Introducción al Cultivo de Hongos Comestibles













Documento de Divulgación N° 56

Introducción al Cultivo de Hongos Comestibles

Ignacio Montenegro¹ y Cristian Stuardo²

¹ Ingeniero en Recursos Naturales, Universidad de Chile. Investigador Independiente.

² Técnico en Control de Medio Ambiente, Universidad Federico Santa María. Investigador Independiente.



Instituto Forestal

Sucre 2397 – Ñuñoa Santiago - CHILE F. 52 2 223667115 www.infor.cl

ISBN N° 978-956-318-197-5 (Edición Impresa)
ISBN N° 978-956-318-198-2 (Edición Digital)
Registro de Propiedad Intelectual N°2021-A-9305

Instituto Forestal - Fundación para la Innovación Agraria

Revisor: Santiago Barros

Diseño: Vicente Espinoza Barrios **Figura de portada:** Cristian Stuardo.

La presente publicación entrega parte de los resultados obtenidos en el marco del proyecto "Experiencia piloto para la propagación de Hongos Silvestres Comestibles en bosque nativo de la comuna de Panguipulli, región de Los Ríos" PYT-2018-0723 apoyado por la Fundación para la Innovación Agraria y ejecutado por INFOR en colaboración con INDAP. Valdivia – Chile, 2021

Se autoriza la reproducción parcial de esta publicación siempre y cuando se efectúe la cita correspondiente:

Montenegro, I. y Stuardo, C. 2021. Introducción al Cultivo de Hongos. Instituto Forestal, Chile. Documento de Divulgación N° 56. 57 p.

Contenidos

El Reino Fungi		Los	Hongos
7	Introducción	Com	nestibles
10	El pasado es Fungi:	26	Introducción
	los hongos en los orígenes	28	El cultivo de hongos
12	El presente es Fungi: Qué sabemos de los	30	Micelio: ¿Semilla del hongo?
	hongos	32	El sustrato
14	Recolección sustentable	33	Etapas del cultivo de hongos
16	Descripción y clasificación	34	Etapa I: Aislamiento
18	Macrohongos	43	Etapa II: Propagación
		49	Etapa III: Crecimiento
		55	Glosario
		57	Bibliografía



Introducción

Los hongos son un grupo de organismos fundamentales para la vida en la tierra, descomponen la materia orgánica facilitando y acelerando el ciclaje de nutrientes, en otras palabras, permiten la vida después de la muerte. Algunos generan diferentes tipos de asociaciones, a través de sorprendentes y contrastantes relaciones con otros organismos vivos como las plantas y los animales: desde una benéfica simbiosis entre las raíces de un árbol y un hongo, a preocupantes plagas o enfermedades que afectan otros seres vivos. La humanidad ha aprendido a utilizarlos desde los tiempos antiguos. El pan, el vino, la cerveza y los antibióticos, son solo algunos ejemplos de cómo los hongos participan en nuestra vida cotidiana.

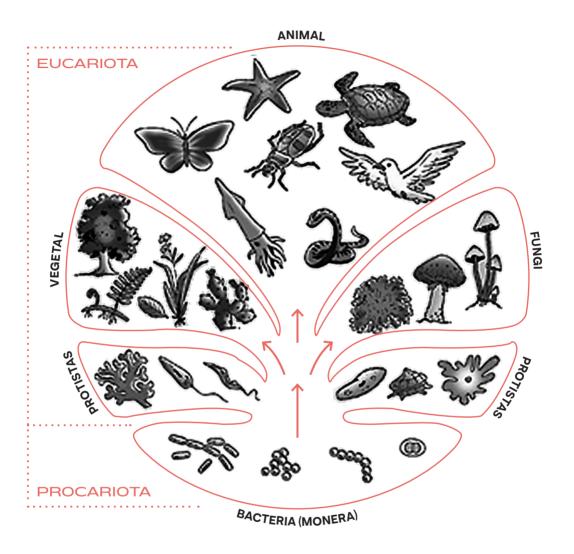
Hace más de 500 millones de años aparecen los primeros hongos en la Tierra, y desde su aparición hasta la actualidad, éstos han logrado adaptarse a casi todos los ambientes del planeta. A pesar de su amplia presencia éstos han pasado desapercibidos por los humanos, ya que en su mayoría son organismos crípticos. Los hongos habitan los suelos, lagos, mares y desiertos; los podemos encontrar en el aire, en rocas, sobre y dentro de árboles, sobre plantas y animales (vivos o muertos), sobre otros hongos e incluso en la basura, alimentándose de plásticos.

Por mucho tiempo los hongos fueron considerados un tipo de plantas "sin flores", agrupados junto a las algas, musgos y helechos, sin embargo, las estructuras y funciones del hongo son totalmente distintas a las de las plantas y hoy conforman un reino único y diferente, el Reino Fungi.

En los cinco reinos de la naturaleza podemos encontrar algunos seres vivos que pueden producir su propio alimento, llamados "autótrofos", como las plantas, que al poseer clorofila en sus hojas (lo que les da el color verde) pueden generar la fotosíntesis a partir de la energía del sol y producir azúcares para alimentarse. Los hongos y los animales en cambio son "heterótrofos", es decir que obtienen su alimento de la materia orgánica.

Un ejemplo ampliamente conocido de un hongo es el de las levaduras, éstas son hongos unicelulares que crecen y se multiplican rápidamente gracias al consumo de azúcar. Por ejemplo, para la elaboración de la chicha o el vino, la presencia de levaduras permite que éstas se alimenten del azúcar que hay en el jugo de manzana o de uva, multiplicándose y liberando alcohol. Mientras que, para hacer pan, las levaduras se alimentan de los nutrientes que hay en la harina liberando el dióxido de carbono (CO₂) lo que permite leudar la masa. Esta liberación de alcohol en el caso de la chicha y el vino, como del dióxido de carbono en el pan, es propia de la respiración de las levaduras, que al igual que nosotros exhalan CO₂ cada vez que respiran.

En el presente capítulo se hará una breve introducción al mundo fungi, para en el siguiente introducirse en su cultivo. Se revisarán los orígenes de los hongos en la Tierra, lo que se ha estudiado sobre los hongos en la actualidad, los usos tradicionales y las aplicaciones modernas de estos organismos, tomando como ejemplo algunas iniciativas desarrolladas en Chile.



Modificado de: da Silva et al, 2015.

Fig. 1. Los cinco reinos de la naturaleza

El pasado es Fungi: los hongos en los orígenes

Los hongos han sido fundamentales para la evolución de la vida tal como hoy existe, no solo cumpliendo funciones como descomponedores y controladores, sino también asociándose en simbiosis mutualista con diferentes especies. En un comienzo los hongos se asociaron con algas, cuando solo había vida en el mar, y gracias a este tipo de asociación fue posible la colonización de las primeras plantas sobre la corteza terrestre ¡Vida en la tierra!

Actualmente los hongos suelen ser vistos solo como una amenaza para las personas, por ser causantes de enfermedades o intoxicaciones, pero en realidad siempre hemos convivido naturalmente con ellos. De hecho, hay algunos hongos que habitan sobre nuestra piel conviviendo con múltiples otros microorganismos. Además ¿Sabías que constantemente estamos respirando esporas de hongos? Imaginen que hay hongos que liberan 30.000 esporas por segundo, esto es ¡billones de esporas al día! Incluso se ha calculado que en un año los hongos liberan ¡50 millones de toneladas de esporas a la atmósfera! Estamos rodeados por lo hongos y estos son parte fundamental de todos los procesos de la vida.

Dentro de toda la diversidad de hongos que viven en la Tierra hay un grupo que produce callampas o setas sobre el suelo, siendo varios comestibles. En el mundo hay una larga tradición de pueblos que recolectan, provenientes de Japón, China, India, y también de culturas americanas como en México en que consumen ¡más de 275 especies de hongos! Estas culturas no solo han utilizado los hongos como fuente de alimento, sino que varias además han desarrollado un culto hacia éstos por sus poderes medicinales y espirituales. En Wallmapu, territorio actualmente ocupado por Chile y Argentina, los hongos han sido principalmente recolectados por el pueblo mapuche, pero también por los pueblos selknam, kaweshkar y yámanas.



Ruth Caripan, recolectora de Traitraiko (Panguipulli, región de Los Ríos). Foto: Vivianne Claramunt

El presente es Fungi: qué sabemos de los hongos

¿Cómo saber qué hongos se pueden comer y cuáles no? Pues, la respuesta está en nuestros kuifikecheyem (abuelas y abuelos), ellos son quienes traen consigo ese conocimiento ancestral, que ha sido traspasado generaciones por generaciones. Pascual Coña, mapuche del lago Budi, relató al misionero capuchino Wilhelm de Moesbach la vida y costumbres del pueblo mapuche a principios del siglo XX. En esos relatos encontramos la única referencia hasta el momento de una palabra en mapuzungun para referirse a los hongos: Mapu-Kufüll, traducido como "mariscos terrestres".

De un modo distinto, parte de la ciencia también se ha interesado en estos organismos a través de la micología (*mico* = hongo, *logia* = estudio). En Valdivia, el micólogo Eduardo Valenzuela pasó toda su vida estudiando estos organismos, no solo desde los libros y el laboratorio sino también en el bosque y basado en el conocimiento popular. En uno de sus estudios afirma que en las regiones de Los Ríos y de Los Lagos existirían alrededor de 53 especies de hongos comestibles, en su mayoría nativos, otros exóticos (por ejemplo, los que crecen asociados a las plantaciones de pino). El 2018 se registraron 46 tipos de hongos con diversos usos, en una investigación del Instituto Forestal sede Los Ríos junto a recolectores y recolectoras mapuche de la comuna

de Panguipulli. En su mayoría son hongos comestibles, como el loyo, changles, gargal y diweñe. Otros tienen usos medicinales, como el peo del diablo. Hay también algunos que se utilizan para teñir, como la barba de hualle. Esta última en realidad es un liquen, que corresponden a un grupo de organismos que se componen de la asociación entre un hongo y un alga o cianobacteria. Por último, existen otros que no son propiamente hongos (del Reino Fungi), pero que se les parecen mucho, y que no tenían un uso específico sino historias asociadas, como la caca de duende (es un organismo del grupo Myxomycota). Y esto es solo una parte, debido a que lamentablemente hay muchas especies que se han olvidado, y otras que probablemente se han extinguido por la corta y quema del bosque.

Actualmente existen varias guías de campo de gran utilidad que ayudan a la identificación de estas especies y que son material complementario de este documento. Sin embargo, y como mencionamos en un comienzo, si queremos aprender debemos partir por conversar con las y los antiguos de cada territorio ¡Ahí está la sabiduría!

Recolección sustentable





Loyo (*Butyriboletus loyo*). En peligro de extinción.





Changles (*Ramaria spp.*). Fotos: Vivianne Claramunt

Gargal (Grifola gargal).

Diweñe (Cyttaria espinosae).

Actualmente existe mucha preocupación por parte de los recolectores por realizar una recolección sustentable, puesto que los hongos han perdido gran parte de su hábitat por el impacto negativo que las actividades humanas provocan sobre la naturaleza, entre otras causas: la quema y tala de bosque; el uso de pesticidas en la agricultura y el reemplazo del bosque nativo por superficie urbana como los proyectos inmobiliarios. Además, se ha planteado que la sobreextracción de los hongos también puede afectar a su regeneración, sobre todo para las especies que son comercializadas y en donde recolectores compiten para sacar más que el otro. Es por esta razón que aquí resumimos las recomendaciones que hemos considerado más importantes y pertinentes según la práctica ancestral de la recolección junto a la perspectiva científica.



PEDIR PERMISO ANTES DE RECOLECTAR

Es una muestra de respeto y de agradecimiento por este alimento que nos brinda la tierra. Muchos también dejan una ofrenda a cambio.

RECOLECTAR SOLO ALGUNOS

Para que los hongos que dejamos puedan liberar sus esporas y así reproducirse en próximas temporadas. Además, los humanos no somos los únicos que comemos hongos ¡Hay muchos otros seres vivos que los disfrutan y con quienes debemos compartir!





USAR UN CANASTO

Para que los hongos puedan ir liberando sus esporas por el bosque mientras caminamos, y para que no se echen a perder (en bolsas plásticas transpiran y se pudren más rápido).

CUIDAR Y RESPETAR EL HÁBITAT DEL HONGO

No fumar dentro del bosque o ambientes naturales ya que se pueden provocar incendios, no botar basura, recoger basura si encuentras en el camino para dejar el lugar mejor de lo que lo encontraste, no romper ramas ni plantas, caminar con atención teniendo cuidado de dónde se pisa para no dañar otros seres u hongos en crecimiento.



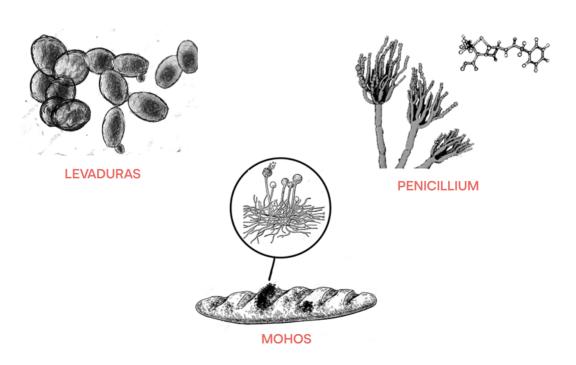
Descripción y clasificación

Los hongos se pueden clasificar en dos grandes grupos según su tamaño:

MICROHONGOS

(hongos inferiores)

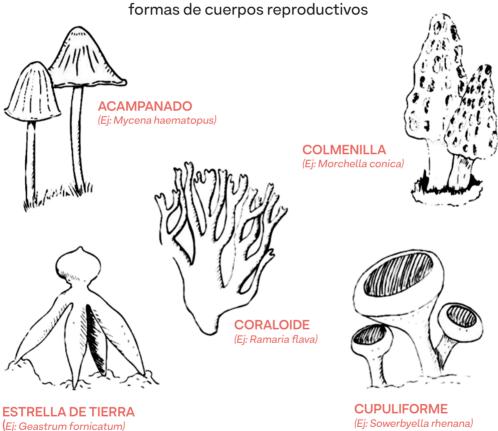
Son tan pequeños que no son visibles a simple vista y es necesaria la ayuda de un microscopio para verlos. Algunos se pueden ver como simples puntos y otros, como filamentos.



MACROHONGOS

(hongos superiores)

Son fácilmente distinguibles, suelen presentar estructuras más complejas. A continuación, algunas



En esta oportunidad nos centraremos principalmente en el estudio del segundo grupo, los macrohongos, ya que la mayoría de estos organismos corresponden a los hongos silvestres -tóxicos y comestibles- y a los hongos que podemos cultivar.

Macrohongos

Los macrohongos se clasifican por su forma de vida (o forma de alimentación):



© Cristian Stuardo

C Saprobiontes o descomponedores

Descomponen la materia orgánica que constituye un proceso ecosistémico fundamental ¡Por esto se dice que los hongos son los grandes recicladores! Porque junto a otros organismos devuelven los nutrientes a su ciclo. Ej. el gargal es un hongo que descompone la madera de árboles viejos de pellin, ulmo, tineo, entre otros.



© Cristian Stuardo

(h) Parásitos

Viven a costa de otros seres vivos como plantas, animales y hongos, causándoles diferentes grados de daño al hospedero. Ej. el diweñe es un hongo que vive sobre las ramas de hualle sin matar al árbol, y han coevulucionado hace miles de años.



© Cristian Stuardo

Simbiontes mutualistas

Seasociana otro organismo vivo para obtener alimento, estableciendo una relación de beneficio mutuo, como los hongos micorrícicos (hongos que se conectan con las raíces de una planta) o los líquenes. Ej. el loyo es un hongo que se asocia a las raíces de hualles, coihues y otros *Nothofagus*.

Cuando vemos una callampa o un changle o un diweñe, lo que estamos observado es el cuerpo reproductivo de algunas especies de hongos (también llamado seta, carpóforo o cuerpo fructífero), en esta estructura es donde producen esporas. Entonces si lo comparamos con una planta, así como un manzano produce manzanas con semillas, algunos hongos producen cuerpos reproductivos con esporas.

La espora da inicio a la vida del hongo, es microscópica y en las plantas su equivalente sería la semilla. Para hacerse una idea, si ordenáramos 300 esporas en una línea esta mediría solo 1 milímetro.



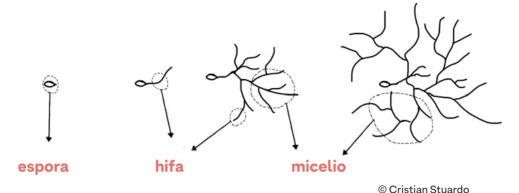
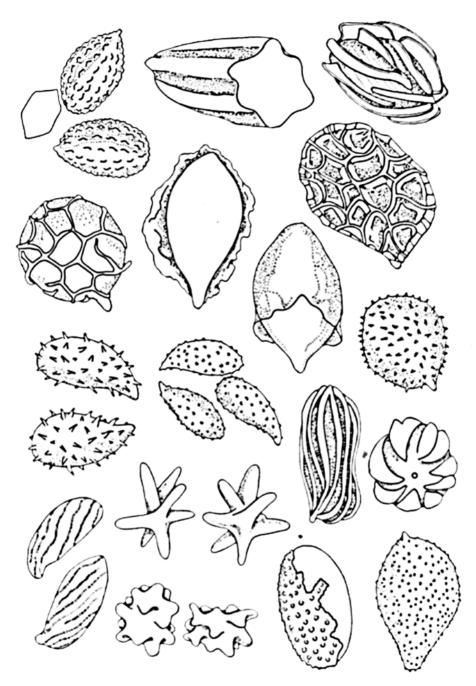


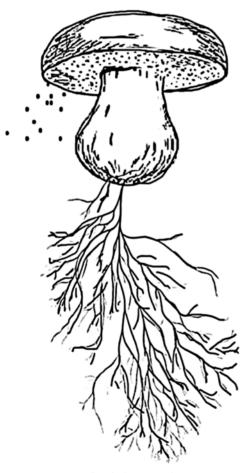
Fig. 6.Crecimiento de hifas desde una espora

Cuando la espora germina, es decir, se desarrolla, crece de ella un filamento que tiene el aspecto de un tubo delgado, como un hilo de pescar transparente y brilloso, que se denomina hifa. El conjunto de hifas se entrelaza para formar un tejido al cual se le llama micelio. Finalmente, el micelio es en sí el cuerpo del hongo. Este solo se puede ver cuando está muy desarrollado y toma el aspecto de una telaraña generalmente blanca que crece bajo las setas o callampas, en el suelo, bajo la corteza de troncos, entre la hojarasca del suelo, entre otros múltiples sustratos.



Elaboración propia en base a: Wrigth & Albertó, 2002

Fig. 7. Diversidad de formas de esporas vistas al microscopio



© Cristian Stuardo

Entonces, esta gran red llamada micelio, es a lo que llamamos el "hongo verdadero". Al igual que una raíz, el micelio puede expandirse por todos lados en búsqueda de alimento, creciendo durante todo el año.

Los carpóforos se desarrollan solo en algunas épocas del año, la mayoría en otoño o primavera, bajo determinadas condiciones ambientales como el clima, la vegetación y el tipo de suelo.

Fig. 8. Carpóforo y micelio

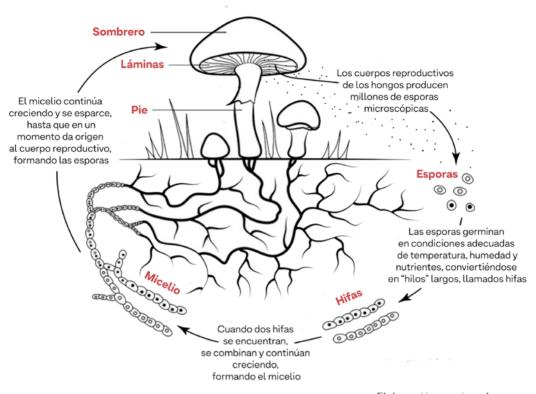
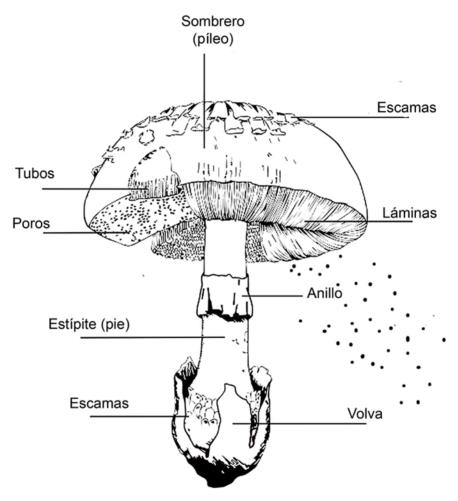


Fig. 9. Las callampas producen las esporas que al caer sobre el lugar o sustrato adecuado, germinan y dan origen a un nuevo micelio

Elaboración propia en base a: Koumoundouros, 2012

La forma y estructura de las callampas resultan ser claves para la identificación de los hongos, distinguiendo los diversos grupos y especies, de esta manera en el bosque podemos reconocer variadas formas, colores y tamaños. En una callampa común como los champiñones podemos reconocer en la parte superior un sombrero, y bajo este láminas o laminillas donde se almacenan las esporas. En otro tipo de callampas como el loyo, encontramos tubos donde se almacenan las esporas. En cambio, hay muchas otras especies que no tienen forma de callampa, por ejemplo: los changles, las morchelas, el gargal, o el diweñe.



Modificado de: Pacioni, 1982.

Fig. 10. Estructura de un hongo provisto de pie y sombrero.

Los hongos nestibles Introducción a su cultivo

Introducción

Dentro de la gran diversidad de hongos existentes en el planeta, solo una pequeña porción produce carpóforos comestibles que se pueden encontrar de manera silvestre en la naturaleza, sirviendo de autosustento para la alimentación de familias, así como fuente de ingreso complementario para la economía de quienes los recolectan.

Al igual que la agricultura y la ganadería, el humano también desarrolló la fungicultura, que es el cultivo de los hongos en medios controlados. En países como China hay fuentes que afirman que el cultivo de hongos tiene orígenes en el siglo II, una tradición milenaria.

En la actualidad los hongos comestibles despiertan gran interés por ser un alimento sano, con bajas calorías, bajo colesterol y por ser una fuente importante de proteína no animal. Además, se los considera alimentos funcionales, es decir, alimentos que contienen compuestos bioactivos. Presentan propiedades antioxidantes, antibacteriales, antivirales, antialergénicas y antitumorales, además disminuyen el colesterol, los lípidos y la glicemia en la sangre.

Tomando en consideración estos antecedentes, en este capítulo aprenderemos sobre el cultivo de hongos y sus etapas. Específicamente aprenderemos a cultivar hongo ostra o gírgola (*Pleurotus ostreatus*), el cual también podemos encontrar en estado silvestre creciendo sobre troncos caídos de hualle.







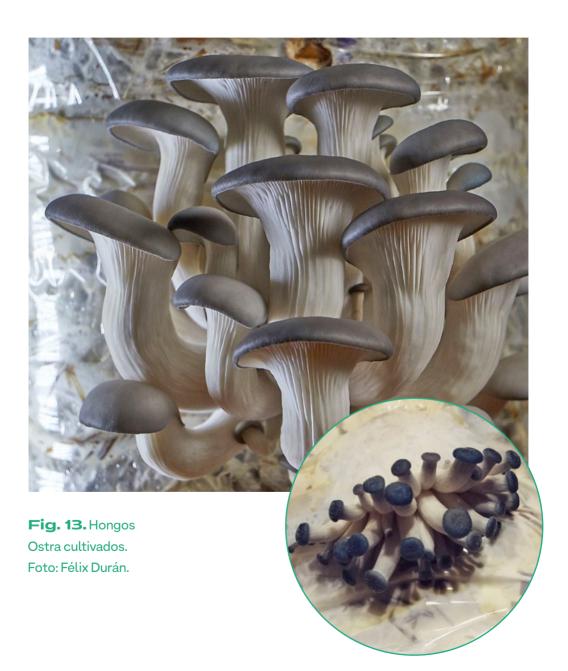
Fig. 12. Algunos hongos cultivados en el mercado: melena de león, shiitake y champiñones. Foto: Eric Hunt.

El cultivo de hongos

Al igual que en el cultivo en una huerta o una granja de animales, debe considerarse que en el cultivo de hongos se está trabajando con seres vivos, para esto hay que cuidarlos, entregándoles agua, alimento y condiciones para la vida y el crecimiento, como temperatura, humedad, aire y luz.

En el crecimiento del hongo, tal como vimos en el capítulo 1, y a diferencia de las plantas, sus esporas germinan en algún sustrato como el suelo o la madera. En el crecimiento de cada espora se desarrollan hifas que al interconectarse y enredarse forman el micelio, éste en algunas especies de macrohongos genera un cuerpo fructífero que emerge a la superficie con esporas en su interior. Esto es lo que se conoce como reproducción sexual del hongo.

Hay otra reproducción de los hongos que es asexual, se hace extrayendo un tejido compuesto por micelio del hongo y disponiéndolo en un medio de cultivos para su crecimiento. Un ejemplo de esto es la elaboración de "semillas" para el cultivo de hongos, que explicaremos en detalle a continuación.



Micelio: ¿Semilla del hongo?

Siguiendo con la metáfora de las plantas, podemos reconocer que la semilla es el elemento fundamental para cultivar y para el resguardo de las especies, la que tradicionalmente se obtiene a través del trafkintu. Pero si queremos cultivar hongos comestibles ¿Cómo se obtiene su "semilla"? ¿Qué es en realidad?

Se le ha llamado "semilla" de hongo debido a que en el proceso del cultivo de hongo existe una etapa donde éste se hace crecer sobre semillas de trigo o avena (reproducción asexual), de las cuales el hongo se alimentará quedando éstas totalmente recubiertas por micelio, asimilando así la apariencia de una semilla. Pero en realidad ya aprendimos que los hongos son muy distintos a las plantas, no producen semillas, sino esporas, con las que también se puede cultivar (reproducción sexual). Tanto una "semilla" de hongo creciendo en un grano, como un conjunto de esporas para cultivar, se conocen como inóculos, puesto que se refiere a que uno introduce (inocula) un organismo en un sustrato para que crezca.

La obtención de la semilla (o del inóculo) debe realizarse en espacios de trabajo con condiciones específicas, generalmente laboratorios, y realizar un proceso minucioso, que conoceremos en detalle a continuación.



Fig. 14. Hongo crecido sobre semillas de avena. Foto: Cristian Stuardo.

El sustrato

La elección y preparación del sustrato es fundamental para tener una buena producción de hongos comestibles. Para el crecimiento del hongo Ostra, casi cualquier subproducto vegetal es un potencial sustrato. Para ello, es indispensable conocer la disponibilidad y abundancia del mismo en la región donde se piensa cultivar el hongo, así como el precio de adquisición y que sea fácil de transportar.

En Chile, el sustrato más utilizado para su cultivo consiste en rastrojo de trigo y avena. Este sustrato lignocelulósico (contiene lignina y celulosa), además de ser accesible y barato, posee las características deseables para ser utilizado en el cultivo.

Fig. 15. Fardos y silos de paja

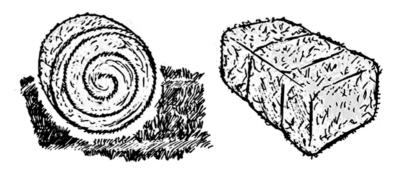
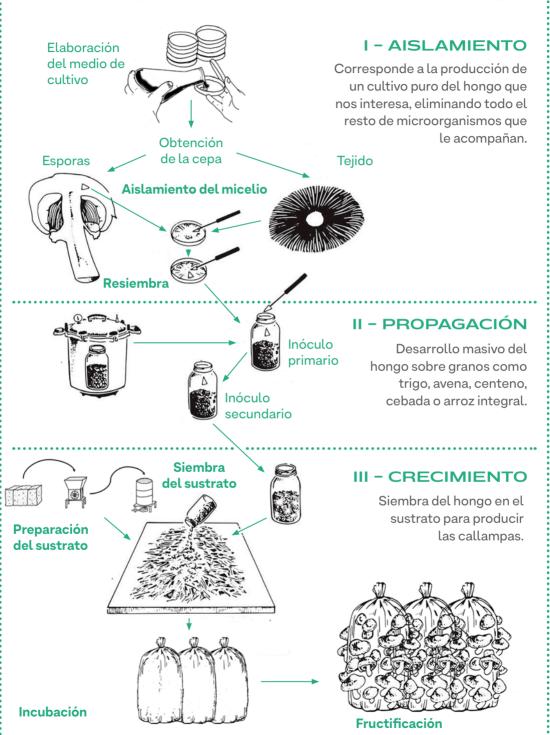
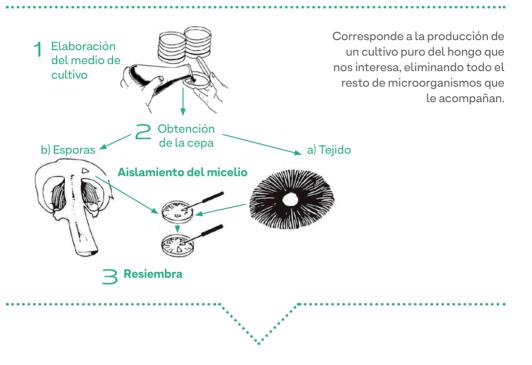


Ilustración de Cristian Stuardo

ETAPAS DEL CULTIVO DE HONGOS



Etapa I: Aislamiento



DF

1 ELABORACIÓN . MEDIOS DE CULTIVO



Ilustración de Cristian Stuardo.

Fig. 16. Placas de Petri

Para el desarrollo del micelio de los hongos en el laboratorio, se emplean medios de cultivo preparados en placas de Petri, que le proporcionan al hongo los nutrientes necesarios para su desarrollo. Los medios de cultivo generalmente se venden preparados, como el caso del agar con extracto de malta y el agar con papa y dextrosa, sin embargo, es posible prepararlos utilizando insumos que se venden en el comercio habitual.

Materiales

- · Pesa digital
- · Agua destilada o purificada
- Matraz de Erlenmeyer
- Mecheros
- Papel aluminio
- Olla a presión (Autoclave)
- · Placas de Petri
- Guantes termorresistentes
- Etanol 70 %
- Medio de cultivo comercial Agar Papa Dextrosa (PDA) (15 g de agar, 20 g de dextrosa y 4 g de almidón de papa)









Modificado de: Fricker, 2017

Fig. 17. Elaboración del medio de cultivo en laboratorio

Instrucciones

a) Método en laboratorio

- 1 En un matraz de 500 mL pesar 9,5 g de PDA. [1]
- 2 Agregar 250 mL de agua destilada. [2]
- 3 Calentar y agitar, hasta un minuto después de que aparezcan las primeras burbujas. [3]
- 4 Agregar 15 mL de solución PDA en cada placa, tapar y dejar enfriar. [4]
- 5 Una vez frías y solidificadas, almacenar a 4° C.

b) Método Artesanal

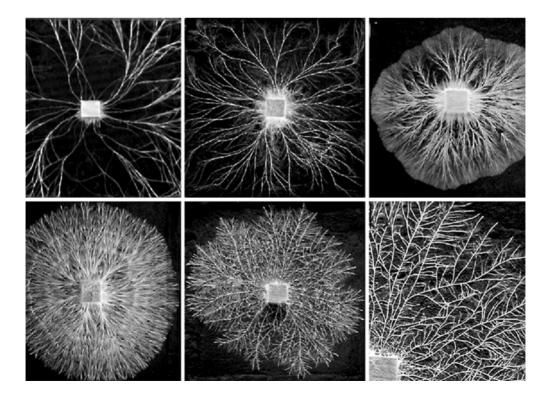
- 1 Hervir 200 g de papas en rebanadas y sin pelar en 1 L de agua destilada por 30 min.
- 2 Filtrar utilizando una gasa y conservando el líquido resultante que es la infusión de papa (también se puede usar una forma comercial de almidón de papa).
- 3 Mezclar con Dextrosa, agar, agua destilada y revolver hasta disolver.
- 4 Autoclavar por 15 min a 121 °C.
- 5 Colocar 20-25 ml en discos Petri de 15 × 100 mm estériles o cualquier recipiente que permita el crecimiento miceliar bajo ambiente aséptico.
- 6 Obtener un pH final del medio de $5,6 \pm 0,2$.

OBTENCIÓN DE CEPAS

Una cepa o colonia corresponde al micelio puro de un hongo que se desarrolla con forma algodonosa sobre un medio de cultivo nutritivo. Su aislamiento se puede realizar a partir de un fragmento del hongo (tejido) o por medio de esporas.

Fig. 18. Formas de crecimiento del micelio en medio de cultivo. Foto: Cristian Stuardo.

Para evitar la contaminación por bacterias y hongos, a los medios de cultivo esterilizados para ambos tipos de aislamiento, antes de su solidificación, se les puede aplicar 100 mg/L de gentamicina, estreptomicina o penicilina.



Materiales

- Bisturí
- Pinzas de disección
- Agujas de disección (jeringas)
- Pipetas
- Vasos precipitado (50 mL)
- Mecheros
- Placas de Petri con medio de cultivo
- Alcohol 70%
- Parafilm
- Cloro

Instrucciones

a) Aislamiento por medio de tejido

Este tipo de aislamiento es una de las formas más simples de obtener una cepa y el resultado es una copia idéntica del hongo del cual se ha obtenido el tejido (es similar a lo que hacemos con las plantas cuando les sacamos patillas).

- 1 Limpiar el ambiente de trabajo desinfectando todas las superficies con alcohol 70 % además de todos los materiales que se vayan a utilizar.
- 2 Se coloca el hongo sobre el mesón de trabajo, el cual deberá estar en buen estado y libre de tierra y/o insectos (si se trata de un hongo silvestre lavar el hongo con cloro al 5 %).
- 3 Cortar hongo longitudinal y superficialmente con una navaja [1], evitando que a través de este procedimiento se produzca mucho contacto

con el tejido interno, o mejor quebrar el hongo en mitades, sin tocar la superficie del corte.

- 4 Con un bisturí estéril y frio cortar un fragmento de tejido del hongo ubicado en la zona interna expuesta y que no tuviera contacto con la navaja [2].
- 5 Con la ayuda de unas pinzas estériles y frías, tomar el fragmento del hongo y colocarlo en la placa de Petri sobre el medio de cultivo [3], taparlas inmediatamente y sellar las placas con Parafilm.
- 6 Marcar placas con la fecha, medio utilizado y cepa del hongo aislado.
- 7 Las placas con los aislamientos se incuban entre 25-28 °C, de preferencia en la obscuridad o penumbra.
- 8 2 a 3 días después, se observará crecimiento en forma algodonosa sobre la superficie del medio. El color será blanco o blanco amarillento, lo que indicará que el aislamiento se realizó correctamente.
- 9 Una vez que han crecido se deben seleccionar los cultivos con mejor apariencia y transferirse a nuevas placas con medio de cultivo.





Ilustraciones de Cristian Stuardo.

Fig. 19. Aislamiento por medio de tejido

b) Aislamiento por medio de esporas

- 1 Para obtener una muestra de esporas en primer lugar se debe conseguir el hongo con el cual se desea trabajar [1], si se recolecta silvestre este debe estar en buen estado y turgente, sin muchos ataques de insectos.
- 2 Una vez que tenga el hongo en el laboratorio, separar el pie del sombrero [2], luego colocar el sombrero del hongo con las láminas hacia abajo sobre un papel estéril (papel aluminio previamente desinfectado con alcohol). Dejarlo por 12 h tapado con un recipiente estéril [3]. Se puede dejar en el interior un recipiente con agua estéril para favorecer la caída de esporas. Este procedimiento se debe realizar en un ambiente aséptico.
- 3 Transcurridas las 12 h levantar el sombrero [4], doblar el papel con la impresión de esporas dejando el sello protegido al interior de los dobleces, para ser puesto en un recipiente estéril y sellado.
- 4 Una vez obtenida la muestra esporal sobre el papel, con una navaja estéril se raspa un pequeño fragmento de aproximadamente 1x1 cm, sobre un matraz con 100 mL de agua destilada estéril y fría, agitándose para que las esporas se disuelvan en el líquido [5].



Ilustraciones de Cristian Stuardo.

Fig. 20. Preparación sello de esporas

- 5 Con ayuda de una jeringa extraer de la dilución 0,5 mL [6] y colocar en una placa de Petri con medio de cultivo [7].
- 6 Mover la caja ligeramente para distribuir homogéneamente el agua con las esporas en todo el medio.
- 7 Como alternativa, se puede pegar el sombrero cortado (ver paso 2) con un poco de vaselina en la tapa de la placa Petri, sin que toque la superficie del medio, permitiendo que las esporas caigan directamente sobre el medio de cultivo; después de un par de horas se cambia la tapa con el sombrero pegado por una tapa nueva estéril; este método, al omitir el uso del papel, reduce el riesgo de contaminación pero solamente funciona con callampas pequeñas o con fragmentos de sombreros de setas más grandes dado el poco espacio que hay entre la superficie del medio y la tapa de la placa.
- 8 Incubar cajas en las mismas condiciones mencionadas para el aislamiento por tejido. En 5 a 8 días, se observará el desarrollo del micelio algodonoso. Todo este proceso se debe realizar en condiciones de esterilidad absoluta.







Ilustraciones de Cristian Stuardo.

Fig. 21. Aislamiento por medio de esporas

RESIEMBRA

El micelio del hongo tiene una vida útil de 6 meses, luego de este tiempo envejece y deja de crecer y producir carpóforos, por lo que es necesario preservarlo adecuadamente. Para ello, cada 3 a 6 meses se recomienda transferir las cepas a nuevas placas de Petri con medio de cultivo nutritivo. La resiembra consiste en el método para el mantenimiento de las cepas, descrito a continuación:

- 1 Con una hoja de bisturí estéril, cortar un segmento de 1x1 cm del micelio del hongo.
- 2 Con una jeringa estéril tomar el fragmento del micelio del hongo y colocarlo sobre un nuevo medio de cultivo.
- 3 Incubar a 25-28 °C durante 10 a 15 días.
- 4 Una vez que el micelio cubre toda la superficie del agar, refrigerar las placas a 5 °C.

RECOMENDACIONES

Las técnicas de preparación de medios, aislamiento y mantenimiento de cepas requieren de una asepsia absoluta, por lo que se debe hacer limpieza continua de utensilios y áreas de trabajo con alcohol al 70 % y cloro al 10 %. Para el primero, mezcle 700 mL de alcohol etílico (alcohol comercial de 96 °) con 300 mL de agua destilada o purificada, y para el segundo, mezcle 100 mL de cloro de uso casero con 900 mL de agua.

Etapa II: Propagación



Desarrollo masivo del hongo sobre granos como trigo, avena, centeno, cebada o arroz integral.

1 PREPARACIÓN DEL GRANO PARA SEMILLA

La preparación de inóculo o semilla constituye la base para el cultivo de setas, y se refiere a la propagación o desarrollo masivo del hongo en granos como trigo, avena, centeno, cebada y arroz integral.

Materiales

- Granos
- Frascos de vidrio para conservas de 300 mL
- Mecheros
- Alcohol al 70 %
- · Agujas de jeringas estériles
- Bisturí
- · Olla de presión o autoclave
- Cinta adhesiva

Instrucciones

a) Hidratación

- 1 Limpiar, lavar e hidratar el grano dejándolo sumergido en agua de 8 a 12 h.
- 2 Una vez hidratado, enjuagar granos y dejar escurrir el exceso de agua con la ayuda de un colador, hasta que al momento de tomar una porción con la mano ésta no quede húmeda.
- 3 Aplicar 3,5 g de carbonato de calcio (cal) por cada Kg de semilla, para disminuir la acidez y para que los granos no se peguen.

b) Esterilización

- **4.** Colocar 250 g de grano en frascos de vidrio de 300 mL, selladas con tapas y llevar a esterilización en olla a presión o autoclave.
- 5. Vertir aproximadamente 5 cm de agua en la olla a presión. Introducir los frascos. Es recomendable utilizar una rejilla para evitar que los frascos estén en contacto directo con el fondo de la olla. Cerrar la olla y poner a fuego medio hasta conseguir la presión adecuada (15 psi = 1 atm = 1.000 g/cm²).

- 6. En cuanto empiece a salir el vapor por la válvula, bajar el fuego hasta conseguir mantener un escape de vapor constante, sin subidas ni bajadas. Una vez que se llegue a este punto, se deja el fuego prendido durante 45 minutos.
- 7. Transcurridos los 45 minutos, retirar la olla del fuego y deja enfriar a temperatura ambiente durante al menos 5 horas.
- 8. Destapar la olla y sacar los frascos, éstos deben enfriarse en una superficie desinfectada.

En caso de no tener acceso a una olla a presión, la esterilización se puede realizar en una olla normal con tapa. En este caso se debe hervir durante una hora y media.

¡Ojo! Es importante mantener el nivel de agua constante, agregando más si ésta disminuye.

Fig. 22. Equipos de esterilización



Olla a presión



Autoclave

Olla normal

Ilustraciones de Cristian Stuardo.

> SIEMBRA DE SEMILLA

a) Obtención de inóculo primario

Consiste en la propagación del micelio en semillas estériles, a partir de una cepa ya crecida (obtenida en la etapa anterior: Aislamiento)



Instrucciones

- 1 Desinfectar el bisturí calentándolo al rojo vivo y dejando enfriar. [1]
- 2 Con el mismo bisturí cortar el medio de cultivo en trozos de aproximadamente 1x1cm. [2]
- 3 Con una aguja estéril tomar uno de los trozos y colocar dentro del frasco esterilizado con semilla. [3]
- 4 Incubar por 15-20 días a 25-28 °C en oscuridad, hasta que el micelio cubra totalmente la semilla. El inóculo primario estará listo y podrá ser utilizado para elaborar el inóculo secundario.





Fig. 23. Obtención inóculo primario

b) Obtención de inóculo secundario

Es la propagación del micelio en semillas a partir del inóculo primario, es decir, es la multiplicación del micelio para disponer de una mayor cantidad para su siembra en el sustrato elegido para la producción de hongos.

Instrucciones

- 1 Vaciar 15 g (6%) del inóculo primario a nuevos frascos con grano estéril. [1]
- 2 Tapar y agitar los frascos para conseguir una mezcla. [2]
- 3 Incubar por 15-20 días a 25-28 °C en oscuridad, hasta que el micelio cubra totalmente la semilla.

El inóculo secundario es el que se usa para la siembra y fructificación de las setas. Si el inóculo no se emplea inmediatamente puede ser almacenado de preferencia en oscuridad y refrigeración a 5 °C hasta por tres meses, aunque lo recomendable es utilizarlo después de 1 semana de estar en refrigeración.





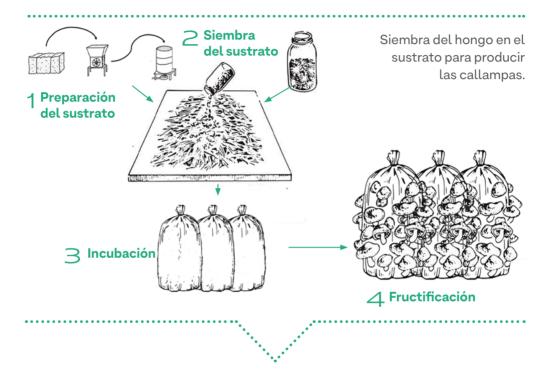
Fig. 24. Traspaso de inóculo primario a inóculo secundario

RECOMENDACIONES

Para evitar problemas de contaminación por bacterias u hongos en nuestra semilla, se debe controlar el contenido de humedad del grano escurriendo muy bien antes de prepararlo, tomar en cuenta que la temperatura y el tiempo de esterilización sean los indicados, y cuidar la asepsia y limpieza de los utensilios empleados en la inoculación.

Para la preparación del inóculo primario y secundario se pueden utilizar otros recipientes, como frascos de vidro con tapa de rosca o de plástico resistentes a la esterilización. El utilizar bolsas de polipropileno (PP) es más recomendable, dado que son económicas, resistentes al calor y la semilla se puede manipular mejor.

Etapa III: Crecimiento



PREPARACIÓN DE SUSTRATO EN BASE A PAJA DE TRIGO

Antes de sembrar el micelio, es necesario someter el sustrato a un tratamiento previo de pasteurización, que consiste en aplicarle calor para disminuir los microbios que lleva y, de esta manera, evitar que éstos compitan por espacio y nutrientes con el hongo que queremos cultivar. También hay que verificar que los sustratos que se vayan a utilizar en el cultivo no hayan sido previamente tratados con plaguicidas o fungicidas.

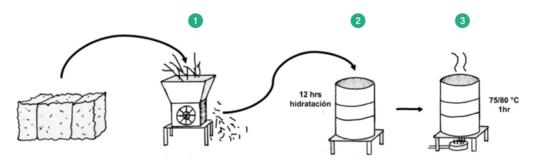
Materiales

- · Fardo de paja de trigo o avena
- Chipeadora (o en su defecto tijeras de podar)
- · Guantes de temperatura
- Tambor de metal de 150 L con tapa
- Anafre
- Horquilla
- Solución desinfectante

Instrucciones

- 1 Cortar la paja en segmentos de 5-10 cm, por medio de una chipeadora eléctrica u otro sistema que cumpla la misma función. Esto permitirá una mejor retención de humedad en el substrato, que el micelio del hongo invada el substrato con mayor facilidad y evitará que las bolsas se rompan en el momento de la siembra [1].
- 2 Vierta la paja molida en un recipiente como olla grande o tambor de metal.
- 3 Llene el tambor u olla con agua hasta cubrir la paja, a veces esta flota, por lo que puede ponerle una piedra o tabla de peso encima para que no suba y lograr sumergirla, dejar hidratando por 12 horas [2]. Se debe cambiar el agua con el cual se remoja la paja, por problemas de residuos

- de tierra y de elementos que se producen por la paja al remojarla.
- 4 Volver a sumergir la paja con agua y encender la cocinilla, el agua debe llegar a 75-80 °C y mantener esa temperatura durante 2 h* [3].
- 5 Apagar la cocinilla y dejar enfriar hasta que el sustrato alcance los 20-25 °C.
- * Es importante que la temperatura de pasteurización se mantenga estable, ya que si se eleva demasiado puede destruir la paja favoreciendo una mayor invasión de hongos contaminantes, de manera contraria, si se pasteuriza a temperaturas inferiores de 55° C no se lograr destruir a los organismos competidores, es decir: ni muy frío ni muy caliente, revisar la temperatura y asegurarse de mantenerla constante.



Ilustraciones de Cristian Stuardo.

Fig. 25. Preparación sustrato de paja

SIEMBRA DEL SUSTRATO

Materiales

- Semilla (inóculo) de hongos
- · Paja de trigo
- Bolsas de plástico transparente de 40 x 60 cm o de 50 x 75 cm
- Alcohol al 70 %
- · Cinta transparente o masking tape
- Cuchillo cartonero o tijeras

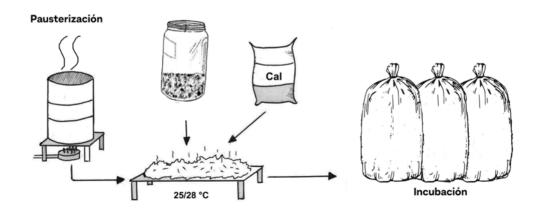
Instrucciones

- 1 Una vez que la paja ya se ha pasteurizado, escurrir y extender sobre el mesón. Dejar enfriar hasta 25-28 °C.
- 2 Agregar 1 a 2 % de cal sobre la paja y mezclar bien.
- 3 Integrar la paja y semilla* en las bolsas plásticas, intercalando manualmente capas de paja y semilla, intentado que la mezcla sea uniforme y evitando dejar áreas sin cubrir.
- * La dosis de semilla o inóculo varía según la cepa y el sustrato, donde las cantidades varían entre 3 a 5 % de semilla en base al peso húmedo del sustrato. Aproximadamente de 150-250 g de inóculo se requieren para sembrar 5 Kg (peso húmedo) de paja.

- **4.** Una vez completado el volumen de la bolsa, sellar y etiquetar, registrando: fecha, peso y variedad del hongo cultivado.
- 5 Las bolsas sembradas y selladas se colocan sobre los estantes de incubación a una temperatura de 25 a 28 °C.

RECOMENDACIONES

Para la siembra del hongo se requiere una área cerrada, limpia, provista de una mesa o superficie con cubierta de fácil lavado, desinfectada con una solución de alcohol comercial de 96 ° diluido en agua (70 % alcohol, 30 % agua). En esta mesa se deposita la paja previamente pasteurizada y escurrida. La siembra se inicia cuando el sustrato se enfría a la temperatura no mayor de 30 °C.



Ilustraciones de Cristian Stuardo.

Fig. 26. Siembra de micelio en sustrato

3. INCUBACIÓN

La etapa de incubación tiene una duración de 20 a 30 días en condiciones óptimas de crecimiento del hongo. La duración de esta etapa puede extenderse por bajas temperaturas, o si el tamaño y densidad del sustrato no son los óptimos.

Instrucciones

- 1 Montar las bolsas en los estantes de la sala de incubación y mantener sin luz a una temperatura de 25 a 28 °C, humedad de 85 95 % y con ventilación constante.
- 2 Dos o tres días después de la siembra, con ayuda de un cuchillo esterilizado realizar pequeños orificios (1-3 cm) en las bolsas, para permitir que salgan los gases generados.
- 3 Durante la primera semana mover las bolsas para permitir el drenaje del agua interna y para observar la colonización del hongo.
- 4 Fluctuar la iluminación, modificándola de total oscuridad a 8-12 h de luz por día.

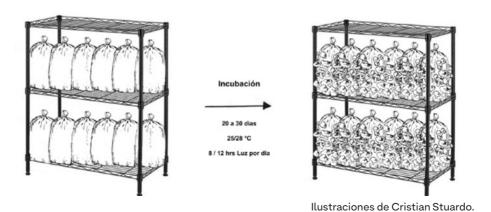


Fig. 27. Etapa de incubación y crecimiento

Glosario

Anillo: estructura que se encuentra en el pie del carpóforo de ciertas especies de hongos con sombrero.

Autoclave: equipo que se utiliza para esterilización bajo presión de vapor, como una olla a presión.

Autótrofo: organismos que son capaces de producir sus propios alimentos en base a la luz del sol, el carbono del aire (CO₂) y el agua (H₂O) (ej: la mayoría de las plantas).

Asepsia: es un término médico que define al conjunto de métodos aplicados para la conservación de la esterilidad. La presentación y uso correcto de ropa, instrumental, materiales y equipos estériles, sin contaminarlos en todo procedimiento quirúrgico se conoce como asepsia.

Cepa: cultivo puro, presencia de una sola especie.

Carpóforo: cuerpo reproductivo de los hongos. Sinónimos: cuerpo fructífero, callampa, seta, esporoma, esporocarpo.

Compuestos bioactivos: grupo de sustancias o compuestos que tienen ya sea un efecto adverso o benéfico en la salud humana.

Crípticos: organismos que pasan inadvertidos a la vista, en este caso los hongos por ser microscópicos.

Cultivo puro: se dice así a los cultivos que contienen una sola especie.

Ecología: es una ciencia que estudia la relación entre los organismos y de los organismos con su ambiente.

Espora: cuerpo microscópico que se forma con fines de dispersión del hongo y su supervivencia por largo tiempo en condiciones adversas, cumple funciones similares a una semilla.

Estípite: pie de la seta.

Estéril: todo aquel objeto o sustancia que está libre de microorganismos y que es incapaz de producir cualquier forma de vida.

Esterilidad: ausencia de crecimiento de cualquier microorganismo en una superficie, medio de cultivo o sustrato.

Esterilizar: proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos que puedan contaminar el cultivo.

Fúngico: refiere a los hongos.

Hábitat: lugar donde vive una especie.

Heterótrofo: organismos que obtienen su alimento de fuentes externas como los animales (ej: los herbívoros de plantas, los carnívoros de otros animales).

Hifa: célula en forma de filamento, ramificada o no, de tamaño microscópico, que reunido con otros filamentos forma el cuerpo vegetativo de los hongos: el micelio.

Hospedero: ser vivo con el cual el hongo establece una relación, que puede ser de tipo mutualista como las micorrizas (ej: el hospedero del loyo puede ser un coigüe) o parásita (ej: hospedero del diweñe son los hualles).

Hongo: organismo productor de esporas y que vive como parásito, saprófito o simbionte mutualista.

Incubación: periodo después de la inoculación durante el cual el micelio crece vegetativamente; para ello se le proporcionan las condiciones óptimas para el crecimiento.

Inoculación: proceso mediante el que a una planta o a un substrato se le añade un inóculo.

Inóculo: mezcla de propágulos, micelio o esporas de un hongo capaz de colonizar una raíz o un sustrato.

Inóculo miceliar: inóculo a base de micelio.

Inóculo esporal: inoculo a base de esporas.

Laboratorio: espacio que cuenta con los medios necesarios para realizar experimentos e investigaciones, generalmente en condiciones de asepsia y con condiciones ambientales controladas.

Lámina: parte de una callampa, situada en el inferior del sombrero donde se sitúa el himenio.

Medio de cultivo: mezcla de distintos componentes nutritivos para el crecimiento de los organismos que se quieren cultivar.

Micelio: conjunto de hifas que forman la parte vegetativa de un hongo, éstas sirven como canales para su nutrición.

Micelio primario: primer micelio obtenido a partir de esporas recién germinadas.

Micelio secundario: micelio obtenido a partir de fusión de dos micelios primarios.

Micología: es la ciencia que estudia los hongos.

Micorriza: relación simbiótica que seestablece entre un hongo y una raíz.

Micorrícico: que establece micorrizas.

Myxomycota: mycetozoa o mixomicetes son un grupo de organismos del reino protista denominados comúnmente mohos mucilaginosos.

Medio nutritivo: mezcla de los elementos implicados en la nutrición de un organismo.

Multiplicación vegetativa: desarrollo de un organismo por división de células sin que haya reproducción sexual. Parásito: se dice de los organismos que obtienen las substancias nutritivas y la energía que necesitan para vivir de otro ser vivo del cual dependen fisiológicamente.

Patógeno: que causa enfermedad. Entidad biológica capaz de producir enfermedades o daños a la biología de un huésped (humano, animal, vegetal, etc.) sensiblemente predispuesto.

Pie: estructura más o menos cilíndrica que sostiene el píleo en las callampas (ver estípite).

Píleo: nombre técnico que se la da al sombrero de una callampa.

Producción de micelio: multiplicación de un micelio con el fin de utilizarlo como inóculo.

Propágulo: fragmento o parte de un organismo que sirve para la multiplicación vegetativa.

Propiedades organolépticas: conjunto de características que se perciben a través de los sentidos.

Reino: categoría superior en el sistema que se utiliza en la biología para clasificar a las especies de seres vivos según su parentesco.

Saprófito o Saprobio: organismo que se alimenta de materia orgánica muerta.

Simbionte: nombre dado a los organismos integrantes de una simbiosis.

Simbiosis: asociación íntima de dos organismos diferentes, puede ser mutualista o parasítica.

Sustratos: materiales sobre los cuales se pone a crecer los organismos que se quieren cultivar.

Volva: fragmento en forma de dedal, resto del velo universal, que se encuentra en la base del pie de algunas callampas.

Bibliografía

- Bautista, N.; N. Bautista-García; R. Venegas; L. López y D. Portugal. 2003. Evaluación de la producción de *Pleurotus* ostreatus sobre paja de trigo como sustrato en un módulo rústico en galeana, Municipio de Zacatepec, Estado de Morelos, México. Disponible en: http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/ CB/EC/CBC-26.pdf.
- Brundett, M.; N. Buugher; B. Dell; T. Grove y N. Malajazuk. 1996. Working with Mycorrhizas on Forestry and Agriculture. Peter Lynch. Australia. Monograph 32.
- Cano-Estrada, A. y L. Romero-Bautista. 2016. Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres. Revista chilena de nutrición, 43(1), 75-80. Disponible en: https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000100011.
- **Campos-Benítez, N. 2017.** Guías de laboratorio curso de microbiología general. Departamento de Biología Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle. Santiago de Cali.
- **Chávez-Barba, J. 2017.** Guía Para El Cultivo De Setas. Universidad Autónoma Metropolitana. Javier Isidoro López Cruz. México.
- **Chung, P. 2005.** Principales hongos micorrícicos comestibles y no comestibles presentes en Chile. INFOR, Sede Bío Bío. Concepción. 30pp. Disponible en: http://biblioteca.infor.cl/DataFiles/12281-2.pdf.
- da Silva, C.; S. Sasson y N. Caldini. 2015. Biologia. 6ª Edição. Disponible en: https://www.pinterest.es/pin/644014815433971990/".
- **Domínguez-Romero, D. 2013.** Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrízico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. Tropical and Subtropical Agroecosystems, vol. 16, núm. 1, 2013, pp. 51-59. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.
- Fernández-Michel, F. 2005. Manual práctico de producción comercial de champiñón: apuntes, recopilación de datos y experiencias adquiridas en el cultivo comercial de champiñones. Fungitec Asesorías, Guadalajara, Jalisco, México. 121 p. Disponible en: http://fungitec.com/manualchamp2005.pdf.
- Fricker, M., L. Boddy y D. Bebber. 2017. Network Organisation of Mycelial Fungi. Disponible en: https:// www.semanticscholar.org/paper/13-Network-Organisation-of-Mycelial-Fungi-Fricker-Boddy/ bedac294f2847fb4e71afd7a66d0acf34b3ba529
- Gaitán, H.R., D. Salmone, M.R. Pérez y G. Mata. 2006. Manual Práctico del Cultivo de Setas, Aislamiento, Siembra y Producción. Instituto de Ecología A.C.

- **Gamundi, I.J. y E. Horak. 1993.** Hongos de los bosques andino-patagónicos. Guía para el reconocimiento de las especies más comunes y atractivas. Vázquez Mazzini Editorial. Buenos Aires. 141 pp.
- Garcia-Camppello, S.; E. Lopez-Hernandez. 2006. Educación ambiental para conocimiento y uso de Hongos en una comunidad chontal. Olcuatitán, Nacajuca. Tabasco. México.
- Gilchrist-Saavedra, L.; G. Fuentes-Dávila; C. Martínez-Cano; R. López-Atilano; E. Duveiller; C. Singh; E. Henry y A. García. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F.: CIMMYT.
- Koumoundouros, T. 2012. Simplificación del ciclo de vida de un macrohongo. Revista Gould League. Disponible en: https://www.deviantart.com/tesskou/art/Mushroom-Life-Cycle-318289660.
- Kuhar, F.; V. Castiglia y L. Papinutti. 2013. Los hongos en el laboratorio: de la naturaleza al cultivo axénico. Boletín Biológica. 27. 5.
- Lazo, W. 1983. Introducción al estudio de los hongos superiores. En boletín Micológico Vol. 1: 77-119.
- **López, A. 2016.** Manual de Producción de Micelio de Hongos Comestibles.
- **Oei, P. 2005.** La culture des champignons à petite échelle. Fondation Agromisa et CTA, Wageningen.
- **Pacioni, G. 1982.** Estructura de un hongo provisto de pie y sombrero. Ilustración en Guía de hongos, p. 45.
- Ríos-Ruiz, W.; R. Valdez-Nuñez y J. Jiménez-Flores. 2017. Aislamiento, propagación y crecimiento de hongos comestibles nativos en residuos agroindustriales. Laboratorio de Microbiología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Martín, Perú.
- Sánchez-Jardón, L.; D. Soto; M. Torres; L. Moldenhauer; M. Ehijos; J. Ojeda; B. Rosas; V. Salazar-Vidal y C. Truong. 2017. Hongusto, innovación social en torno a los hongos silvestres y cultivados en Aysén.
- **Stamets, P. 1993.** Growing Gourmet and Medicinal mushrooms: shokuky oyobi yakuyi kinoko no saibai: A Companion Guide to The Mushroom Cultivator. Ten Speed Press.
- Wrigth, J. y E. Albertó. 2002. Ornamentación esporal. Guía de Hongos de La Región Pampeana. Vol. I hongos con laminillas. P 85. Primera edición. Editorial L.O.L.A.

