesta por el diagrama fue necesario la compra de semillas de cultivo de hongos comestibles en tres ocasiones, una compra por cada etapa elaborada del proyecto (etapa I., etapa II., etapa III.). En la figura 11, se observa gráficamente la vitalidad o fuerza del micelio, donde la cepa #1 es un micelio débil, que no recubre por completo las semillas.

Figura 10. Ruta de seguimiento para la selección de cepas de hongos.



Fuente: El autor

Figura 11. Comparación de las cepas utilizadas en el proyecto de cultivo de hongos comestibles.



Fuente: Autor

En resumen, las cepas utilizadas durante cada etapa del proyecto son mostradas a continuación en la tabla 7:

Tabla 7. Resumen de las cepas de hongos comestibles empleadas en el proyecto.

# Cepa	Tipo de hongo comestible [nombre científico (nombre común)]	Empresa proveedora	Etapas del proyecto
1	<i>Lentinula edodes</i> (shiitake)	MicelioFungi	Etapas I.
2	<i>Lentinula edodes</i> (shiitake)	Hongos de Merlín	Etapas II.
3	<i>Pleurotus ostreatus</i> (orellana) **	Hongos de Merlín	Etapas III.

Fuente: El autor

**** NOTA:** La empresa “Hongos de Merlín” realiza el envío de una cepa no correspondiente a la solicitada en la etapa III. del proyecto. Este error es evidente hasta que sean formados los cuerpos fructíferos del hongo, lo que hace imposible realizar correctivos a tiempo y se decide continuar con el proyecto bajo las nuevas condiciones de trabajo del *Pleurotus Ostreatus*.

Proceso de elaboración de sustratos

Identificación de materiales para elaboración de sustratos. Se realiza la salida de campo a las fincas cafeteras con sistema de cultivo orgánico San Sebastián y La Pradera, ubicadas en el municipio de Aratoca y la finca Buena Vista en el municipio de Pinchote (ver figura 12). Durante esta visita de campo se definen los materiales provenientes del procesamiento y cultivo del café con potencial para trabajar en el cultivo de hongos comestibles, se definen como posibles materiales a emplear al cisco, pulpa de café y troncos de cafeto.

Figura 12. Fotografías de salida de campo a fincas San Sebastián, La Pradera y Buena Vista.





Fuente: Autor

La recomendación que se hace a los caficultores asociados al proyecto es que estos materiales estén frescos, sin indicios de contaminación y especialmente en la pulpa de café, que los residuos se encuentren completamente secos o con máximo dos días de generados, esto para evitar que comiencen actividades de descomposición del material (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a).

Análisis fisicoquímico de residuos agrícolas. Para el análisis de los materiales que serán empleados en la formulación de sustratos, se propone analizar características como humedad gravimétrica, relación carbono-nitrógeno (C/N), los procedimientos utilizados son descritos en el manual de laboratorio: caracterización de suelos por los autores (Muskus Morales & Quintero Duque, 2016).

- Humedad Gravimétrica (HG). Procedimiento: Las muestras por analizar son pesadas y llevadas a la estufa por 24 horas a una temperatura de 105°C. Transcurrido este tiempo,

son depositadas en el desecador hasta que se enfríen y se obtenga un peso constante para registrar el valor y proceder al siguiente cálculo.

Ecuación 1. Determinación de la Humedad Gravimétrica (HG).

$$HG[\%] = \left(\frac{\text{Peso muestra húmeda} - \text{Peso muestra seca}}{\text{Peso muestra húmeda}} \right) * 100$$

Fuente: (Muskus Morales & Quintero Duque, 2016)

- Relación carbono-nitrógeno (C/N):

Determinación de Carbono Orgánico (CO). Procedimiento: Las muestras por analizar son pesadas y llevadas a secar por 24 horas a 105°C, el peso final es registrado y son puestas en la mufla en el proceso de calcinación por 2 horas a 550 °C. Una vez finalizada la calcinación y en temperatura ambiente son depositadas en el desecador hasta obtener un peso constante para registrar y realizar los cálculos.

Ecuación 2. Determinación del contenido de Materia Orgánica (MO) en muestras.

$$MO[\%] = \left(\frac{\text{Peso muestra seca} - \text{Peso muestra calcinada}}{\text{Peso muestra seca}} \right) * 100$$

Ecuación 3. Determinación del contenido de Carbono (C) en la muestra.

$$C[\%] = \frac{MO[\%]}{1,724}$$

Fuente: (Muskus Morales & Quintero Duque, 2016)

Determinación de Nitrógeno (N). Procedimiento: Para este análisis se realizan dos procedimientos, digestión de las muestras y destilación-titulación.

Digestión

- i. Pesar 1g de muestra en una cápsula de porcelana
- ii. Lavar la muestra en el tubo Büchi y diluir la muestra hasta 250 mL

- iii. Agregar 15 mL de ácido sulfúrico concentrado, agitar y adicionar la tableta Kjeldahl
- iv. Previamente se calienta el equipo de digestión, colocar las muestras en este equipo
- v. Cuando el sobrante o residuo tome una coloración verde se apaga el equipo y se deja reposando hasta enfriar
- vi. Una vez frío adicionar 15 mL de agua destilada

Destilación y titulación

- i. Colocar en el destilador el tubo Büchi procedente de la destilación
- ii. Agregar hidróxido de sodio al 32% hasta que tome una coloración azul
- iii. Recoger el amoníaco destilado en un Erlenmeyer que contiene 10 mL de solución saturada de ácido bórico con el indicador mixto
- iv. Realizar el siguiente cálculo para hallar el porcentaje de nitrógeno

Ecuación 4. Determinación del contenido de Nitrógeno (N) en la muestra.

$$N[\%] = \frac{(V - B) * N * R * 14,01 * 100}{W_t * 1000}$$

Fuente: (Muskus Morales & Quintero Duque, 2016)

Donde:

- * V = Volumen de H_2SO_4 0,01 N utilizado en la muestra
- * B = Volumen de H_2SO_4 utilizado en el blanco
- * N = Normalidad de la solución estándar de H_2SO_4
- * R = Relación volumen total de digestión y el volumen total utilizado en la destilación
- * W_t = Peso del suelo seco

Las formulaciones de sustratos de las unidades experimentales se plantean a partir de la relación carbono-nitrógeno (C/N) para asegurar que se está cubriendo las

necesidades nutricionales del hongo shiitake, la relación carbono-nitrógeno puede variar entre 40 a 60, rangos que se consideran óptimos para el cultivo del hongo comestible shiitake (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a). En el cálculo de las relaciones carbono nitrógeno se emplea la siguiente fórmula:

Ecuación 5. Determinación de la relación carbono nitrógeno (C/N) en combinación de materiales

$$R = \frac{Q_1(C_1 * (100 - M_1)) + Q_2(C_2 * (100 - M_2)) + \dots + Q_n(C_n * (100 - M_n))}{Q_1(N_1 * (100 - M_1)) + Q_2(N_2 * (100 - M_2)) + \dots + Q_n(N_n * (100 - M_n))}$$

Fuente: (Trautmann & Krasny, 2014)

Donde:

* R = Relación Carbono/Nitrógeno de la combinación * Q_n = Masa del material n

* C_n = Carbono [%] del material n

* N_n = Nitrógeno [%] del material n

* M_n = Contenido de humedad del material n [%]

Fuente: (Trautmann & Krasny, 2014)

Formulación de sustratos. La formulación de sustratos para las etapas I. y II. del proyecto son realizadas en base a información secundaria de los análisis fisicoquímicos de los materiales a emplear (ver tabla 8), esta información es corroborada al realizarse el análisis individual de cada material empleado durante estas dos etapas del proyecto, para la formulación de los sustratos en la etapa III. se parte de información de los análisis realizados por el Laboratorio de Estudios Ambientales (LEA). En las unidades experimentales se hace uso del prefijo "T" para referirse a Tratamiento y el prefijo "B" para referirse a Blanco.

Para la etapa I, se formulan unidades experimentales de 300 [g] en peso seco, para las dos siguientes etapas posteriores (II. y III.) se formulan unidades experimentales de 150 [g] en peso seco.

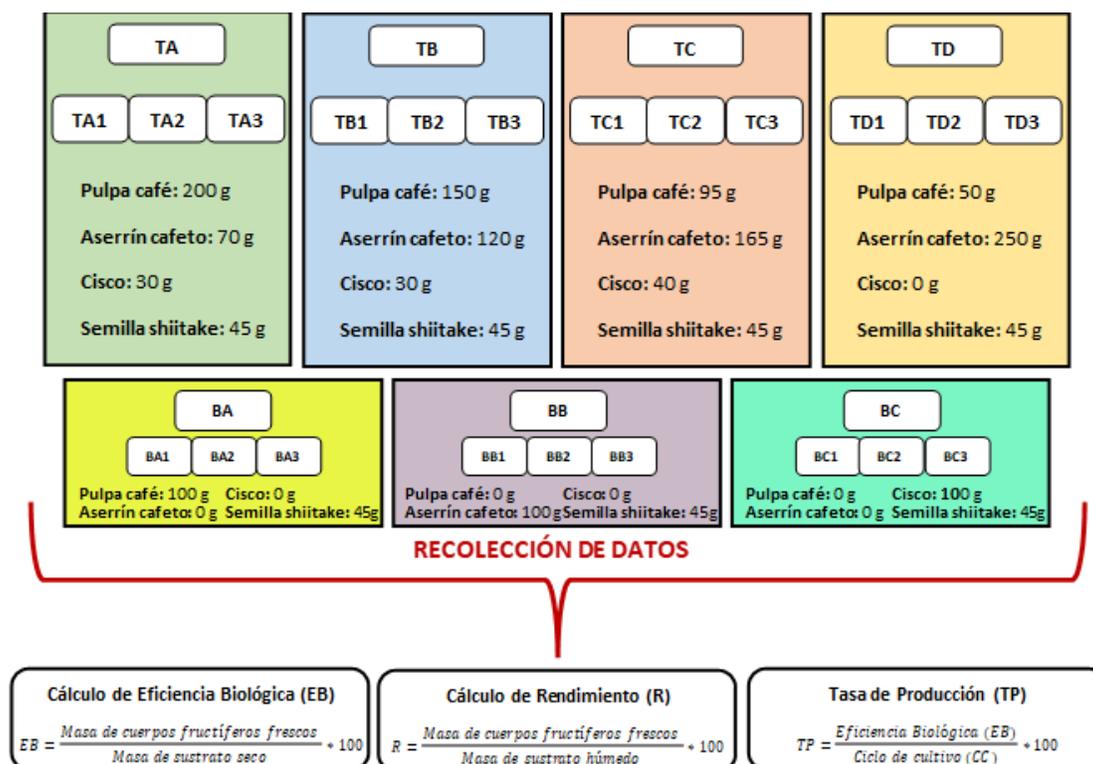
Tabla 8. Etapa I. Caracterización de subproductos del procesamiento y cultivo de café utilizados en la formulación de unidades experimentales I. preliminar.

Análisis (Peso seco %)	Residuos		
	Pulpa de café	Aserrín de tallo de café	Cisco
Humedad	78.56	14.20	7.6
Grasa	2.17	0.40	0.6
Cenizas	7.61	3.53	0.5
Nitrógeno (N)	1.65	0.72	0.39
Carbono	51.33	53.59	55.28
C/N	31.11	74.43	141.74

Fuente: (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a)

En la figura 13 se muestra la formulación de sustratos propuesta para la etapa I. del proyecto, consta de 4 combinaciones de residuos agrícolas (TA, TB, TC y TD) y tres blancos (BA, BB, BC) todos por triplicado, los materiales empleados y las cantidades son mostrados con más detalle en las tablas 9 y 10.

Figura 13. Etapa I. Formulación de sustratos en unidades experimentales I. preliminares.



Fuente: El autor

Tabla 9. Etapa I. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales I. preliminares.

FORMULACIÓN DE SUSTRATOS – UNIDADES I. PRELIMINARES				
Tratamiento	C/N	Pulpa de café [%]	Aserrín de tallo de café [%]	Cisco [%]
TA	37,98	66,67	23,33	10
TB	45,68	50	40	10
TC	54,71	31,67	55	13,33
TD	60,82	16,67	83,33	0

Tabla 10. Etapa I. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales preliminares, blancos.

FORMULACIÓN DE SUSTRATOS – BLANCOS UNIDADES I. PRELIMINARES				
Tratamiento	C/N	Pulpa de café [%]	Aserrín de tallo de café [%]	Cisco [%]
BA	31,11	100	0	0
BB	74,43	0	100	0
BC	141,74	0	0	100

Fuente: El autor

En la siguiente etapa, se desarrolla la formulación de más unidades experimentales, en la denominada “Etapa II.” donde se emplea la cepa #2, y se emplean nuevos materiales en las formulaciones de sustratos, se añade la borra de café por recomendaciones de la literatura y se añade los materiales enviados por los vendedores de esta cepa, estos materiales son cascarilla de arroz y salvado de trigo (ver tabla 11). A partir de estos materiales, se formulan seis tratamientos de la siguiente forma para el ensayo II.:

Tabla 11. Etapa II. Caracterización de materiales añadidos a la formulación de unidades experimentales II.

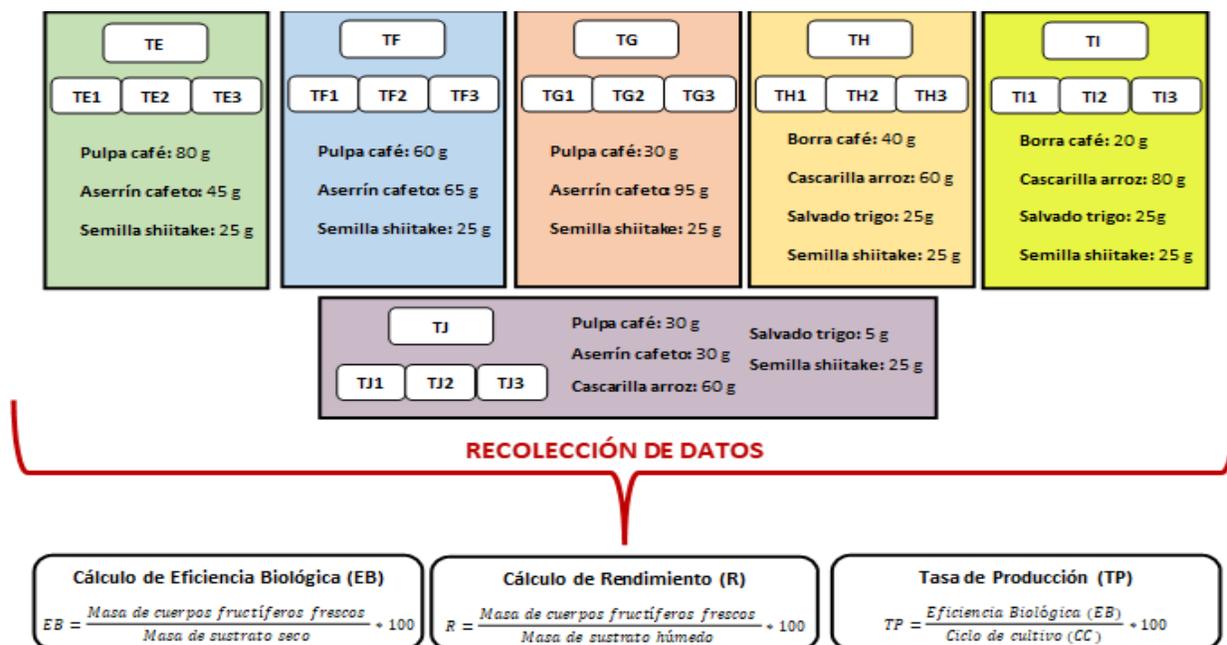
Análisis (Peso seco [%])	Residuos		
	Cascarilla de arroz [%]	Salvado de trigo [%]	Borra de café [%]
Carbono (C)	40,21	55,895	55,2
Nitrógeno (N)	0,383	0,171	1,68

Fuente: (Aguirre Osorio, 2019; Rodríguez Valencia, Liliana, et al., 2006; Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005b)

En la figura 14 se presenta las formulaciones de sustratos propuestas para la segunda etapa del proyecto (etapa II.), para esta etapa se presentan 6 formulaciones (TE,

TF, TG, TH, TI, TJ) con los materiales descritos anteriormente, estas son realizadas por triplicado, en la tabla 12 se encuentra la distribución porcentual de los materiales utilizados.

Figura 14. Ensayo II. Formulación de sustratos, unidades experimentales II.



Fuente: El autor

Tabla 12. Etapa II. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales II.

FORMULACIÓN DE SUSTRATOS – UNIDADES EXPERIMENTALES II.						
Tratamiento	C/N	Pulpa de café [%]	Aserrín de tallo de café [%]	Borra [%]	Cascarilla de arroz [%]	Salvado de trigo [%]
TE	39,65	64	36	0	0	0
TF	45,01	48	52	0	0	0
TG	56,24	24	76	0	0	0
TH	38,71	0	0	32	48	20
TI	44,52	0	0	16	64	20
TJ	55,19	24	24	0	48	4

Fuente: El autor

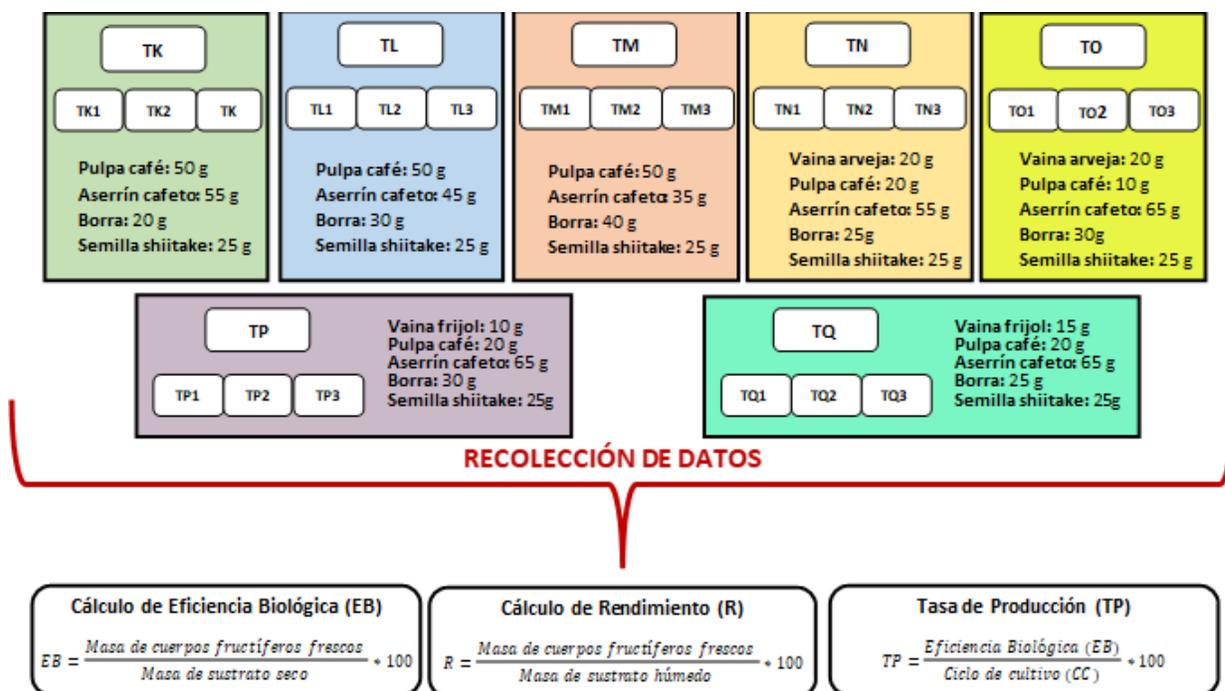
Para la formulación de las unidades experimentales III. se investiga el uso de otros residuos agrícolas para el cultivo de shiitake y se añaden la vaina de arveja y la vaina de frijol a la formulación (ver tabla 13), a partir de estos materiales se formulan siete combinaciones para las unidades experimentales III.

Tabla 13. Caracterización de materiales añadidos a la formulación de unidades experimentales III.

Análisis (Peso seco [%])	Residuos	
	Vaina de arveja [%]	Vaina de frijol [%]
Carbono (C)	39,6	52,63
Nitrógeno (N)	3,77	6,25

Fuente: (Arce-Insuasty et al., 2019; Fernández Valenciano & Sánchez Chávez, 2017)

En la figura 15 se observa las formulaciones propuestas para la etapa III. del proyecto, en esta etapa se formulan 7 combinaciones de materiales agrícolas, todos son realizados por triplicados, en la tabla 14 se presenta la distribución porcentual de los materiales empleados para cada formulación.

Figura 15. Etapa III. Formulación de sustratos, unidades experimentales III.

Fuente: El autor

Tabla 14. Etapa III. Formulación de sustratos, distribución porcentual de unidades experimentales III.

FORMULACIÓN DE SUSTRATOS – UNIDADES EXPERIMENTALES II.						
Tratamiento	C/N	Vaina de arveja [%]	Vaina de frijol [%]	Pulpa de café [%]	Aserrín de tallo de café [%]	Borra [%]
TK	62,54	0	0	40	44	16

TL	60,18	0	0	40	36	24
TM	57,67	0	0	40	28	32
TN	41,61	16	0	16	44	24
TO	45,92	16	0	8	52	24
TP	46,08	0	8	16	52	24
TQ	44,94	0	8	20	52	20

Fuente: El autor

Todas las formulaciones fueron ajustadas añadiendo agua destilada hasta obtener una humedad entre 50-75%.

En las formulaciones de la etapa III. se agregaron dos reactivos que funcionan como aportadores de micro y macronutrientes al sustrato, el carbonato de calcio (CaCO_3) y el sulfato de calcio (CaSO_4) al 1% en relación con el peso seco de los sustratos, el proceso de formulación es ilustrado en la figura 16, este es el procedimiento realizado para todas las formulaciones propuestas en el proyecto.

Figura 16. Formulaciones de sustratos para el cultivo de hongos comestibles.



Fuente: Autor

En resumen, las formulaciones de sustratos propuestas y utilizadas para cada etapa del proyecto son expuestas en la siguiente tabla.

Tabla 15. Formulación de sustratos utilizadas para cada montaje de unidades experimentales.

# Montaje	Unidades experimentales	Etapas	Cepa [distribuidor]	Duración Ciclo Cultivo [días]	Etapas de ciclo de cultivo lograda
I. (preliminar)	TA, TB, TC, TD, BA, BB, BC	Etapas I.	Shiitake [MicelioFungi]	41	Incubación
II.	TE, TF, TG, TH, TI, TJ	Etapas II.	Shiitake [Hongos de Merlín]	51	Incubación
III.	TK, TL, TM, TN, TO, TP, TQ	Etapas III.	Orellana [Hongos de Merlín]	54	Fructificación
				146 días (4 meses, 26 días)	

Fuente: Autor

Las formulaciones fueron cambiando y replanteadas conforme el avance del proyecto debido a la disponibilidad de los residuos enviados por las fincas cafeteras, se agregaron también otras fuentes de residuos en las formulaciones de los montajes II. y III. dada la investigación bibliográfica y recomendaciones por partes de los proveedores de semilla de los hongos comestibles.

Adaptación y preparación de sustratos. Para esta etapa de preparación de sustratos, los materiales a utilizar se deben encontrar secos para prolongar su preservación hasta el día de la elaboración de sustratos.

Para todos los subproductos se debe realizar la verificación del tamaño de las partículas y realizar su adaptación de ser necesario, por recomendación, el tamaño de partícula debe oscilar entre 0,5 y 2 cm ya que se ha demostrado mejores rendimientos para estas dimensiones (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a).

La pulpa de café, el cisco y la borra se encuentran dentro del rango ideal por lo que pueden ser utilizados sin transformarlos en términos de tamaño, por otro lado, los

troncos de cafeto, vaina de arveja y vaina de frijol requieren de procesamiento para obtener el tamaño de partícula adecuado. La pulpa de café y el cisco son recibidos en húmedo por lo que es requerido hacer un proceso de secado previo, este proceso se realiza por acción del sol durante cuatro (4) días hasta disminuir considerablemente la humedad de los residuos para su almacenaje y posterior uso, este proceso es mostrado en la figura 17.

Figura 17. Recepción y secado de materiales enviados por las fincas caficultoras orgánicas. A: Pulpa de café, B: Cisco, C: Madera con corteza, D: Madera sin corteza.



Fuente: Autor

Además de estos materiales enviados por las fincas, fueron incluidos otros residuos en los experimentos. En el caso de la cascarilla de arroz y salvado de trigo fueron enviados por la empresa “Hongos de Merlín” ya que este es el sustrato al que ha sido adaptado (sustrato convencional) las genéticas que ellos comercializan (ver figura 18, apartado B y C). La borra de café (ver figura 18, apartado A) es solicitada en las cafeterías de la Universidad Pontificia Bolivariana y son recogidas el día en que son generadas para su inclusión en las formulaciones. La vaina de arveja y de frijol (ver figura 18, apartado E y D) es solicitada en la plaza de mercado central del municipio de Girón, Santander.

Figura 18. Recepción de materiales considerados posteriormente en la formulación de unidades experimentales B y C. A: Borra de café, B: Cascarilla de arroz, C: Salvado de trigo, D: Vaina de frijol, E: Vaina de arveja.



Fuente: Autor

Para el procesamiento de los troncos de cafeto primero es removida la corteza de los troncos para eliminar todas las impurezas, luego, es cortado en mitades hasta que se obtenga el tamaño adecuado para el orificio de entrada de ramas del equipo triturador de residuos orgánicos referencia “TR200”, los troncos de cafeto son procesados hasta obtener el tamaño de partícula adecuado según lo especificado en las condiciones de cultivo, el proceso realizado es mostrado en la figura 19.

Figura 19. Herramientas y procesamiento de maderas de cafeto. A: Máquina trituradora de residuos orgánicos referencia “TE200”, B: Corte en mitades de maderas de cafeto, C: Verificación de diámetros de las ramas para su procesamiento, D y E: Madera procesada y triturada, tipo aserrín.





Fuente: Autor

Para el procesamiento de la vaina de arveja y frijol se utilizó un extractor de alimentos Nutribullet Pro-900 en ciclos cortos hasta obtener el tamaño de partícula adecuado.

En el caso de la pulpa de café, debe ser sometida a un proceso adicional para su desintoxicación y eliminación de la mayor cantidad de cafeína posible, ya que este componente puede inhibir el crecimiento del hongo shiitake, este proceso se realiza sometiendo la pulpa de café a un hervido en agua de 15 minutos posteriormente se escurre el excedente del agua y la pulpa está lista para utilizarse como es mostrado en la figura 20 (MushWorld, 2005).

Figura 20. Proceso de desintoxicación o remoción de cafeína de la pulpa de café. A: Hervido de material, B: Reposo de pulpa de café desintoxicada.



Fuente: Autor

En el empaquetado de los sustratos de las unidades experimentales se utilizaron diferentes referencias de bolsas de cultivo para lograr determinar la óptima para este tipo

de proyectos, las bolsas utilizadas y sus especificaciones son mostradas a continuación en la tabla 16:

Tabla 16. Bolsas adquiridas para el cultivo de hongos comestibles en las diferentes etapas del proyecto.

Referencia	Dimensiones (largo x ancho x alto)	Calibre	Filtro intercambio gaseoso	Apta autoclave	Etapas proyecto
Mycobags	20 [cm] x 12 [cm] x 50 [cm]	2	Si (0,5 micras)	Si	I.
Bolsa polipropileno	15 [cm] x 20 [cm] x 35 [cm]	1	No	No	II.
Bolsa polipropileno	15 [cm] x 10 [cm] x 15 [cm]	2	No	Si	III.

Fuente: El autor

En el caso de las bolsas que no presentan filtro de intercambio gaseoso (Etapa II. y III.) se opta por un sistema de intercambio gaseoso casero, este se realiza con un anillo de PVC, algodón sintético y gomas elásticas, esto es mostrado en la figura 24. Para el caso de las bolsas no resistentes al autoclavado durante la etapa II., se utiliza la alternativa de autoclavado de los sustratos en botellas de vidrio, para posteriormente introducir los sustratos en estas bolsas ya los sustratos estériles, esto es mostrado en la figura 22.

Figura 21. Etapa I. Bolsas de cultivo empleadas en las unidades experimentales preliminares. A: Bolsas de cultivo "Mycobag" calibre 2 con filtro 0,5 micras, B: Bolsas de cultivo con sustratos, C: Doblado de bolsa para esterilización en autoclave.

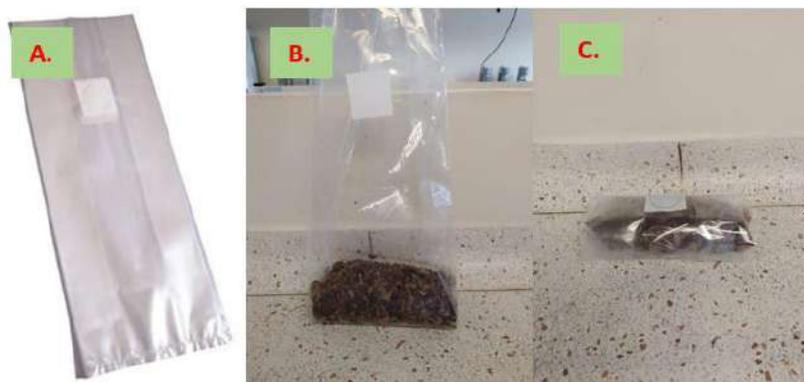


Figura 22. Etapa II. Bolsas de cultivo empleadas en las unidades experimentales II., calibre 1. A: Bolsas de polipropileno calibre 1. B y C: Esterilización de sustratos, método alternativo en botellas.



Figura 23. Etapa III. A. Bolsas de cultivo utilizadas en unidades experimentales III. B y C. Empaquetado de sustratos en bolsas de cultivo y doblado para esterilización de unidades experimentales III.



Figura 24. Sistema de intercambio de gases propuestos en bolsas de cultivo sin filtro. Unidades experimentales II y III. A: Preparación de sistema de intercambio, algodón sintético. B: Fijado con goma elástica, C: Vista final de bolsas de cultivo con sistema de intercambio de gases propuesto



Fuente: Autor

Esterilización de sustratos. Este procedimiento fue realizado en el laboratorio de microbiología (K-610) de la UPB haciendo uso de la autoclave (figura 25) que fue configurado para todas las etapas de la misma manera: Temperatura de 120°C a una presión de 15 PSI durante dos horas. Finalizado el proceso de esterilización, las unidades experimentales son llevadas a la cabina de flujo laminar para que reposen durante una noche y se enfríen para poder ser inoculadas al siguiente día.

Figura 25. Equipo empleado para la esterilización, autoclave.



Fuente: Autor

Inoculación de sustratos estériles. Este procedimiento se realiza en la cámara de flujo laminar ubicada en el laboratorio de microbiología (K-610, ver figura 26) de la UPB que previamente fue desinfectada para ser utilizada en condiciones de asepsia. Para este paso, se debe asegurar que el sustrato está completamente frío (por ello se hace transcurrida una noche después) para que el micelio no se vea afectado por acción de altas temperaturas. La inoculación fue realizada a las siguientes tasas de inoculación (%):

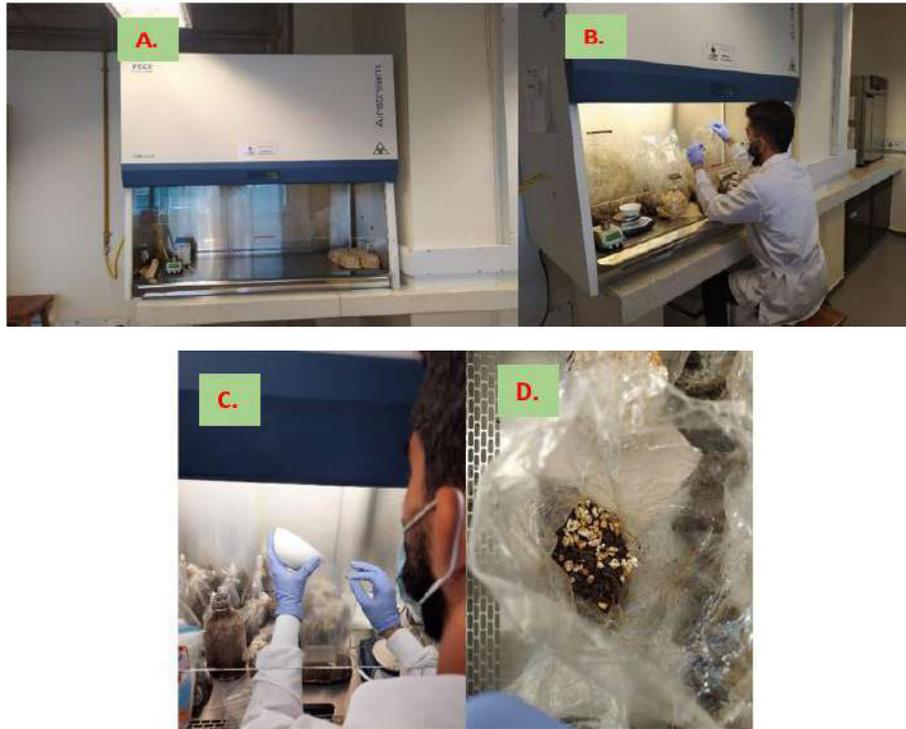
Tabla 17. Tasa de inoculación empleada por etapa del proyecto.

Experimento	Tasa de inoculación (%)
Unidades experimentales I.	15
Unidades experimentales II.	20

Unidades experimentales III.	20
------------------------------	----

Fuente: El autor

Figura 26. Equipos y proceso para la inoculación de sustratos estériles con semilla de *Lentinula edodes*. A. Cámara de flujo laminar, B y C: Inoculación de sustratos con semilla, D: Sustrato inoculado.



Fuente: Autor

Etapas de cultivo y seguimiento

Incubación

Colonización del micelio. Durante esta etapa se da la colonización del micelio en el sustrato, el micelio produce enzimas para degradar los componentes del sustrato como celulosa, hemicelulosa y lignina. Esta etapa puede completarse en las semanas 2 a 5 en la mayoría de las cepas, esta etapa puede desarrollarse en ambientes con alto contenido de CO₂ (MushWorld, 2005).

Formación de protuberancias o "Pop Corning". Terminada la colonización se forma una capa que se endurece y comienzan a desarrollarse zonas con protuberancias o

irregularidades, similar a una palomita de maíz (en inglés la referencia “Pop Corning”), las fluctuaciones temperatura y los altos niveles de dióxidos de carbono puede incentivar la formación de protuberancias. En algunas de estas protuberancias comenzarán a surgir los primordios más adelante cuando se haya completado la maduración del micelio (MushWorld, 2005). Esta etapa puede suceder entre 20 y 30 días después de que la colonización se completó (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a).

Si durante esta etapa se está formando una cantidad excesiva de protuberancias se puede disminuir esto realizando cortes en la bolsa de cultivo en esas áreas para disminuir la concentración de dióxido de carbono dentro del bloque (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a).

Pardeamiento o “Browning”. El micelio comienza a tomar una coloración café (en inglés la referencia “Browning”), el micelio se torna de color oscuro durante la etapa de pardeamiento. Esta etapa es recomendada que se desarrolle dentro de las bolsas y cerca de completarse al 100% abrir las bolsas para permitir que el sustrato esté en contacto con el ambiente directo y comience la siguiente y última etapa de incubación (MushWorld, 2005).

Formación de corteza. Al estar al aire libre el micelio toma una coloración marrón rojiza y eventualmente un color marrón oscuro y aspecto seco. Se forma una capa protectora y en el interior el sustrato se vuelve húmedo y blando por acción metabólica del hongo. La humedad relativa debe permanecer en valores de 60-70% para evitar la contaminación del sustrato (MushWorld, 2005).

Inducción a la fructificación. Choque térmico. El choque térmico se realiza con el fin de incentivar la formación de primordios en las áreas que se formaron las protuberancias o

“Pop Corning”, este choque consiste en disminuir la temperatura de los sustratos hasta 5°C. Para realizarlo, se sumergen las bolsas de cultivo en agua a bajas temperaturas por adición de hielo durante dos a cuatro horas y son llevadas al cuarto de fructificación o en su defecto, son cambiadas las condiciones del cuarto de cultivo (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a).

Fructificación

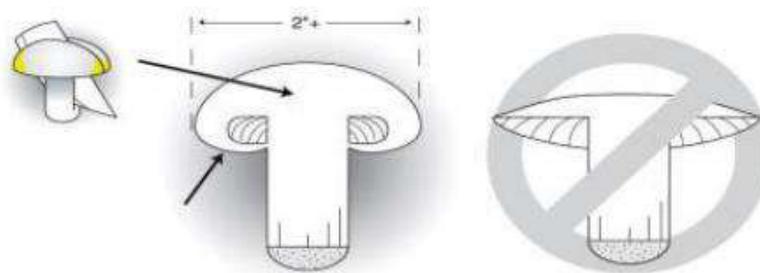
Los bloques son ubicados en las estanterías y el cuarto de cultivo se configura para temperaturas de 18 a 25°C y una humedad relativa de 80% a 90%. Es necesario un fotoperiodo de 12 horas de luz indirecta. Los primordios aparecerán en los primeros 7 días y comenzarán a desarrollarse los primeros cuerpos fructíferos del hongo (MushWorld, 2005).

Cálculos y análisis de indicadores de cultivo

Cosecha, pesaje y análisis

La cosecha se puede realizar de forma manual mediante la torsión en la base, lo más cercano al sustrato evitando lastimarlo o con uso de herramientas previamente desinfectadas con alcohol al 85% (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a). Se recomienda cosechar antes de que el borde del sombrero se extienda por completo como es mostrado en la figura 27 (Fredy Cacao García, 2014) y son pesados de forma inmediata, registrando cualquier diferencia morfológica que haya entre las unidades experimentales, es importante registrar la cantidad de cuerpos fructíferos generados en cada unidad de cultivo para comparar este dato posteriormente.

Figura 27. Tamaño y formas del shiitake al cosecharse.



Fuente: (Fredy Cacao García, 2014)

Para determinar la eficiencia de las unidades experimentales se realizan los cálculos de Eficiencia Biológica (EB), Rendimiento (R) y Tasa de Producción (TP), se contabilizan los días transcurridos desde la inoculación hasta la primera cosecha y esto se llama Ciclo de Cultivo (CC) (Hanko, 2001).

Ecuación 6. Eficiencia Biológica (EB)

$$\text{Eficiencia biológica (EB)} = \frac{\text{Masa de setas frescas}}{\text{Masa de sustrato seco}} * 100$$

Ecuación 7. Rendimiento (R)

$$\text{Rendimiento (R)} = \frac{\text{Masa de setas frescas}}{\text{Masa de sustrato húmedo}} * 100$$

Ecuación 8. Tasa de producción.

$$\text{Tasa de producción (TP)} = \frac{EB}{\text{tiempo de producción}} * 100$$

Fuente: (Hanko, 2001)

Seguimiento

Para el seguimiento de las etapas de cultivo (incubación y fructificación) se propone la revisión mínima de 3 veces a la semana del estado actual del cultivo, en estas revisiones se chequea que esté funcionando el aire acondicionado (sistema independiente), que esté funcionando el sistema de control y supervisión “caja controladora”, que el agua en el sistema de humidificación esté en el nivel adecuado, el estado de limpieza de los humidificadores ultrasónicos, el estado de cada una de las unidades de cultivo, para presentar con más detalle el

estado de las unidades experimentales se lleva el registro en una bitácora en la que se registra cualquier observación, eventualidad o aporte que se considere necesario. En caso de encontrar contaminación en las unidades experimentales se siguen los protocolos propuestos por (Rodríguez Valencia, Araque Fonseca, et al., 2006d).

Además, se propone estar verificando la lista de “Resolución de problemas” propuesta por (Hanko, 2001) para darle solución oportuna a las causantes de cualquier problema que se identifique y esté en la siguiente lista:

Tabla 18. Resolución de problemas, causas y soluciones a problemas típicos del cultivo de hongos.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIONES
El micelio no se forma	Estrategia de iniciación inadecuada	Consultar parámetro de crecimiento. Altere la humedad, la temperatura, la luz, el dióxido de carbono, etc. <i>Nota: Si el sustrato está demasiado húmedo, disminuya la humedad.</i>
El micelio no se forma	Agua clorada o contaminada	Use filtros de agua de carbón activado para eliminar contaminantes químicos o cualquier otra forma de tecnología simple o apropiada
El micelio no se forma	Mal sustrato	Verifique el sustrato. Extienda el sustrato y vuelva a mezclar el sustrato, empaque de nuevo, asegúrese de que todas las materias primas estén buenas y frescas. <i>Nota: Es necesario pasteurizar inmediatamente después de embolsar, de lo contrario, el gas de fermentación ralentizará la tasa de crecimiento del micelio o detendrá el crecimiento del micelio.</i>
El micelio no se forma	Mala pasteurización o esterilización	Compruebe el método de pasteurización o esterilización. Libere todo el aire y asegúrese de que haya vapor continuo antes de comenzar la pasteurización por un período de 3 horas. Asegúrese del buen funcionamiento del autoclave.

El micelio no se forma	El sustrato en la bolsa está demasiado caliente durante la inoculación	Asegúrese de que la bolsa de sustrato no esté demasiado caliente antes de la inoculación.
El micelio no se forma	Mala cepa o semilla	Obtenga una cepa más joven de vitalidad e historia conocidas.
	Semilla contaminada	Pasteurizar e inocular nuevamente con buena semilla.
	Olvidó inocular la bolsa	Asegurarse de inocular.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Buena pasteurización, pero debe disminuir la temperatura en la cámara de pasteurización. La pasteurización fue demasiado rápida y / o la puerta de la cámara se abrió demasiado rápido La esterilización no se realizó de forma adecuada	Disminuya lentamente la temperatura en la cámara. No abra la tapa del cámara demasiado rápido. Compruebe que el tapón de algodón esté bien cerrado. Verifique los procedimientos de esterilización.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Proceso de inoculación	Inocular en condiciones higiénicas; limpio y sin movimiento de aire.
	No hay suficiente ventilación para disminuir la temperatura acumulada.	Extienda la bolsa de sustrato y haga más ventilación de aire en el área de incubación. Verifique la temperatura y controle los alrededores para mantener entre 25 y 35 grados Celsius.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Dióxido de carbono demasiado alto	No más del 5% de dióxido de carbono. Verifique la ventilación.
	Higiene en el cuarto de incubación	Mejorar la higiene en el cuarto de incubación.
	El micelio se desarrolla en parches. El sustrato no está preparado de manera uniforme y algunas partes tienen más nutrientes que otras	Mezclar bien el sustrato.
	Contaminación por bacterias, otros hongos.	Verifique el proceso que causa la contaminación. Separe las bolsas contaminadas lo

<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>		<p>antes posible. Vuelva a mezclar el sustrato por separado. Rehacer las bolsas de sustrato y pasteurizar durante más tiempo. Siga el proceso.</p>
<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p> <p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>	<p>Contaminación por ácaros</p>	<p>Separe inmediatamente las bolsas contaminadas y vuelva a pasteurizar. Continúe con el proceso normal.</p> <p><i>Nota:</i></p> <p>* Mantener la gestión de la higiene; asegúrese de limpiar todo (persona, área, herramientas, equipo y alrededores durante cada paso).</p> <p>* <i>Deje de usar el área para cortar el ciclo de vida de todos los contaminantes por un período de al menos 1-2 semanas. Para casos de contaminación grave, rocíe el área con productos químicos.</i></p> <p>* <i>Use luz negra con agua o trampa adhesiva para disminuir los insectos.</i></p>
<p>El micelio crece, pero no produce hongos</p>	<p>La fórmula del sustrato no es adecuada</p>	<p>Ajustar la fórmula; comprobar el pH; serrín; aditivos; etc.</p>
	<p>Ácaros, moho, virus, bacterias e insectos</p>	<p>Verifique el proceso de pasteurización o esterilización, la inoculación, otros procesos y el manejo del cuarto de incubación.</p>
	<p>Inhibido por toxinas ambientales.</p>	<p>Elimina la fuente de toxinas.</p>
	<p>Mala cepa o semilla</p>	<p>Adquirir nuevas cepas, cambiar de proveedor</p>
<p>Se forman hongos, pero abortan o retrasan su crecimiento</p>	<p>Los primordios y la condición de crecimiento del cuerpo fructífero no son suficientemente buenas</p>	<p>Verifique la temperatura y la humedad. Abra o cierre puertas y ventanas para ajustarlas en consecuencia.</p>
	<p>Hay contaminación como moho, bacterias, insectos, gusanos y ácaros</p>	<p>Compruebe la higiene, ajuste el ambiente de luz, temperatura, humedad y ventilación. En casos más severos, use media cucharadita de azufre en 3,5 litros de agua. Rocíe las bolsas y la superficie de los hongos. Retire las bolsas contaminadas del cuarto de cultivo y recíclelas.</p>

Se forman hongos, pero abortan o retrasan su crecimiento	Contaminación química por disolventes, gas, cloro, etc.	Elimina toxinas.
	Mala cepa	Adquiera una nueva cepa o busque un nuevo proveedor
Se forman hongos, pero los tallos son largos; sombreros subdesarrollados	Luz inadecuada	Aumente o ajuste la luz para corregir la longitud de onda.
	Exceso de dióxido de carbono	Aumente el intercambio de aire, abra puertas o ventanas y ciérrelas en el momento correcto.
Se forman cantidades masivas de hongos; pocos se desarrollan	Incubación demasiado prolongada	Acortar el período de formación de primordios
	Falta de oxígeno, luz inadecuada	Aumente la ventilación del aire y abra más ventanas o puertas para recibir más luz.
	Nutrición del sustrato inadecuada o de baja calidad	Reformular o comprobar materias primas.
Se forman cantidades masivas de hongos; pocos se desarrollan	Crecimiento de micelio de baja tasa	Utilice la generación de alta tasa o ajuste las buenas condiciones para la tasa de crecimiento.
	Mala cepa	Obtenga una mejor genética de cepa
Los hongos se deforman, se pudren y mueren	Perturbado por gérmenes o microorganismos competidores	Ajuste la el cuarto de cultivo de hongos para favorecer los hongos y no los gérmenes y competidores.
	Superficie sucia de las bolsas de sustrato	Limpiar la superficie del sustrato.
	No hay suficiente ventilación de aire, humedad demasiado alta	Incrementa la circulación de aire. Reducir la humedad a los niveles prescritos. El agua de la superficie debe evaporarse de los hongos varias veces al día. Verifique el riego; si hay agua en las bolsas, perfore las bolsas y drene el agua.
Los hongos se deforman, se pudren y mueren	Mala cepa	Obtenga una mejor genética de cepa
	Uso de productos químicos durante este período	Nunca use productos químicos durante la etapa de fructificación.
	Nutrición inadecuada del sustrato	Reformular sustratos.

Se producen hongos solo en la primera oleada, no producen oleadas posteriores	Organismos competidores	Controlar la higiene, regular la luz, la temperatura, la humedad, el aire y la ventilación.
	Gestión deficiente del cuarto de cultivo	Mejorar la gestión.
	Mala cepa	Obtenga una mejor genética de cepa
Hongos de tamaño pequeño	Demasiados hongos salen al mismo tiempo	Reducir el tamaño de las aberturas.
	Falta de nutrientes en sustrato	Revise la calidad del sustrato.
Hongos de tamaño pequeño	Cambio de clima	Tenga cuidado con los cambios de temperatura amplios.
	Semilla poco saludable.	Verifique el origen de la semilla.
Plagas e insectos	Ocurrencia natural, clima húmedo.	Coloque plantas de limoncillo alrededor del cuarto de cultivo. Extienda la cal en los estantes, en los postes y en el suelo del cuarto de cultivo de hongos. Limpiar (y mantener limpio) el depósito de hongos correctamente.
	Residuos de hongos o residuos orgánicos tirados alrededor del cuarto de cultivo	Trate de utilizar los residuos como fertilizante o recíclelos.
	Hormigas	Mezclar detergente con agua y colocar en su camino. No ponga hongos.
Los hongos son livianos	Escasez de agua	Verifique la humedad del hongo.
Los hongos se estropean rápidamente	Hongos demasiado maduros cuando se recolectan	Coseche cuando sea más joven.
	Hongos demasiado calientes antes del envasado	Enfríe los hongos antes de colocarlos en recipientes comerciales.
	Hongos demasiado húmedos cuando se cosechan	Reducir la humedad varias horas antes de cosechar.
	Hongos almacenados más allá de la vida útil	Consuma o venda los hongos más rápidamente.

Fuente: (Hanko, 2001)

A su vez, se registran las diferencias morfológicas notables durante el ciclo de vida del hongo comestible. Esto para reconocer la incidencia de las diferentes formulaciones de sustratos y las variables condiciones que se pueden llegar a dar dentro del módulo de cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Formulación y análisis de sustratos. Supervisión y control de variables ambientales.

Análisis y formulación de sustratos

Para la formulación de sustratos en las tres etapas del proyecto realizadas (unidades experimentales I., II. y III.), se parte de información secundaria para la realización de los cálculos de relaciones carbono/nitrógenos óptimos para el cultivo de los hongos comestibles.

En primera instancia, para la formulación de unidades experimentales I. preliminares y unidades experimentales II., se propone el análisis individual de cada material. El análisis de carbono es realizado a partir de la metodología propuesta por (Muskus Morales & Quintero Duque, 2016), el análisis de nitrógeno es realizado por el Laboratorio de Estudios Ambientales (LEA) por el método SM 4500-Norg C - SM 4500-NH3 B, C. Los resultados obtenidos están en la tabla 19.

Tabla 19. Análisis de materiales empleados en la formulación de unidades experimentales en la etapa I. y etapa II.

Material	Carbono [%]	Nitrógeno [%]
Aserrín de cafeto	57,153	0,386
Cascara de café o cereza de café	51,130	1,50
Cisco	57,257	0,00
Borra de café	56,889	0,278
Cascarilla de arroz	40,214	0,383

Salvado de trigo	55,895	0,171
------------------	--------	-------

Fuente: El autor y Laboratorio de Estudios Ambientales (LEA).

En la realización de las unidades experimentales III. se propone realizar el análisis de las mezclas ya formuladas, en lugar de realizar el análisis individual de cada material empleado (fase I. y II.). Estos análisis son realizados por el Laboratorio de Estudios Ambientales (LEA) y son mostrados en la tabla 20.

Tabla 20. Análisis de sustratos empleados en las unidades experimentales de la etapa III.

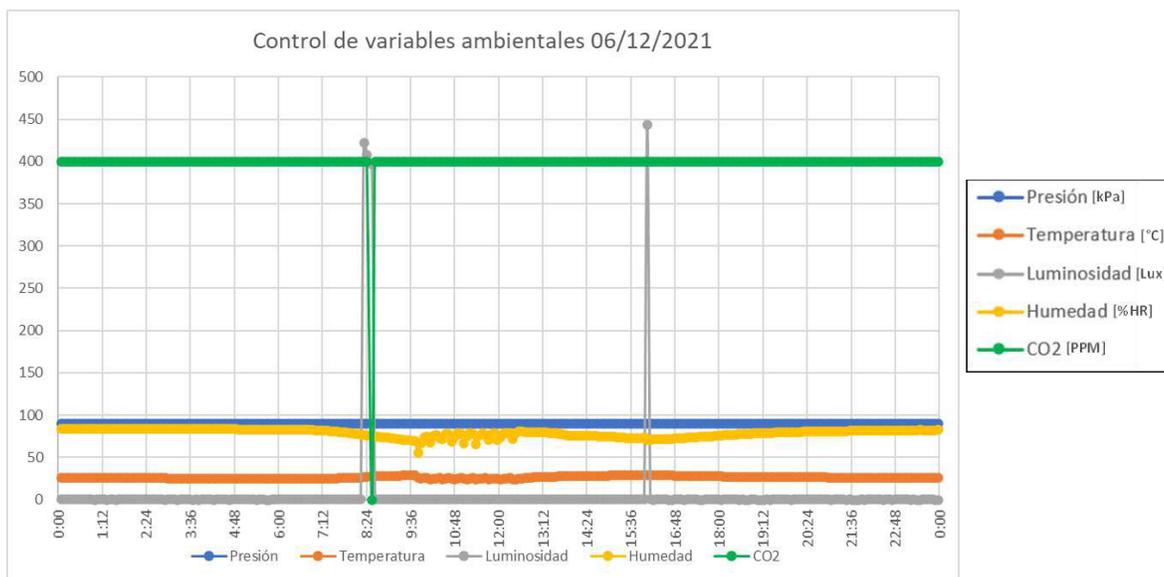
Sustrato	Carbono [%]	Nitrógeno [%]	Fosforo disponible [mg/Kg]	Humedad Gravimétrica [%]
TK	54,2	0,570	324,11	60,61
TL	46,9	0,226	152,01	51,57
TM	72,7	0,572	422,56	59,48
TN	24,3	0,259	172,21	59,89
TO	37,2	0,546	634,62	56,22
TP	21,8	0,379	62,61	60,84
TQ	40,9	0,351	216,74	61,16

Fuente: El autor y Laboratorio de Estudios Ambientales (LEA).

Supervisión y control de variables ambientales

Para el desarrollo de las etapas de incubación y fructificación, el sistema de supervisión y control de variables ambientales es el encargado de realizarlo, el equipo registra información de presión, temperatura, luminosidad, humedad y CO₂ cada cinco (5) minutos durante el tiempo que esté programado para la supervisión y control. A partir de esta información se realizan gráficos para observar el comportamiento de las variables ambientales y supervisar que se estén controlando las condiciones ambientales a lo requerido, los gráficos realizados son mostrados en la figura 28.

Figura 28. Ejemplo de gráfico del control de variables ambientales.



Fuente: El autor

A partir de los gráficos y la información generada por el sistema de supervisión y control, se definen como variables ambientales críticas para el proyecto a la temperatura y humedad ya que son las que se encuentran en constante cambio y tienen más incidencia en el estado del cultivo. Información como la presión y dióxido de carbono (CO₂) permanecieron invariables, la luminosidad durante la incubación tiene la función de indicar las horas en que se ingresó a realizar las revisiones al módulo dado que se requiere condición de oscuridad durante la primera etapa del ciclo de cultivo (incubación), lo que hace que esté en valores cercanos a cero (luz apagada) la mayor parte del tiempo, durante la etapa de fructificación la iluminación sí es analizada para cumplir los fotoperiodos requeridos por el hongo. Toda la información almacenada durante los meses de este proyecto es almacenada y organizada en documentos apartes, la información presentada hace parte de una recopilación y premediación de toda esta información.

La información recolectada durante cada etapa del proyecto es resumida por semanas y presentando la información graficada de las variables críticas (temperatura y humedad, ver figura

29), resaltando con colores según lo mostrado en la tabla 21 los días en que hubo fallo en el control y supervisión de las variables ambientales.

Figura 29. Ejemplo de reporte de información semanal variables críticas (temperatura y humedad)



Fuente: El autor

Tabla 21. Significado de resalto de colores en gráficos de resumen de variables críticas.

Color	Significado
Verde	No hubo control. Temperaturas (T) superiores a 30 °C
Azul	No hubo control. Temperaturas (T) inferiores a 15 °C
Rosa	No hubo control. Humedad Relativa (HR) inferior a 40%

Fuente: El autor

En el ejemplo mostrado, se muestran los problemas frecuentes que se encontraron en el módulo de supervisión y control, esto corresponde a los días en que la temperatura estuvo por encima de 30°C y 15°C valores definidos como críticos para este cultivo y los valores de humedad relativa por debajo de 40 (%) son considerados como un día donde no hubo control de la variable humedad relativa. Estos fallos en el control y supervisión de las variables ambientales se dan, en caso de la temperatura, por fallos en el aire acondicionado que son ocasionados por la interrupción de la energía eléctrica (apagones, reinicios de energía, etc) del equipo de aire acondicionado, provocando que el sistema se apague y no se vuelva a iniciar hasta que se realice

de forma manual por el operador. La humedad relativa no se controla por fallos en el aire acondicionado por las razones que ya fueron expuestas anteriormente o también, atribuible al agotamiento del agua en el recipiente del sistema de humidificación, o por fallos/taponamientos en los humidificadores ultrasónicos que es solucionado con realizar limpiezas semanales al sistema de humidificación.

En la tabla 22 se presentan las configuraciones utilizadas en el equipo de supervisión y control durante todas las etapas del proyecto.

Tabla 22. Configuraciones programadas en equipo de supervisión y control para todas las etapas del proyecto (I., II., III.)

Fechas	Configuración equipo de supervisión y control	Etapas del proyecto
12:05:15 24/08/2021 – 02/09/2021 10:18:19	Temperatura: 28 °C Humedad: 50%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de semillas cepa #1 (24/08/2021 – 01/10-2021)
03/09/2021 – 07/09/2021	Periodo no funcionamiento. Switch cambiado	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de semillas cepa #1 (24/08/2021 – 01/10-2021)
08:46:15 08/09/2021 – 07/10/2021 09:48:45	Temperatura: 26 °C Humedad: 80%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de semillas cepa #1 (24/08/2021 – 01/10-2021) • Incubación de unidades experimentales I. preliminares (01/10/2021 – 10/11/2021)
09:48:45 07/10/2021 – 29/10/2021 08:46:31	Temperatura: 26°C Humedad: 85%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales I. preliminares (01/10/2021 – 10/11/2021)
08:46:31 29/10/2021 – 22/11/2021 11:21:33	Temperatura: 24 °C Humedad: 70%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales I. preliminares (01/10/2021 – 10/11/2021) • Incubación de unidades experimentales II. (03/11/2021 – 24/01/2022)
11:21:33 22/11/2021 – 25/11/2021 08:15:25	Temperatura: 23°C Humedad: 40%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales II. (03/11/2021 – 24/01/2022)

08:15:25 25/11/2021 – 13/01/2022 09:17:11	Temperatura: 26°C Humedad: 40%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales II. (03/11/2021 – 24/01/2022)
09:17:11 13/01/2022 – 03/02/2022 08:18:24	Temperatura: 17°C Humedad: 90%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales II. (03/11/2021 – 24/01/2022)
08:18:24 03/02/2022 – 14/02/2022 08:45:03	Temperatura: 24°C Humedad: 40%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales III. (03/02/2022 – 28/03/2022)
08:45:03 14/02/2022 – 02/03/2022 09:03:24	Temperatura: 24°C Humedad: 80%	<ul style="list-style-type: none"> • Incubación de unidades experimentales III. (03/02/2022 – 28/03/2022)
09:03:24 02/03/2022 –07- 03/2022 10:37:12	Temperatura: 17°C Humedad: 85%	<ul style="list-style-type: none"> • Fructificación de unidades experimentales III. (02/03/2022 – 28/03/2022)
10:37:12 07-03/2022 – 28/03/2022	Temperatura: 17°C Humedad: 90%	<ul style="list-style-type: none"> • Fructificación de unidades experimentales III. (02/03/2022 – 28/03/2022)

Fuente: El autor

La anterior información es mostrada de forma independiente para cada etapa del proyecto, reportando las configuraciones utilizadas en un calendario (ver figura 30 ejemplo), este calendario presenta las siguientes coloraciones (tabla 23) para identificar las etapas de cultivo del hongo en la que se encuentra durante cada día del mes y los días en los que no se realizó un control adecuado de las variables ambientales. Los efectos de esos fallos en el crecimiento y desarrollo de las etapas del hongo son analizados en el seguimiento del cultivo. En el calendario se presentan las abreviaturas de Temperatura como “T” y Humedad Relativa como “HR”.

Figura 30. Ejemplo de reporte información de configuraciones programadas en sistema de control y supervisión. Información tipo calendario.

mes 1 ejemplo						
L	M	X	J	V	S	D
					1 T=24°C HR=80%	2 T=24°C HR=80%
3 T=24°C HR=80%	4 T=24°C HR=80%	5 T=24°C HR=80%	6 T=24°C HR=80%	7 T=24°C HR=80%	8 T=24°C HR=80%	9 T=24°C HR=80%
10 T=24°C HR=80%	11 T=24°C HR=80%	12 T=24°C HR=80%	13 T=24°C HR=80%	14 T=24°C HR=80%	15 T=24°C HR=80%	16 NO CONTROL
17 NO CONTROL	18 T=24°C HR=80%	19 T=24°C HR=80%	20 T=24°C HR=80%	21 T=24°C HR=80%	22 T=24°C HR=80%	23 T=24°C HR=80%
24 T=24°C HR=80%	25 T=24°C HR=80%	26 T=24°C HR=80%	27 T=24°C HR=80%	28 T=24°C HR=80%	29 T=24°C HR=80%	30 T=24°C HR=80%
31 T=24°C HR=80%						

mes 2 ejemplo						
L	M	X	J	V	S	D
	1 T=24°C HR=80%	2 T=24°C HR=80%	3 T=24°C HR=80%	4 T=24°C HR=80%	5 T=17°C HR=90%	6 T=17°C HR=90%
7 T=17°C HR=90%	8 T=17°C HR=90%	9 T=17°C HR=90%	10 T=17°C HR=90%	11 T=17°C HR=90%	12 T=17°C HR=90%	13 T=17°C HR=90%
14 T=17°C HR=90%	15 T=17°C HR=90%	16 T=17°C HR=90%	17 T=17°C HR=90%	18 T=17°C HR=90%	19 T=17°C HR=90%	20 T=17°C HR=90%
21 T=17°C HR=90%	22 T=17°C HR=90%	23 T=17°C HR=90%	24 T=17°C HR=90%	25 T=17°C HR=90%	26 T=17°C HR=90%	27 T=17°C HR=90%
28 T=17°C HR=90%	29 T=17°C HR=90%	30 T=17°C HR=90%				

mes 3 ejemplo						
L	M	X	J	V	S	D
			1 T=17°C HR=90%	2 T=17°C HR=90%	3 T=17°C HR=90%	4 T=17°C HR=90%
5 T=17°C HR=90%	6 T=17°C HR=90%	7 T=17°C HR=90%	8 T=17°C HR=90%	9 T=17°C HR=90%	10 T=17°C HR=90%	11 T=17°C HR=90%
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	

Fuente: El autor

Tabla 23. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.

Color	Significado
	Incubación de semilla
	Incubación de unidades experimentales
	Formación de protuberancias y pardeamiento
	Fructificación de unidades experimentales
	Cosecha de unidades experimentales
	No hubo control. Fallos en energía/configuración/temperatura/humedad

Fuente: El autor

Supervisión y control de variables ambientales en Etapa I. Unidades experimentales I.

preliminares. El control de las condiciones ambientales en esta primera etapa comenzó con la simulación de condiciones ambientales para la semilla de la cepa #1, esto para que terminara su proceso de colonización y proceder a la inoculación de las unidades

experimentales preliminares (la información detallada es encontrada en el [anexo 1](#)) en la etapa I. y así poder darle comienzo a la primera etapa de control y supervisión en el cultivo de hongos comestibles que es la incubación de los sustratos inoculados. A continuación, se expone la información recolectada durante la etapa I. del proyecto, la información puede ser detallada en el [anexo 3](#).

Figura 31. Etapa I. Resumen de configuraciones utilizadas en sistema de control y supervisión en unidades experimentales I. preliminares. Información tipo calendario.

agosto 2021						
L	M	X	J	V	S	D
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25 T=28°C	26 T=28°C	27 T=28°C	28 T=28°C	29 T=28°C
30 T=28°C HR=50%	31 T=28°C HR=50%					

septiembre 2021						
L	M	X	J	V	S	D
		1 T=28°C HR=50%	2 T=28°C HR=50%	3 NO CONTROL	4 NO CONTROL	5 NO CONTROL
6 NO CONTROL	7 NO CONTROL	8 T=26°C HR=80%	9 T=26°C HR=80%	10 T=26°C HR=80%	11 T=26°C HR=80%	12 T=26°C HR=80%
13 T=26°C HR=80%	14 T=26°C HR=80%	15 T=26°C HR=80%	16 T=26°C HR=80%	17 T=26°C HR=80%	18 T=26°C HR=80%	19 T=26°C HR=80%
20 T=26°C HR=80%	21 T=26°C HR=80%	22 T=26°C HR=80%	23 T=26°C HR=80%	24 T=26°C HR=80%	25 T=26°C HR=80%	26 T=26°C HR=80%
27 T=26°C HR=80%	28 T=26°C HR=80%	29 T=26°C HR=80%	30 T=26°C HR=80%			

octubre 2021						
L	M	X	J	V	S	D
				1 T=26°C HR=80%	2 T=26°C HR=80%	3 T=26°C HR=80%
4 T=26°C HR=80%	5 T=26°C HR=80%	6 T=26°C HR=80%	7 T=26°C HR=80%	8 T=26°C HR=85%	9 T=26°C HR=85%	10 T=26°C HR=85%
11 T=26°C HR=85%	12 T=26°C HR=85%	13 T=26°C HR=85%	14 T=26°C HR=85%	15 T=26°C HR=85%	16 T=26°C HR=85%	17 T=26°C HR=85%
18 T=26°C HR=85%	19 T=26°C HR=85%	20 T=26°C HR=85%	21 T=26°C HR=85%	22 T=26°C HR=85%	23 T=26°C HR=85%	24 T=26°C HR=85%
25 T=26°C HR=85%	26 T=26°C HR=85%	27 T=26°C HR=85%	28 T=26°C HR=85%	29 T=26°C HR=85%	30 T=24°C HR=70%	31 T=24°C HR=70%

noviembre 2021						
L	M	X	J	V	S	D
1 T=24°C HR=70%	2 T=24°C HR=70%	3 T=24°C HR=70%	4 T=24°C HR=70%	5 T=24°C HR=70%	6 T=24°C HR=70%	7 T=24°C HR=70%
8 T=24°C HR=70%	9 T=24°C HR=70%	10 T=24°C HR=70%	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30					

Fuente: El autor

Tabla 24. Etapa I. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.

Color	Significado
	Incubación de semilla
	Incubación de unidades experimentales
	Formación de protuberancias y pardeamiento
	Fructificación de unidades experimentales
	Cosecha de unidades experimentales
	No hubo control. Fallos en energía/configuración/temperatura/humedad

Fuente: El autor

A partir de la información del calendario para la Etapa I, se especifica en la siguiente tabla (tabla 25) las condiciones que se presentaron en estos días de fallo en el control y supervisión de las variables ambientales.

Tabla 25. Etapa I. Resumen días de fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales I. preliminares. Temperaturas superiores a 30°C.

Fecha fallo control y supervisión	Tiempo temperaturas > 30°C [h:min:s]
2/10/2021	03:05:00
3/10/2021	08:45:00
4/10/2021	08:35:00
5/10/2021	00:15:00

Fuente: El autor

Con la información suministrada por los calendarios de la etapa I. del proyecto, se observan los primeros 37 días de incubación para la cepa #1 que no presentaba una vigorosidad y calidad en la estructura micelial, se le dio este tiempo hasta que estuviera lista para la inoculación de los sustratos, en esta etapa se registra el “NO CONTROL” durante los días 03 de septiembre hasta el 07 de septiembre debido a que la caja de supervisión y control presentaba problemas en el interruptor de encendido/apagado y no fue registrada información en este periodo.

Se continúa en la etapa de incubación de las unidades experimentales y para el segundo día de esta etapa, se presentan los cuatro días de fallo en el sistema de

supervisión y control, el micelio se encontraba en una etapa muy prematura de la incubación por lo que estos cambios excesivos en la temperatura, más altos de la temperatura óptima, ocasionaron daños irreparables puesto que el experimento continuo durante 36 días esperando una recuperación y avance de la estructura micelial para continuar con la etapa de formación de protuberancias y pardeamiento, sin embargo, esta primer etapa concluye en la etapa de incubación y se decide descartar las unidades experimentales I preliminares para darle continuidad a las nuevas formulaciones de sustratos en la etapa II.

Según lo reportado por (MushWorld, 2004) la temperatura dentro de las bolsas durante los primeros 10 a 12 días de incubación puede ser mayor que la temperatura ambiente en 4-5 °C hasta incluso en 7-8°C por las actividades metabólicas del micelio, por lo que teóricamente se podría asumir que las temperaturas al interior de los sustratos estuvieron fuera de los límites óptimos por muchos grados de temperatura y sufrió un daño irreparable, no hubo recuperación y comenzó la invasión por parte de otros organismos competidores.

Durante la etapa de incubación en el desarrollo de la etapa I. del proyecto, se presentaron fallos en el sistema de supervisión y control como es expuesto en la tabla anterior (ver tabla 25), la temperatura óptima para la incubación esta semilla ronda los 16-27 °C, pero las diferentes especies pueden ser adaptadas a temperaturas más altas (5 a 32 °C.), por recomendación del proveedor no son óptimas temperaturas cercanas o superiores a 30°C. En esta etapa del proyecto, se presentaron fallos en términos de la temperatura durante 4 días, dos de ellos (03/10/2021 y 04/10/2021) donde se registraron estas condiciones por más de 8 horas en el día, según la literatura consultada (MushWorld, 2005) y lo evidenciado en el desarrollo micelial de las unidades

experimentales I., el micelio recibió un daño irreparable y tornó una coloración amarilla (ver figura 33), posteriormente a estos días de fallos en el sistema de supervisión y control, no hubo una recuperación del micelio de *Lentinula edodes* lo cual indicó la muerte del hongo.

Figura 32. Montajes de unidades experimentales I. preliminares. Etapa de incubación semana 0-1.



Fuente: El autor

Figura 33. Muerte del micelio de *Lentinula edodes* por acción de las altas temperaturas, coloración amarilla en micelio y daños perceptibles.



Fuente: El autor

En los procesos metabólicos del shiitake, todas las reacciones fisicoquímicas están controladas por la temperatura, las numerosas enzimas encargadas de la degradación de los sustratos tienen sus propias temperaturas óptimas de actividad, por ello, esta variable es tan crítica. Cuando las temperaturas son demasiado altas, las moléculas y enzimas pueden desnaturalizarse y perder su viabilidad/funcionabilidad (MushWorld, 2005). En la figura 34 se observa el estado de las unidades experimentales antes de ser descartada, en estas se evidencian el no avance del micelio, por lo que el daño ocasionado fue muy fuerte para recuperarse.

Otra importancia para tener en cuenta, los hongos shiitake históricamente han sido principalmente cultivados en zonas templadas, por lo que tienen una mejor adaptación y menor riesgo de daños a bajas temperaturas y puede ser sensible a cambios bruscos en la temperatura (MushWorld & HEINEARTH Inc, 2004).

Figura 34. Estado de unidades experimentales I. antes de ser descartadas, invasión de micelio nula, estructura miceliar con daños irreparables.



Fuente: El autor

Etapas II. Control de variables ambientales en Unidades experimentales II. Durante este segundo experimento, se utiliza la cepa #2 y se realiza la inoculación una vez adquirida la semilla, sin necesidad de tiempo extra como en el caso anterior con la cepa #1. El control y

supervisión de las variables ambientales se realizó para las etapas de incubación y fructificación como es mostrado a continuación en la figura 35:

Figura 35. Etapa II. Resumen de configuraciones utilizadas en sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Información tipo calendario.

noviembre 2021						
L	M	X	J	V	S	D
1	2	3 T=24°C HR=70%	4 T=24°C HR=70%	5 T=24°C HR=70%	6 T=24°C HR=70%	7 T=24°C HR=70%
8 T=24°C HR=70%	9 T=24°C HR=70%	10 T=24°C HR=70%	11 T=24°C HR=70%	12 T=24°C HR=70%	13 NO	14 NO
15 NO	16 T=24°C HR=70%	17 T=24°C HR=70%	18 T=24°C HR=70%	19 T=24°C HR=70%	20 T=24°C HR=70%	21 T=24°C HR=70%
22 T=23°C HR=70%	23 T=23°C HR=40%	24 T=23°C HR=40%	25 T=23°C HR=40%	26 T=26°C HR=40%	27 T=26°C HR=40%	28 T=26°C HR=40%
29 NO	30 T=26°C HR=40%					

diciembre 2021						
L	M	X	J	V	S	D
		1 T=26°C HR=40%	2 T=26°C HR=40%	3 T=26°C HR=40%	4 T=26°C HR=40%	5 T=26°C HR=40%
6 T=26°C HR=40%	7 T=26°C HR=40%	8 T=26°C HR=40%	9 T=26°C HR=40%	10 T=26°C HR=40%	11 T=26°C HR=40%	12 T=26°C HR=40%
13 T=26°C HR=40%	14 T=26°C HR=40%	15 T=26°C HR=40%	16 T=26°C HR=40%	17 T=26°C HR=40%	18 T=26°C HR=40%	19 T=26°C HR=40%
20 T=26°C HR=40%	21 T=26°C HR=40%	22 T=26°C HR=40%	23 T=26°C HR=40%	24 T=26°C HR=40%	25 T=26°C HR=40%	26 T=26°C HR=40%
27 T=26°C HR=40%	28 NO	29 NO	30 NO	31 NO		

enero 2022						
L	M	X	J	V	S	D
					1 NO	2 NO
3 T=26°C HR=40%	4 T=26°C HR=40%	5 T=26°C HR=40%	6 T=26°C HR=40%	7 T=26°C HR=40%	8 NO	9 NO
10 NO	11 NO	12 T=26°C	13 T=17°C	14 T=17°C	15 T=17°C	16 T=17°C
CONTROL	CONTROL	HR=40%	HR=90%	HR=90%	HR=90%	HR=90%
17 T=17°C HR=90%	18 T=17°C HR=90%	19 T=17°C HR=90%	20 T=17°C HR=90%	21 T=17°C HR=90%	22 T=17°C HR=90%	23 T=17°C HR=90%
24 T=17°C HR=90%	25	26	27	28	29	30
31						

Fuente: El autor

Tabla 26. Etapa II. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.

Color	Significado
	Incubación de semilla
	Incubación de unidades experimentales
	Formación de protuberancias y pardeamiento
	Fructificación de unidades experimentales
	Cosecha de unidades experimentales
	No hubo control. Fallos en energía/configuración/temperatura/humedad

Fuente: El autor

En el resumen mostrado para esta etapa II. del cultivo en el [anexo 2](#), se observa el no control de la variable temperatura en diferentes semanas, esto muestra que hubo un proceso de daño por exceso de temperatura en múltiples ocasiones durante la etapa de incubación, evento que causó daños considerables en el micelio. Durante la etapa II del proyecto se presentaron los siguientes fallos, ocasionando tres condiciones que tienen potencial de afectar al cultivo de hongos, temperaturas superiores a 30°C, temperaturas inferiores a 15°C y humedad relativa inferior a 40%, esta información es recolectada y mostrada en las tablas 27, 28 y 29.

Tabla 27. Etapa II. Resumen días fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Humedad relativa inferior a 40%.

Fecha fallo control y supervisión	Tiempo humedad relativa < 40% [h:min:s]
13/11/2021	07:40:00
14/11/2021	08:12:23

Tabla 28. Etapa II. Resumen días de fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Temperaturas superiores a 30°C.

Fecha fallo control y supervisión	Tiempo temperaturas > 30°C [h:min:s]
15/11/2021	04:30:00
29/11/2021	01:10:00
28/12/2021	07:55:00
29/12/2021	05:30:00
30/12/2021	07:40:00
31/12/2021	07:55:00
01/01/2022	08:00:00
02/01/2022	09:00:00
08/01/2022	06:55:00
09/01/2022	07:25:00
10/01/2022	07:15:00
11/01/2022	03:35:00

Tabla 29. Etapa II. Resumen días fallo de sistema de control y supervisión en unidades experimentales II. Temperaturas inferiores a 15°C.

Fecha fallo control y supervisión	Tiempo temperaturas < 15°C [h:min:s]
13/11/2021	04:55:00
14/11/2021	06:14:12

Fuente: El autor

Pese a los daños ocasionados por el fallo del control de las variables ambientales, se somete a choque térmico las unidades experimentales, para inducir la etapa de fructificación, saltando la etapa de “Formación de protuberancias y pardeamiento”, no se observan resultados considerables en los siguientes 15 días de fructificación. Las unidades experimentales II. son descartadas y se procede a la siguiente etapa del proyecto, etapa III. en la formulación de las unidades experimentales III.

Durante la realización del ensayo II (ver figura 36), se presentaron los tres tipos de problemas posibles en las variables ambientales críticas (temperatura y humedad relativa), presentando más inconvenientes en el control de la variable temperatura, presentando temperaturas superiores a 30°C en 12 ocasiones por tiempos prolongados en la mayoría de estos momentos de no supervisión. Las bajas temperaturas no tienen gran incidencia en el estado del cultivo, esta condición provoca la disminución del crecimiento micelial pero no lo lastima/destruye y la condición de humedad relativa inferior a 40% para esta etapa no es una condición crítica ya que los sustratos aún se encuentran dentro de las bolsas y la humedad relativa interna se mantiene al interior de estos recipientes. La influencia de estas temperaturas ocasionó, como en la etapa I., daños en la estructura micelial y el retroceso del porcentaje de colonización. Como medida de emergencia, se realiza el choque térmico de todas las unidades (sin importar que su estado de colonización no sea del 100%) para inducir a la siguiente etapa del cultivo que es la fructificación. El efecto y avance de la red micelial a lo largo de las semanas y los efectos de los fallos en el sistema de supervisión y control son mostrados en las figuras 37 y 38.

Figura 36. Montajes de unidades experimentales II. Etapa de incubación semana 0-1.



Figura 37. Unidades experimentales II. Etapa de incubación semana 1. Avance de la invasión micelial del hongo *Lentinula edodes*.



Figura 38. Unidades experimentales II. Etapa de incubación, semana 1. Efectos del fallo en el control de la temperatura. Comparación, estructura micelial con daños y estructura micelial en buen estado.



Fuente: El autor

Durante el evento de la primera semana de fallo en el control de la temperatura se presentó el daño de la estructura micelial en múltiples unidades de cultivo, pero otras no lograron ser afectadas. Las unidades afectadas no muestran mejoría a lo largo del tiempo

y las que se encontraban en un mejor estado se ha disminuido la velocidad de invasión del micelio, la muerte del micelio en todas las unidades se da en las semanas 5 y 8 durante los eventos de fallo en el control de la temperatura. Finalmente, al no haber una recuperación e invasión de las unidades experimentales, son descartadas.

Etapa III. Control de variables ambientales en Unidades experimentales III. En el tercer experimento del proyecto se plantea utilizar nuevamente la cepa #2 para la inoculación de las nuevas unidades experimentales, esto debido a los buenos resultados que se obtuvieron en las primeras semanas de corrida de micelio en el anterior experimento (antes de que fallara la supervisión y control de las condiciones ambientales). Sin embargo, en la semana #4 comienza a fructificar una de las unidades experimentales (TO3) antes de tiempo, según el ciclo de cultivo del shiitake esto no debería pasar hasta que sucediera el pardeamiento y formación de protuberancias de las unidades experimentales. Se realiza un seguimiento de esta unidad en especial, la fructificación continúa y es posible ver el cuerpo fructífero del hongo que no corresponde a la cepa *Lentinula Edodes*, en su lugar, es una cepa de *Pleurotus Ostreatus*** o hongo ostra.

Se hace la respectiva reclamación a los proveedores del proyecto y se adecuan las condiciones del cuarto de cultivo a las condiciones de la nueva cepa. El control y supervisión de las variables ambientales se realizó durante todas las etapas del ciclo de vida del hongo (incubación, fructificación y cosechado).

**** NOTA:** La empresa “Hongos de Merlín” realiza el envío de una cepa no correspondiente a la solicitada en la etapa III. del proyecto. Este error es evidente hasta que sean formados los cuerpos fructíferos del hongo, lo que hace imposible realizar correctivos a tiempo y se decide continuar con el proyecto bajo las nuevas condiciones de trabajo del *Pleurotus Ostreatus*.

A continuación, se expone la información resumida tipo calendario para la etapa

III. de este proyecto:

Figura 39. Etapa III. Resumen de configuraciones utilizadas en sistema de control y supervisión en unidades experimentales III. Información tipo calendario.

febrero 2022						
L	M	X	J	V	S	D
	1	2	3 T=24°C HR=40%	4 T=24°C HR=40%	5 T=24°C HR=40%	6 T=24°C HR=40%
7 T=24°C HR=40%	8 T=24°C HR=40%	9 T=24°C HR=40%	10 T=24°C HR=40%	11 T=24°C HR=40%	12 T=24°C HR=40%	13 T=24°C HR=40%
14 T=24°C HR=80%	15 T=24°C HR=80%	16 T=24°C HR=80%	17 T=24°C HR=80%	18 T=24°C HR=80%	19 T=24°C HR=80%	20 T=24°C HR=80%
21 T=24°C HR=80%	22 T=24°C HR=80%	23 T=24°C HR=80%	24 T=24°C HR=80%	25 T=24°C HR=80%	26 T=24°C HR=80%	27 T=24°C HR=80%
28 T=17°C HR=90%						

marzo 2022						
L	M	X	J	V	S	D
	1 T=24°C HR=80%	2 T=17°C HR=85%	3 T=17°C HR=85%	4 T=17°C HR=85%	5 T=17°C HR=85%	6 T=17°C HR=85%
7 T=17°C HR=90%	8 T=17°C HR=90%	9 T=17°C HR=90%	10 T=17°C HR=90%	11 T=17°C HR=90%	12 T=17°C HR=90%	13 T=17°C HR=90%
14 T=17°C HR=90%	15 T=17°C HR=90%	16 T=17°C HR=85%	17 T=17°C HR=90%	18 T=17°C HR=90%	19 T=17°C HR=90%	20 T=17°C HR=90%
21 T=17°C HR=90%	22 T=17°C HR=90%	23 T=17°C HR=90%	24 T=17°C HR=90%	25 T=17°C HR=90%	26 T=17°C HR=90%	27 T=17°C HR=90%
28 T=17°C HR=90%	29	30	31			

Tabla 30. Etapa III. Información tipo calendario. Significado de resalto de colores en resumen de información de configuración programadas en sistema de control y supervisión.

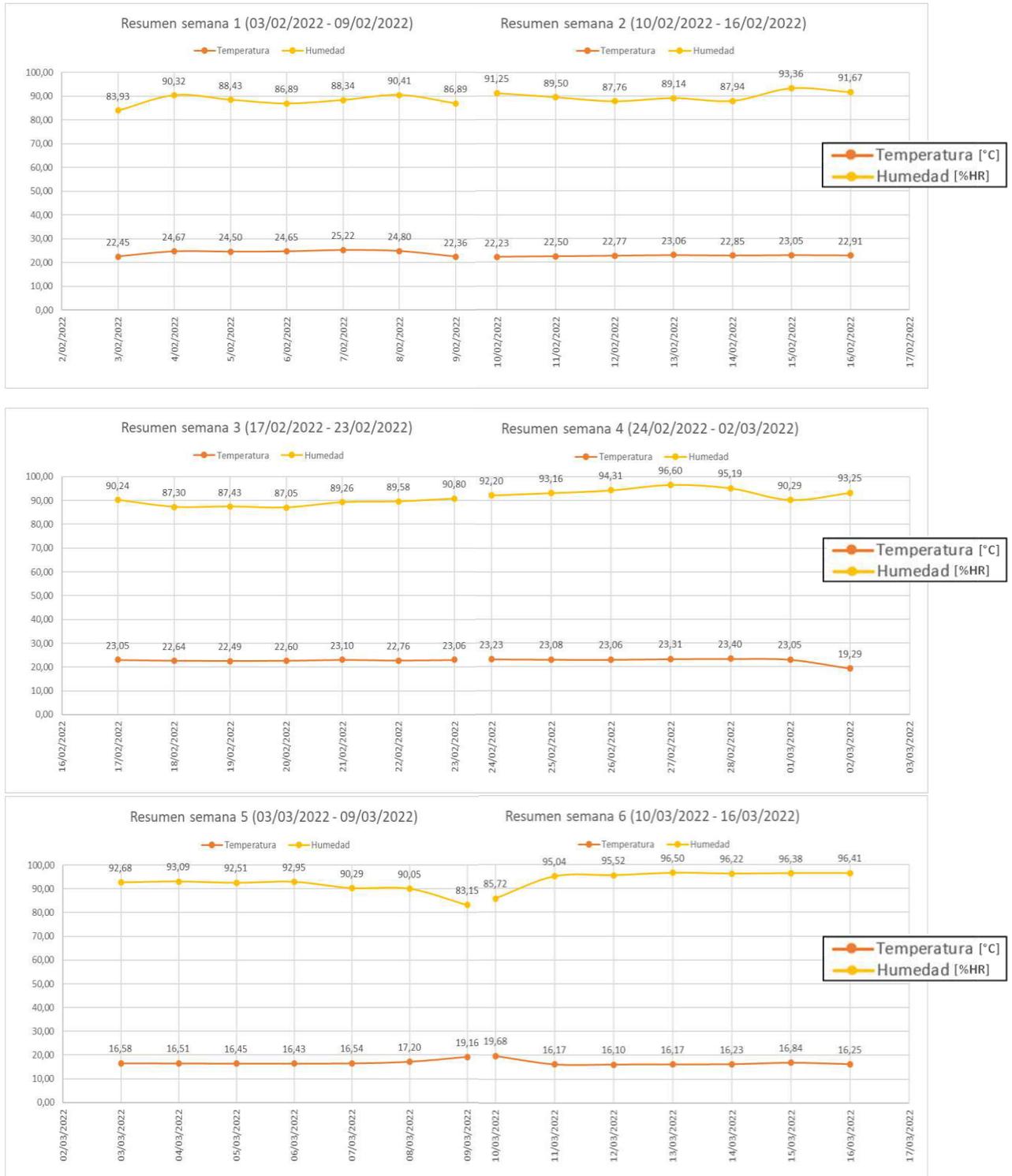
Color	Significado
	Incubación de semilla
	Incubación de unidades experimentales
	Formación de protuberancias y pardeamiento
	Fructificación de unidades experimentales
	Cosecha de unidades experimentales
	No hubo control. Fallos en energía/configuración/temperatura/humedad

Fuente: El autor

Durante el tiempo de ensayo transcurrido en este III. experimento no se presentaron eventos de fallo en el sistema de supervisión y control de las variables ambientales, esto permitió el avance y colonización del micelio de *Pleurotus Ostreatus* sin impedimentos, terminando la colonización en la semana 3. Para el caso específico de la orellana, se interpreta la coloración amarilla “Formación de protuberancias y pardeamiento” como la formación de pinos o pequeñas protuberancias, ya que este tipo de hongo comestible no presenta pardeamiento en su ciclo de cultivo, las etapas de formación de protuberancias y fructificación se dan de forma paralela. La cosecha de los

hongos comestibles es realizada cuando el crecimiento está en su óptimo tamaño y el borde del sombrero está recién doblado.

Figura 40. Etapa III. Resumen semanal, unidades experimentales III.



Fuente: El autor

Tabla 31. Etapa III. Significado de resalto de colores en gráficos de resumen de variables críticas.

Color	Significado
Verde	No hubo control. Temperaturas (T) superiores a 30 °C
Azul	No hubo control. Temperaturas (T) inferiores a 15 °C
Rosa	No hubo control. Humedad Relativa (HR) inferior a 40%

Fuente: El autor

Dado los cambios en las condiciones de cultivo requeridos por la nueva cepa (enviada por error) de *Pleurotus Ostreatus* las etapas de formación de protuberancias y fructificación se dan paralelamente, las cosechas de los cuerpos fructíferos se realizan conforme se observa que el hongo está en su estado de desarrollo máximo.

Resultados etapas de cultivo y seguimiento

El nivel de colonización de las unidades experimentales en todas las etapas del proyecto es expuesto según la coloración de la tabla 32.

Tabla 32. Significado de resalto de colores en tablas de seguimiento a la colonización.

Color	Nivel de colonización [%]
Blanco	0
Amarillo	<25
Azul claro	25-50
Naranja	50-75
Gris	75-99
Verde	100 (Colonización completa)

Fuente: El autor

Etapa I. Unidades experimentales I (preliminar)

Seguimiento de colonización. En la siguiente tabla se enseña el avance de la colonización del micelio en las unidades preliminares a lo largo de las 6 semanas que duró esta etapa:

Tabla 33. Etapa I. Estado de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales I. preliminares.

Semana	TA			TB			TC			TD			BA			BB			BC			
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	5	5	5	0	0	0	3	3	0	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	5	10	10	0	0	3	3	0	3	3	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	5	10	5	0	0	0	3	3	0	3	3	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: El autor

Para el seguimiento de la colonización se utiliza la tabla 18 de seguimiento propuesta en el apartado “Seguimiento”. Como se observa en la anterior tabla, el crecimiento micelial no alcanzó a más del 10% durante esta etapa I. del proyecto. Esto por los fallos en el sistema de control y supervisión de las condiciones ambientales y el efecto producido por las altas temperaturas, evento del que no hubo recuperación y colonización por parte del micelio de la cepa #1.

En las imágenes mostradas se observa que el micelio torna una coloración amarillenta y el crecimiento micelial se observa estancado y en retroceso (muerte) durante las siguientes semanas, el retroceso del crecimiento micelial es evidente en las unidades experimentales I. y desaparece por completo en la mayoría de las unidades experimentales para la semana 6.

Se toma la decisión, antes de descartar las unidades experimentales de realizar una revisión en el laboratorio de microbiología con ayuda de microscopio en busca de bacterias y hongos dentro de los sustratos, para determinar si esto tuvo influencia en el decrecimiento del avance micelial. Durante esta revisión, no se encontraron hongos dentro de la muestra (ningún rastro de la cepa #1 u otro tipo de hongos), sin embargo, durante la revisión para bacterias se descubren bacterias Gram negativas. Para la

visualización de hongos al microscopio se utiliza azul de lactofenol como mecanismo de tinción de sus estructuras, identificando *Penicillium*.

Para observar las bacterias al microscopio se requiere de hacer la tinción de Gram, esta tinción permite diferenciar las bacterias en dos grupos: Gram positivos y Gram negativos, esta diferencia en la tinción se da por la estructura de las paredes celulares de las bacterias. En la siguiente tabla se explican las diferencias entre estos dos grupos.

Tabla 34. Cuadro comparativo entre bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Característica	Bacteria Gram positiva	Bacteria Gram negativa
Color de tinción	Violeta	Rojo
Grosor pared celular	Gruesa	Delgada
Lipopolisacáridos presentes en pared celular	Ausente	Presente
Ácidos lipoteicoicos y teicoicos presentes en pared celular	Presente	Ausente

Fuente: (Loyola Marymount University, 2022)

El procedimiento que se realiza para la tinción de Gram es enumerado a continuación (Loyola Marymount University, 2022):

1. Hacer el frotis de manera regular con la muestra
2. Fijarlo a la flama
3. Cubrir con crisol violeta durante 1 minutos y lavar con agua destilada de forma cuidadosa
4. Cubrir con Lugol (yodopovidona) durante 1 minuto y lavar con agua destilada de forma cuidadosa
5. Decolorar con alcohol-acetona (1:1) y lavar con agua destilada de forma cuidadosa
6. Cubrir con safranina durante 30 segundos y lavar con agua destilada de forma cuidadosa

Dejar secar y observar al microscopio.

Figura 41. Tinción de Gram de unidades experimentales preliminares. Identificación de bacterias gran negativas.

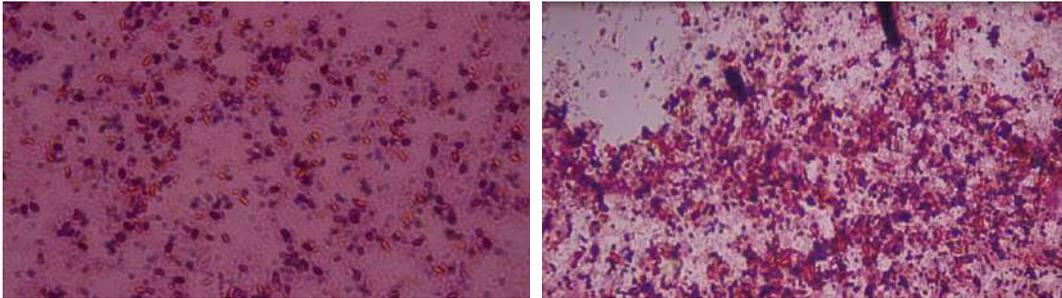
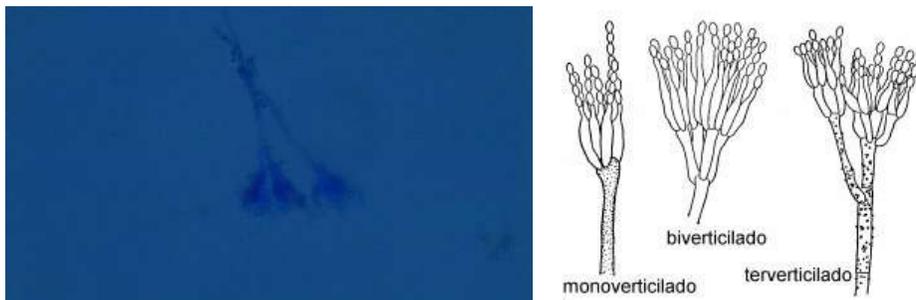


Figura 42. Identificación de hongos, Penicillium. Aspecto de hongo Penicillium.



Fuente: El autor

Este es un tipo de los mohos más comunes que se desarrollan en múltiples sustratos, granos, paja, cueros, frutas, entre otros. Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada que se asemeja a un pincel, esta estructura termina en células conidiógenas llamadas fiálides. Los filamentos o hifas alcanzan un diámetro entre dos o tres micrómetros y tienen septos con un pro central que no es visible al microscopio óptico (Carrillo, 2003).

Etapas I. Verificación lista de resolución de problemas en unidades experimentales I.

preliminares. Durante el seguimiento que se realiza periódicamente de las unidades experimentales I. se verifica la lista de resolución de problemas del apartado “Seguimiento” de este documento. Se identifican y marcan los problemas que estuvieron presentes durante esta etapa del proyecto, para consultar la tabla completa ir al [anexo 4](#).

Tabla 35. Etapa I. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales I. preliminares.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIONES
El micelio no se forma	Problemas en condiciones ambientales del cultivo	Consultar parámetros de crecimiento. Altere la humedad, la temperatura, la luz, el dióxido de carbono, etc. <i>Nota: Si el sustrato está demasiado húmedo, disminuya la humedad.</i>
El micelio no se forma		Mala cepa o semilla
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Contaminación por bacterias, otros hongos.	Verifique el proceso que causa la contaminación. Separe las bolsas contaminadas lo antes posible. Vuelva a mezclar el sustrato por separado. Rehacer las bolsas de sustrato y pasteurizar durante más tiempo. Siga el proceso.

Fuente: (Hanko, 2001) y el autor

Debido a los fallos que se registraron en el control y supervisión de las variables ambientales se incluye la causa “problemas en condiciones ambientales del cultivo”. La causa “mala cepa o semilla” se considera por el poco avance que hubo en el crecimiento micelial y al realizar la comparación de las dos cepas que se utilizaron posteriormente en el proyecto, la cepa #1 no presentaba las características de vigorosidad necesarias para invadir el sustrato y aprovechar este sustrato no convencional. En la causa “contaminación por bacterias y hongos” ya que fue comprobado posteriormente en el laboratorio de microbiología la presencia bacterias Gram positivas y del hongo *Penicillium*. La suma de estas razones fueron los motivos por los cuales la colonización de los sustratos no fue lograda en el ensayo preliminar del proyecto.

Etapa II. Unidades experimentales II.

Seguimiento de colonización. En la siguiente tabla se muestra el desarrollo del crecimiento y avance micelial durante la colonización de 12 semanas que se llevó a cabo para las unidades experimentales:

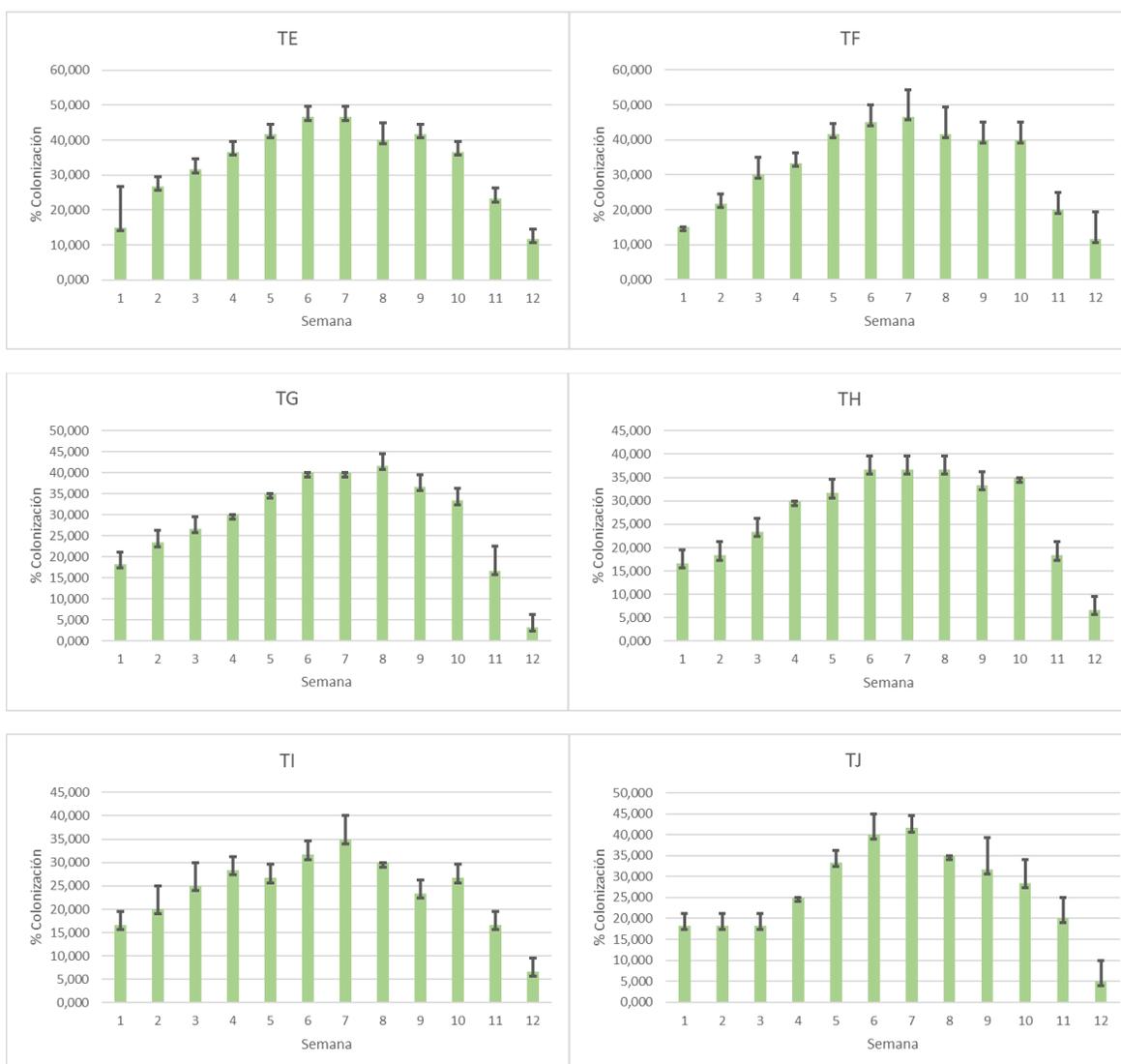
Tabla 36. Etapa II. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales II.

Semana	TE			TF			TG			TH			TI			TJ		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	15	15	15	15	15	15	20	20	15	15	20	15	15	20	15	15	20	20
2	30	25	25	25	20	20	25	25	20	15	20	20	20	25	15	15	20	20
3	35	30	30	35	30	25	30	25	25	20	25	25	25	30	20	15	20	20
4	40	35	35	35	30	35	30	30	30	30	30	30	30	30	25	25	25	25
5	45	40	40	40	45	40	35	35	35	30	35	30	25	30	25	35	30	35
6	50	45	45	50	40	45	40	40	40	35	40	35	30	35	30	45	35	40
7	50	45	45	55	40	45	40	40	40	35	40	35	30	40	35	45	40	40
8	40	35	45	50	35	40	40	40	45	35	40	35	30	30	30	35	35	35
9	45	40	40	45	35	40	35	35	40	35	35	30	25	25	20	40	25	30
10	35	35	40	45	35	40	30	35	35	35	35	35	25	30	25	35	25	25
11	25	20	25	25	20	15	20	20	10	20	20	15	15	20	15	20	25	15
12	10	10	15	20	10	5	5	5	0	5	10	5	5	10	5	0	10	5

Fuente: El autor

En el desarrollo de la etapa II. del proyecto, se observan velocidades de colonización más rápidas y una agresividad de invasión del sustrato óptima por la semilla de la cepa #2 a comparación de la semilla de la cepa #1, sin embargo, la no supervisión en el día 10 (semana 2) y días posteriores, reflejan la muerte del micelio en el porcentaje de colonización de los sustratos. Esta información es más evidente en los gráficos de a continuación (ver figura 43), donde se evidencia la muerte/pérdida del micelio a lo largo de las semanas hasta tener una pérdida casi por completo del hongo sembrado. En los gráficos se pueden observar también la desviación estándar de los datos.

Figura 43. Etapa II. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales II.



Fuente: El autor

Etapa II. Verificación lista de resolución de problemas en unidades experimentales II. Se utiliza la tabla de verificación para identificar los problemas presentes en esta etapa II del proyecto, en la siguiente tabla (ver tabla 37) se recopilan únicamente los problemas detectados, para consultar la información completa revisar el [anexo 5](#).

Tabla 37. Etapa II. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales II.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIONES
El micelio no se forma	Problemas en condiciones ambientales del cultivo	Consultar parámetros de crecimiento. Altere la humedad, la temperatura, la luz, el dióxido de carbono, etc. <i>Nota: Si el sustrato está demasiado húmedo, disminuya la humedad.</i>
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Contaminación por bacterias, otros hongos.	Verifique el proceso que causa la contaminación. Separe las bolsas contaminadas lo antes posible. Vuelva a mezclar el sustrato por separado. Rehacer las bolsas de sustrato y pasteurizar durante más tiempo. Siga el proceso.
	Contaminación por ácaros	<p>Separe inmediatamente las bolsas contaminadas y vuelva a pasteurizar. Continúe con el proceso normal.</p> <p><i>Nota:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * Mantener la gestión de la higiene; asegúrese de limpiar todo (persona, área, herramientas, equipo y alrededores durante cada paso). * <i>Deje de usar el área para cortar el ciclo de vida de todos los contaminantes por un período de al menos 1-2 semanas. Para casos de contaminación grave, rocíe el área con productos químicos.</i> * <i>Use luz negra con agua o trampa adhesiva para disminuir los insectos.</i>

Fuente: (Hanko, 2001) y el autor

Debido a los fallos que se registraron en el control y supervisión de las variables ambientales se incluye la causa “problemas en condiciones ambientales del cultivo”, problema incidente en las dos primeras etapas del proyecto (I. y II.) para el cual ya se conocen sus efectos irreversibles en el estado del micelio en el cultivo. En la causa “contaminación por bacterias y hongos” ya que fue comprobado nuevamente en el laboratorio de microbiología la presencia bacterias Gram negativas y la presencia de *Penicillium*, además, se marca “Contaminación por ácaros” ya que en la semana 4 se observa la aparición de insectos en las estanterías y alrededores donde reposan los

sustratos durante su incubación, se activa el protocolo para este tipo de eventos según lo propuesto por (MushWorld, 2005) que consta en preparar una solución de cal/agua y rociar en todos los lugares donde se presenta la contaminación, esto disminuyó considerablemente la población pero algunas unidades experimentales fueron contaminadas al interior de las bolsas por estos organismos. Realizando la investigación para la identificación de este organismo, se utiliza apoyo de (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2004), identificando esta plaga como colémbolo y no un tipo de ácaro, estos son un tipo de insecto no alado que viven en los sustratos y se alimentan del tejido fúngico, lo que es evidenciado en la disminución del porcentaje de inoculación.

Finalmente, en enero 12, durante la semana número 10 de seguimiento, se realiza un choque térmico de las unidades experimentales para incentivar la siguiente etapa de cultivo, no se observan resultados positivos y se decide descartar las unidades experimentales II. en enero 24 en la semana 12. Esto para iniciar la siguiente etapa y las nuevas formulaciones de unidades experimentales en la etapa III.

Etapa III. Unidades experimentales III.

Seguimiento de colonización. En la tabla 38 se encuentra el avance del porcentaje del micelio a lo largo de las 4 semanas que duró la incubación de esta cepa, en la figura 44 se presenta esta información promediada y con desviación estándar.

Tabla 38. Etapa III. Seguimiento de colonización del micelio (porcentaje) en unidades experimentales III.

Semana	PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN %																				
	TK			TL			TM			TN			TO			TP			TQ		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	25	30	20	20	25	25	35	30	30	35	40	40	40	45	45	50	50	55	50	45	55
2	75	80	85	85	80	80	75	65	75	85	80	70	90	75	75	80	75	70	65	75	85
3	100	100	100	100	100	100	90	90	95	100	95	90	100	95	90	95	95	90	90	90	95

El desarrollo y crecimiento micelial en la etapa III. del proyecto se dio de forma óptima y rápida (ver figura 45), esto recordando que durante este periodo de prueba no hubo fallos en el sistema de control y supervisión por lo que las condiciones medioambientales fueron emuladas de forma correcta y sin inconvenientes (caso contrario a la etapa I. y etapa II.). Sin embargo, uno de los factores más determinantes fue la inoculación con la especie de hongo comestible no considerada en el inicio de este proyecto, esta cepa corresponde a *Pleurotus Ostreatus* vendida por “Los Hongos de Merlín” producto que fue enviado en lugar de la semilla de *Lentinula edodes* solicitada.

Figura 45. Etapa III. Avance de la invasión del micelio en las unidades experimentales. Comportamiento general.



Fuente: El autor

Esta cepa de hongos es conocida por su alta velocidad de reproducción y ciclos más cortos a comparación de otros hongos comestibles (el shiitake presenta un ciclo de crecimiento más largo), una dificultad de cultivo fácil, características de crecimiento muy agresivas, amplio rango de C/N, fructificaciones en 2-3 semanas de inoculado y una alta adaptabilidad (Russell, 2014). Se presenta el registro fotográfico de la invasión del micelio en los anexos 7 y 8.

Al no estar consciente de la cepa que se estaba utilizando, en la semana 3 ya la mayoría de unidades experimentales se encontraban cercanos a la colonización completa (90-100%) y se comienza a correr el tiempo de lo que se cree es la formación de protuberancias y pardeamiento específica del hongo comestible *Lentinula edodes*,

conforme se prolongan las condiciones ambientales la unidad experimental TO3 se da la formación de una protuberancia o pin, que da lugar a la formación de un cuerpo fructífero que es analizado, observado y por su apariencia física no corresponde al shiitake, en este momento, se reconoce que es de la especie *Pleurotus Ostreatus* y se cambian las condiciones del sistema de supervisión y control a las condiciones de fructificación para este hongo comestible. En resumen, se prolongó la etapa de incubación por una semana extra al desconocer que se estaba trabajando con otra cepa de hongo comestible, en esta prolongación de tiempo se pudo dar una condición de exceso de CO₂ al interior de las bolsas al realizar una apertura tardía de las bolsas de polipropileno, según (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005b) este CO₂ generado por la actividad metabólicas del micelio puede inhibir o deformar los carpóforos, por ello al terminar la colonización es importante retirar la parte superior de las bolsas de polipropileno con el fin de dar una buena ventilación, necesaria para que se desarrolle la etapa de fructificación de forma adecuada.

Verificación lista de resolución de problemas. Unidades experimentales III. En la siguiente tabla (tabla 39) se presenta la lista de verificación de problemas identificados en la etapa III. del proyecto, esta etapa sí se desarrolló por completo para el ciclo de vida del hongo comestible (incubación y fructificación).

Tabla 39. Etapa III. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales III.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIONES
El micelio no se forma	Problemas en condiciones ambientales del cultivo X	Consultar parámetros de crecimiento. Altere la humedad, la temperatura, la luz, el dióxido de carbono, etc. <i>Nota: Si el sustrato está demasiado húmedo, disminuya la humedad.</i>
El micelio no se forma	Agua clorada o contaminada X	Use filtros de agua de carbón activado para eliminar contaminantes químicos o cualquier otra forma de tecnología simple o apropiada.

El micelio no se forma	<p>Mal sustrato</p> <p style="text-align: center;">✘</p>	<p>Verifique el sustrato. Extienda el sustrato y vuelva a mezclar el sustrato, empaque de nuevo, asegúrese de que todas las materias primas estén buenas y frescas.</p> <p><i>Nota: Es necesario pasteurizar inmediatamente después de embolsar, de lo contrario, el gas de fermentación ralentizará la tasa de crecimiento del micelio o detendrá el crecimiento del micelio.</i></p>
El micelio no se forma	<p>Mala pasteurización o esterilización</p> <p style="text-align: center;">✘</p>	<p>Compruebe el método de pasteurización o esterilización. Libere todo el aire y asegúrese de que haya vapor continuo antes de comenzar la pasteurización por un período de 3 horas. Asegúrese del buen funcionamiento del autoclave.</p>
El micelio no se forma	<p>El sustrato en la bolsa está demasiado caliente durante la inoculación ✘</p>	<p>Asegúrese de que la bolsa de sustrato no esté demasiado caliente antes de la inoculación.</p>
El micelio no se forma	<p>Mala cepa o semilla ✘</p>	<p>Obtenga una cepa más joven de vitalidad e historia conocidas.</p>
El micelio no se forma	<p>Semilla contaminada ✘</p>	<p>Pasteurizar e inocular nuevamente con buena semilla.</p>
El micelio no se forma	<p>Olvidó inocular la bolsa ✘</p>	<p>Asegurarse de inocular.</p>
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	<p>Buena pasteurización, pero debe disminuir la temperatura en la cámara de pasteurización. La pasteurización fue demasiado rápida y / o la puerta de la cámara se abrió demasiado rápido</p> <p>La esterilización no se realizó de forma adecuada ✘</p>	<p>Disminuya lentamente la temperatura en la cámara. No abra la tapa del cámara demasiado rápido. Compruebe que el tapón de algodón esté bien cerrado.</p> <p>Verifique los procedimientos de esterilización.</p>

Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Proceso de inoculación ✗	Inocular en condiciones higiénicas; limpio y sin movimiento de aire.
	No hay suficiente ventilación para disminuir la temperatura acumulada. ✗	Extienda la bolsa de sustrato y haga más ventilación de aire en el área de incubación. Verifique la temperatura y controle los alrededores para mantener entre 25 y 35 grados Celsius.
	Dióxido de carbono demasiado alto ✗	No más del 5% de dióxido de carbono. Verifique la ventilación.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Higiene en el cuarto de incubación ✓ (al final del proyecto)	Mejorar la higiene en el cuarto de incubación.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	El micelio se desarrolla en parches. El sustrato no está preparado de manera uniforme y algunas partes tienen más nutrientes que otras ✗	Mezclar bien el sustrato.
	Contaminación por bacterias, otros hongos. ✓ (al final del proyecto)	Verifique el proceso que causa la contaminación. Separe las bolsas contaminadas lo antes posible. Vuelva a mezclar el sustrato por separado. Rehacer las bolsas de sustrato y pasteurizar durante más tiempo. Siga el proceso.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Contaminación por ácaros ✓ (al final del proyecto)	Separe inmediatamente las bolsas contaminadas y vuelva a pasteurizar. Continúe con el proceso normal. <i>Nota:</i> * Mantener la gestión de la higiene; asegúrese de limpiar todo (persona, área, herramientas, equipo y alrededores durante cada paso). * <i>Deje de usar el área para cortar el ciclo de vida de todos los contaminantes por un período de al menos</i>
Mala propagación de micelio, mal		

olor, manchas y ácaros		1-2 semanas. Para casos de contaminación grave, rocíe el área con productos químicos. * Use luz negra con agua o trampa adhesiva para disminuir los insectos.
------------------------	--	--

Fuente: (Hanko, 2001) y el autor

*  Problema presente en el cultivo

*  Problema no presente en el cultivo

La etapa III. del proyecto se realizó de forma adecuada, no se presentan fallos en el sistema de control y supervisión. Los problemas asociados a esta etapa III. están asociados al final del proyecto donde se realizaron múltiples visitas al cuarto de cultivo por diferente personal de la Universidad Pontificia Bolivariana, esto ocasionó la contaminación de múltiples unidades experimentales en su etapa de fructificación, por ello, se recomienda y da mucho énfasis en las condiciones asépticas durante todas las etapas de cultivo sin ninguna excepción. Luego de la primera cosecha, la mayoría de las unidades experimentales presentan contaminación por hongos y bacterias por lo que se deciden aislar las unidades experimentales contaminadas de las sanas y se continúa simulando las condiciones ambientales de fructificación, pese a esto, no fue posible realizar una segunda cosecha de las unidades experimentales y se decide continuar con los análisis de los indicadores propuestos.

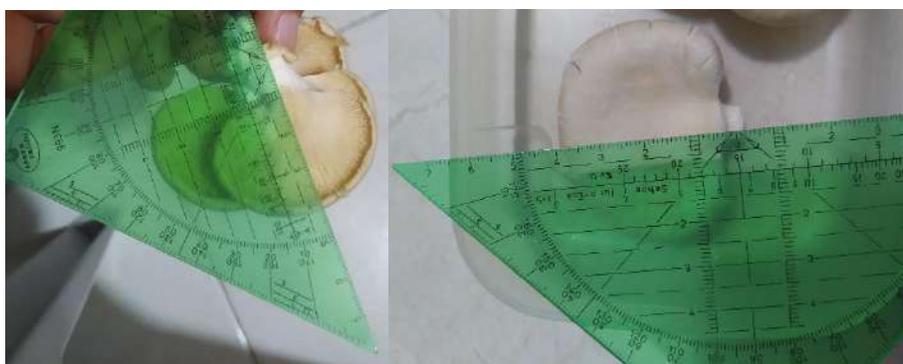
Análisis de indicadores de cultivo y diferencias morfológicas en el cultivo de *Pleurotus Ostreatus*

Efectos de los sustratos en las características morfológicas de *Pleurotus Ostreatus*

En la siguiente tabla se registran las dimensiones de los cuerpos fructíferos que fueron generados en la etapa III. de este proyecto, en las unidades experimentales III. Se registran los datos únicamente de los cuerpos fructíferos que se hayan formado por completo (se dice que tienen un desarrollo completo cuando se forma el estípite y el sombrero, se registran también los

hongos que fueron “abortados”, es decir, los que no mostraron crecimiento luego de pinear o formar las protuberancias). La información completa de las dimensiones para cada unidad experimental es encontrada en el [anexo 6](#) y el seguimiento fotográfico son registrados en los anexos, en el [anexo 7](#) se tiene el seguimiento de la colonización para cada unidad experimental planteada y en el [anexo 8](#) un seguimiento fotográfico de alguno de los cuerpos fructíferos generados. En la figura 46 se ilustra cómo fueron registrados los datos de la tabla anterior.

Figura 46. Medición de cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus*.



Fuente: El autor

En la tabla 40 se recopila la información para cada unidad experimental del proyecto, esta información es mostrada con su desviación estándar (\pm desviación estándar), en la tabla que le sigue (tabla 41) está la información promedio por sustrato formulado.

Tabla 40. Ensayo III. Medición de cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus* por unidad experimental.

Unidad experimental		PROM ESTIPITE [cm]		PROM PILEO [cm]	
		Longitud	Diámetro	Largo	Ancho
TK	1	4,033 \pm 0,723	4,600 \pm 0,794	3,033 \pm 0,503	3,700 \pm 0,500
	2	3,750 \pm 3,182	1,650 \pm 0,495	2,200 \pm 1,273	2,550 \pm 1,485
	3	5,300 \pm 1,131	2,950 \pm 1,202	3,700 \pm 1,414	3,900 \pm 0,849
TL	1	3,400 \pm 0,698	4,475 \pm 2,089	2,775 \pm 2,032	2,675 \pm 1,825
	2	2,067 \pm 0,874	2,467 \pm 1,012	1,533 \pm 0,651	1,367 \pm 0,493
	3	3,400 \pm 0,000	1,500 \pm 0,000	2,500 \pm 0,000	3,000 \pm 0,000

TM	1	3,900 ± 0,000	1,900 ± 0,000	3,100 ± 0,000	2,700 ± 0,000
	2	2,800 ± 1,414	2,650 ± 1,202	4,800 ± 1,697	3,800 ± 2,121
	3	1,700 ± 0,849	1,850 ± 0,495	4,950 ± 2,051	4,550 ± 1,061
TN	1	1,400 ± 1,183	2,100 ± 2,370	1,700 ± 0,765	5,600 ± 1,140
	2	2,950 ± 0,212	3,500 ± 0,424	5,700 ± 1,697	3,300 ± 0,000
	3	4,500 ± 0,141	4,950 ± 0,071	6,450 ± 0,071	4,750 ± 0,778
TO	1	3,150 ± 1,909	3,100 ± 1,273	5,500 ± 0,707	4,850 ± 0,212
	2	3,500 ± 0,408	4,425 ± 0,732	0,775 ± 0,171	9,000 ± 0,000
	3	2,117 ± 1,393	2,650 ± 0,281	1,733 ± 1,115	1,500 ± 0,972
TP	1	5,900 ± 0,849	5,350 ± 1,061	4,800 ± 1,980	5,500 ± 0,424
	2	5,400 ± 1,556	5,800 ± 1,838	3,300 ± 0,283	3,450 ± 1,485
	3	4,333 ± 1,155	6,700 ± 2,563	1,500 ± 0,500	6,667 ± 0,577
TQ	1	6,700 ± 0,000	5,200 ± 0,000	7,500 ± 0,000	2,300 ± 0,000
	2	4,300 ± 0,000	3,500 ± 0,000	3,400 ± 0,000	4,100 ± 0,000
	3	5,800 ± 0,000	4,600 ± 0,000	3,700 ± 0,000	3,900 ± 0,000

Fuente: El autor

La información mostrada anteriormente para cada unidad experimental es promediada y se calcula la desviación estándar para una mejor recopilación de los datos, esta información promedio es mostrada en la tabla 41.

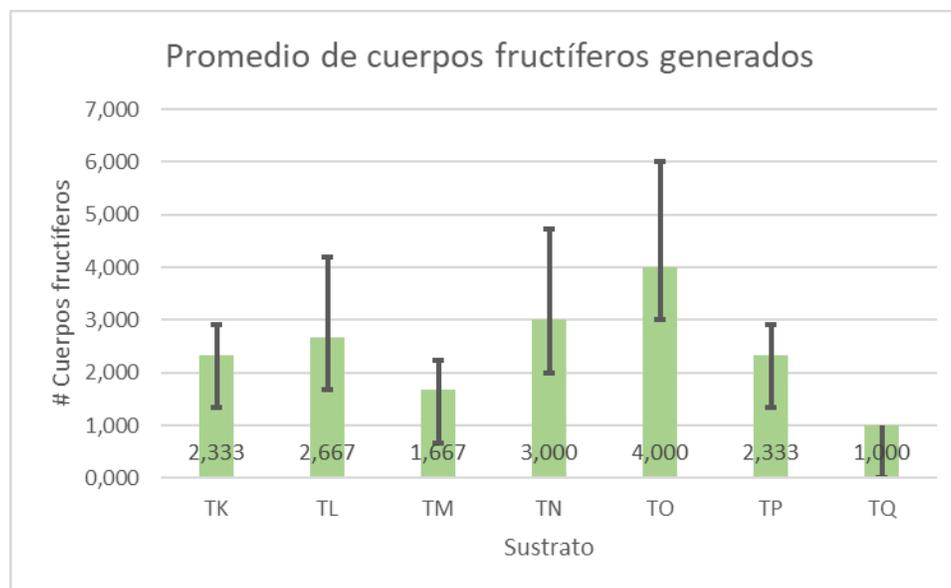
Tabla 41. Ensayo III. Medición promedio de cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus* por sustrato.

Sustrato	# Cuerpos fructíferos generados	Estipite [cm]		Píleo [cm]	
		Longitud	Diámetro	Largo	Ancho
TK	2,333 ± 0,577	4,361 ± 1,679	3,067 ± 0,830	2,978 ± 1,063	3,383 ± 0,944
TL	2,667 ± 1,528	2,956 ± 0,786	2,814 ± 1,550	2,269 ± 1,341	2,347 ± 1,159
TM	1,667 ± 0,577	2,800 ± 1,131	2,017 ± 0,849	4,283 ± 1,697	3,683 ± 1,591
TN	3,000 ± 1,732	2,950 ± 0,512	3,517 ± 0,955	4,617 ± 0,844	4,550 ± 0,639
TO	4,000 ± 2,000	2,922 ± 1,237	3,392 ± 0,762	2,669 ± 0,664	5,117 ± 0,395
TP	2,333 ± 0,577	5,211 ± 1,186	5,950 ± 1,821	3,200 ± 0,921	5,206 ± 0,829
TQ	1,000 ± 0,000	5,600 ± 0,000	4,433 ± 0,000	4,867 ± 0,000	3,433 ± 0,000

Fuente: El autor

A partir de la información suministrada por las tablas 40 y 41, son propuestos los gráficos presentados a continuación en las figuras 47, figura 48 y figura 49.

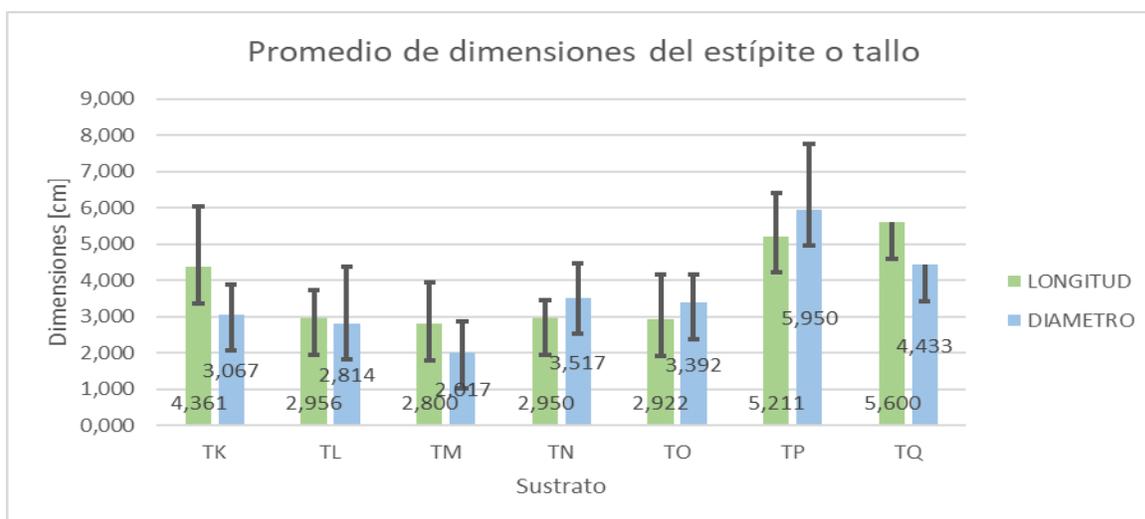
Figura 47. Ensayo III. Promedio de cuerpos fructíferos generados de *Pleurotus Ostreatus* por sustrato.



Fuente: El autor

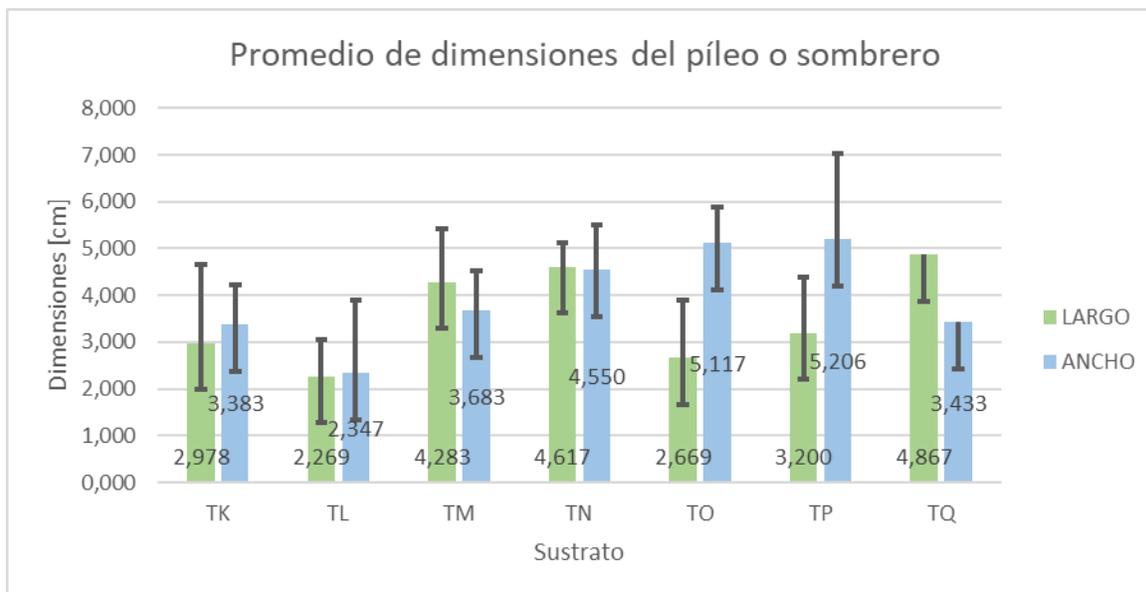
En base a esta información, los sustratos con mayor generación de cuerpos fructíferos en promedio fueron TO y TN, con una generación de 4 y 3 cuerpos fructíferos respectivamente, la menor producción de cuerpos fructíferos se da en el sustrato TQ.

Figura 48. Ensayo III. Promedio de las dimensiones del estípite o tallo de *Pleurotus ostreatus*.



Fuente: El autor

Figura 49. Ensayo III. Promedio de las dimensiones del píleo o sombrero de *Pleurotus ostreatus*.



Fuente: El autor

En cuanto a las dimensiones, apoyado en los gráficos anteriores, se presentan mayores dimensiones de estípite o tallo en el sustrato TP y mayores dimensiones de píleo o sombrero el sustrato TN, esto en términos generales, si revisamos cada categoría por individual se tiene que el estípite con mayor longitud fue registrado en el sustrato TQ, el estípite con mayor diámetro en el sustrato TP, el píleo con mayor largo en TP y el píleo con mayor ancho en TP. Por su contraparte, las menores dimensiones fueron registradas en términos generales para TL, y en términos específicos, el estípite con menor longitud en el sustrato TM, estípite con menor diámetro en el sustrato TM, el píleo con menor largo en el sustrato TL y el píleo con menor ancho en el sustrato TL.

Analizando la información en términos de los pesajes de los cuerpos fructíferos, se obtuvo el cuerpo fructífero de mayor peso en el sustrato TO, sin embargo, promediando se obtiene en promedio cuerpos fructíferos de más peso en los sustratos TP, seguido del sustrato TO. Estos dos sustratos tienen en común el mayor contenido de aserrín de tallo de café (52%), en común la

cantidad de borra incluida (24%), el sustrato TP presenta mayor cantidad de pulpa de café (16% mientras que TO 8%), el sustrato TP presenta vaina de frijol en su composición (8%) mientras que TO no lo presenta, en su lugar, tiene vaina de arveja (16%). Los mejores resultados en términos de tamaño y peso están en el sustrato TP que tiene como base de su formulación los residuos de cultivo de café en un 92% en base seca.

Esto comparado con los cuerpos fructíferos de menor tamaño que fueron registrados para el sustrato TQ seguido del sustrato TM, el sustrato TQ presenta el mayor contenido de aserrín de cafeto (52% al igual que los dos sustratos que generaron cuerpos fructíferos de mayor peso), 20% pulpa de café, 20% borra de café y 8% vaina de arveja, presenta mayor contenido de pulpa de café y menos cantidad de borra, a comparación del sustrato TP. La adición de la borra de café estimula la producción y el desarrollo micelial. En cuanto al sustrato TM, este está formulado a partir de solo residuos de cultivo de café, con una formulación de 40% pulpa de café, 44% aserrín de tallo de cafeto y 16% borra de café, según la literatura investigada (MushWorld, 2005) es más recomendable realizar formulaciones con alto contenido de carbono (aserrín de cafeto) y baja suplementación (en este caso, la pulpa de café y la borra cumplen esta función) ya que a razón de sustratos más complejos y con mayor aporte de residuos agrícolas mayor es el riesgo de contaminación y de presentarse posibles problemas en el cultivo.

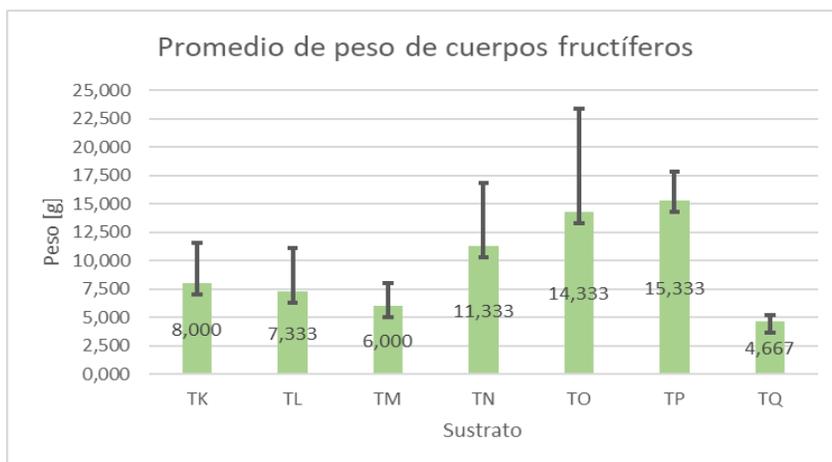
Analizando la información recolectada de los pesajes para cada unidad experimental, se presenta la información (ver tabla 42) para cada una de las unidades experimentales, junto al peso promedio y su desviación estándar, y en la figura 50 se presenta el promedio de cuerpos fructíferos generados con una ilustración (ver figura 51) de algunos de los ejemplares de *Pleurotus Ostreatus* que fueron obtenidos.

Tabla 42. Ensayo III. Peso por unidades experimentales y promedio de pesos de cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus* por sustrato.

Sustrato		Peso [g]	Promedio peso [g]
TK	1	12	8,000 ± 3,606
	2	7	
	3	5	
TL	1	10	7,333 ± 3,786
	2	9	
	3	3	
TM	1	4	6,000 ± 2,000
	2	6	
	3	8	
TN	1	17	11,333 ± 5,508
	2	6	
	3	11	
TO	1	15	14,333 ± 9,019
	2	23	
	3	5	
TP	1	18	15,333 ± 2,517
	2	13	
	3	15	
TQ	1	5	4,667 ± 0,577
	2	5	
	3	4	

Fuente: El autor

Figura 50. Ensayo III. Promedio de pesos de cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus*.



Fuente: El autor

Figura 51. Fructificación del hongo comestible *Pleurotus Ostreatus* en el ensayo III.



Fuente: El autor.

La formación y el crecimiento de los cuerpos fructíferos son sensibles a las condiciones medioambientales como la humedad, temperatura, concentración de dióxido de carbono y el contenido de humedad en el interior del sustrato, el equilibrio inadecuado de estos factores puede inducir deformaciones en los cuerpos fructíferos (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2004). Para comprender los posibles cambios morfológicos a las diferentes condiciones

ambientales, se parte de las características expuestas por (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2004):

- Condición alta temperatura y humedad

- Relación sombrero/tallo o píleo/estípite pequeño (sombrero pequeño/tallo largo)
- El color del sombrero/píleo se torna de color más claro (gris-marrón grisáceo)
- Depresión en el centro del sombrero/píleo

- Condición alta temperatura y baja humedad

- El borde o margen del sombrero/píleo es más delgado y quebradizo
- El sombrero/píleo toma una forma de paraguas/sombrilla
- El color del sombrero/píleo se torna muy claro (gris blanco claro)
- El estípite se vuelve muy grueso

- Condición baja temperatura y humedad

- El color de la tapa se torna oscuro (marrón oscuro)
- El estípite se vuelve grueso o el medio del estípite está hinchado o en forma de barril
- Los cuerpos fructíferos crecen muy lentamente y producen bajos rendimientos

- Condición baja temperatura y alta humedad

- Color relativamente fuerte, intenso y cuerpos fructíferos vigorosos formados
- Los cuerpos fructíferos crecen muy lento y el número de cuerpos fructíferos formados se reduce

En cuanto a las posibles condiciones dentro del cuarto, se puede decir que es posible que se den las condiciones “alta temperatura y humedad” donde son observadas las tres características

mencionadas en los cuerpos fructíferos que fueron generados en las unidades experimentales (ver figura , otra condición que es posible dentro del cuarto de emulación, es la de “alta temperatura y baja humedad” esto se debe a que la distribución de la humedad no es uniforme en todo el cuarto y existen zonas con diferencias de humedad, esto fue visible en los cuerpos fructíferos que fueron generados son bordes más delgados y quebradizos o en los que el estípite es demasiado grueso (ver figura 52), la guía de colores no es aplicada puesto que estas variaciones de la coloración es muy relativo a la cepa utilizada.

Figura 52. Evidencia de las diferencias morfológicas en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus*.



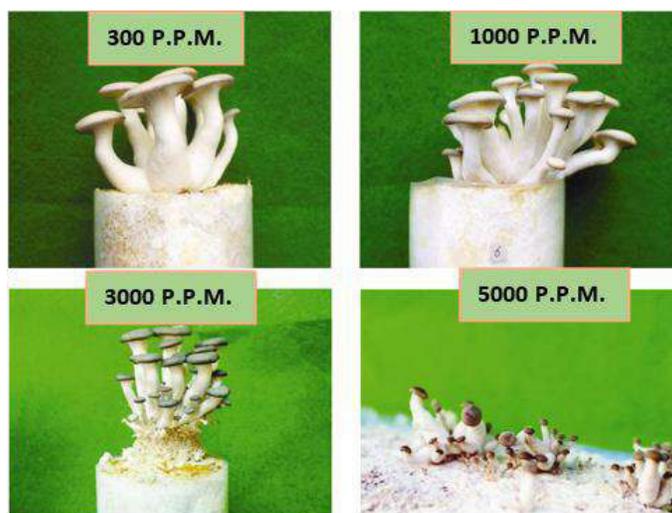
Fuente: El autor

Otro factor importante para analizar es la concentración de dióxido de carbono (CO_2), este parámetro permaneció invariable durante la realización de las diferentes etapas del proyecto (etapa I., II. y III.) ya que mínimo permisible por este sensor empleado es de 400 P.P.M (aprox. 0.04%) en el interior del módulo de cultivo (recordando que las bolsas se encuentran selladas hasta la etapa de fructificación, todo el CO_2 generado durante la incubación será almacenado en parte dentro de la bolsa y otra parte saldrá por el intercambio gaseoso). Teniendo en cuenta que la concentración de CO_2 al interior de cada unidad experimental es diferente al registrado por el sensor en la sala. Una alta concentración de CO_2 ocasiona la disminución en el tamaño de los sombreros y el aumento de la longitud de los tallos, sin embargo, los tallos son cortos en

concentraciones de más de 0,5% o 5000 P.P.M (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2004).

Recurriendo a las ayudas visuales propuestas por este autor, tenemos que:

Figura 53. Ejemplificación de las características morfológicas de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus Ostreatus* a diferentes concentraciones de CO₂.



Fuente: (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2004)

Los registros por parte del sistema de supervisión y control, muestran concentraciones cercanas y/o por debajo de 400 P.P.M. lo que estaría dentro de los rangos óptimos para el cultivo, sin embargo, muchos de los cuerpos fructíferos generados se asemejan a los generados en altas concentraciones de CO₂ (1000, 3000 y 5000 P.P.M.) lo que da indicios en la necesidad de registrar y realizar un seguimiento más intensivo a la concentración de CO₂ y la apertura a tiempo y en proporción necesarias (la práctica de remover la bolsa de cultivo en la parte superior o de todo el sustrato con el fin de incentivar la aireación y disminución de CO₂) de las bolsas de cultivo cuando pasen a la etapa de fructificación.

A diferencia del shiitake, este tipo de hongos no requiere de una esterilización por autoclave de sus sustratos (durante la esterilización se eliminan todos los microorganismos del sustrato), es posible realizarlo mediante una pasteurización para no eliminar por completo los microorganismos asociados a los sustratos ya que estos podrían tener beneficio y potenciar el

cultivo. Los organismos asociados a la micósfera no son solamente bacterias y/o otros hongos, sino que también pueden coexistir con protozoarios, nemátodos, micoplasmas, partículas virales, entre otros. Con fines prácticos, estos microorganismos se pueden clasificar como: 1) patógenos e inhibidores de crecimiento, 2) inoocuos y 3) benéficos (excretores de sideróforos, solubilizadores de fósforo, excretores de hormonas, fijadores de nitrógeno, productores de antibióticos y consumidores de 1-octen-3-ol (Sánchez & Royse, 2017).

Para continuar el análisis de las diferencias morfológicas en los diferentes sustratos, se hace apoyo con la tabla (ver tabla 43) propuesta por (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a) para interpretar y comprender los problemas posibles en la etapa de fructificación.

Tabla 43. Etapa III. Causas y soluciones a los problemas más frecuentes encontrados en la etapa de fructificación de hongos comestibles medicinales.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIÓN
Después de que el plástico de las bolsas es retirado o cortado, los hongos tardan en aparecer	Insuficiente humedad ✗	Mantenga la humedad del cuarto entre 85 y 95%
	Insuficiente ventilación ? (¿Aumentar tasa de ventilación?, remover por completo las bolsas plásticas de las unidades experimentales para más aireación. No bolsas = Más riesgo de contaminación ¿vale la pena en términos de rendimientos?)	Abra las ventadas o ductos de ventilación del cuarto de cultivo
	Insuficiente luminosidad ? (Iluminación no uniforme en el cuarto de cultivo, ¿necesario instalar más iluminación por nivel de estantería?)	Provea de la iluminación adecuada para permitir la inducción de primordios
	Semilla de hongo débil o degenerada ✗	Use semilla fresca y de un laboratorio confiable

Los hongos son pequeños y no crecen tan grandes	Nutrientes insuficientes ✗	Incremente los suplementos en la formulación de sustratos
	Insuficiente ventilación ? (¿Aumentar tasa de ventilación?, remover por completo las bolsas plásticas de las unidades experimentales para más aireación. No bolsas = Más riesgo de contaminación ¿vale la pena en términos de rendimientos?)	Abra las ventanas o ductos de ventilación
	Demasiado desarrollo de hongos a un mismo tiempo ✓ (Incubación prolongada en tiempo extra a razón del desconocimiento de la cepa trabajada (enviada por error). ¿Tuvo esto influencia en la formación excesiva de protuberancias y luego su aborto?)	Permita el desarrollo de unos pocos hongos al mismo tiempo
Los hongos presentan deformidades o detienen su crecimiento	Insuficiente ventilación ? (¿Aumentar tasa de ventilación?, remover por completo las bolsas plásticas de las unidades experimentales para más aireación. No bolsas = Más riesgo de contaminación ¿vale la pena en términos de rendimientos?)	Abra las ventadas o ductos de ventilación del cuarto de cultivo
	Insuficiente humedad ✗	Mantenga la humedad del cuarto entre 85 y 95%
	Temperatura fuera del rango adecuado ✗	Mantenga la temperatura del cuarto de fructificación en lo requerido para la cepa
	Condiciones ambientales fuera del rango apropiado ✗	Mantenga la temperatura, humedad relativa, la luminosidad y la ventilación en los valores sugeridos para la cepa

Muy pocos hongos para cosechar al mismo tiempo	Insuficiente alimento en el sustrato ✗	Cambie la formulación del sustrato incrementando la suplementación
	Semilla de hongo débil o degenerada ✗	Use semilla fresca y de un laboratorio confiable
	Temperatura demasiado alta o baja ✗	Provea la temperatura óptima para la fructificación del hongo
Contaminación por hongos u otros organismos competidores	Sanidad insuficiente, unidades de cultivo expuestas a contaminación ✓ (Aumentar las restricciones de entrada y salida al cuarto de cultivo. Aumentar los controles de asepsia y sanidad en el cuarto de cultivo)	Espolvoree carbonato de calcio sobre los estantes que tienen las bolsas contaminadas y aislar

Fuente: Adaptado de (Rodríguez Valencia & Jaramillo López, 2005a)

Donde:



Problema presente en el cultivo



Problema no presente en el cultivo



Problema por verificar en futuros experimentos

Pesaje final y análisis de indicadores

En el análisis de la siguiente información, se tiene en cuenta que para la formulación de los sustratos en el ensayo III. se formulan unidades experimentales de 150 gramos en peso seco, comparando la información con el pesaje de los sustratos secos luego del experimento se observa la disminución y aprovechamiento de los residuos agrícolas como sustratos para el cultivo de hongos comestibles. Para un mejor análisis de lo mencionado, se proponen las siguientes tablas y gráficos:

Tabla 44. Etapa III. Pesaje de cuerpos fructíferos completamente desarrollados en unidades experimentales III.

Unidad experimental	Peso hongos frescos [g]	Pesaje sustratos [g]		Ciclo de Cultivo (CC) [días]	Cálculos propuestos [%]		
	PESAJE PRIMERA COSECHA	PESO HÚMEDO	PESO SECO		EB	R	TP
TK1	12	169,3	92	49	13,04	7,09	26,62
TK2	7	113,4	90	54	7,78	6,17	14,40
TK3	5	195	90,1	49	5,55	2,56	11,33
TL1	10	157,7	85,3	49	11,72	6,34	23,93
TL2	9	203,8	78,7	49	11,44	4,42	23,34
TL3	3	204,6	82,2	49	3,65	1,47	7,45
TM1	4	116	73,8	54	5,42	3,45	10,04
TM2	6	195	69,7	49	8,61	3,08	17,57
TM3	8	190,8	73,1	49	10,94	4,19	22,33
TN1	17	116,5	74,5	42	22,82	14,59	54,33
TN2	6	112,9	80,1	49	7,49	5,31	15,29
TN3	11	99,2	78,7	49	13,98	11,09	28,52
TO1	15	103,6	78	42	19,23	14,48	45,79
TO2	23	134,3	69,7	42	33,00	17,13	78,57
TO3	5	104,5	76,9	28	6,50	4,78	23,22
TP1	18	148,5	76,1	49	23,65	12,12	48,27
TP2	13	128,7	74,3	49	17,50	10,10	35,71
TP3	15	95,6	75	41	20,00	15,69	48,78
TQ1	5	115	75	49	6,67	4,35	13,61
TQ2	5	152,8	74,1	49	6,75	3,27	13,77
TQ3	4	160,4	79	49	5,06	2,49	10,33

Fuente: El autor

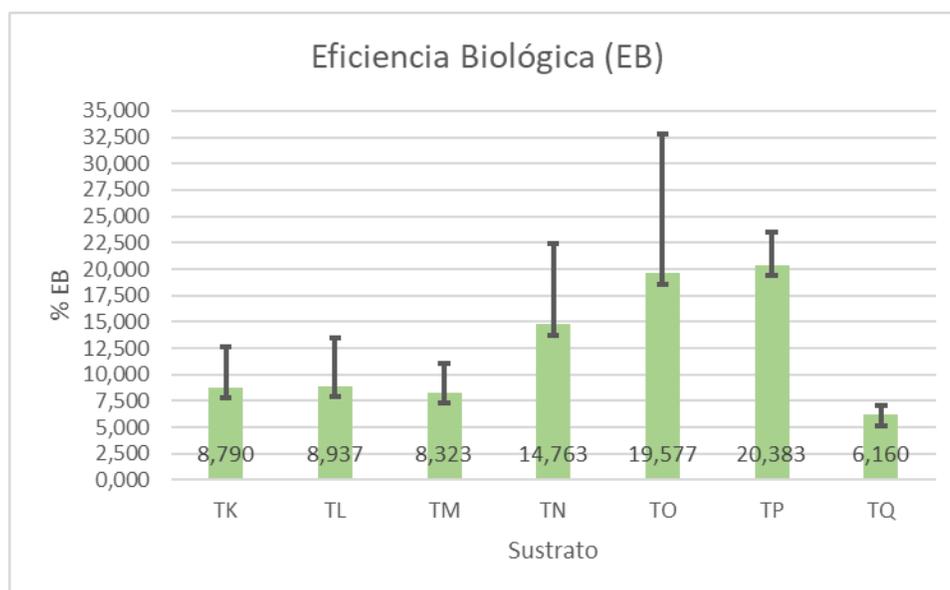
Tabla 45. Etapa III. Cálculo de análisis de indicadores de cultivo de hongos comestibles.

Sustrato	Prom Peso 1era cosecha	Prom EB	Prom R	Prom TP	Ciclo de Cultivo (CC)
TK	8,000 ± 3,606	8,790 ± 3,846	5,273 ± 2,394	17,450 ± 8,088	50,667 ± 2,887
TL	7,333 ± 3,786	8,937 ± 4,581	4,077 ± 2,453	18,240 ± 9,349	49,000 ± 0,000
TM	6,000 ± 2,000	8,323 ± 2,771	3,573 ± 0,565	16,647 ± 6,197	50,667 ± 2,887
TN	11,333 ± 5,508	14,763 ± 7,695	10,330 ± 4,686	32,713 ± 19,855	46,667 ± 4,041
TO	14,333 ± 9,019	19,577 ± 13,253	12,130 ± 6,502	49,193 ± 27,832	37,333 ± 8,083
TP	15,333 ± 2,517	20,383 ± 3,093	12,637 ± 2,831	44,253 ± 7,403	46,333 ± 4,619
TQ	4,667 ± 0,577	6,160 ± 0,953	3,370 ± 0,934	12,570 ± 1,942	49,000 ± 0,000

Fuente: El autor

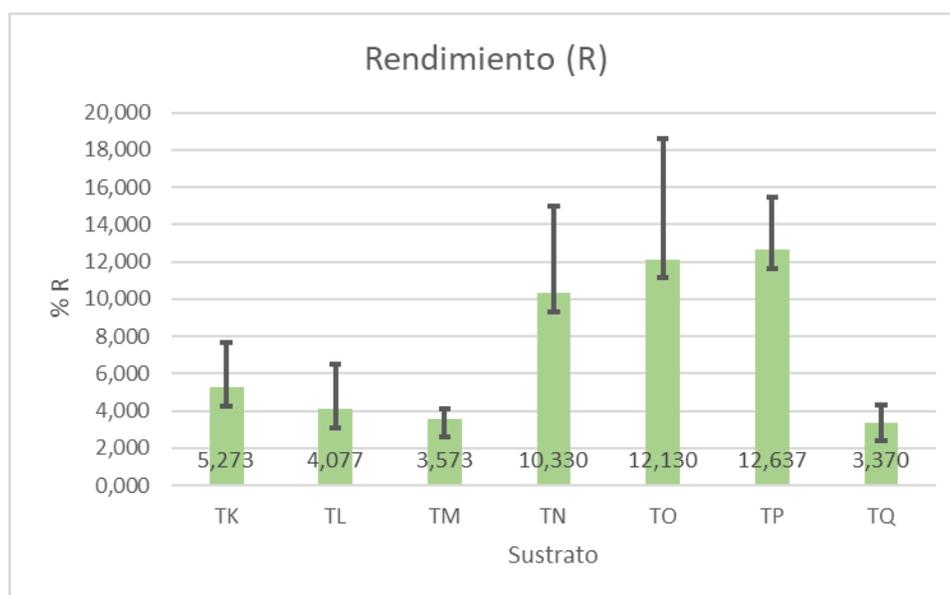
La mayor disminución del sustrato fue obtenida por el sustrato TN, TO y TP respectivamente, la menor disminución del sustrato por el sustrato TK y TN, esto posiblemente a la mayor cantidad de nutrientes y alimento disponible en estas formulaciones (al no ser mayoritariamente aserrín de cafeto) que aumenta las posibilidades de contaminación, inhibición y exceso de elementos en el sustrato que pueden ocasionar disminución en los rendimientos del cultivo. Los datos obtenidos por los indicadores (EB, R, TP y CC) y sus desviaciones estándares son graficadas para analizar los datos con mayor profundidad.

Figura 54. Eficiencia Biológica (EB) en unidades experimentales III.



Fuente: El autor

Figura 55. Rendimiento (R) en unidades experimentales III.



Fuente: El autor

Los sustratos que registraron una mayor Eficiencia Biológica corresponden a los sustratos TP y TO, con un valor de 20,383% y 19,577% respectivamente, estos tienen en común ser mayoritariamente aserrín de cafeto (52%) y la cantidad de borra de café empleada (24%), difieren en una mayor cantidad de pulpa de café en el sustrato TP (con 16% frente al 8% de TO) y el

empleo de diferentes vainas para estos dos sustratos. Las formulaciones de sustratos con menor EB son TM y TQ, para el caso de TM es el sustrato con menor cantidad de aserrín de cafeto (28%) y alta suplementación con los demás materiales, esto lo hace susceptible a contaminación y exceso de nutrientes, en el caso de TQ, su composición es similar a los sustratos de mejores EB, apoyado a los registros fotográficos de estas unidades experimentales, se atribuye el bajo rendimiento a problemas de humedad (baja humedad) y exceso de dióxido de carbono al interior de las bolsas (ver figura 56).

Figura 56. Unidades experimentales TQ, etapa III.

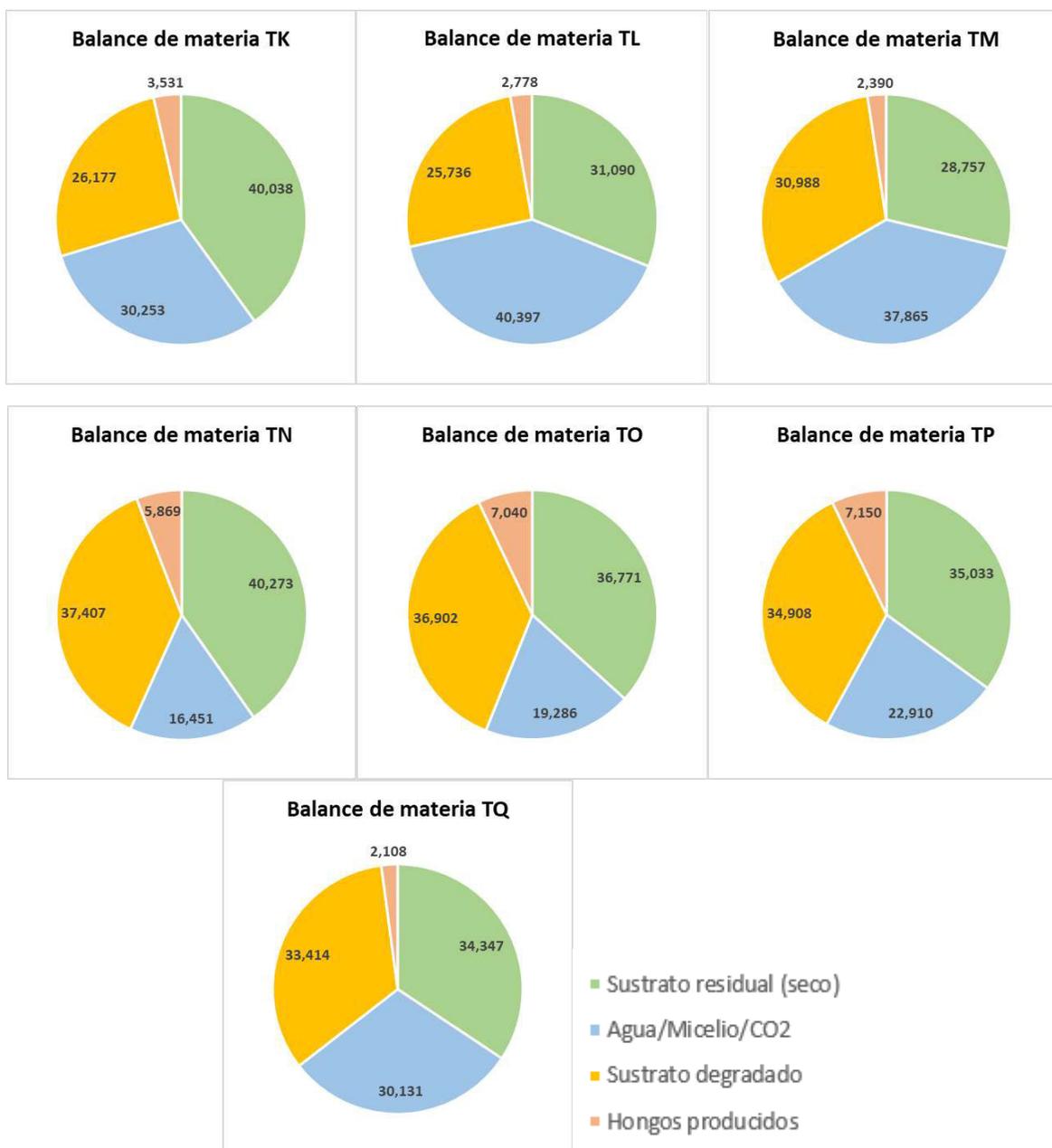


Fuente: El autor

A partir de la información suministrada por las tablas 44 y 45, se construyen las gráficas del balance de materia obtenidas para cada sustrato empleado en la etapa III. La variación en la pérdida de agua en el balance de materia es variable debido a que cada sustrato en su formulación requirió de cantidades diferentes de agua para llegar hasta la humedad adecuada, estas pérdidas también se pueden dar por la conversión del material del sustrato a CO_2 y el micelio que es removido durante el secado, como también por la humedad extraídas del sustrato por los hongos que fructificaron de las unidades experimentales. El sustrato residual se refiere al pesaje realizado de las unidades experimentales luego de remover todos los cuerpos fructíferos y llevarlas a secar en un horno por 24 horas a 105°C , el sustrato degradado es el cálculo realizado para determinar la

cantidad de sustrato que fue aprovechado y utilizado por parte del hongo comestibles, los valores expresados en los gráficos están en términos porcentuales.

Figura 57. Balance de materia en los sustratos empleados en la etapa III.



Fuente: El autor

Los mayores rendimientos son registrados en los sustratos TP y TO, con valores de 12,637% y 12,130% respectivamente, mientras que los rendimientos inferiores están en los

sustratos TQ y TM con valores de 3,370% y 3,573% respectivamente. Las razones por las cuales esto se da son explicadas anteriormente.

Según los referentes (Valera López, 2019), es aceptable utilizar el concepto de Eficiencia Biológica (EB) para determinar la calidad productiva de un sustrato, se considera óptimo y de calidad productiva cuando presenta EB igual o mayores a 50% y un rendimiento superior al 10%, esto indica que no se ha logrado cumplir con los estándares de Eficiencia Biológica para ninguno de los sustratos formulados, el estándar de rendimiento es cumplido por los sustratos TP, TO, TN. Esto indica que aún es necesario continuar con la investigación y se debe ahondar en los efectos ocasionados por el tardío cambio de condiciones ambientales en el cuarto de emulación por la confusión de cepas ocurrida en este proyecto.

Un factor determinante en la disminución de la EB y R de este cultivo, se debe que a durante el proceso de esterilización corresponde al de la cepa *Lentinula edodes* (debido a la confusión del proveedor de cepas) y es realizado por autoclave, proceso donde son eliminados todos los microorganismos ya que este tipo de hongos no es muy competidor y prefiere colonizar los sustratos sin presencia de otros organismos; mientras que, para cepas de *Pleurotus Ostreatus* la recomendación de esterilización es mediante la pasteurización para no eliminar por completo los microorganismos asociados a los sustratos ya que estos pueden ser benéficos y potenciar el cultivo, el orellana requiere de organismos asociados a su micósfera en los que encontramos hongos, bacterias, protozoarios, nemátodos, micoplasmas y partículas virales, entre otros más que potencian la degradación y disponibilidad rápida de nutrientes para cepas de crecimiento y colonización agresiva (Sánchez & Royse, 2017).

Se considera la producción de semillas de hongos comestibles dentro de la Universidad Pontificia Bolivariana para posteriores proyectos de cultivo de hongos comestibles y comenzar a

realizar procesos de pre-adaptación a los sustratos que se quieran emplear para así obtener mejores resultados.

Analizando los demás indicadores restantes, se parte de las gráficas propuestas en la figura 58 y figura 59, donde se presenta la información con su desviación estándar.

Figura 58. Tasa de producción (TP) en unidades experimentales III.

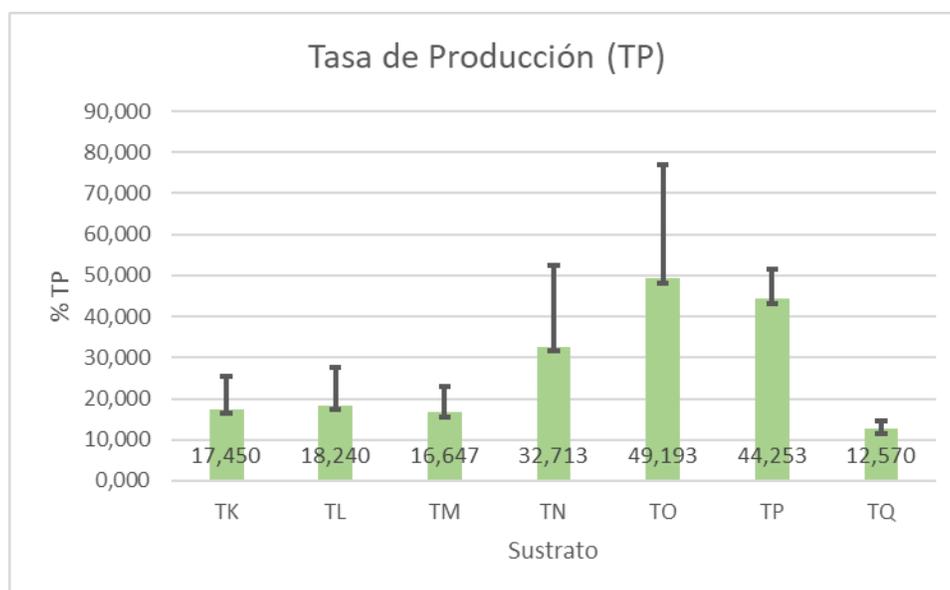
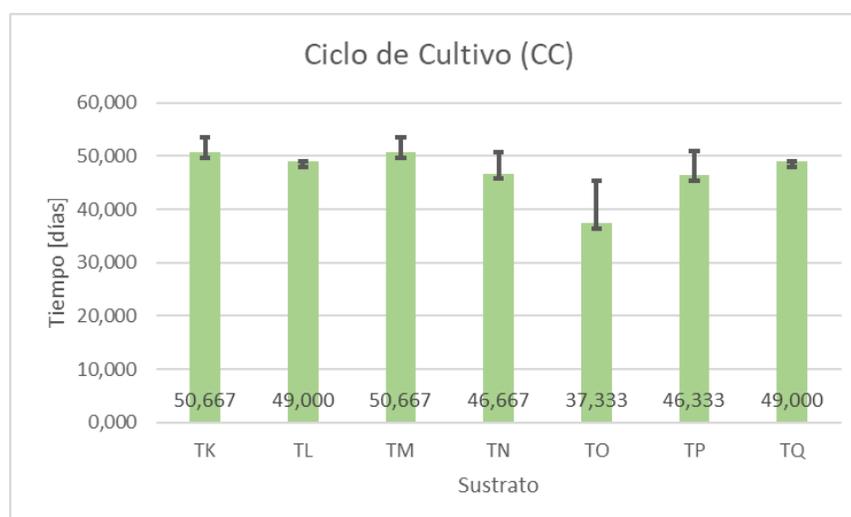


Figura 59. Ciclo de Cultivo (CC) en unidades experimentales III.



Fuente: El autor

El indicador Tasa de Producción relaciona la EB con el CC, esta información se interpreta como el potencial productivo diario del hongo *Pleurotus Ostreatus*, por lo que los sustratos TO, TP y TN generarían mayor cantidad de periodos de cultivo en un año, los sustratos TQ y TM son los que menor tasa de producción presentan. El Ciclo de Cultivo permite conocer el tiempo que tardó desde la inoculación hasta la generación de los primeros cuerpos fructíferos, recordando que el tiempo de incubación fue prolongado una semana extra de forma innecesaria por el desconocimiento de la cepa trabajada, por lo que, el ciclo de cultivo podría ser incluso en menor cantidad de días. El ciclo de cultivo más rápido corresponde a TO, TP y TN respectivamente, mientras que el Ciclo de Cultivo más demorado es de los sustratos TK, TM, TQ y TL.

Los resultados obtenidos en los análisis de indicadores de cultivos fueron influenciados negativamente como ya se mencionó por la prolongación de la etapa de incubación, y por la razón de contaminación por otro tipo de microorganismo tales como hongos y bacterias que ocurrieron en las unidades experimentales TK3, TL2, TL3, TM2, TN1, TN2, TO1, TO2, TP2, TQ2, TQ3 (52% de las unidades experimentales, ver figura 60) en las semanas 6-7 y posteriores. Esto recalca la necesidad y el cumplimiento adecuado de todos los protocolos de asepsia y trabajo en el cultivo de hongos comestibles.

Las unidades experimentales contaminadas son aisladas del cuarto de cultivo y puestas en observación para observar el avance del contaminante, posteriormente, las muestras son llevadas al laboratorio de microbiología para su identificación, identificando al hongo *Penicillium* (ver figura 61).

Figura 60. Ensayo III. Vista estereomicroscopio de unidades experimentales contaminadas.

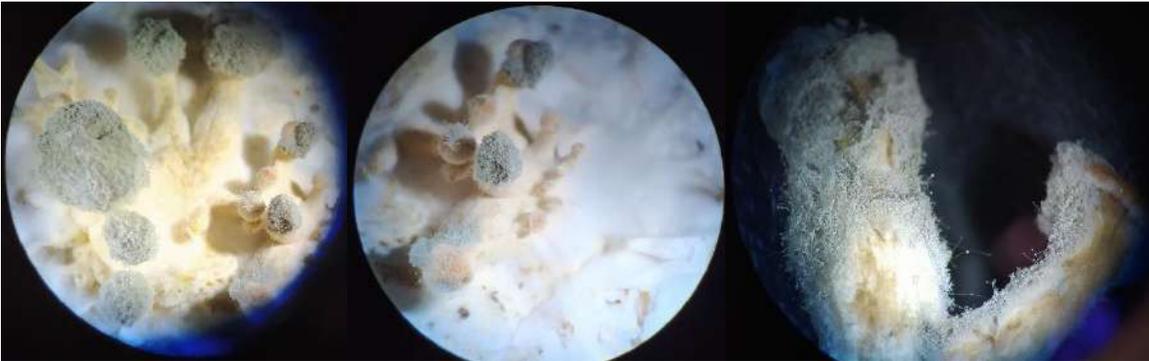
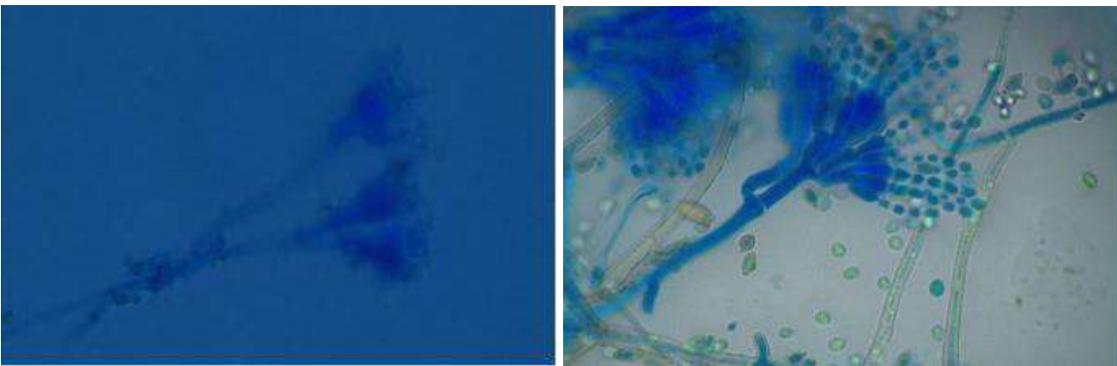


Figura 61. Ensayo III. Vista microscópica de unidades experimentales contaminadas.



Fuente: El autor

En las dos figuras (ver figuras 60 y 61) se observa la contaminación de forma macroscópica y microscópica del *Penicillium*, uno de los hongos más comunes y con mayor distribución en el mundo, este es uno de los típicos contaminantes en cultivos de hongos comestibles.

CONCLUSIONES

- El sistema de supervisión y control de las variables ambientales tiene la capacidad para emular las condiciones requeridas en cada etapa del cultivo de hongos comestibles con éxito mientras se cumpla la condición de que no sucedan fallos de energía en el área del módulo ya que esto provoca el apagón y no arranque del aire acondicionado por lo que no se realizará el control y supervisión de las variables ambientales hasta que se encienda de forma manual. El proceso de adecuación de los residuos agrícolas se realizó de forma correcta siguiendo los requerimientos nutricionales y de tamaño de partícula necesarios para el hongo.
- En términos de las características morfológicas y pesaje, se obtuvo el registro de mayores dimensiones en los sustratos: estípite o tallo en TP, píleo o sombrero en TN. Menores dimensiones en los sustratos: estípite o tallo en TM, píleo o sombrero en TL. En respecto al pesaje de los cuerpos fructíferos, en promedio se obtuvo mayor pesaje en el sustrato TP con $15,333 \text{ [g]} \pm 2,517$ y menor pesaje para TQ con $4,667 \text{ [g]} \pm 0,577$, esto concordando con los resultados de los indicadores de cultivo. Estos cambios en las características son influenciados por las condiciones medio ambientales (temperatura, humedad, concentración de CO_2 e iluminación) y la calidad de la cepa que se esté cultivando.
- El sustrato que obtuvo mejores indicadores de cultivo corresponde al TP con valores de Eficiencia Biológica (EB) de 20,383% y Rendimiento (R) de 12,637% y para que un sustrato se considere con calidad productiva debe presentar EB mayor o igual a 50% y R superiores al 10%, de estas condiciones solo se cumple con el rendimiento por lo que no se puede considerar a esta formulación como una de calidad productiva. Los resultados más

deficientes en indicadores de cultivo se obtuvieron para el sustrato TQ con valores de EB de 3,370% y R 6,160%.

- La temperatura es una condición crítica en el cultivo de hongos comestibles, el evento de temperatura menos favorable para el desarrollo correcto de un cultivo son los excesos de temperatura, ya que estos tienen la capacidad de ocasionar daños irreversibles en la estructura micelar del hongo comestible de interés como fue comprobado en los ensayos I. y ensayo II. Mientras que el evento de bajas temperaturas incide en la velocidad de invasión (es más lenta) pero no ocasiona daños irreversibles en la estructura micelar.
- La elección de cepas confiables y de calidad es determinante, con los resultados experimentales obtenidos y basado en la literatura, el cultivo de *Lentinula edodes* (shiitake) representa mayor dificultad que *Pleurotus Ostreatus* (orellana) esto ya que para el shiitake el periodo de incubación es más prolongado llegando a ser incluso de meses y en este lapso de tiempo se pueden presentar problemas en el sistema de control y supervisión generando daños irreparables en el cultivo, la agresividad de invasión y generación de cuerpos fructíferos en cortos periodos de tiempo del orellana puede representar una reproducibilidad más sencilla y mejores resultados para ser implementada en las fincas caficultoras.

RECOMENDACIONES

- Diseñar e implementar un sistema pasivo de aclimatación (techos verdes, paredes verdes) en la zona donde se encuentra localizada la planta piloto para así disminuir la incidencia que tienen las condiciones medioambientales externas, esto para evitar las condiciones de alta temperatura al interior de la planta piloto en eventos de fallo en el sistema de control y supervisión de las variables ambientales.
- Realizar el proceso de cultivo de los hongos comestibles desde la generación de las semillas de cultivo, esto para realizar procesos de adaptación a la cepa que se planea utilizar. Pre-adaptación a los materiales que serán utilizados como sustratos, este proceso que consta de la inclusión progresiva de los sustratos a implementar en la elaboración de las semillas de las cepas de hongos comestibles, una pre-adaptación a las condiciones ambientales específicas de la zona de Bucaramanga, esto tiene una incidencia directa en los indicadores del cultivo (EB, R, TP, CC) y, además, tener una disponibilidad en cantidad y calidad de semilla producidas en la universidad para posteriores proyectos y no tener una dependencia del mercado para la obtención de las cepas.
- Realizar la configuración del sistema de control y supervisión en términos de temperatura por debajo de la temperatura óptima ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) del hongo comestible, esto a razón de las temperaturas internas en los sustratos que se generan por las actividades metabólicas de los hongos y la incidencia de la irradiación del sol en la planta piloto.

- Incorporar más sensores de temperatura y humedad (variables ambientales críticas) en el interior de la planta piloto para así comprobar que las condiciones se están emulando de forma correcta en todo el interior del recinto.
- Automatizar la recolección y envío de información realizada por el sistema de supervisión y control de forma que estos datos estén disponibles en tiempo real para su observación de forma remota e identificar los eventos de fallos de manera oportuna para realizar los correctivos en los tiempos adecuados.
- Implementar iluminación más uniforme al interior de la planta piloto para que así se tengan condiciones iguales en los diferentes niveles de las estanterías utilizadas para el cultivo de hongos comestibles.
- Definir una solución para el encendido automático del aire acondicionado en caso de que se presente un evento de fallos en la energía eléctrica y que no exista una dependencia manual para este componente que se encarga de controlar la condición crítica de temperatura.
- Estudiar a fondo las propiedades organolépticas (sabor, textura, color, entre otras) y propiedades bromatológicas (valor nutricional) de los hongos comestibles generados en futuros proyectos.
- Establecer protocolos de limpieza, esterilización y buenas prácticas de cultivo de hongos comestibles propios para darle cumplimiento de forma obligatorio en futuros proyectos.

- Realizar el aislamiento de cepas en los sustratos con mayores resultados de indicadores de cultivo y continuar experimentando en futuras formulaciones (con los mismos residuos agrícolas) con estas cepas mejoradas y adaptadas a este sustrato. Este procedimiento se puede realizar por medio de clonación (ejemplares que presenten las mejores morfologías y tamaños) en cajas de Petri con medio nutritivo o por medio del almacenamiento de las esporas para reservar las características generales de los hongos generados en este sustrato.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre Osorio, L. (2019). *Análisis técnico económico para el uso de la cascarilla de arroz en la generación de energía eléctrica a partir del proceso de gasificación. Caso de estudio: molino de arroz Pacande de la ciudad de Villavicencio, Meta.*
- Almendros Redondo, A. B. (2012). *Estudio de la implantación de una granja de producción de Shiitakes (*Lentinula edodes*) en Costa Rica “Las Mellizas.”*
- Arce-Insuasty, K., Benavides Enríquez, M., Acosta Martínez, J., & Álvarez Sánchez, D. (2019). *EVALUACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS DE ARVEJA (*Pisum sativum* L.) PARA OBTENCIÓN DE ABONO ORGÁNICO TIPO BOCASHI.*
- Arismendi Osorio, O. O., & Montes Alvarez, A. F. (2021). *Desarrollo de un sistema de control y supervisión de las variables ambientales requeridas en el crecimiento del hongo shiitake.* Universidad Pontificia Bolivariana.
- Arredondo Peña, C. A., & Perez Martinez, A. M. (2007). *Evaluación del crecimineto del hongo *Lentinula edodes* Berk Pegler en residuos agroindustriales.*
- Boa, E. (2005). *Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la poblaciób.*
- Brathwaite, C. W. D. (2009). *La seguridad alimentaria en las Américas: la exigencia de un nuevo modelo de desarrollo para el siglo XXI.*
<http://repiica.iica.int/docs/B0852E/COMUIICA%20La%20seguridad%20alimentaria.pdf>
- Cano Estrada, A., & Romero Bautista, L. (2016). Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres. *Revista Chilena de Nutrición*, 43.

- Carrillo, L. (2003). *Los hongos de los alimentos y forrajes* (Universidad Nacional de Salta, Ed.; 1st ed.).
- Cotter, T. (2014). *Organic Mushroom Farming and Mycoremediation*. Chelsea Green Publishing.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), FIDA (Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola), OMS (Organización Mundial de la Salud), PMA (Programa Mundial de Alimentos), & UNICEF (El Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia). (2020). El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2020. In *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2020*. FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. <https://doi.org/10.4060/ca9692es>
- Fernández Valenciano, A. F., & Sánchez Chávez, E. (2017). Estudio de las propiedades físicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumida en México. *Nova Scientia*, 9, 113–148.
- Fredy Cacao García. (2014). *Manual productivo del cultivo hongo Shiitake* (Vol. 1).
- García Lavis, J. (2014). *Optimización de la metodología para la producción de hongos comestibles*.
- Hanko, J. (2001). *Mushroom cultivation for people with disabilities. A TRAINING MANUAL*.
- IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). (2012). *Situación de la seguridad alimentaria en las Américas (Documento para alimentar el diálogo de la 42.a Asamblea General de la Organización de los Estados Americanos)*. <http://www.iica.int>.
- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. In *Environment International* (Vol. 132). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>

- L. I. Hinestroza, C., & A. López, M. (2008). Aspectos relacionados con la producción de Lentinula edodes (Shiitake). Una seta con alto potencial alimenticio y medicinal. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2*, 16–21.
- López Pino, J. I. (2016). Propiedades funcionales de los hongos comestibles. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 26, 73–80.
<https://www.revcitecal.iiiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/245/212>
- Loyola Marymount University. (2022). *Gram-positive vs. Gram-negative Bacteria*.
- MushWorld. (2004). *Mushroom Growers Handbook 1: Oyster Mushroom Cultivation* (MushWorld & Heineart Inc, Eds.; Vol. 1). MushWorld. www.MushWorld.com,
- MushWorld. (2005). *Mushroom Growers Handbook 2. Shiitake Cultivation*.
<http://www.MushWorld.com>
- MushWorld, & HEINEARTH Inc. (2004). *Mushroom Growers Handbook 1. Oyster Mushroom Cultivation*. www.MushWorld.com,
- Muskus Morales, A. M., & Quintero Duque, C. S. (2016). *Manual de laboratorio: caracterización de suelos*. Universidad Pontificia Bolivariana.
- Rivera, O. A., Albarracín, W., & Lares, M. (2017). Componentes Bioactivos del Shiitake (Lentinula edodes Berk. Pegler) y su impacto en la salud Resumen. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 36, 67–71.
- Rivera Omen, R. L., Martínez Mamián, C. A., & Morales Velasco, S. (2013). Evaluación de residuos agrícolas como sustrato para la producción de Pleurotus Ostreatus. *Revista Luna Azul*, 37, 89–100.

- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006a). *Esterilización y siembra de hongos comestibles y medicinales* (CENICAFÉ, SENA, & ASOFUNGICOL, Eds.).
- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006b). *Protocolo. Esterilización y siembra de hongos comestibles y medicinales.*
- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006c). *Protocolo. Fructificación de hongos comestibles y medicinales.*
- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006d). *Protocolo. Identificación de los hongos contaminantes más frecuentes en el cultivo de setas comerciales y medicinales.*
- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006e). *Protocolo. Incubación de hongos comestibles y medicinales.*
- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006f). *Protocolo. Manejo postcosecha de hongos comestibles y medicinales.*
- Rodríguez Valencia, N., Araque Fonseca, M. L., & Perdomo Perdomo, F. (2006g). *Protocolo. Preparación de sustrato para hongos comestibles y medicinales.*
- Rodríguez Valencia, N., & Jaramillo López, C. (2004). *Cultivo de hongos comestibles del género Pleurotus sobre residuos agrícolas de la zona cafetera.*
- Rodríguez Valencia, N., & Jaramillo López, C. (2005a). *Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera.*
- Rodríguez Valencia, N., & Jaramillo López, C. (2005b). *Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera (Boletín técnico N28).*

Rodríguez Valencia, N., Liliana, M., Fonseca, A., & Perdomo, F. P. (2006). *Producción de los hongos comestibles orellanas y shiitake.*

Romero Arenas, O., Martínez Guerrero, M. A., Damián Huato, M. A., Ramírez Valverde, B., & López Olguín, J. F. (2015). Producción del hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6, 1229–1238.

Romero Arenas, O., Martínez Guerrero, M. A., Damián Huato, M. A., Ramírez Valverde, B., & López Olguín, J. F. (2015). Producción del hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(6), 1229–1238.

Russell, S. (2014). *The essential guide to cultivating mushrooms.*

Sánchez, J. E., & Royse, D. J. (2017). *La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas Pleurotus spp.* o de la Frontera Sur. www.ecosur.mx

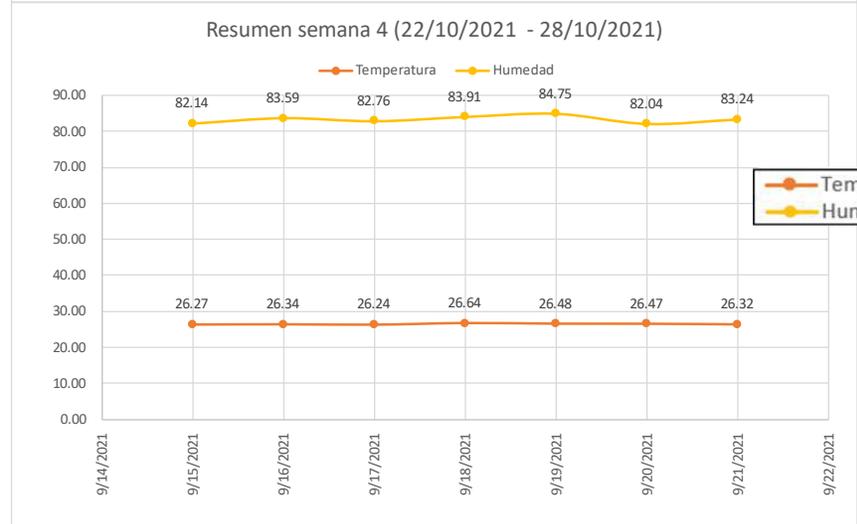
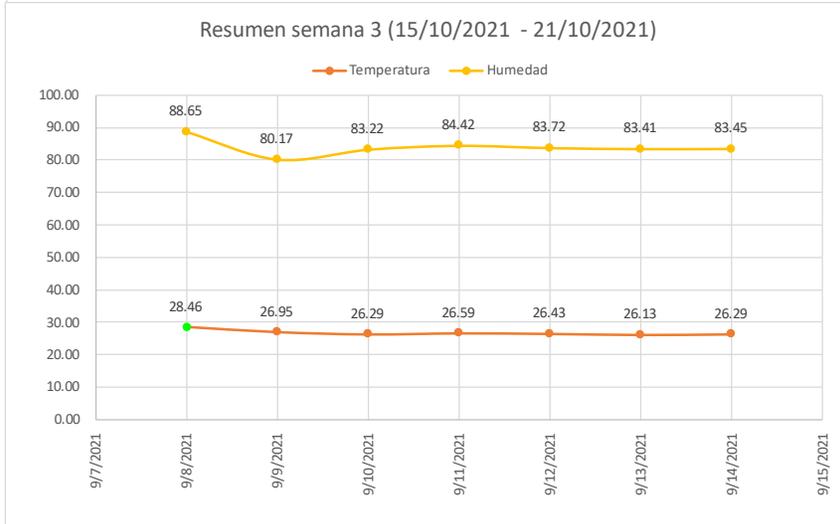
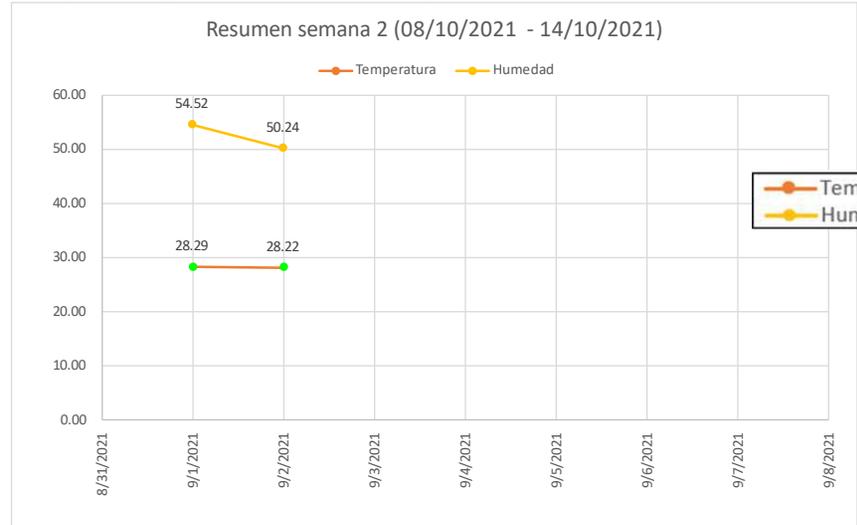
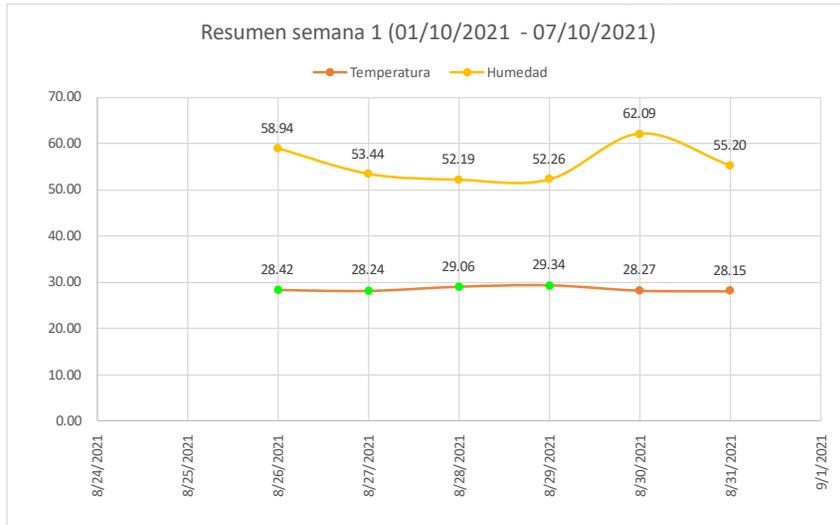
Trautmann, N. M., & Krasny, M. E. (2014). *Composting in the Classroom: Scientific Inquiry for High School Students.* <https://www.researchgate.net/publication/237413430>

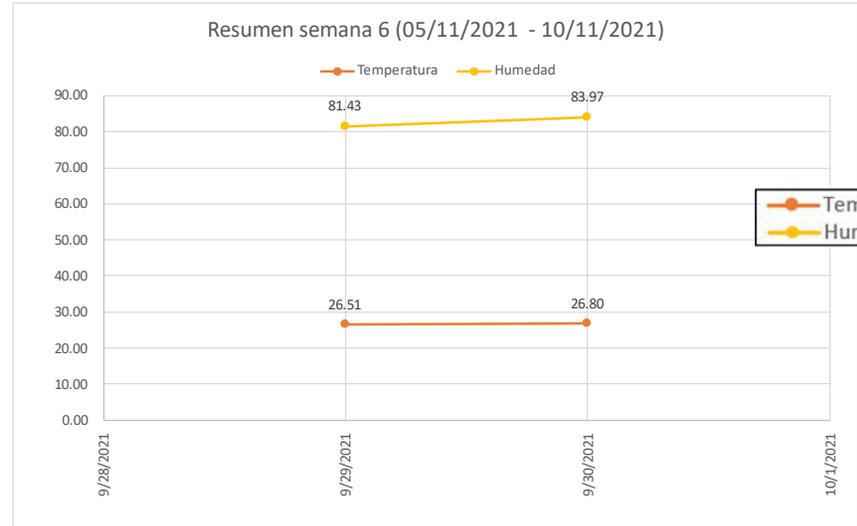
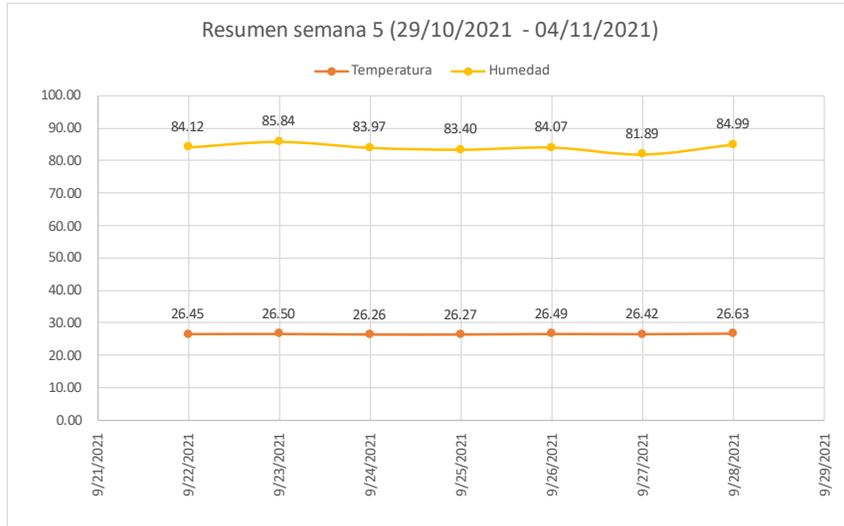
Valera López, A. (2019). *Rendimiento del hongo comestible Pleurotus ostreatus cultivado en diferentes sustratos a base de residuos agroindustriales de la ciudad de Tacna.*

Villegas Escobar, V., Milena Pérez, A., & Arredondo, C. (2007). Evaluación de la producción del hongo *Lentinula edodes* Pegler en bloques sintéticos a base de residuos agroindustriales. *Ingeniería y Ciencia*, 3(6), 23–29.

ANEXOS

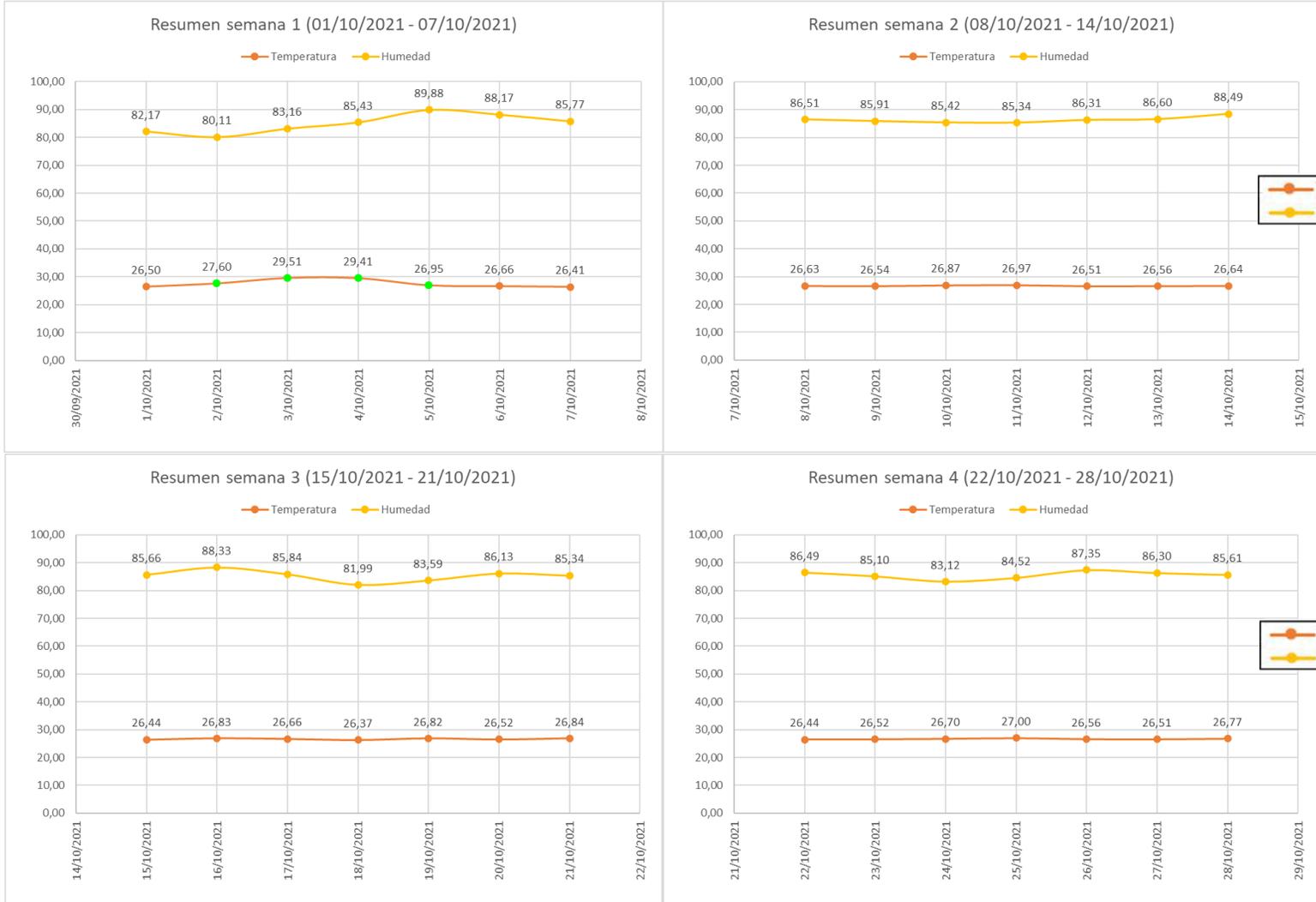
Anexo 1. Etapa I. Resumen semanal, seguimiento de semillas cepa #1 en proceso de colonización para su inoculación

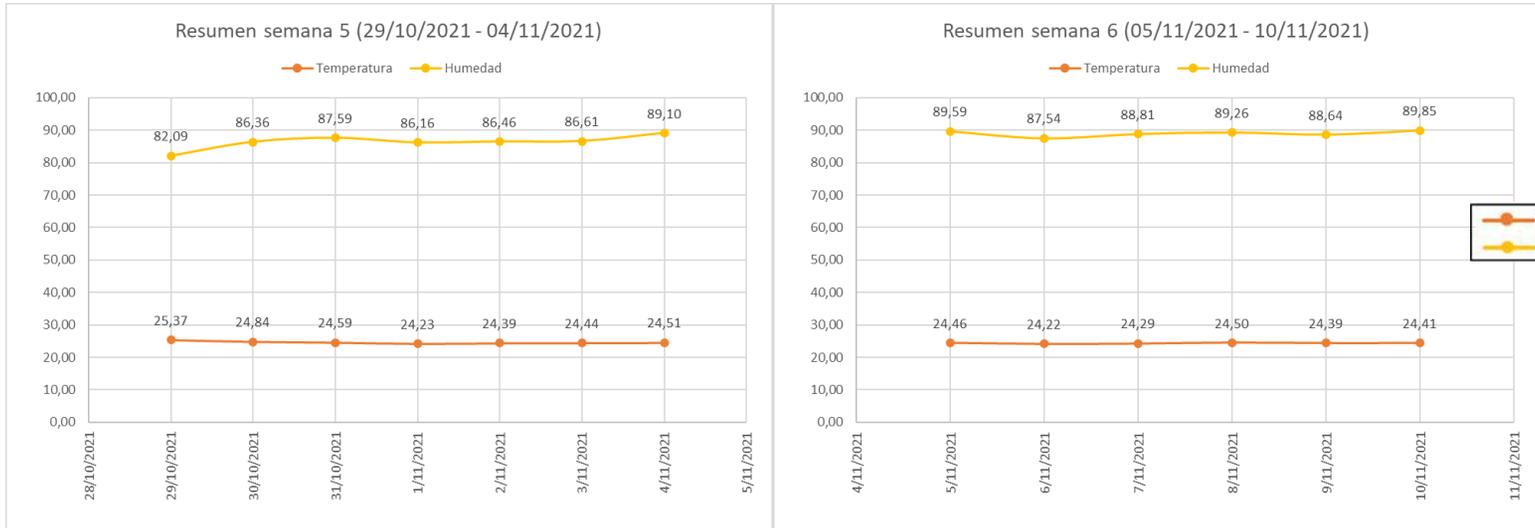




Fuente: El autor

Anexo 2. Etapa I. Resumen semanal, unidades experimentales I. preliminares

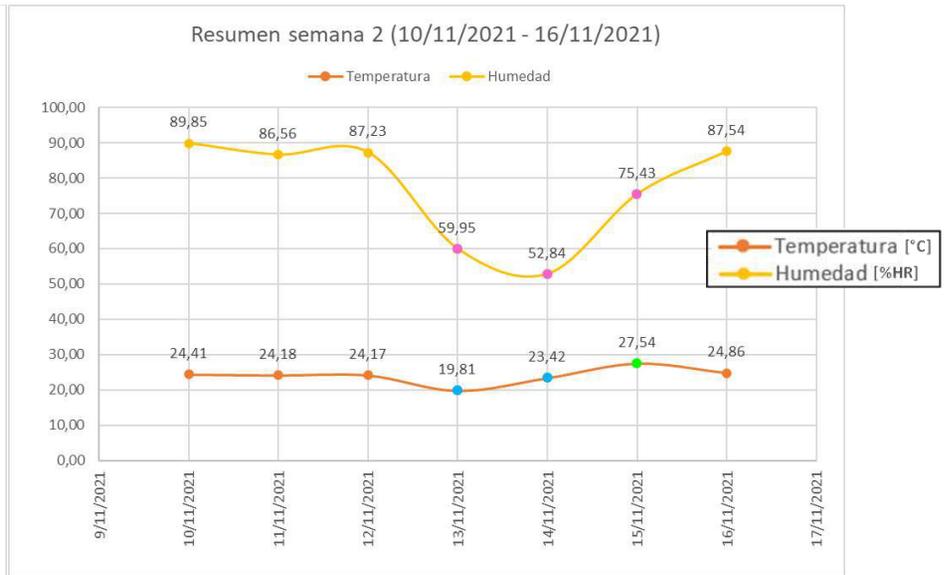
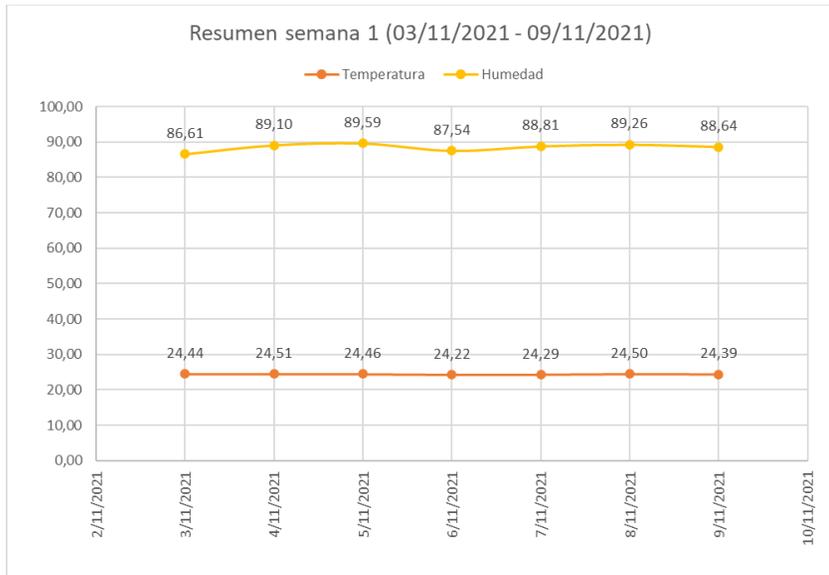




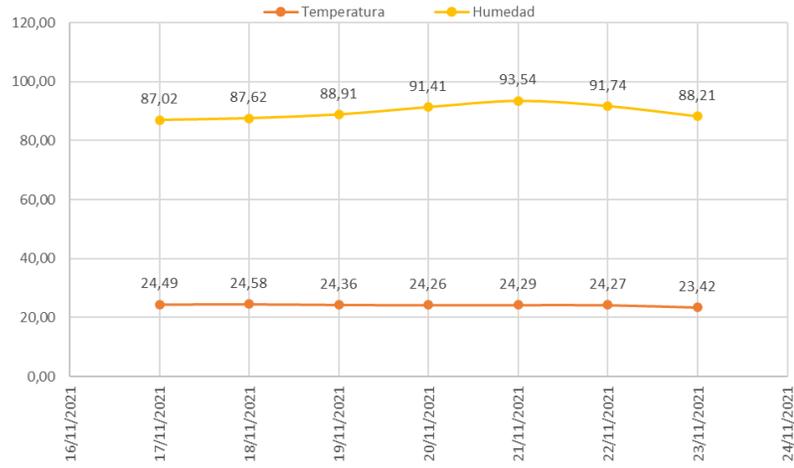
Color	Significado
Verde	No hubo control. Temperaturas (T) superiores a 30 °C
Azul	No hubo control. Temperaturas (T) inferiores a 15 °C
Rosa	No hubo control. Humedad Relativa (HR) inferior a 40%

Fuente: El autor

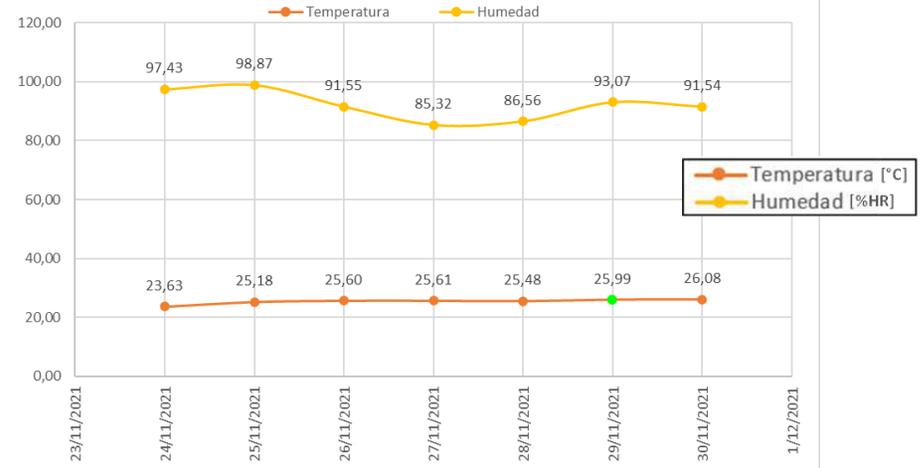
Anexo 3. Etapa II. Resumen semanal, unidades experimentales II



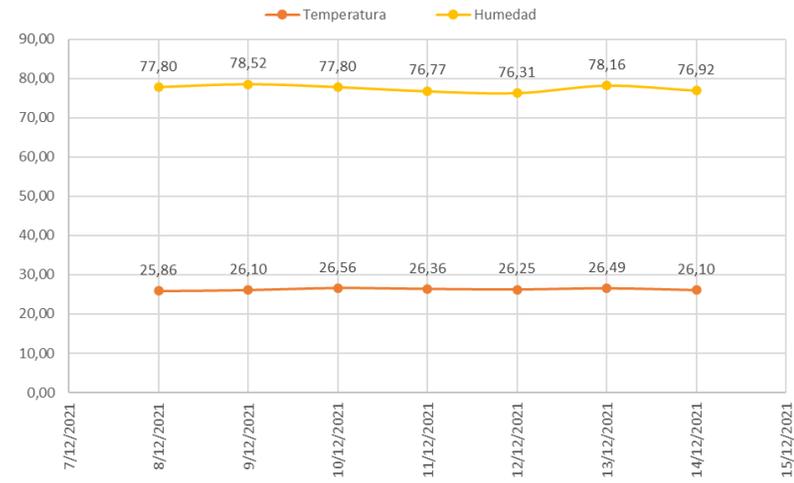
Resumen semana 3 (17/11/2021 - 23/11/2021)



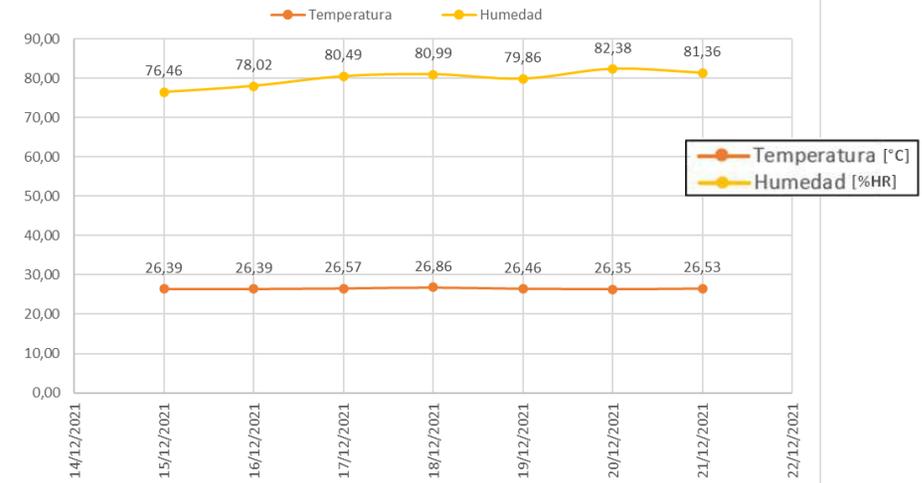
Resumen semana 4 (24/11/2021 - 30/11/2021)



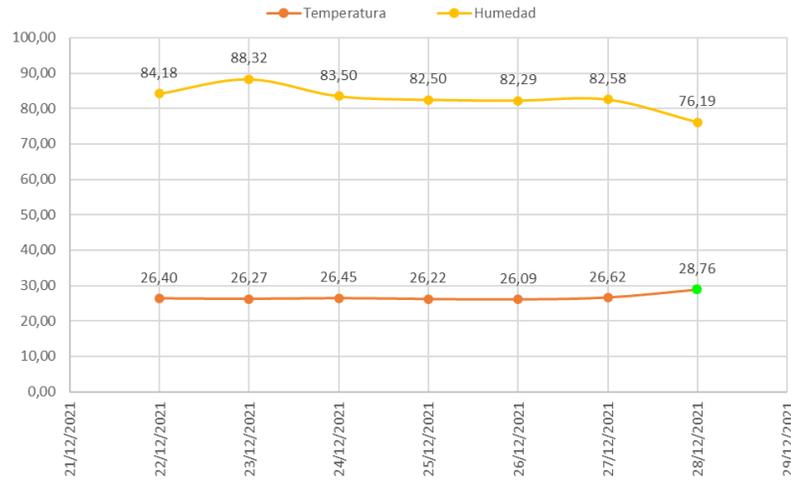
Resumen semana 6 (08/12/2021 - 14/12/2021)



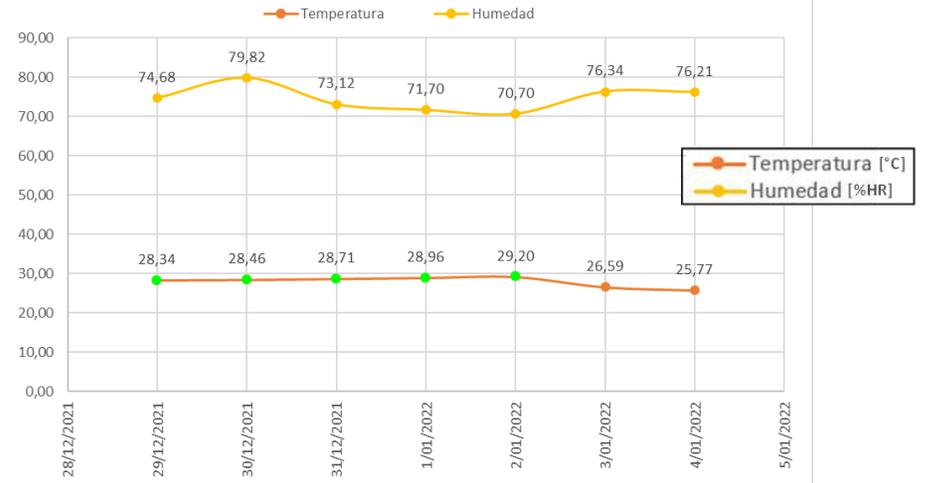
Resumen semana 7 (15/12/2021 - 21/12/2021)



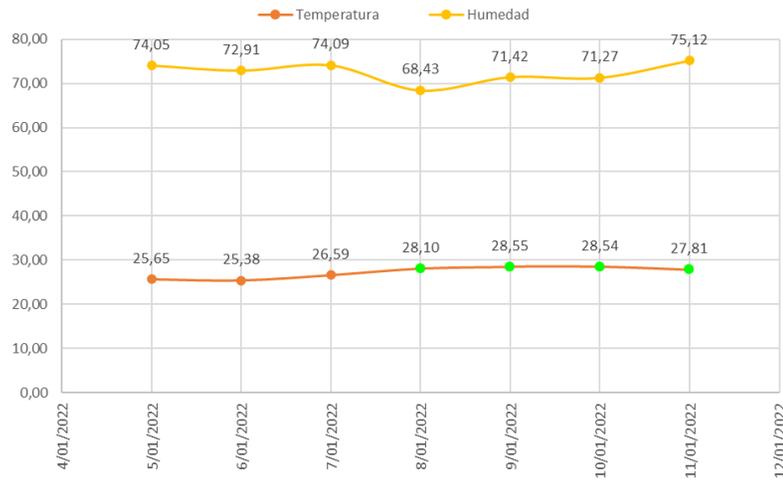
Resumen semana 8 (22/12/2021 - 28/12/2021)



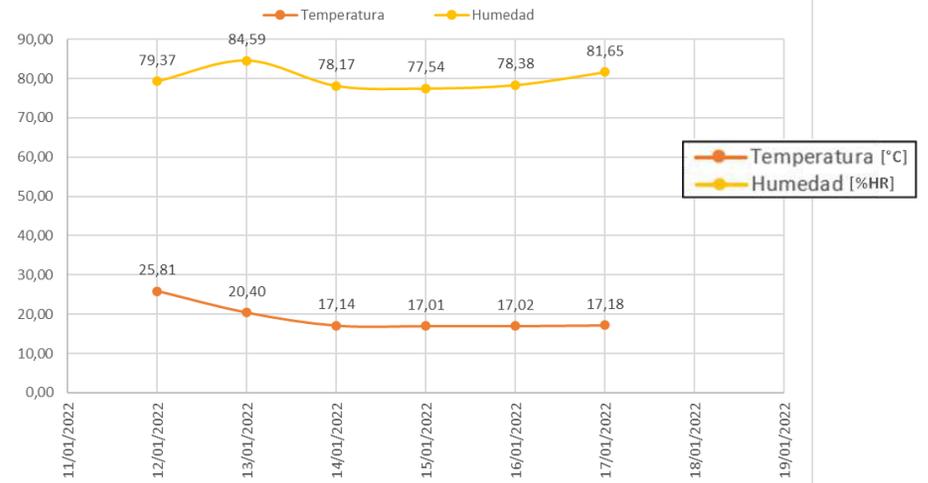
Resumen semana 9 (29/12/2021 - 04/01/2022)

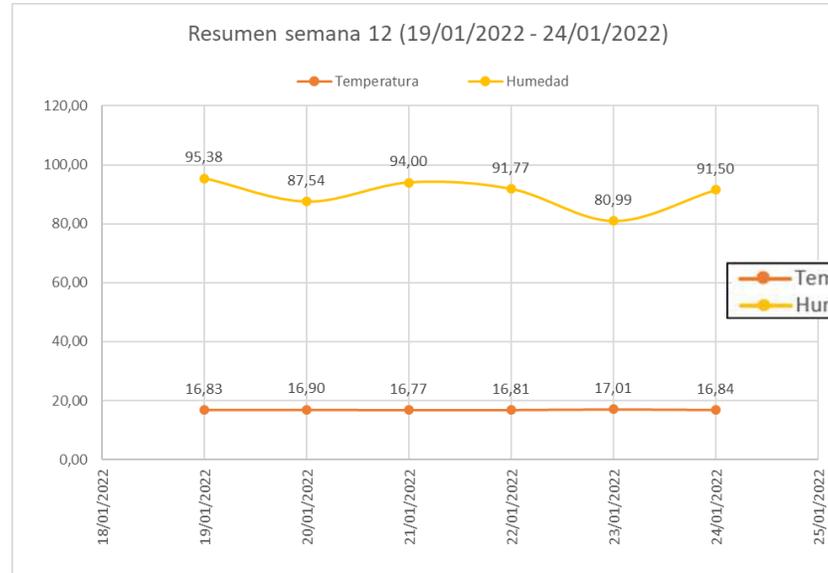


Resumen semana 10 (05/01/2022 - 11/01/2022)



Resumen semana 11 (12/01/2022 - 18/01/2022)





Color	Significado
Verde	No hubo control. Temperaturas (T) superiores a 30 °C
Azul	No hubo control. Temperaturas (T) inferiores a 15 °C
Rosa	No hubo control. Humedad Relativa (HR) inferior a 40%

Fuente: El autor

Anexo 4. Etapa I. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales I. preliminares

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIONES
El micelio no se forma	Problemas en condiciones ambientales del cultivo ✓	Consultar parámetros de crecimiento. Altere la humedad, la temperatura, la luz, el dióxido de carbono, etc. <i>Nota: Si el sustrato está demasiado húmedo, disminuya la humedad.</i>
El micelio no se forma	Agua clorada o contaminada ✗	Use filtros de agua de carbón activado para eliminar contaminantes químicos o cualquier otra forma de tecnología simple o apropiada.
El micelio no se forma	Mal sustrato ✗	Verifique el sustrato. Extienda el sustrato y vuelva a mezclar el sustrato, empaque de nuevo, asegúrese de que todas las materias primas estén buenas y frescas. <i>Nota: Es necesario pasteurizar inmediatamente después de embolsar, de lo contrario, el gas de fermentación ralentizará la tasa de crecimiento del micelio o detendrá el crecimiento del micelio.</i>
	Mala pasteurización o esterilización ✗	Compruebe el método de pasteurización o esterilización. Libere todo el aire y asegúrese de que haya vapor continuo antes de comenzar la pasteurización por un período de 3 horas. Asegúrese del buen funcionamiento del autoclave.

El micelio no se forma	El sustrato en la bolsa está demasiado caliente durante la inoculación ✘	Asegúrese de que la bolsa de sustrato no esté demasiado caliente antes de la inoculación.
El micelio no se forma	Mala cepa o semilla ✔	Obtenga una cepa más joven de vitalidad e historia conocidas.
El micelio no se forma	Semilla contaminada ✘	Pasteurizar e inocular nuevamente con buena semilla.
El micelio no se forma	Olvidó inocular la bolsa ✘	Asegurarse de inocular.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Buena pasteurización, pero debe disminuir la temperatura en la cámara de pasteurización. La pasteurización fue demasiado rápida y / o la puerta de la cámara se abrió demasiado rápido La esterilización no se realizó de forma adecuada ✘	Disminuya lentamente la temperatura en la cámara. No abra la tapa del cámara demasiado rápido. Compruebe que el tapón de algodón esté bien cerrado. Verifique los procedimientos de esterilización.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Proceso de inoculación ✘	Inocular en condiciones higiénicas; limpio y sin movimiento de aire.

Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	No hay suficiente ventilación para disminuir la temperatura acumulada. ✘	Extienda la bolsa de sustrato y haga más ventilación de aire en el área de incubación. Verifique la temperatura y controle los alrededores para mantener entre 25 y 35 grados Celsius.
	Dióxido de carbono demasiado alto ✘	No más del 5% de dióxido de carbono. Verifique la ventilación.
	Higiene en el cuarto de incubación ✘	Mejorar la higiene en el cuarto de incubación.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	El micelio se desarrolla en parches. El sustrato no está preparado de manera uniforme y algunas partes tienen más nutrientes que otras ✘	Mezclar bien el sustrato.
	Contaminación por bacterias, otros hongos. ✔	Verifique el proceso que causa la contaminación. Separe las bolsas contaminadas lo antes posible. Vuelva a mezclar el sustrato por separado. Rehacer las bolsas de sustrato y pasteurizar durante más tiempo. Siga el proceso.

<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>	<p>Contaminación por ácaros</p> <p style="text-align: center;"></p>	<p>Separe inmediatamente las bolsas contaminadas y vuelva a pasteurizar. Continúe con el proceso normal.</p> <p style="text-align: center;"><i>Nota:</i></p> <p>* Mantener la gestión de la higiene; asegúrese de limpiar todo (persona, área, herramientas, equipo y alrededores durante cada paso).</p> <p>* <i>Deje de usar el área para cortar el ciclo de vida de todos los contaminantes por un período de al menos 1-2 semanas. Para casos de contaminación grave, rocíe el área con productos químicos.</i></p> <p>* <i>Use luz negra con agua o trampa adhesiva para disminuir los insectos.</i></p>
---	--	---

Fuente: (Hanko, 2001) y el autor

*  Problema presente en el cultivo

*  Problema no presente en el cultivo

Anexo 5. Etapa II. Identificación de problemas en el cultivo durante la verificación de la lista de resolución de problemas. Unidades experimentales II

PROBLEMA	CAUSA	SOLUCIONES
<p>El micelio no se forma</p>	<p>Problemas en condiciones ambientales del cultivo</p> <p style="text-align: center;"></p>	<p>Consultar parámetros de crecimiento. Altere la humedad, la temperatura, la luz, el dióxido de carbono, etc.</p> <p style="text-align: center;"><i>Nota: Si el sustrato está demasiado húmedo, disminuya la humedad.</i></p>

El micelio no se forma	<p>Agua clorada o contaminada</p> <p style="text-align: center;">✘</p>	<p>Use filtros de agua de carbón activado para eliminar contaminantes químicos o cualquier otra forma de tecnología simple o apropiada.</p>
El micelio no se forma	<p>Mal sustrato</p> <p style="text-align: center;">✘</p>	<p>Verifique el sustrato. Extienda el sustrato y vuelva a mezclar el sustrato, empaque de nuevo, asegúrese de que todas las materias primas estén buenas y frescas.</p> <p><i>Nota: Es necesario pasteurizar inmediatamente después de embolsar, de lo contrario, el gas de fermentación ralentizará la tasa de crecimiento del micelio o detendrá el crecimiento del micelio.</i></p>
El micelio no se forma	<p>Mala pasteurización o esterilización ✘</p>	<p>Compruebe el método de pasteurización o esterilización. Libere todo el aire y asegúrese de que haya vapor continuo antes de comenzar la pasteurización por un período de 3 horas. Asegúrese del buen funcionamiento del autoclave.</p>
El micelio no se forma	<p>El sustrato en la bolsa está demasiado caliente durante la inoculación ✘</p>	<p>Asegúrese de que la bolsa de sustrato no esté demasiado caliente antes de la inoculación.</p>
El micelio no se forma	<p>Mala cepa o semilla ✘</p>	<p>Obtenga una cepa más joven de vitalidad e historia conocidas.</p>
El micelio no se forma	<p>Semilla contaminada ✘</p>	<p>Pasteurizar e inocular nuevamente con buena semilla.</p>

El micelio no se forma	Olvidó inocular la bolsa ✗	Asegurarse de inocular.
Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros	Buena pasteurización, pero debe disminuir la temperatura en la cámara de pasteurización. La pasteurización fue demasiado rápida y / o la puerta de la cámara se abrió demasiado rápido La esterilización no se realizó de forma adecuada ✗	Disminuya lentamente la temperatura en la cámara. No abra la tapa del cámara demasiado rápido. Compruebe que el tapón de algodón esté bien cerrado. Verifique los procedimientos de esterilización.
	Proceso de inoculación ✗	Inocular en condiciones higiénicas; limpio y sin movimiento de aire.
	No hay suficiente ventilación para disminuir la temperatura acumulada. ✗	Extienda la bolsa de sustrato y haga más ventilación de aire en el área de incubación. Verifique la temperatura y controle los alrededores para mantener entre 25 y 35 grados Celsius.
	Dióxido de carbono demasiado alto ✗	No más del 5% de dióxido de carbono. Verifique la ventilación.
	Higiene en el cuarto de incubación ✗	Mejorar la higiene en el cuarto de incubación.

<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>	<p>El micelio se desarrolla en parches. El sustrato no está preparado de manera uniforme y algunas partes tienen más nutrientes que otras ✗</p>	<p>Mezclar bien el sustrato.</p>
<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>	<p>Contaminación por bacterias, otros hongos. ✓</p>	<p>Verifique el proceso que causa la contaminación. Separe las bolsas contaminadas lo antes posible. Vuelva a mezclar el sustrato por separado. Rehacer las bolsas de sustrato y pasteurizar durante más tiempo. Siga el proceso.</p>
<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>	<p>Contaminación por ácaros</p>	<p>Separe inmediatamente las bolsas contaminadas y vuelva a pasteurizar. Continúe con el proceso normal.</p> <p><i>Nota:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * Mantener la gestión de la higiene; asegúrese de limpiar todo (persona, área, herramientas, equipo y alrededores durante cada paso). * Deje de usar el área para cortar el ciclo de vida de todos los contaminantes por un período de al menos 1-2 semanas. Para casos de contaminación grave, rocíe el área con productos químicos. * Use luz negra con agua o trampa adhesiva para disminuir los insectos.
<p>Mala propagación de micelio, mal olor, manchas y ácaros</p>	<p>Contaminación por ácaros</p> <p>✓</p>	<p>Separe inmediatamente las bolsas contaminadas y vuelva a pasteurizar. Continúe con el proceso normal.</p> <p><i>Nota:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * Mantener la gestión de la higiene; asegúrese de limpiar todo (persona, área, herramientas, equipo y alrededores durante cada paso). * Deje de usar el área para cortar el ciclo de vida de todos los contaminantes por un período de al menos 1-2 semanas. Para casos de contaminación grave, rocíe el área con productos químicos. * Use luz negra con agua o trampa adhesiva para disminuir los insectos.

Fuente: (Hanko, 2001) y el autor

*  Problema presente en el cultivo

*  Problema no presente en el cultivo

Anexo 6. Etapa III. Medición de cuerpos fructíferos obtenidos e información de número de cuerpos fructíferos abortados. Información por unidad experimental

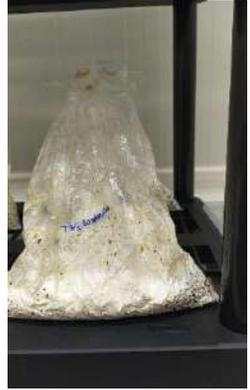
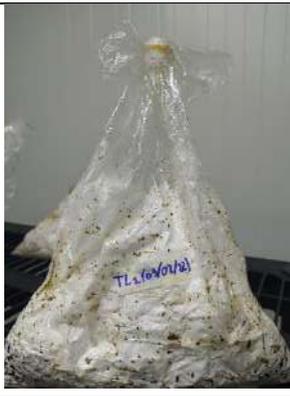
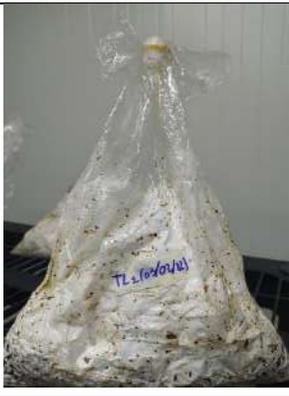
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL	# DE CUERPOS FRUCTÍFEROS	MEDIDA DEL ESTÍPITE (largo x diámetro) [cm]	MEDIDA DEL SOMBRERO (largo x ancho) [cm]	# DE FRUCTÍFEROS ABORTADOS	# TOTAL DE CUERPOS FRUCTÍFEROS
TK	TK1	1	4,4 x 5,2	3,5 x 4,2	5	8
		2	4,5 x 4,9	2,5 x 3,7		
		3	3,2 x 3,7	3,1 x 3,2		
	TK2	1	1,5 x 2	1,3 x 1,5	15	17
		2	6 x 1,3	3,1 x 3,6		
	TK3	1	4,5 x 3,8	4,7 x 4,5	13	15
2		6,1 x 2,1	2,7 x 3,3			
TL	TL1	1	2,5 x 1,9	1,1 x 0,9	16	20
		2	4,2 x 7	5,7 x 5,2		
		3	3,5 x 4,7	2,5 x 2,6		
		4	3,4 x 4,3	1,8 x 2,0		
		1	2,8 x 3,0	1,5 x 1,6		

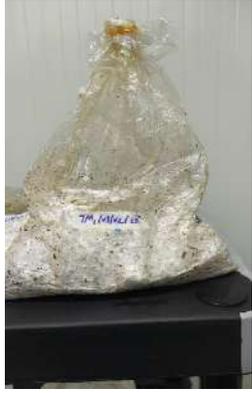
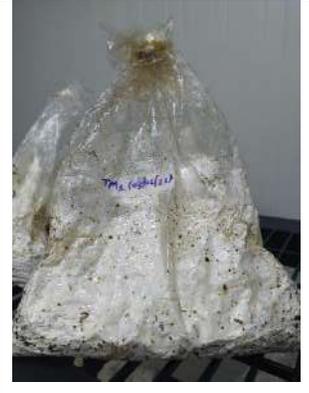
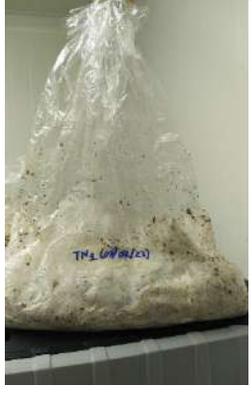
	TL2	2	2,3 x 3,1	2,2 x 1,7	14	17
		3	1,1 x 1,3	0,9 x 0,8		
	TL3	1	3,4 x 1,5	2,5 x 3,0	16	17
TM	TM1	1	3,9 x 1,9	3,1 x 2,7	19	20
	TM2	1	3,8 x 3,5	6,0 x 5,3	15	17
		2	1,8 x 1,8	3,6 x 2,3		
	TM3	1	2,3 x 2,2	6,4 x 5,3	8	10
		2	1,1 x 1,5	3,5 x 3,8		
	TN	TN1	1	3,5 x 6,3	3,0 x 7,0	7
2			0,8 x 1,0	1,5 x 6,0		
3			0,7 x 0,6	1,2 x 6,0		
4			1,1 x 1,5	1,7 x 5,0		
5			0,9 x 1,1	1,1 x 4,0		
TN2		1	3,1 x 3,8	4,5 x 3,3	6	8
		2	2,8 x 3,2	6,9 x 3,3		
TN3		1	4,6 x 4,9	6,4 x 5,3	5	7
		2	4,4 x 5,0	6,5 x 4,2		
		TO1	1	4,5 x 4,0	5,0 x 5,0	5
	2		1,8 x 2,2	6,0 x 4,7		
		1	3,5 x 3,8	0,7 x 9,0		

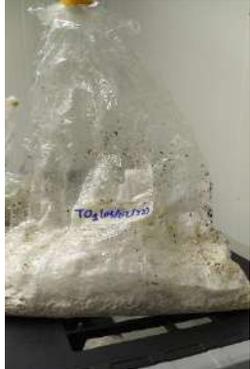
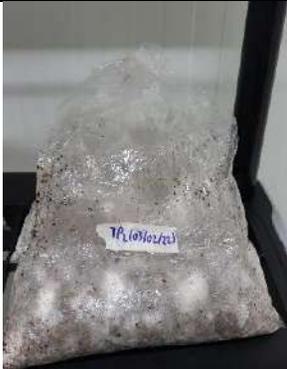
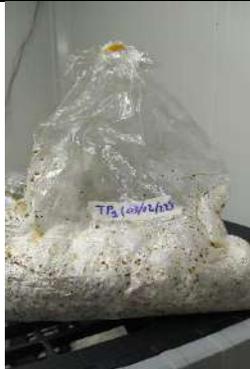
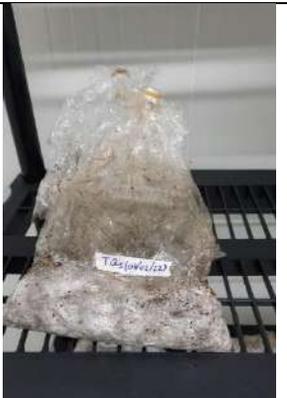
TO	TO2	2	4,0 x 4,9	0,6 x 9,0	1	5
		3	3,0 x 3,8	0,8 x 9,0		
		4	3,5 x 5,2	1,0 x 9,0		
	TO3	1	3,1 x 2,4	2,4 x 1,9	4	10
		2	1,4 x 2,6	1,5 x 1,3		
		3	1,1 x 3,0	0,7 x 0,6		
		4	1,0 x 3,0	0,5 x 0,6		
		5	1,6 x 2,4	1,8 x 1,4		
		6	4,5 x 2,5	3,5 x 3,2		
TP	TP1	1	6,5 x 6,1	6,2 x 5,2	6	8
		2	5,3 x 4,6	3,4 x 5,8		
	TP2	1	6,5 x 7,1	3,5 x 4,5	2	4
		2	4,3 x 4,5	3,1 x 2,4		
	TP3	1	5,0 x 9,1	2,0 x 7x0	6	9
		2	5,0 x 7,0	1,5 x 6,0		
3		3,0 x 4,0	1,0 x 7,0			
TQ	TQ1	1	6,7 x 5,2	7,5 x 2,3	11	12
	TQ2	1	4,3 x 3,5	3,4 x 4,1	21	22
	TQ3	1	5,8 x 4,6	3,7 x 3,9	29	30
TOTAL		102			224	330

Fuente: El autor

Anexo 7. Etapa III. Registro fotográfico del seguimiento de la colonización del micelio de Pleurotus Ostreatus en la etapa de incubación

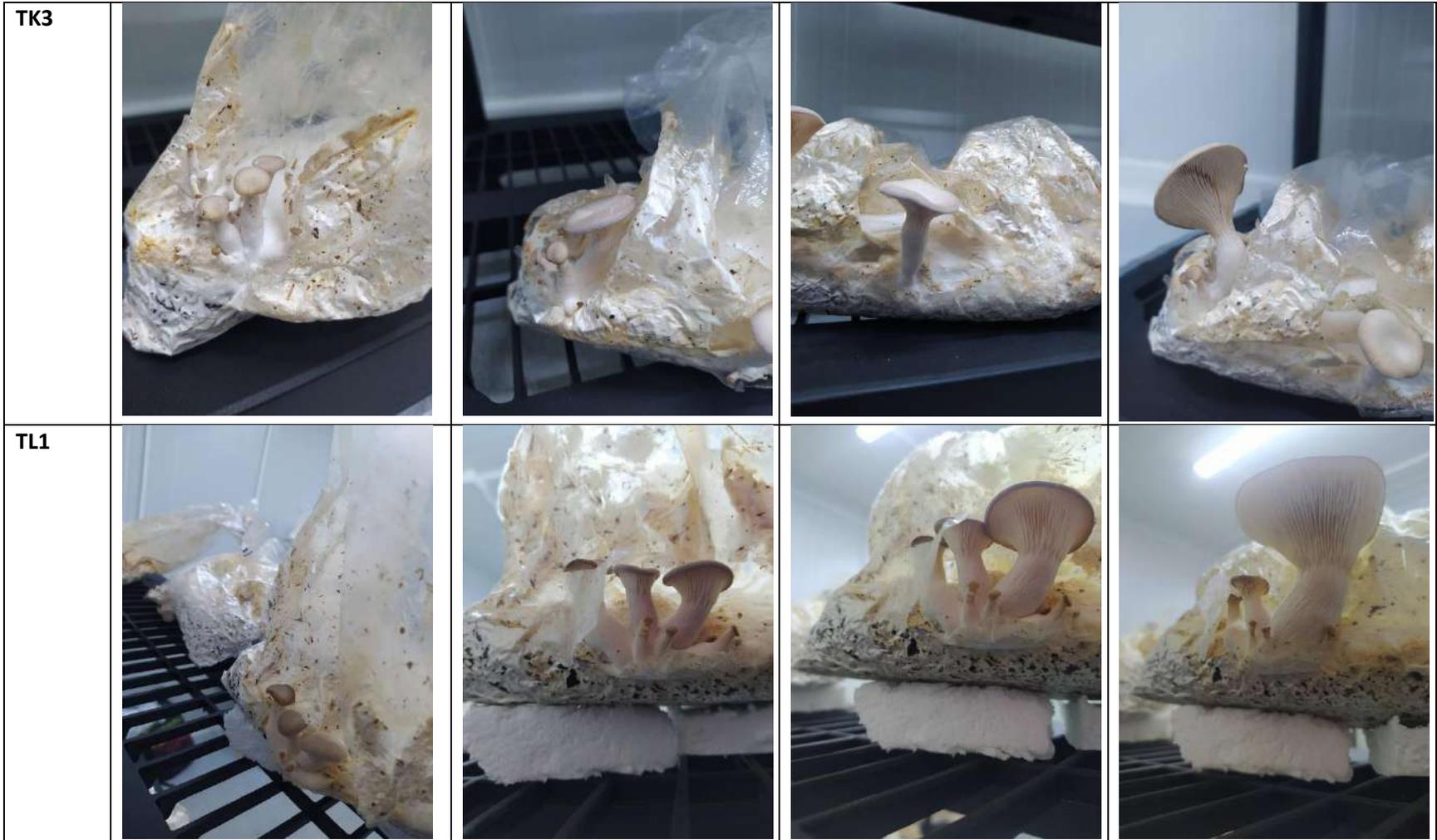
Sustrato	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
TK					
TL					

<p>TM</p>					
<p>TN</p>			<p>NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO</p>	<p>NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO</p>	

TO			NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO	NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO	
TP			NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO	NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO	
TQ			NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO	NO HUBO REGISTRO FOTOGRAFICO	

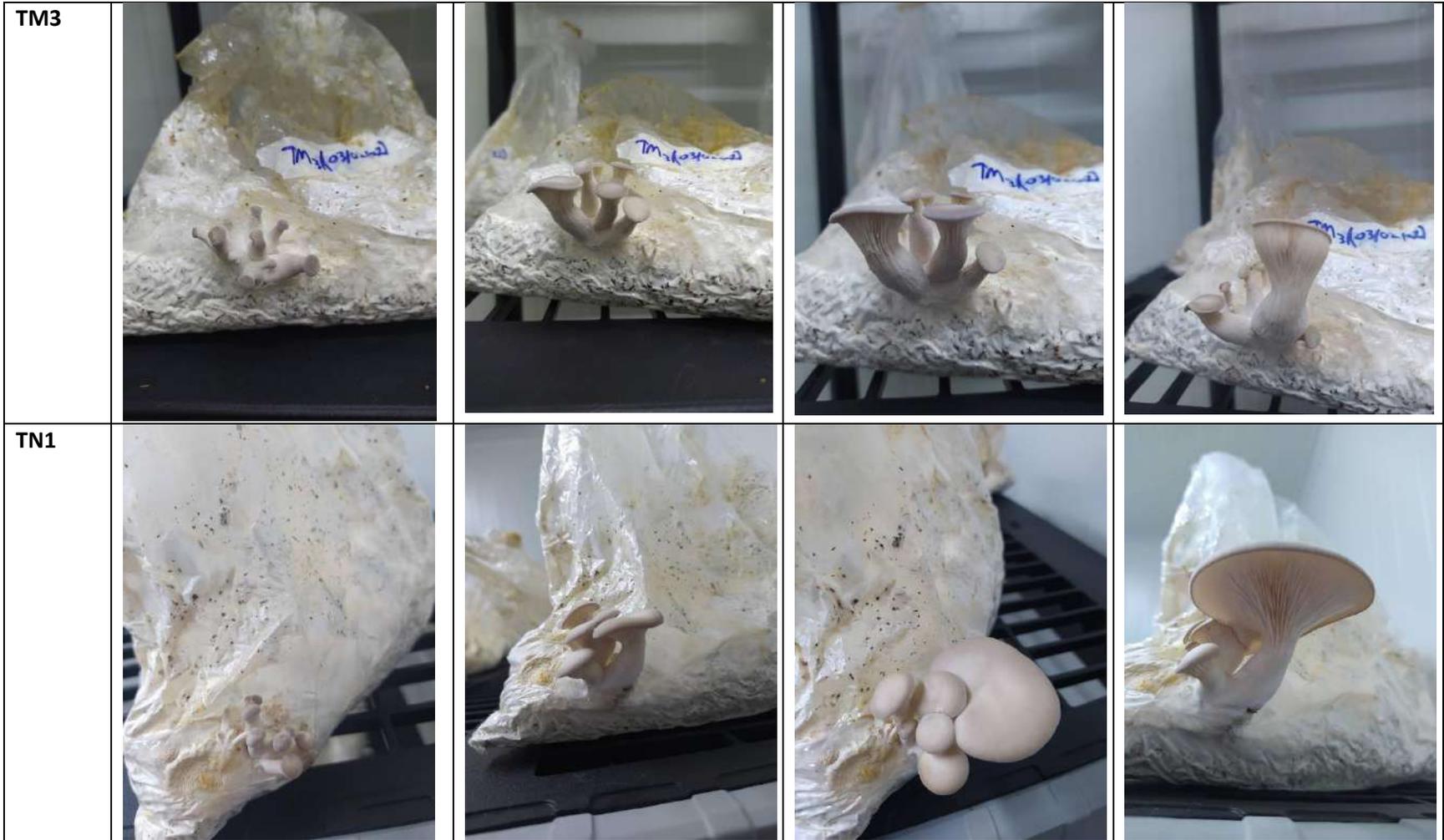
Anexo 8. Etapa III. Registro fotográfico del seguimiento de la fructificación de Pleurotus Ostreatus

Sustrato o	----> TIEMPO			
TK1				
TK2				



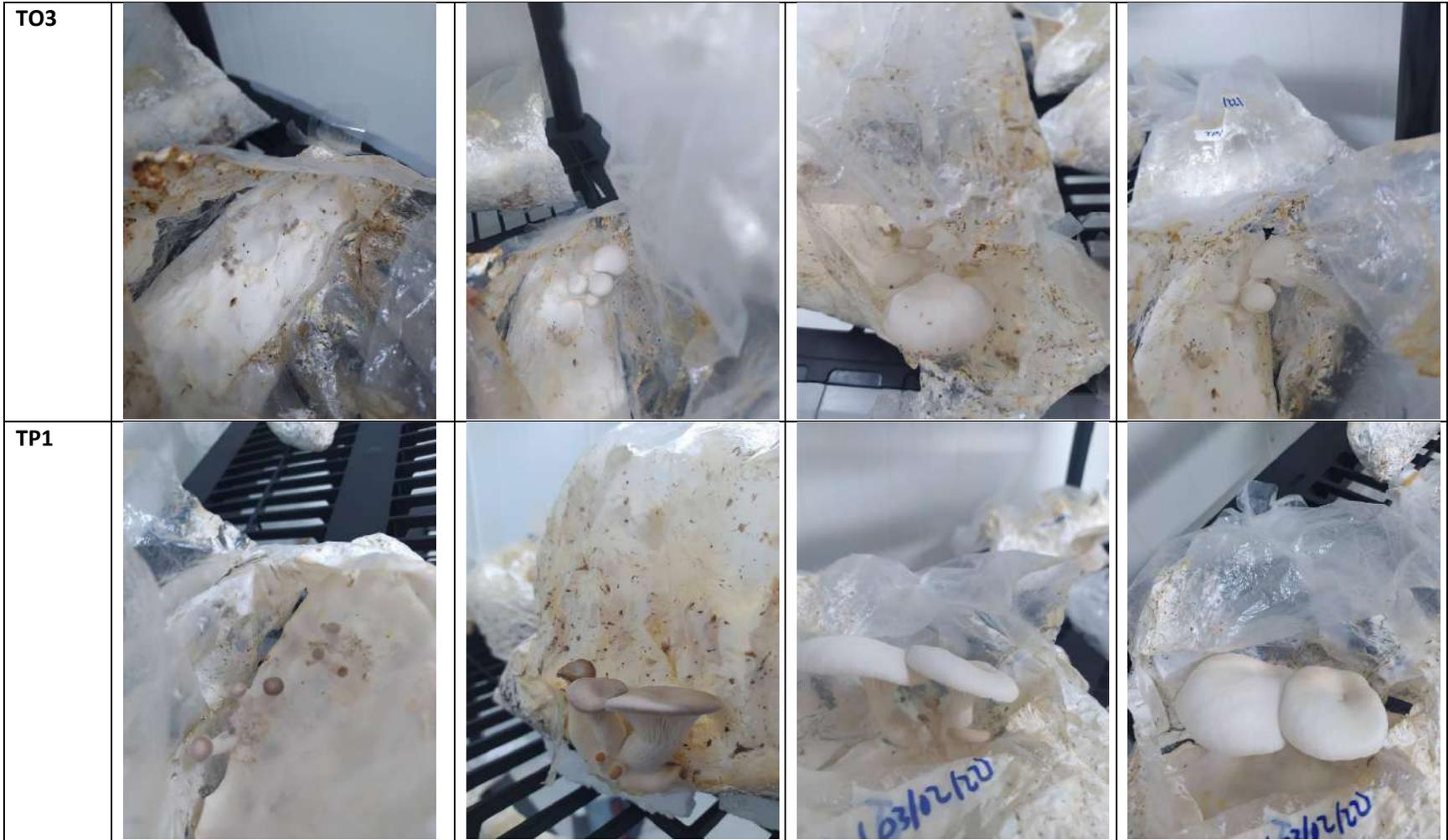


















Fuente: El autor