

Micología y biotecnología aplicadas

Cultivo de setas privado e industrial

*Solía abrir la ventana para elevar el nivel de dióxido de carbono...
Ahora abro la misma ventana para elevar el nivel de oxígeno.*

Un botánico

FUNGIMUR
www.fungimur.es

03 de diciembre de 2023

Contenido

Hongos y setas.....	5
Clasificación, estructura celular y metabolismo	5
Hidroponía.....	12
Formas de vida micelial y de levadura	13
Psilocybe Cubensis (Seta Brasileña)	17
Equipos y material.....	20
DuPont Tyverk.....	36
Química y farmacología.....	38
Pureza de procesos	46
Uso de flujo laminar	46
Esterilización y pasterización	48
Pasterización	49
Esterilización	52
Fermentación	52
Impresión (esporas)	54
Esporas en líquido portador.....	56
Esporas en agar	57
Preparación de agar	58
Inoculación (grano)	59
Envases.....	59
Botes de vidrio	59
Bolsas de cultivo.....	61
Sustrato madre.....	62
Remojo	64
Cocido.....	65
Esterilización de trigo integral.....	66
Inoculación con suspensión	69
Inoculación (heno).....	71
Corte y remojo	71
Pasterización	72
Esterilización	73
Inoculación con grano	73
Incubación (micelio).....	78
Crecimiento vegetativo de micelio (multiesporas)	84
Aislamiento de cepas	87

Clonación.....	89
Propagación vegetativa de grano a grano (g2g)	95
Fructificación (setas)	96
Relación de carbono a nitrógeno	101
Bases de sustratos.....	103
Heno	103
Aserrín de madera dura	104
Estiércol	105
Compost	108
Fibra de coco	110
Sustrato con fibra de coco	110
Colocación de sustrato	119
Mezcla de sustratos.....	119
Capas de sustratos	120
Siembra	123
Capa de cobertura.....	124
Rehidratación	127
Sustrato madre.....	127
Sustrato base.....	129
Cosecha	131
Deshidratación	132
Almacenamiento	132
Contaminantes	133
Condiciones anaeróbicas.....	135
Trichoderma	135
Aspergillus Niger	137
Bacillus (Wet Spot)	138
Cladobotryum Mycophilum o Cladobotryum Dendroides (Cob Web).....	140
Setas más rentables para cultivo en España	141
Pleurotus Ostreatus (Seta de Ostra aka Seta Común)	141
Sustratos.....	141
Fructificación	142
Agaricus Bisporus (Champiñón Blanco)	145
Sustratos.....	146
Agaricus Brunnescens (Portobello)	146
Lentinus Edodes (Shiitake)	146

Sustratos.....	148
Fructificación	148
Agrocybe Aegerita (Seta de Chopo aka Seta Silvestre).....	148
Fructificación	149
Pleurotus Eryngii (Seta de Cardo)	149
Sustratos.....	150
Fructificación	150
Pholiota Nameko (Nameko).....	151
Fructificación	152
Pholiota Adiposa (Seta de Nuez aka Chestnut).....	152
Fructificación	153
Hypsizygus Marmoreus (Shimeji Blanco)	153
Fructificación	153
Hypsizygus Tessulatus (Shimeji Marrón).....	154
Fructificación	154
Flammulina Velutipes (Enoki Golden).....	154
Fructificación	155
Ganoderma Lucidum (Ganoderma)	155
Fructificación	156
Trametes Versicolor (Cola de Pavo aka Turkey Tail).....	156
Fructificación	156
Setas medicinales	158
Hericium Erinaceus (Melena de León)	158
Fructificación	158
Algunos cálculos	159
Creditos	161

Hongos y setas

La micología (parte de microbiología, parte de biología) es la ciencia de los hongos.

Los organismos estudiados por los micólogos no son un solo grupo ni por características comparativas ni por origen.

<https://es.wikipedia.org/wiki/Micología>

Hasta la fecha (otoño 2023), los micólogos han descrito alrededor de 100 000 especies de hongos. Esto es más de 3 veces menor que el número de plantas terrestres descritas.

Sin embargo, según las previsiones de científicos, el número de plantas descritas es aproximadamente el 90% del número real que vive en la Tierra, y el número de hongos descritos es sólo el 5%. Por lo tanto, en términos del número de especies, los hongos superan significativamente a todos los organismos vegetales juntos.

Cada año se describen unas 2 000 nuevas especies de hongos. Casi cada un experimento se acaba con un descubrimiento científico.

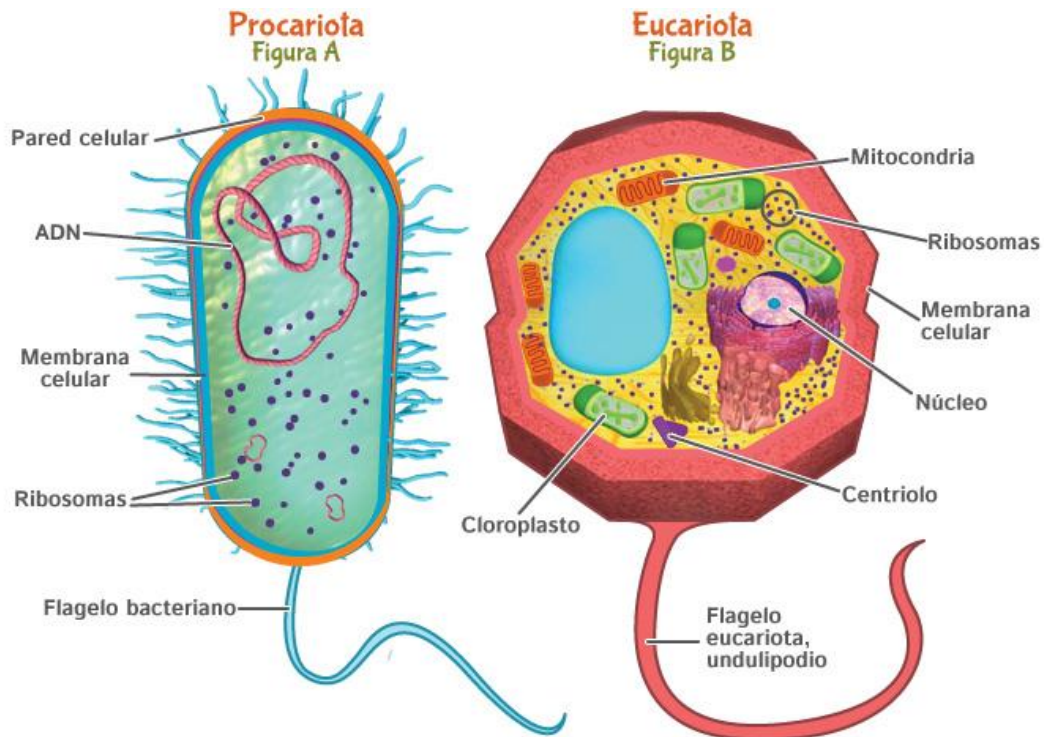
Clasificación, estructura celular y metabolismo



En biología todos los organismos vivos se clasifican según dos criterios:

- Estructura celular (presencia o ausencia de núcleo).
- Método de utilización de energía (método de nutrición).

Según la estructura celular todos los seres vivos se parten a *procariontes* (células no tienen núcleo) y *eucariontes* (células lo tienen). Las setas y sus cultivadores pertenecen a *eucariontes*:



Normalmente las células de plantas y animales son *mononucleares* y la división nuclear (*mitosis*) está sincronizada con la división celular (*citocinesis*), de modo que después de la duplicación de la célula maternal, cada célula hija recibe un núcleo.

Las células pueden estar pegadas entre sí, formando un *órgano* o *tejido*, pero biológicamente están aisladas entre sí (de animales) o conectadas mediante finos filamentos de proteínas llamados los *plasmodesmos* (de plantas).

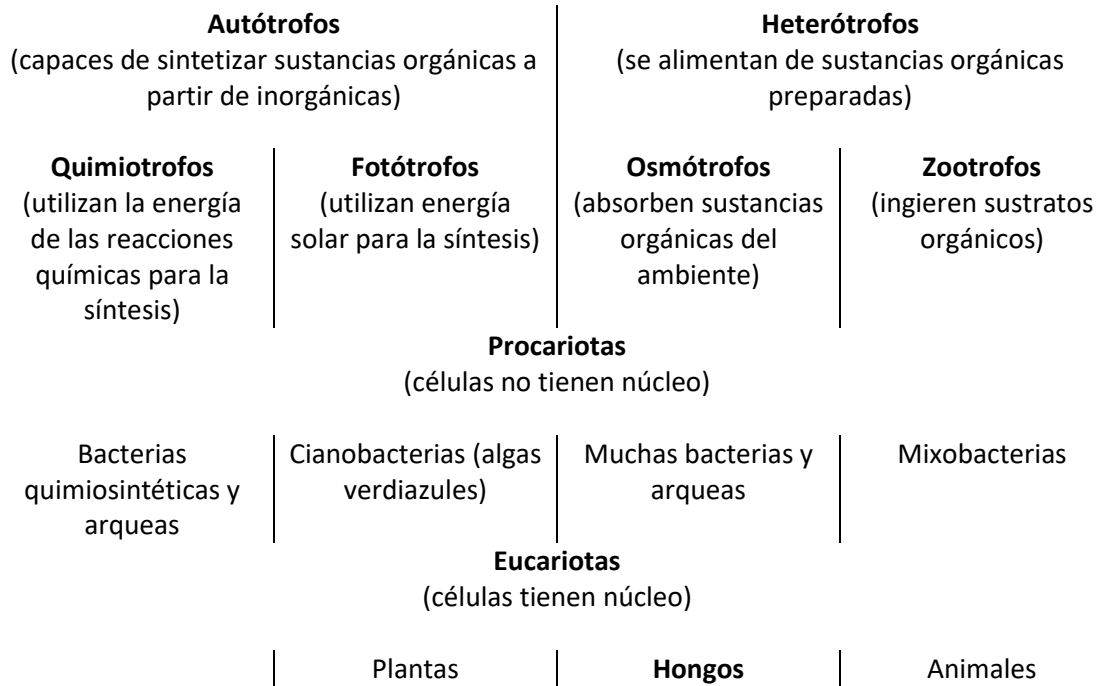
En la mayoría de los hongos, las células, en primer lugar, son *multinucleadas* y el número de núcleos en una célula puede variar. En segundo lugar, las particiones entre las células tienen aberturas a través de las cuales pueden migrar no sólo compuestos químicos, incluido grandes macromoléculas, sino también los orgánulos intracelulares (mitocondrias y núcleos).

La velocidad de migración entre de células es bastante alta, hasta 40 centímetros por hora.

Por lo tanto, si en el cuerpo de un animal las interacciones celulares y la regulación de la actividad de células que componen varios tejidos y órganos se llevan a cabo mediante señales químicas o eléctricas. A diferencia, el micelio de los hongos es un solo organismo, cuya

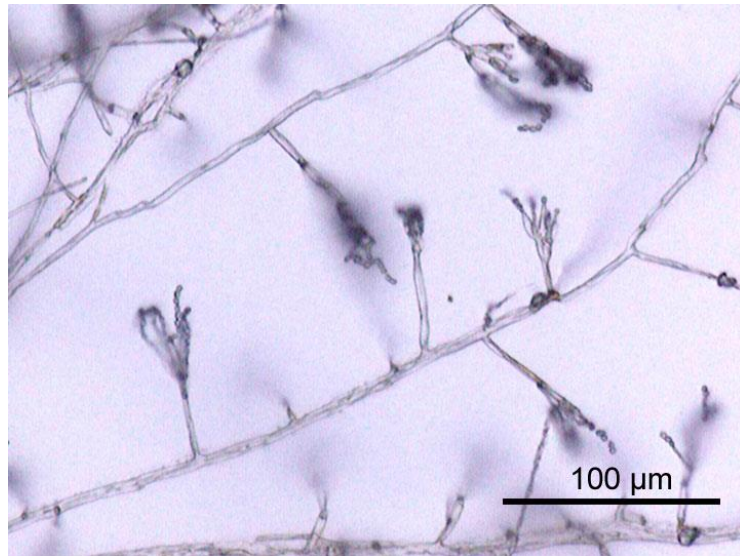
interacción entre sus partes individuales se lleva a cabo por migración de una célula a otra de moléculas alimenticias, reguladoras y de información.

Según el método de nutrición todos los seres vivos se parten a los *autótrofos* (capaces de sintetizar sustancias orgánicas) y los *heterótrofos* (no lo capaces). Las setas y sus cultivadores pertenecen a los *heterótrofos*:



Según este esquema, los hongos son *eucariotas* que se alimentan *osmotróficamente*.

Este tipo de nutrición determina en gran medida la morfología y el metabolismo de los hongos. Dado que absorben nutrientes del sustrato con todo el cuerpo, la cantidad máxima de células debe tener contacto con el sustrato. Por lo tanto, la forma de vida más común de los hongos es un sistema ramificado de hilos, llamadas *hifas*, que forman colonias llamadas *micelio*, que se sumerge en un sustrato (suelo o tejido vegetal).



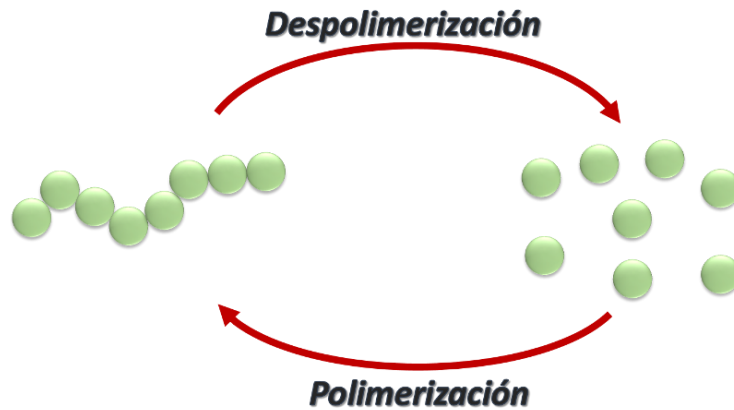
<https://es.wikipedia.org/wiki/Hifa>

Las colonias forman los *cuerpos fructíferos*. Un cuerpo puede estar formado por hifas de diferentes colonias:



Las hifas son *unicelulares*, parecidas a una levadura. Esta forma de cuerpo es la más adecuada para una colonización más rápida del sustrato.

Dado que la mayoría de los compuestos orgánicos se encuentran en forma de *polímeros* de alto peso molecular (*proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, etc.*), que no pueden transportarse a través de paredes celulares, los hongos secretan *enzimas hidrolíticas despolimerizas* en el sustrato, que descomponen los polímeros en *oligo-* y *monómeros* que se transportan al interior de las células:

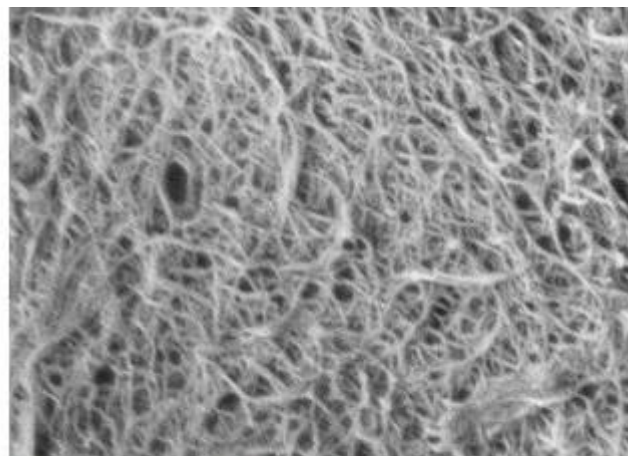


<https://es.wikipedia.org/wiki/Polímero>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Oligomer>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Monomer>

En promedio, la presión osmótica desarrollada por una hifa de hongo es de *2,5 atmósferas* (igual a la presión de un neumático de bicicleta). Por lo tanto, las células de todos los hongos filamentosos están cubiertas con membranas duraderas (por mayor parte de *quitina*), de lo contrario las células podrían explotar:



Chitin nanofibers from mushrooms

Es necesaria una alta presión para que los hongos absorban nutrientes del medio ambiente y se muevan a través de sustratos densos. Los hongos se desarrollan no sólo en suelos sueltos, sino también en sustratos extremadamente densos, como la madera. Los cuerpos fructíferos de champiñones que viven en suelos urbanos rompen el asfalto durante su crecimiento. La punta de las hifas de muchos hongos parásitos rompe la capa cerosa de la superficie de las hojas y la pared exterior de las células epidérmicas.

La acidez del contenido intracelular de los hongos, al igual que la de otros organismos, es cercana al pH neutro, alrededor de 7 unidades. La diferencia entre los valores de acidez externa e intracelular, según la especie, puede ser de hasta 4 unidades de pH.

Por ejemplo, *Aspergillus Niger* puede vivir en un sustrato con un pH de 2 unidades. Para cultivar este hongo, se puede acidificar el sustrato en lugar de pasteurizarlo, casi nada puede sobrevivir en un ambiente tan ácido.

Clasificación de los hongos

Según la morfología de los cuerpos fructíferos que presenten los hongos, estos se clasifican en los 5 grandes grupos del reino *Fungi*:

Basidiomicetos	Ascomicetos	Glomeromicetos	Zigomicetos	Quitridiomicetos
<p>Hongos con cuerpos fructíferos en forma de seta, capaces de producir <i>basidios</i> con <i>basidiosporas</i>.</p> <p>Los Basidiomicetos se consideran uno de los más evolucionados del grupo y se distinguen por presentar un cuerpo fructífero, compuesto por un tallo y un sombrero.</p> <p>Los Basidiomicetos tienen un par de núcleos en las células de sus hifas, son</p>	<p>Estos hongos contienen <i>ascosporas</i> dentro de las estructuras reproductoras denominadas <i>ascas</i>.</p> <p>Los Ascomicetos están formados por una o múltiples células fúngicas, las cuales siendo <i>eucariotas</i> están a medio camino entre los animales y las vegetales.</p> <p>Al igual que las vegetales, tienen una pared celular alrededor de la membrana, aunque su composición es</p>	<p>La principal característica que define a este grupo de hongos es la formación de <i>micorrizas</i>, estructuras que establecen una relación de simbiosis con plantas, contando además con <i>glomerosporas</i>.</p> <p>Se caracterizan por no presentar una reproducción sexual conocida y ser simbioses obligados de plantas terrestres.</p> <p>El cuerpo fúngico es cenocítico y tiene paredes quitinosas. Generan asociaciones</p>	<p>Es el grupo de los comúnmente conocidos como <i>mohos</i>, en el que se incluyen alrededor de 1000 especies.</p> <p>Sus esporas se llaman <i>zigosporas</i>. Su reproducción es de tipo asexual, lo cual tiene lugar a través de esporas que se localizan en el propio hongo y que se dispersan por la acción del viento.</p>	<p>Todos aquellos organismos microscópicos del reino <i>Fungi</i> con <i>zoosporas</i> como células reproductoras.</p> <p>Puede presentarse como una célula aislada, una hifa alargada o un micelio no septado (cenocítico) bien desarrollado, dependiendo de la especie.</p> <p>Tienen esporas con flagelos. Los flagelos son simples, sin fibrillas a modo de peines (<i>mastigonemas</i>).</p>

dicarióticos. Aunque la presencia de dos núcleos es normal en los hongos, en el caso de los Basidiomicetos ésta dura más tiempo y adquiere más importancia porque favorece la formación de sus esporas.



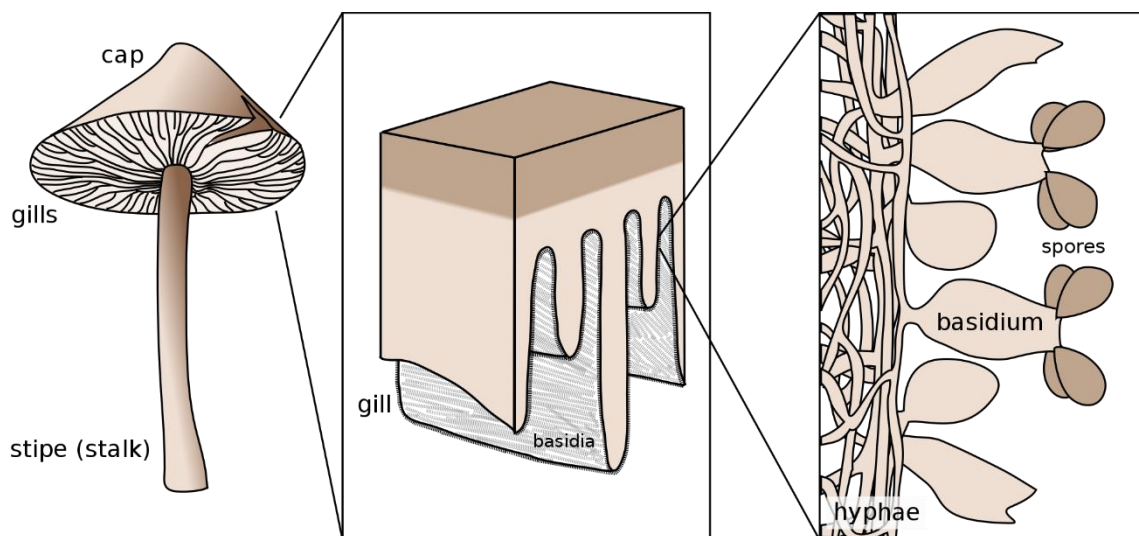
diferente y además son seres incapaces de realizar la fotosíntesis, se alimentan de una forma más similar a la de las células animales, por absorción de nutritivos.

Del mismo modo, los hongos no se reproducen por división celular, sino que lo hacen mediatamente la producción de esporas.



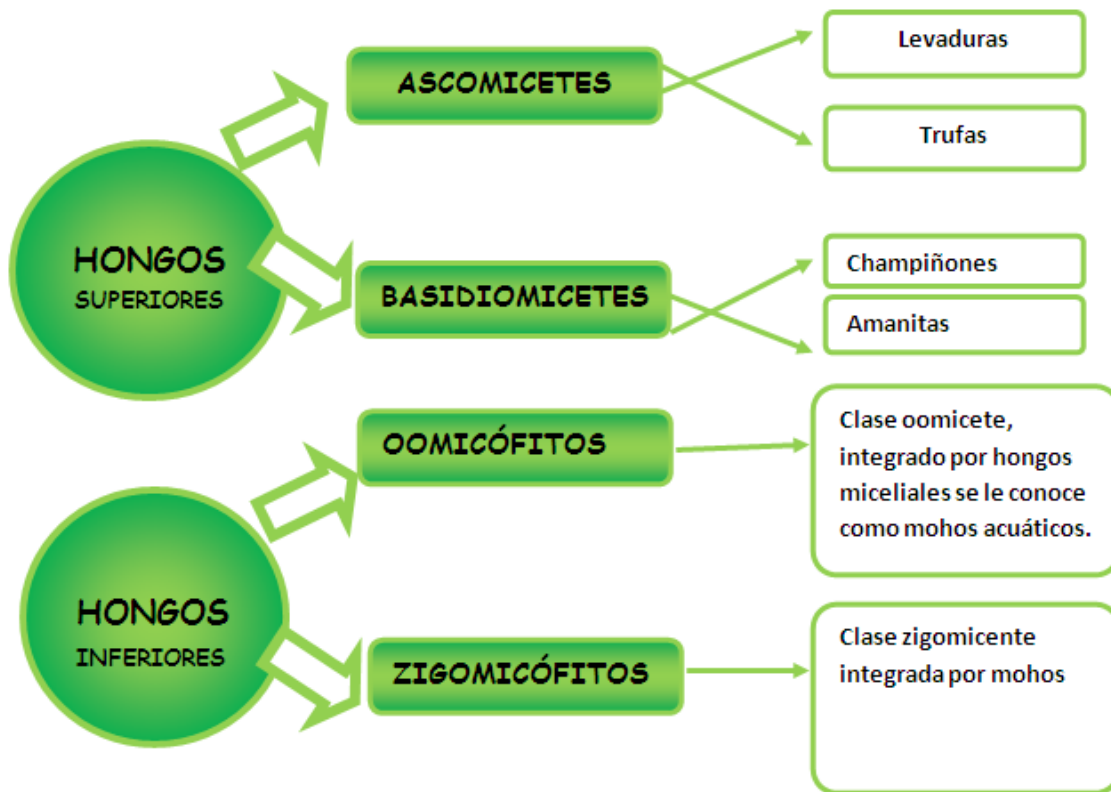
benéficas con los raíces de las plantas denominadas *micorrizas*.

Son de mucha importancia para crecimiento de las plantas, la formación de suelos, bosques y selvas.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Basidio>

También los hongos dividen en los *superiores* y los *inferiores*:



Hidroponía

Para las setas no se aplica la *hidroponía*. Las setas son organismos *heterótrofos* que no son capaces de sintetizar sustancias orgánicas a partir de inorgánicas, como lo hacen las plantas mediante fotosíntesis. Las setas pueden absorber *minerales*, pero pueden sintetizar los compuestos orgánicos necesarios sólo a partir de sustancias orgánicas *exógenas*, es decir, producidas por otros organismos vivos.

Por supuesto, algunos tipos de setas simples, como *Micorrizas*, pueden extraer nitrógeno de compuestos inorgánicos y convertirlo en orgánicos, esta propiedad suya se utiliza en agricultura. Pero las setas superiores (especialmente *Basidiomicetos*) absorben muy mal los compuestos nitrogenados inorgánicos.

Tipos de sistemas hidropónicos



<https://es.wikipedia.org/wiki/Micorriza>

<https://es.wikipedia.org/wiki/Basidiomycota>

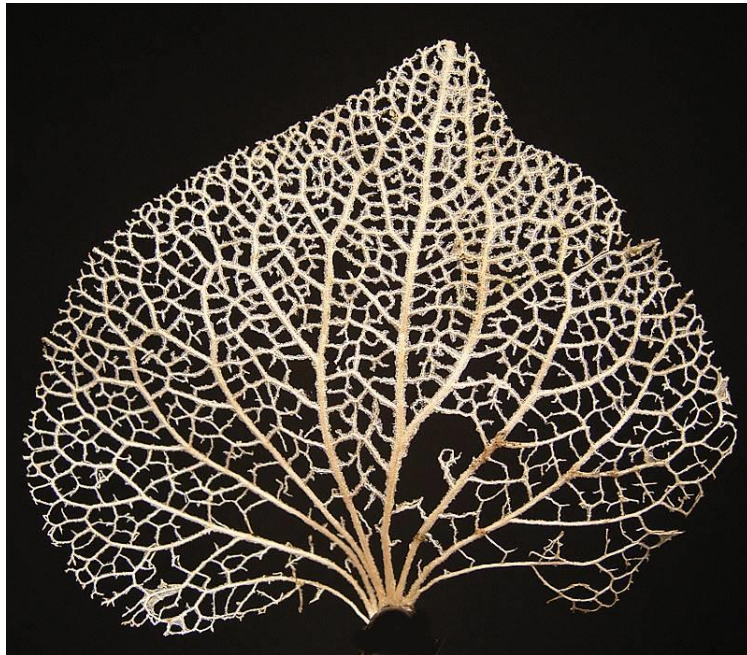
Formas de vida micelial y de levadura

Existencia en la forma de micelio sobre sustratos que no son líquidos aporta ciertas ventajas:

- Máxima colonización de sustrato por el descendiente de una sola espora.
- Transporte eficiente de sustancias nutritivas incluso a largas distancias.
- La capacidad de superar las burbujas de aire que se presentan en el suelo.
- Capacidad de superar zonas pobres en nutrientes e ocupados por competentes.
- Diferenciación funcional del micelio, posibilidad de formación de cuerpos fructíferos, estromas, rizomorfos, etc.

La forma de vida de la mayoría de hongos, el *micelio*, es un sistema muy ramificado de hilos llamados las *hifas*.

Los procesos más importantes que acompañan al crecimiento y desarrollo de una colonia de hongos filamentosos son el alargamiento de las puntas de hifas, la ramificación y la fusión de hifas (*anastomosis*). Por ejemplo, la hifa del hongo *Neurospora* se alarga a un ritmo de 16 micrómetros (*micras*) por minuto, se forma una nueva célula cada 30 a 60 minutos y toda la colonia crece a un ritmo de 10 a 14 centímetros por día.

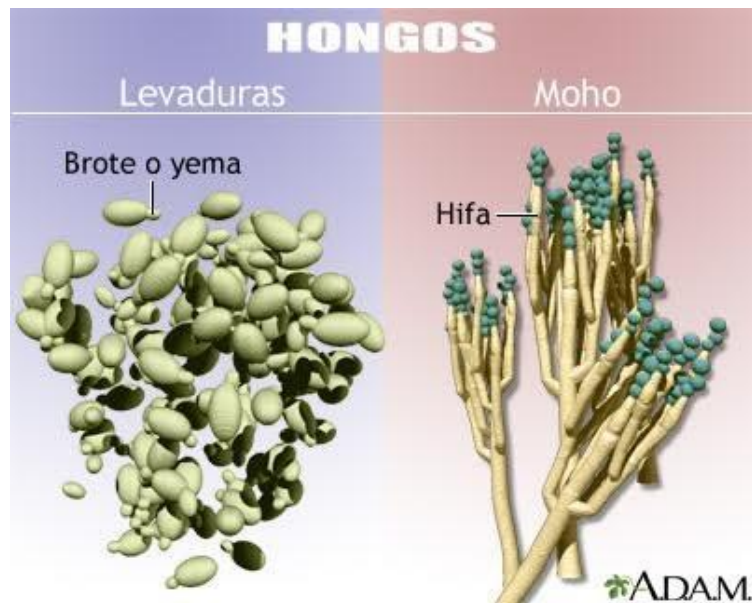


<https://es.wikipedia.org/wiki/Anastomosis>

La anastomosis de hifas vecinas refuerza la colonia, la hace más unida e integra sus partes individuales en un todo único. Si se fusionan las células de diferentes colonias, entonces es posible el intercambio de núcleos y su migración en direcciones opuestas. Si los núcleos de las células de dos colonias que se anastomosan son genéticamente diferentes, entonces núcleos diferentes pueden terminar en una célula. Este estado de heterogeneidad (*heterocariosis*) es otra característica de los hongos. La *heterocariota* aumenta las capacidades de adaptación de los hongos, ya que núcleos genéticamente diferentes transportan información sobre la síntesis de productos que promueven la supervivencia en condiciones de vida cambiantes.

La levadura no es micelio, es una forma de vida especial de hongos.

Por cierto, el *moho* sigue siendo micelio, la forma micelial de vida.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Levadura>

Sin embargo, las levaduras se originaron a partir de hongos filamentosos, por lo que pueden considerarse como una forma de hongos filamentosos, adaptados a determinadas condiciones de vida.

Hay hongos que forman micelio en cualesquiera condiciones de vida, hay hongos que siguen siendo levaduras en cualesquiera condiciones de vida y hay especies que reaccionan a los cambios en condiciones de vida cambiando la forma micelial a la forma de levadura. Este fenómeno se llama *dimorfismo micelio-levadura*.

En consecuencia, en el genoma de los hongos hace mucho tiempo, en las primeras etapas de su vida en la tierra, surgieron dos programas de desarrollo: micelial y de levadura, y el cambio de desarrollo de un programa a otro está regulado por las condiciones de vida. Sólo en los hongos miceliales y levaduriformes se perdió uno de los programas, mientras que en los hongos dimórficos se conservaron ambos programas.

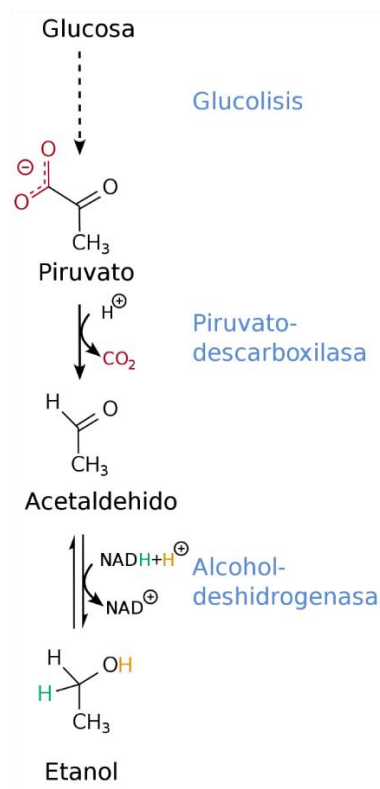
¿Qué condiciones provocan el cambio de programas de desarrollo en los hongos dimórficos?

En primer lugar, es la composición de su ambiente. En la naturaleza, la levadura se crece en lugares donde hay muchos azúcares simples: *monosacáridos*, *glucosa*, *fructosa*, *disacáridos*, *sacarosa* y otros, generalmente en daños a la corteza de los árboles donde los jugos fluyen desde los lugares dañados, en bayas y frutos podridos, en los cuales, bajo la influencia de sus propias enzimas o enzimas de bacterias y hongos que parasitan, los polisacáridos se destruyen y se acumulan azúcares simples. Probablemente, para un suministro tan simple de mono- y disacáridos preparados, la forma de vida de levadura sea más adecuada que la micelial.

Esta regla también funciona para hongos dimórficos. Numerosos mohos de la familia *Mucoraceae* forman micelio dentro de diversos sustratos orgánicos. Pero en sustratos ricos en azúcares simples, el micelio se descompone en células individuales, que se multiplican como la levadura.

La elección de la estrategia de vida de los hongos dismórficos también depende de la composición del aire del medio ambiente. La mayoría de los hongos filamentosos, como nosotros, utilizan oxígeno para descomponer la glucosa en procesos llamados *respiración*. Con la ayuda del oxígeno se oxida completamente la molécula de glucosa, que a través de una serie de compuestos intermedios se convierte en *dióxido de carbono* y *agua*. La energía generada durante la descomposición de la glucosa se utiliza para realizar síntesis necesarias para la vida celular o se almacena en compuestos especiales.

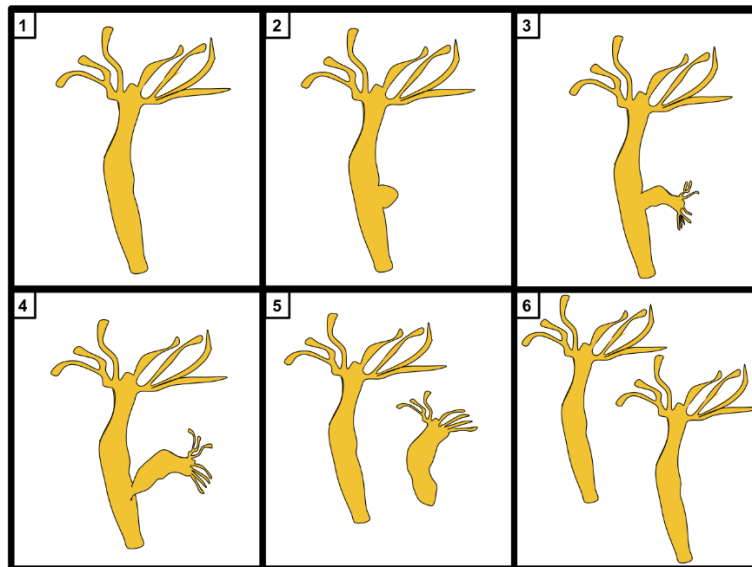
Dado que el oxígeno es absolutamente necesario para respirar, en ausencia de oxígeno la mayoría de los hongos, al igual que nosotros, mueren. Pero algunos hongos miceliales y todas las levaduras tienen una forma alternativa de descomponer la glucosa, llamada *fermentación*:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Fermentación>

Durante la fermentación, la descomposición de glucosa es incompleta y, junto con el dióxido de carbono, no se forma agua, sino alcohol etílico (*etanol*). Gracias a estas propiedades, la levadura se utiliza en repostería (el dióxido de carbono eleva la masa) y en la elaboración de vino (el alcohol convierte los jugos de frutas en vino). La fermentación no requiere oxígeno, por lo que los hongos pueden utilizar azúcares en un ambiente libre de oxígeno (*anaeróbico*). En este sentido, algunos hongos miceliales se convierten en levaduras en un ambiente libre de oxígeno.

La levadura se reproduce por la *gemación celular*. La duración de todo el ciclo es de unos 100 minutos.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Gemaci3n>

Psilocybe Cubensis (Seta Brasileña)

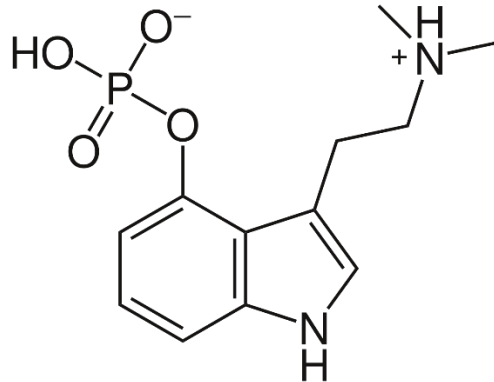
Psilocybe Cubensis es una especie de hongo psicibio de la familia *Hymenogastraceae* del orden *Agaricales*, el cual contiene compuestos qu3micos como la *psilocina* y la *psilocibina* (el grupo de *triptaminas*).





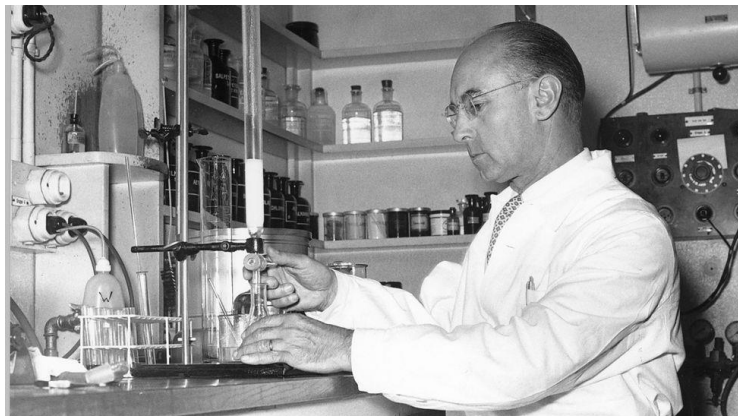
https://es.wikipedia.org/wiki/Psilocybe_cubensis

El efecto mágico dura aproximadamente de 4 a 6 horas. El inicio de acción se observa entre 20 y 45 minutos después de la administración.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Psilocibina>

La síntesis de psilocibina pertenece a uno de los más grandes químicos del siglo XX *Alfred Hofmann*:



https://es.wikipedia.org/wiki/Albert_Hofmann

Por la razón claro es muy mal idea hacer experimentos cerca de cultivo. Si pasará algo con un experimento, se tira a masetas, pero si por culpa de un experimento pasará algo con todo el cultivo, tirarlo será una pena y una pasta. Mas seguro experimentar en una local separada, por ejemplo, en casa.

Para este objetivo *Psilocybe Cubensis* es el mejor candidato:

- Se vende legalmente en cualquier tienda de cultivo con el nombre *Seta Brasileña* en la forma de panes de sustrato con micelio listos para fructificación.
- Es muy tolerante a condiciones ambientales, es decir que no necesita ni invernadero ni cámara fría. Se crece con la temperatura hasta 32-34 grados.
- Es muy tolerante a sustratos.
- Es bastante resistente a contaminaciones.
- Echa muchas esporas fáciles de recoger.
- Tiene tallos y paraguas grandes, bien desarrollados que le hace fácil de manejar y observar.

Las cepas conocidas en la industria:

- *Psilocybe Cubensis* PES Amazonian.
- *Psilocybe Cubensis* B+.
- *Psilocybe Cubensis* Golden Teacher.
- *Psilocybe Cubensis* McKennaii.
- *Psilocybe Cubensis* Moby Dick.

Teniendo en cuenta lo anterior, todas las técnicas básicas para el cultivo de setas se demuestran en el ejemplo de *Psilocybis Cubensis*.

Equipos y material

Durante de nuestro estudio preparemos 3 diferentes sustratos porque un solo sustrato no puede alimentar bien el micelio durante todo su crecimiento:

- El líquido portador o agar.
- El sustrato madre (grano).
- El sustrato base (fibra de coco).

Vamos a necesitar 2 diferentes temperaturas:

- La temperatura elevada en incubadora (28-30 grados).
- La temperatura más baja en invernadero (cada especie tiene su temperatura ideal para fructificación).

Concederemos los equipos necesarios, pero *no obligatorios* para cultivo de setas.

Flujo laminar (para cultivo industrial) para manipulaciones con esporas, micelio e inoculación de sustratos esterilizados. El manual que explica en detalle cómo construir un flujo laminar:

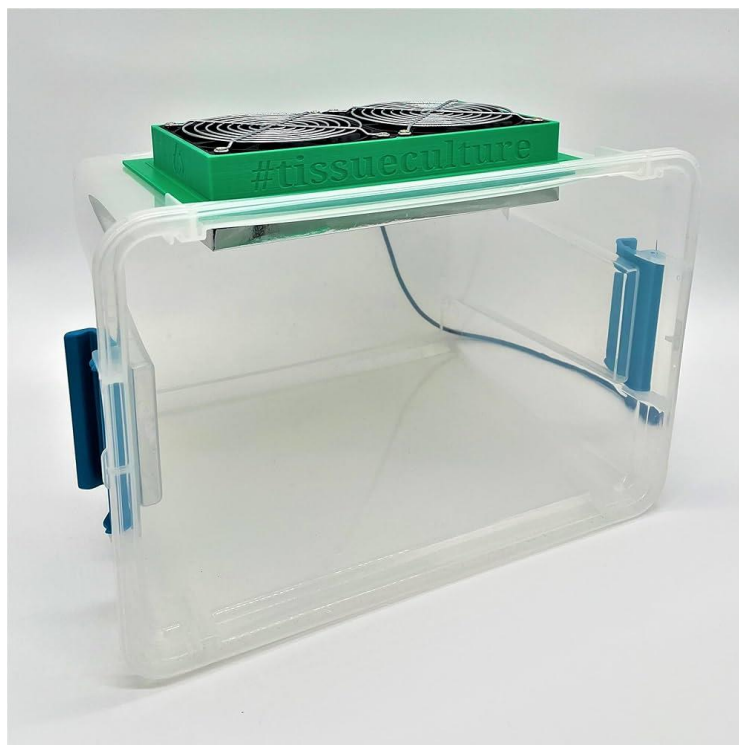


<https://archersmushrooms.co.uk/how-to-build-a-diy-laminar-flowhood-for-mushroom-growing/>

Un flujo laminar de laboratorio químico se parece a esto:



Para cultivo privado podemos no complicarse tanto y utilizar algo más económico:





Si añadir al interior un tubo de luz UV será ideal para nuestro propósito:



La luz UV es letal para las bacterias y formas vegetales de la vida, pero no puede luchar con esporas. Para extraerlos del espacio de trabajo se crea una presión positiva por dentro de la caja con el aire filtrado.

Autoclave (para cultivo industrial). Se puede encontrar modelos no solo eléctricos, pero también de butano:



Olla a presión con manómetro (para cultivo privado):



Una autoclave, como un flujo laminar, se puede construir:



<https://archersmushrooms.co.uk/how-to-build-a-drum-steriliser-for-mushroom-growing/>

Tazas de Petri plásticas, con o sin agar:



Jeringuillas plásticas con agujas para suspensión de esporas:



Bolsas desechables zip para almacenamiento de impresiones:



Contenedores de polipropileno (PP5):



<https://es.wikipedia.org/wiki/Polipropileno>

Teniendo en cuenta la altura posible de setas sobre 20 centímetros + 10 centímetros el grosor de sustrato, para incubadores se recomiendan contenedores desde 30 centímetros de altura. Por ejemplo, desde unos 25 L (36x42x25 centímetros) hasta unos 86 L (45x62x47 centímetros). En un volumen más grande es más fácil de mantener el microclima.

Para cultivo industrial se puede comprar una incubadora profesional, por ejemplo, *MycobROODER* (Mexico):



Incubadora automática para setas *SATRISE* (China):



Para pasterización de sustratos (heno en particular) podemos utilizar contenedores térmicos, en cuales llevan pescado fresco a supermercados. Se trata de cajas grandes de *poliestireno* espumoso que se cierran con una tapa casi herméticamente.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Poliestireno>

Vermiculita o *perlita* para preparación de sustratos y control de humedad:



La vermiculita se puede reemplazar con la perlita. Aunque ambos productos absorben bien el agua, estructuralmente la vermiculita tiene mejor capacidad para absorber y, lo que es más importante, liberar el agua. Por lo tanto, para perlita es necesario tomar aproximadamente 1,3-1,5 veces más que el volumen recomendado de vermiculita.

Otra ventaja de vermiculita es la dureza de sus partículas. Perlita produce mucha arena que a su turno provoca formación de zonas anaeróbicas y su posterior contaminación posible.

Como una opción, se puede mezclarla vermiculita con perlita en proporción a 1/1.

Hay que tener cuidado con la humedad en contenedores, el micelio no crece en presencia de agua libre (demasiado poca vermiculita) ni donde está seco (demasiado mucha vermiculita).

Film transparente alimentario, ancho, para control de humedad:



Papel aluminio alimentario para control de luz y almacenamiento de esporas:



Botes de vidrio con tapas de rosca donde vamos a cultivar el micelio. Para su esterilización el vidrio tiene que aguantar la temperatura de 120 grados:



Recomendados los botes de 1 L. Botes de este volumen son cómodos de manejar, también por dentro cabe una cantidad suficiente de grano. Al elegir botes hay que tener en cuenta el volumen de la olla o autoclave disponibles. Mejor si de una vez a la olla caben 3-4 botes.

Después de practicar un poco con botes y conseguir primeras experiencias positivas, pasamos a *bolsas de cultivo*:



Silicona termorresistente para puertos de inyección y ventilación:



Para puertos de inyección mejor utilizar *tapones de caucho de butilo* que son más cómodos de usar y duran mucho más. Se instalan a las tapas con la misma silicona termorresistente:



<https://www.fishersci.es/shop/products/gray-butyl-rubber-injections-stoppers/11732068>

Para mejor aislamiento térmico durante de proceso de pasterización podemos comprar en cualquier farmacia unas *mantas de rescate*:



Secar setas es más cómodo en una *secadora de alimentos* eléctrica de varios niveles con ventilación activa:



Guantes, mascarillas, gorros y cubrezapatos desechables:



Se recomiendan guantes de nitrilo que no apoyan la combustión. Látex y vinilo lo apoyan.

Se puede utilizar cualquier tipo de guantes, mascarillas y gorros, más importante que serán limpios y bien densificados.

Báscula digital para pesar material y cultivo:



Envasadora al vacío de alimentos para conservar setas secas:



Humidificador de reptiles con manguera, que permite humear contenedores individualmente:



Monitor de calidad del aire, tenemos que medir dióxido de carbono + temperatura + humedad. Para comodidad de trabajo se recomienda comprar un dispositivo con la sonda externa:



Manta calefactora para reptiles desde 14W para incubadoras e invernaderos:



Medidor de pH es útil para cualquier cultivo:



Medidor de pH de laboratorio:



DuPont Tyvek

Cada rata de laboratorio sabe que botes de vidrio con tapas de rosca no son herméticos, entre del bote y la tapa circula una cantidad pequeña de aire. Algunos preguntan, ¿Por qué? La humanidad conserva frutas muchos años con una pasterización simple y los botes se tapan herméticamente. Eso nos indica el sonido de aire entrante al momento de abrir un bote.

En diferencia con la humanidad, perforemos las tapas montando puertos de inyección y ventilación. Por eso a la hora de pasterizar no se genera la diferencia de presiones por dentro de botes y su exterior que aprete bien las tapas. Por eso tenemos que colocar una barrera dentro del bote que protegerá el sustrato de penetración de polvo y microorganismos. Una buena pregunta es ¿De qué material podemos crear dicha barrera?

La corporación *DuPont* ofrece el tejido sintético llamado *Tyvek* que se utiliza para fabricación de monos para salas limpias:

<https://www.dupont.com/brands/tyvek.html>

Un mono desechable *Tyvek Xpert* tiene la tercera categoría de protección química, que determina las siguientes características:

- Mayor resistencia a productos químicos agresivos en bajas concentraciones.
- Capacidad de retener hasta el 99% de las partículas sólidas de más de 1 micrón.
- Impermeabilidad a los líquidos.
- Protección electrostática (EN 1149-1).
- Protección contra sustancias radiactivas (EN 1073-2).

De los cuales nos interesan la capacidad de retener las partículas sólidas e impermeabilidad a los líquidos.



<https://www.dupont.es/products/tyvek-500-xpert-tychf5swhxp-tychf5swhxb.html>

Si Tyvek no está disponible, podemos utilizar para puertos de ventilación *discos filtrantes sintéticos*:

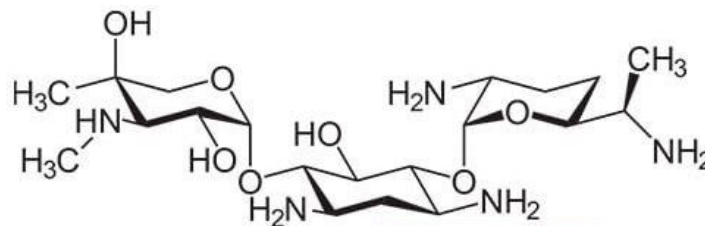


También cinta adhesiva medica *Medipore* o *Omnipor*:



Química y farmacología

Para la protección de sustratos necesitamos algunos antibióticos. Se recomienda *Gentamicina*:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Gentamicina>

Es un antibiótico que se utiliza en la veterinaria y elimina el espectro de hongos enemigos protegiendo sustratos de contaminación. Como una alternativa, podemos utilizar *Cloranfenicol*:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Cloranfenicol>

Peróxido de hidrogeno, también conocido como *agua oxigenada*. Es una sustancia mágica que podemos utilizar para muchas cosas:

- Para desinfección.
- Para protección de sustratos si no está disponible un antibiótico.
- Para contaminaciones (*Cod Web*).

Puede ser como en la forma líquido así en pastillas:





https://es.wikipedia.org/wiki/Peróxido_de_hidrógeno

Ventajas:

- Está compatible con la vida de esporas y micelio, pero el alcohol no.
- No apoya la combustión, pero el alcohol sí.

Como líquido desinfectante se puede utilizar *alcohol*. Es mejor utilizar una solución al 75% porque con agua penetra mejor en las membranas de las bacterias. Por su puesto, tiene sus ventajas:

- Se evapora fácilmente formando encima de superficie una nube estéril en interior de cual es bastante seguro realizar cualquier manipulación.
- Se evapora por completo, sin dejar agua.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Alcohol>

Como líquido desinfectante también se puede utilizar *Clorhexidina*:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Clorhexidina>

En casos de emergencia, por ejemplo, en expediciones, podemos utilizar como líquido desinfectante cualquier *vodka*.

Es mejor utilizar *jabón antibacteriano* que normal:



Bicarbonato de sodio para la preparación de sustratos:



https://es.wikipedia.org/wiki/Bicarbonato_de_sodio

Sulfato de calcio (yeso o alabastro) o *carbonato de calcio* para controlar el pH de sustratos:





https://es.wikipedia.org/wiki/Sulfato_de_calcio

https://es.wikipedia.org/wiki/Carbonato_de_calcio

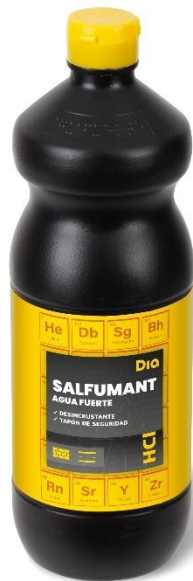
Miel de acacia para preparar el líquido portador:



Agua para inyecciones en ampollas para preparar el líquido portador:



Ácido clorhídrico o *agua fuerte* es la prueba más sencilla de la sustancia mágica. Si hay la sustancia presente, el ácido hará que el tejido de seta se vuelva azul. Cuanto más oscuro es el color, más la sustancia:



El test de *MagicMycology*, un laboratorio genético de alta nivel:



Pureza de procesos

No soy agrónomo, soy botánico, por eso para mí un cultivo no es un campo, es un laboratorio biotecnológico. Como en cualquier laboratorio, mejor mantener un buen nivel de higiene y limpieza para minimizar la posibilidad de contaminación. No vamos a complicarse mucho, será suficiente seguir algunas simples recomendaciones:

Limpiar manos hasta el hombro con agua, jabón antibacteriano y encima con un líquido desinfectante. *Desinfectar todas herramientas* antes de su uso.

Usar guantes, gorros, mascarillas y cubrezapatos.

Si es posible, *trabajar topless*. La humedad natural de pie sostiene microorganismos e impurezas en su superficie, pero la ropa no. Trabajar de tal manera que solo brazos hasta codos estén en el espacio de trabajo, no inclinarse encima de la mesa o de contenedores con sustrato.

No mezclar material con manos, siempre con una herramienta desinfectada.

Rociar el área de trabajo con agua dirigiéndolo hacia el techo. Esto deja caer partículas de impurezas sobre el suelo húmedo, donde permanecen pegadas. Después de rociar, debe esperar unos 10-15 minutos permitiendo que partículas caigan.

En el interior de caja laminar se rocía un líquido desinfectante. Se recomienda poner al fondo de la caja una toalla empapada en un líquido desinfectante.

Existe una forma más eficaz de desinfectar el interior de una caja laminar, rociar alcohol en su interior y golpear inmediatamente con un mechero. Dentro de la caja no solo se quemarán los microorganismos, sino también el aire.

Evitar corriente en el área de trabajo. Las esporas y formas vegetales de competidores se propagan principalmente con corrientes del aire, por lo que cuantas menos de estas corrientes haya en el área de trabajo, menor será la posibilidad de contaminación.

Calentar la aguja de jeringuilla y resfriarla en un líquido desinfectante antes de cada penetración.

No comer cerca de cultivo, no llevar ninguna alimentación por dentro de invernadero.

Mejor si todas las superficies en laboratorio (paredes, puertas, mesas, sillas, estanterías, etc.) serán lisas para su fácil limpieza y desinfección.

Uso de flujo laminar

Para no ponerse paranoico, es importante comprender, cuando necesitamos la pureza alta de procesos y cuando no la necesitamos.



El uso de flujo laminar es obligatorio en casos, cuando abrimos envases con sustratos ricos de nutrientes que son esterilizados o bien pasterizados.

Por ejemplo, si inoculamos un bote con grano añadiendo micelio, tenemos que abrir la tapa. En este caso necesitamos el flujo laminar.

Si inoculamos el mismo bote con suspensión de esporas por el medio de un puerto de inyección de cierre automático – no lo necesitamos. Por eso, los botes preparados como se describe posteriormente sustituyen el flujo laminar.

Al abrir un envase de sustrato madre estéril fuera de flujo laminar la posibilidad de contaminación se acerca a 85-90%.

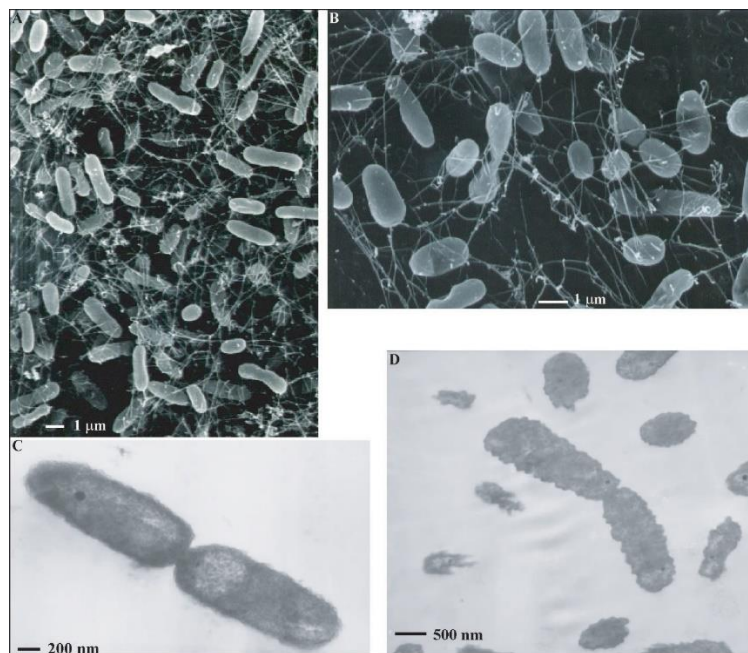
Si no está disponible un flujo laminar, podemos inocular encima de puerta abierta del horno de cocina encendido. El horno formará encima de la puerta un flujo de aire caliente subiendo, es lo mismo que hace cualquier flujo laminar.

Encima de la puerta abierto se ponen unas toallas empapadas con líquido desinfectante.

Esterilización y pasterización

Todos los organismos vivos de la naturaleza compiten por los recursos. El aire que nos rodea es un verdadero océano en cuyas corrientes se mueven muchas bacterias y esporas vivas. Su tarea principal es encontrar los recursos para reproducirse y sobrevivir como una especie.

En este océano de vida hay muchos organismos que amenazan a las setas. Pero también existen organismos beneficiosos, por ejemplo, las *bacterias termófilas*. Como sugiere su nombre, a estas bacterias les encantan las temperaturas elevadas:



https://es.wikipedia.org/wiki/Bacterias_termófilas

Estas bacterias asimilan *carbohidratos simples* libres, impidiendo que lo hacen sus competidores. Por lo tanto, las termófilas son capaces de proteger el sustrato y permitir que el micelio lo colonice primero.

Cualquier medio nutritivo es un objeto de competencia para microorganismos, los *carbohidratos simples* son su objetivo principal. Cuanto más hay en el sustrato, más vulnerable es a las bacterias, por lo que grano rico en *almidón* normalmente se pasteriza para proteger de bacterias.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Almidón>

Los sustratos con menor contenido en *carbohidratos simples*, como heno, paja o fibra de coco, pueden ser esterilizados.

Pasterización

La *pasterización* es un proceso térmico que se realiza en líquidos con la intención de reducir presencia de agentes patógenos que puedan contener.

El objetivo de pasterización es el acceso selectivo a los carbohidratos simples de un determinado tipo de bacterias – las termófilas.

<https://es.wikipedia.org/wiki/Pasteurización>

Pasterización resuelve temporalmente el problema de competidores, permitiendo a micelio colonizar sustrato antes que enemigos.

El proceso de pasterización se llama por honor del químico francés *Louis Pasteur*:



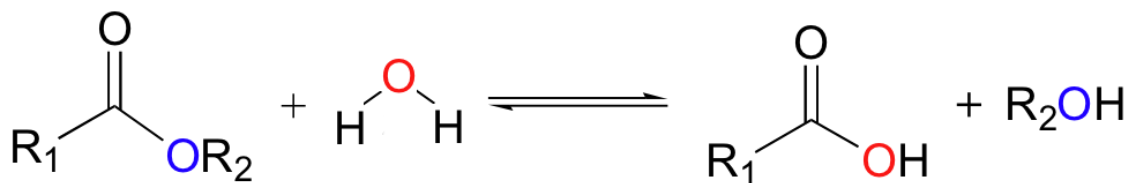
Durante pasterización es importante cumplir no solo la temperatura, sino también el tiempo que se mantiene sustrato a esta temperatura. Comprender la dependencia de la exposición requerida de la temperatura es el camino hacia el éxito.

La *pasterización térmica* es el proceso de tratar un sustrato a una temperatura dentro de un rango determinado durante un tiempo determinado. Cuanto menor sea la temperatura del tratamiento, más deberá durar en el tiempo.

Pasterización de sustrato tiene como objetivo suprimir la actividad vital de ciertos organismos patógenos presentes en el sustrato. Como todos los seres vivos, estos organismos son capaces de vivir y reproducirse en determinadas condiciones. Y estas condiciones para la mayoría de enemigos de las setas están por debajo de los 70 grados.

La temperatura de pasterización de sustrato no debe superar los 70 grados.

Más utilizada es la *pasterización hidrotérmica*, que humedece simultáneamente el sustrato. En este caso se produce el proceso de *hidrólisis*, es decir, la descomposición de sustancias complejas (moléculas grandes y pesadas que el micelio no puede comer) contenidas en el sustrato en otras más simples (los que puede comer fácilmente):



<https://es.wikipedia.org/wiki/Hidrólisis>

Existen tres métodos de pasterización hidrotermal:

- Dura, a una temperatura de 90-100 grados.
- Moderada, a una temperatura de 70-80 grados.
- Suave, a una temperatura de 60-65 grados.

Cada método es bueno para ciertos sustratos y propósitos. La elección del método depende del volumen de sustrato, tiempo de su enfriamiento y tiempo estimado para su colonización por micelio.

El objetivo de pasterización dura es la destrucción de formas vegetativas de diversas bacterias, así como de sus esporas. El problema es que junto con las esporas enemigas se destruyen las esporas de bacterias termófilas.

Para maximizar la preservación de las esporas de bacterias beneficiosas este tipo de pasterización no debe durar mucho, la exposición máxima es de *4 horas*. El sustrato después de dicha pasterización queda prácticamente desprotegido para todo tipo de microorganismos.

La pasterización moderada requiere una exposición más prolongada, de *6 a 12 horas*. Su nivel de protección también es bajo.

Cuando se utiliza la pasterización dura o moderada, existe un alto riesgo de contaminación del sustrato. Por tanto, cuando se trabaja con estos métodos, es necesario mantener la máxima pureza de procesos.

En caso de pasterización suave la exposición debe ser *desde 16 horas*. La protección de sustrato tras dicha pasterización es muy buena.

Trabajando con sustratos pasterizados suavemente se puede olvidar de la pureza de procesos y el riesgo de contaminación.

En cultivo industrial utilizan la pasterización suave por las siguientes razones:

- Con un gran volumen de sustrato no es posible mantener pureza de procesos. No es posible desinfectar todo con el peróxido trabajando con un quintal de estiércol o heno.
- Para ahorrar el sustrato madre con micelio. El grano es relativamente caro, prepararlo en grandes cantidades es un aburrimiento, por eso cultivadores intentan utilizar sólo el mínimo necesario del grano para inocular la máxima cantidad de sustrato base.
- Para aumentar la productividad. Heno y aserrín deben descomponerse de forma más natural posible, esto se facilita por pasterización a largo plazo (en Internet se puede encontrar gráficos de productividad según el tiempo de pasterización de sustrato).
- Con otros métodos de pasterización existe una probabilidad alta de contaminación del sustrato base que provoca pérdidas económicas y de tiempo significantes.

Existe un método de pasterización sin calentar agua, en frío, para eso se utiliza *cloro* (un líquido blanqueador o desinfectante). Por ejemplo, podemos pasterizar heno remojando con agua fría de grifo con *cloro* durante unas 12 horas.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Cloro>

Esterilización

Se denomina *esterilización* al proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos.

[https://es.wikipedia.org/wiki/Esterilización_\(microbiología\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Esterilización_(microbiología))

Una buena autoclave es un dispositivo bastante caro, para un cultivo privado podemos aportarse con una olla a presión. Dicha olla proporciona la temperatura fija alrededor de 120 grados, es decir que hablamos de *esterilización*.

Con la olla podemos probar *pasterizar* el sustrato, se hace con la siguiente manera: dejamos el agua a hervir y apagamos el gas, esperamos que baje un poco la temperatura, encendemos el gas y llevamos el agua hasta hervir otra vez. Repetimos esos pasos durante las horas necesarias. Para la pasterización mejor si la olla tiene también un termómetro.

Fermentación

En cultivo industrial después de pasterización suave se realiza la *fermentación* a una temperatura de 45-55 grados para que las bacterias termófilas ganen población.

La fermentación se produce durante un enfriamiento muy lento. Para conseguir este enfriamiento tan lento se utilizan *mantas de rescate*.

La fermentación era descubierta por un químico alemán *Eduard Buchner*, el fundador de bioquímica:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Fermentación>

En lugar de una temperatura determinada, se puede pasterizar sustratos con varias temperaturas:

- Empezamos pasterizando durante 45 minutos a 70 grados.
- Luego pasterizamos durante 45 minutos a 60-65 grados.
- Cerramos el recipiente, envolvemos a una manta de rescate, encima en una manta normal y dejamos enfriarse de forma natural hasta la temperatura ambiental.

En este caso la temperatura desciende gradualmente a lo largo de varias horas lo que produce una fermentación más intensiva.

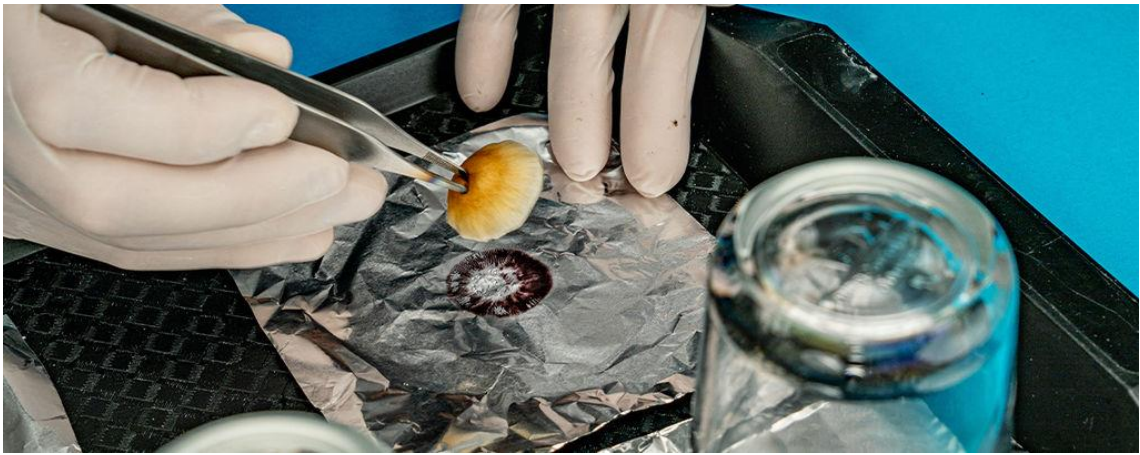
Impresión (esporas)

El micelio más joven producirá mejores impresiones. Por lo tanto, se recomienda tomar setas de la primera ola que tienen sombreros bien abiertos. El velo debe estar rasgado y negro en los lugares donde han caído esporas:



Normalmente impresiones esperan durante 24 horas:





Envolvemos impresiones en papel aluminio y cerramos en bolsas desechables zip:



Las impresiones se almacenan en un lugar seco y oscuro. Mejor en el frío, las temperaturas bajas ralentizan desarrollo de microorganismos.

Impresiones obtenidas de esta manera no son estériles, son relativamente limpias. Obtener impresiones estériles es técnicamente muy difícil. Y es aún más difícil mantener su esterilidad durante el almacenamiento.

Si no está disponible el papel aluminio, se puede obtener impresiones sobre papel para impresoras. En un sobre grueso colocamos algunas hojas de papel, cerramos el sobre y lo planchamos 2-3 minutos con un chorro de vapor.

Esporas en líquido portador

La forma más sencilla de inocular grano es con agua y jeringuillas. Se utiliza agua mineral o filtrada introduciéndola en una jeringuilla después de hervir durante 2-3 minutos. La jeringuilla se enfría en una bolsa para desayunos con gel térmico:



Podemos no complicarse tanto y utilizar *agua para inyecciones en ampollas*.

Preparamos una jeringuilla de 20 mililitros con agua fría. Echamos una parte de agua de la jeringuilla a una copa de vidrio y raspamos esporas a la copa.

No se falta raspar la impresión entera, una pequeña cantidad de esporas es suficiente para inoculación. Se recomienda tomar sobre $\frac{1}{4}$ parte de una impresión grande o $\frac{1}{2}$ de una pequeña para 20 ml de suspensión. Cuantas menos esporas entren en la jeringuilla, menos colonias de micelio individuales crecerán en cada bote. A continuación, veamos por qué esto es bueno.

Añadimos con fuerza otra porción de agua para romper grupos de esporas. Inmediatamente extraemos la suspensión dentro de la jeringuilla. Repetimos este paso 2-3 veces para recoger de la copa la máxima cantidad de esporas.

Empaquetamos la jeringuilla en papel aluminio y dejamos por 24 horas a una temperatura ambiental para rehidratación de esporas.

Añadimos *gentamicina*, 1 ml por 10 ml de agua, es suficiente para prevenir contaminación (si no está disponible, añadimos *peróxido de hidrógeno* en la misma cantidad). Dejamos la jeringuilla por unos 15-20 minutos. No se recomienda dejar la suspensión en antibiótico por muchas horas, mejor añadirlo justo antes de inoculación de grano.

La suspensión de esporas en jeringuillas está preparada y lista para inoculación.

Esporas en agar

En lugar de un medio líquido se recomienda trabajar con un medio duro – el agar. Los dos medios ofrecen más o menos el mismo resultado, pero el agar tiene una serie de ventajas:

- En caso de medio líquido, es imposible determinar visualmente si está contaminado o sano. Para ello, es necesario realizar una siembra de control. En caso de agar una contaminación se detecta visualmente.
- En caso de mucho trabajo (cultivo industrial), el agar es más cómodo de manejar porque no es un líquido.

- Es más nutritivo y más fácil de colonizar para el micelio comparando con medios líquidos.

Agar se utiliza para inoculación de grano añadiéndose a los botes, pero en este caso inoculamos grano con micelio en lugar de esporas.

En caso de agar la incubación pasa doble más rápido porque las esporas no tienen que despertarse y pasar primeras fases de crecimiento. Veamos lo que pasa cuando una espora cae en grano:

- Tiene que *despertarse*.
- Tiene que empezar crecer el *micelio monocariótico*.
- Tiene que empezar crecer el *micelio diocariótico*.
- Solo ahora el micelio empieza *colonizar grano*.

El agar e inoculación con micelio nos permite saltar tres primeros pasos. Además, esos pasos en el agar pasan más rápido que en cualquier grano.

El agar es una buena posibilidad disminuir significante el tiempo de incubación.

El flujo de cultivo con agar requiere dos incubadoras, en una el micelio se reproduce y en otra coloniza el grano. Es algo parecido al cultivo de plantas de clones:

- Colocamos las esporas en agar y en la primera incubadora. Esperamos crecimiento de micelio. Si el micelio crece demasiado rápido, trasladamos un pequeño fragmento a la otra taza haciendo la selección en el fondo del proceso.
- Inoculamos botes con el micelio obtenido y colocamos los botes a la segunda incubadora.
- Inoculamos el sustrato base y lo pasamos a la fructificación.

La idea es que las dos incubadoras tienen que ser ocupadas siempre.

Preparación de agar

El agar se puede comprar en polvo (disolver en agua y procesar en autoclave) y rellenar las tazas en propio laboratorio que será más rentable que comprar todo preparado.

También se puede preparar su propio agar de trigo integral.

Inoculación (grano)

Para inocular un bote de 3 L se utilizan unos 20 ml, para 1 L unos 0,5 ml de suspensión de esporas.

Se recomienda agitar bien los botes con grano como antes así después la inoculación. Los botes inoculados se colocan a la incubadora. A continuación, veamos cómo preparar correctamente dichos botes y grano.

Envases

El micelio se cultiva en un envase. Lo que tenemos que hacer es preparar estos envases de la manera correcta.

Botes de vidrio están recomendados para aquellos que todavía muestran un nivel alto de contaminación y para novatos.

Ventajas:

- Permiten crear más niveles de protección que cualquier otro envase. Como consecuencia, proporcionan menor posibilidad de contaminación de micelio del exterior.
- Son transparentes, se ve bien el sustrato, crecimiento del micelio, posibles contaminaciones.
- Son duros, protegen el micelio de traumas durante observaciones.
- No se rompen tan fácil comparando con bolsas de cultivo, por ejemplo, en el interior de autoclave.

Botes de vidrio

Veamos cómo aplicar *Tyvek*. Se recomienda construir la barrera de dos capas, los trozos de tela deben doblarse con el lado rugoso hacia adentro. Este tipo de barrera podemos aplicar no sólo para grano, también para medios líquidos porque *Tyvek* es resistente al agua:



En cada tapa perforamos dos orificios. Un orificio es el *puerto de inyección de cierre automático*, se cubre con silicona termorresistente. El otro es de *ventilación*, se cubre con dos capas de *Tyvek*. La primera capa se pega a la tapa, luego encima se pega la segunda alrededor de la primera, para tener dos círculos de silicona por la tapa un por dentro del otro:



Para su crecimiento el micelio necesita oxígeno, sin oxígeno no va a crecer y sus competentes colonizaran primeros el sustrato. Silicona se corta con una herramienta afilada para no ejercer presión sobre *Tyvek*:



Hay que tener en cuenta que este tipo de silicona se endurezca bastante lento, necesita 6-8 horas para secarse por completo. Si la silicona no está disponible, podemos aportarnos con cinta adhesiva medica:



Un flujo laminar ofrece el nivel alto de pureza, como una opción, podemos abrir botes y echar la suspensión directamente al grano.

Bolsas de cultivo

Al conseguir unas buenas cosechas con botes de vidrio vamos a pasar a las bolsas de cultivo que tienen una serie de ventajas:

- Ocupan de la forma óptima el volumen de autoclave u olla a presión.
- Son desechables, no se falta limpiar y secarles.
- Necesitan mucho menos espacio para su almacenamiento.
- No se rompen en fragmentos afilados.
- Son más económicos que botes de vidrio.
- Requieren menos material y trabajo para su preparación (tienen el puerto de ventilación, no se envuelven en papel aluminio para esterilizar, etc.).
- No se explotan por cambio de presión o temperatura.

Las inyecciones podemos hacer por el mismo puerto de ventilación tapándolo con una toalla remojada en líquido desinfectante.

Sustrato madre

Una gama amplia de grano puede ser colonizado por micelio, lo importante es preparar el grano correcto. Las opciones recomendadas:

- Trigo integral.
- Avena sin pelar.
- Alpiste.

Trigo integral se recomienda para aquellos que ya tienen un bajo porcentaje de contaminación.

Es el grano más nutritivo y más usado en microbiología, del trigo vamos a preparar el agar. Se puede comprar cualquier, como grano caro ecológico para germinación casera así grano barato alimentario para animales:



Desventajas:

- Incluso si se cumplen las condiciones de preparación, algunos granos revientan y se convierten en papilla formando puntos posibles de alta humedad y contaminación posterior.
- Granos de trigo cubiertos de micelio se juntan muy bien, es bastante difícil de separarlos agitando botes.

Avena sin pelar se recomienda para novatos y aquellos que aún presentan un alto porcentaje de contaminación.

Ventajas:

- Incluso si está ligeramente sobrecochado, no se revienta ni se convierta en papilla.
- Incluso si está muy cubierto de micelio, se separa bien al agitar botes.

Desventajas:

- El tamaño de grano es mayor respecto al trigo o alpiste lo que significa que con el mismo volumen habrá menos puntos de inoculación.
- Con el mismo peso seco, ocupa más volumen en botes comparando con trigo o alpiste.

Como una opción intermedia se puede utilizar avena mezclada con trigo a 50/50.

Alpiste se recomienda para aquellos quien trabaja seguro con trigo y avena mostrando bajo porcentaje de contaminación. No recomendado para novatos.



Sin embargo, alpiste es el mejor grano para cultivo de micelio. Ventajas:

- Tamaño de grano pequeño, unas 3 veces más pequeño que de trigo. Esto significa que con el mismo volumen habrá 3 puntos de inoculación en lugar de uno, lo que a su vez acelera la colonización.
- Granos tienen cáscara dura, casi no se producen granos reventados.
- Incluso si está muy cubierto de micelio, se separa bien al agitar botes.

Desventajas:

- Debe estar previamente remojado mucho tiempo.
- Es fácil prepararlo demasiado seco.

De acuerdo con *Paul Stamets*, cualquier grano seco se coloca en un bote, se echa una cierta cantidad de agua y se coloca en autoclave para su pasterización. Durante de pasterización el grano absorbe el agua y se ablanda.



https://es.wikipedia.org/wiki/Paul_Stamets

Cualquier grano se pasteriza durante 1 hora y 20 minutos desde el momento en que se genera la presión.

El grano pasterizado o esterilizado puede almacenarse en botes sin quitar papel aluminio durante 2-3 días.

Remojo

Antes de su preparación cualquier grano tiene que ser lavado y remojado en agua de grifo. Colocamos grano en un recipiente hondo y espacioso y lo lavamos eliminando todas las impurezas flotantes.

Echamos el agua, cerramos con una tapa y dejamos en remojo por 1 día. Al abrir la tapa, tenemos que sentir un olor agrídulce que significa que la mayoría de bacterias se despertaron

y comenzaron a multiplicarse felizmente. Es mucho más fácil combatir las bacterias en estado activo. Lavamos nuevamente el grano, escurrimos agua.

Preparamos la solución disolviendo 1 pastilla de *gentamicina* o 6 pastillas de *peróxido de hidrógeno* (100 ml en líquido) por cada 1 L de agua y echamos la solución al grano. Dejamos en remojo hasta la pasterización.

En total grano debe remojar durante un mínimo de 12 horas, mejor de 24 horas. Debe permanecer en la solución desinfectante por lo menos las últimas 6 horas.

Se puede lavar o no lavar el grano después porque durante cocinarlo el desinfectante se vaporizará.

Cocido

Se recomienda cocinar ligeramente el grano antes de su pasterización, eso facilita a micelio la extracción de nitrógeno del sustrato. También, cuando se pasteriza el grano cocido, absorbe mejor la humedad libre de bote. Menos humedad libre significa menor posibilidad de contaminación por patógenos. El problema con humedad se soluciona también añadiendo vermiculita a los botes.

No cocinar a fuego alto, eso provoca que granos revienten y se convierten a parilla formando puntos con humedad elevada que pueden convertirse a puntos de contaminación. También impiden la circulación del aire. El objetivo es conseguir el mínimo posible de granos reventados, cuando se aparecerán inmediatamente apagamos el fuego.

Remover grano durante de cocinarlo, eso disminuye la cantidad de granos reventados.

Si en el grano preparado se ven muchos granos reventados hay que disminuir la exposición. Mejor trabajar con grano demasiado crudo que con demasiado cocido. Tener en cuenta que el grano continúa ablandarse durante su pasterización y resfriamiento posteriores. No cocinar ningún grano más de 30 minutos.

Trigo integral se cocina unos 20 minutos.

El grano cocido puede esperar la pasterización en el frío durante 2-3 días.

El micelio puede soportar una parte del grano sobrecocido. El comerá todo lo que le rodea y rodeará la zona no comestible con un pelaje muy denso y esponjoso:



No es necesario cocinar la avena sin pelar.

La avena debe remojar en agua fría durante 1 día. Luego se debe lavar a fondo, escurrir el agua y colocar en botes para pasterizar.

Esterilización de trigo integral

Echamos 1 cucharada de vermiculita al fondo. Pero no más, demasiada vermiculita provoca que el grano se queda seco y el micelio no lo colonizará. La regla general es 1 cucharada por cada 1 L de volumen:



Echamos grano en un colador fino, agitamos un par de veces para escurrir la mayor parte de agua. Sin secar ni dejar escurrir, colocamos inmediatamente grano en botes.

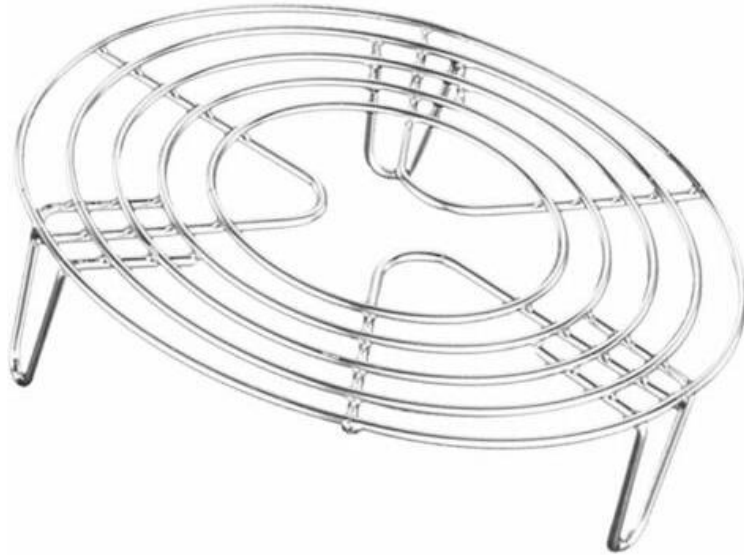
Botes se llenan tal manera que el grano ocupa 2/3 del volumen. El espacio libre facilita la agitación y minimiza contacto de grano con *Tyverk*:



También hay que tener en cuenta que, si un bote contiene mucho grano, el micelio creciendo va a disminuir para su mismo la cantidad de oxígeno entrante, así el fondo de bote puede quedarse no colonizado.

Cubrimos el bote con *Tyverk* y atornillamos bien la tapa. Colocamos botes a la olla.

Los botes no colocan en el fondo porque pueden explotar por cambio de temperatura, mejor encima de una rejilla o una toalla puesta al fondo:



Con el mismo objetivo hay que envolver botes en papel aluminio. También se cubren las tapas para no mojar el filtro de aire:



No se recomienda soltar vapor a través de la válvula de la olla, los botes pueden explotar por la caída de presión.

No se recomienda sacar botes enseguida al abrir la olla, se explotan por cambio de temperatura y presión. Mejor dejarles por un rato en la olla abierta.

Para esterilizar las bolsas de cultivo mejor colocar a la olla una especie de soporte de varios niveles parecido a este:



No importa mucho cuando agua hay en la olla, tiene que ser algo sobre 2/3.

Esterilizamos los botes durante 20-30 minutos desde el momento en que se genera la presión.

Inoculación con suspensión

Antes de atravesar el puerto con aguja, encima de silicona se echa un líquido desinfectante. El punto posible de contaminación del bote es únicamente el punto de inyección. Si se cubre con un líquido desinfectante, la probabilidad de contaminación es muy baja:



Inoculación (heno)

El cultivo de setas sobre heno es la técnica de cultivo más sencilla y rentable.

El heno se puede *inocular con esporas o micelio directamente*, sin pasar por grano.

Algunos manuales dicen que el heno como la base de sustrato es demasiado pobre de nutrientes, por lo tanto, las setas que se cultivan en él contienen menos cantidad de la sustancia mágica en comparación con las setas cultivadas en grano puro. Está probado por muchos micólogos, la capacidad mágica de setas es igual.

La cantidad de nutrientes de grano es por supuesto mucho mayor que de heno, pero sólo si tiene el mismo peso seco. Si tomamos una cantidad mayor de heno en peso seco, se produce una compensación de nutritivos.

También hay que tener en cuenta que el micelio es el organismo único y distribuye todos nutrientes de manera uniforme dentro de sí mismo. Se produce la suma de nutrientes, obtenidas tanto de grano madre como de heno mezclados.

Desventajas:

- Los procesos de corte, lavado y remojo no son muy wau.
- Uso de ollas grandes. ¡CUIDADO CON WATERES, ALGUNOS YA ESTÁN ROTOS!
- Uso de grandes volúmenes del agua caliente, cuya eliminación no siempre es conveniente. ¡CUIDADO CON LAS PIES!
- Necesidad de esperar hasta que el heno se remoja y se escurra el exceso de agua, que ralentiza el ritmo de cultivo.
- Bailes con el termómetro durante la pasterización.

Corte y remojo

Secamos bien el heno recogido, luego cortamos en trozos de unos 5 centímetros:



Enjuagamos heno con la mayor cantidad posible de agua de grifo creando el flujo en una bañera para eliminar polvo. Para eso metemos heno en una almohada en la que será mucho más cómodo de lavar y pasteurizarlo. Colocamos en un recipiente:



Rellenamos con agua de grifo y dejamos en remojo durante 24 horas. Cambiamos el agua y dejamos en remojo durante 24 horas más. Escurrimos el agua.

Pasterización

En una olla colocamos el heno lavado y húmedo en almohada. Vertimos el agua hervida. Colocamos un termómetro dentro del sustrato para controlar la temperatura y encendemos el fuego:



El heno se pasteriza durante 6 horas a una temperatura de 60-65 grados. La temperatura tiene que estar entre de 60 a 65 y no debe exceder los 70 grados.

Evidentemente, la temperatura de sustrato en la parte inferior será mayor ya que el calentamiento se produce desde abajo. Sólo importa la temperatura dentro del sustrato, es decir, la temperatura media. Incluso si la temperatura en la parte inferior alcanza los 85 grados y en la parte central será de 65 a 70 grados, el procedimiento se completará con éxito en todo el volumen.

Al finalizar, escurrimos el agua y dejamos enfriarse y quitar agua libre durante unas horas.

Podemos pasteurizar a 70-80 grados durante aproximadamente 2 horas o a 50-60 grados, pero dentro de unas 24 horas. En este caso, llenamos el heno con agua caliente y lo envolvemos en mantas, cambiando el agua una vez cada 6 horas.

Es importante cambiar el agua para agotar el heno del exceso de azúcar y otros nutrientes que atraen a los competidores. Y se necesita una temperatura exacta para su destrucción selectiva. Las bacterias termófilas, por el contrario, se multiplicarán y no permitirán que los competidores primeros colonicen el sustrato.

Esterilización

Para novatos se recomienda esterilizar el heno. Tenemos que encontrar el equilibrio óptimo de agotamiento. Si remojar el heno durante más tiempo o incluso lo hervir durante unos 30 minutos antes de esterilizarlo, contendrá menos azúcar, pero también menos recursos nutricionales. El rendimiento de cultivo disminuirá, pero también disminuirá la posibilidad de contaminación.

El heno se puede esterilizar en botes para grano. Después del remojo, se debe exprimir bien el heno, colocarlo no muy apretado en botes, taparlo con tapas con filtros y esterilizar en una olla a presión durante 1,5 horas. En caso de cultivo industrial se puede hervir heno en la olla durante 1 hora.

Inoculación con grano

Tenemos que mezclar el grano colonizado de los botes con el heno esterilizado.

Para empezar, seleccionaremos recipientes para la fructificación. Puede ser cualquier cosa que cabe en la caja laminar y la incubadora y que sea lo suficientemente transparente para notar contaminación. Puede ser una manga larga de plástico, bolsas para hornear, botes de vidrio, contenedores de 1-1,5 L o cubos plásticos de 3,5 L. Se recomienda la última opción.

Las tapas de estos cubos se cierran casi herméticamente. Tenemos que perforar orificios de ventilación y cerrarles con *Tyverk*. Si no hay tapas, podemos utilizar el papel aluminio, pinchamos orificios de ventilación y sellamos con cinta adhesivo.

Echamos una fina capa de grano en el fondo del cubo. Colocamos una capa de heno encima del grano. Luego otra capa de grano y así sucesivamente. Basta con llenar el cubo a 2/3 o 3/4

de su capacidad. No llenarlo por completo, el micelio puede llegar a la tapa y bloquear el flujo de aire.

La proporción entre grano y heno debe ser como máximo de 1:1, es decir, aproximadamente 1 L de heno por 1 L de grano. Se recomienda mezclar 1 volumen de heno con aproximadamente 0,2-0,3 volúmenes de grano.

Nivelamos la última capa de heno para que sobresalga el menor número posible de tallos y la cubrimos con una fina pero densa capa de grano. Esto es necesario para que los invasores potenciales no se instalen en material esterilizado, sino en grano cubierto del micelio, que a su vez los matará. Si la capa superior se coloca incorrectamente, puede ocurrir lo siguiente:



Es necesario retirar el sustrato del cubo y evaluar el alcance de la contaminación. Se eliminan los fragmentos contaminados. Si aproximadamente la mitad del sustrato se ve afectado, el bloque se desecha. Cerramos el cubo con la tapa:



Los botes con heno no utilizadas también podemos contaminar con grano, pero como primero debe asegurarse de que el heno no esté demasiado compactado y que no quede agua libre en

el fondo. Para hacer esto, tenemos que crear un embudo en el heno con una herramienta larga hasta el fondo. Este embudo se rellena de grano:



Lamentablemente, para poder sacar el sustrato para la fructificación tenemos que romper el bote. Podemos simplemente abrir la tapa, pero en este caso las setas crecerán sólo en una pequeña parte de la superficie del sustrato.

Volvamos a nuestros cubos. Es poco probable que los tallos presionados contra las paredes del cubo se cubran de micelio. Debemos aplastar el cubo para que estos tallos se alejen de las paredes. Así es como se ve el heno, completamente desarrollado por micelio:



Es mejor arrancar o cortar los tallos grandes y duros que no están cubiertos de micelio. El micelio se comerá fácilmente todo lo demás.

Llenamos el sustrato con agua directamente en el cubo, lo cerramos herméticamente con una tapa sin ventilación, lo metemos en frío, lo colocamos en la incubadora y lo preparamos para la fructificación. La primera ola se puede cultivar en el cubo (*HybridA+*):



Para su posterior fructificación, es necesario colocar el bloque sobre un soporte (*Pink Buffalo*):



Incubación (micelio)

Tenemos que proporcionar al micelio mejores condiciones para colonización más rápida de sustrato, para eso:

- Utilizamos grano de fracción más fina para sustrato madre. Cantidad de puntos de inoculación para el mismo volumen de grano seco puede ser 4 o más veces mayor.
- Utilizamos una gran cantidad de sustrato madre para inocular el sustrato base.
- Mezclamos muy bien los dos sustratos. Al viajar por sustrato durante de mezcla, granos pierden pequeños trozos de micelio creando nuevos puntos de inoculación.
- Mantenemos la temperatura y humedad óptimas del sustrato para crecimiento del micelio.

Incubadora nos permite crear una temperatura elevada para *despertar las esporas* y ayudar a crecimiento del micelio.

Una incubadora tiene que cumplir los siguientes requisitos:

- Ser grande.
- Ser económica.
- Ser bien ventilada.
- Ser calentada.
- Ser seca.

En la naturaleza micelio crece debajo de la superficie de la tierra, por eso la incubadora no necesita ninguna iluminación.

Podemos simplificar nuestra incubadora hasta una caja de cartón con una manta calentadora para reptiles por dentro. Parte superior de la caja no debe ser hermético, el aire templado tiene que salir para no provocar sobrecalentamiento. Por la misma razón mejor no poner los botes encima de la manta, poner en primero una toalla. El interior de la caja podemos aislar con *poliestireno*:



La temperatura de incubación debe estar en el rango de 28 a 30 grados. Es muy importante mantener la temperatura constante, el micelio crecerá más pronto.

No es necesario estar encima con un termómetro, en la naturaleza, la temperatura a menudo fluctúa y setas lo toman con calma.

Normalmente la incubación dura 10-14 días, el micelio se aparece al 5-7 día (7-9 con un antibiótico). No se recomienda superar mucho el tiempo de incubación, si durante 2-3 semanas en un bote no se aparece el micelio, algo va mal, desechamos del bote.



Ahora tenemos que agitar botes. Esto se hace para romper los grupos de granos juntados con micelio por granos separados y distribuirlos de manera uniforme por todo el volumen de bote. Esto crea un mayor número de puntos de inoculación y significativamente reduce el tiempo de colonización del sustrato madre:



Agitación de los botes en la fase inicial puede ralentizar el crecimiento del micelio por 2-4 días.

Los botes no se agitan cada el día, así no podemos a ver el crecimiento del micelio. Después de agitar el micelio puede prácticamente desaparecer:



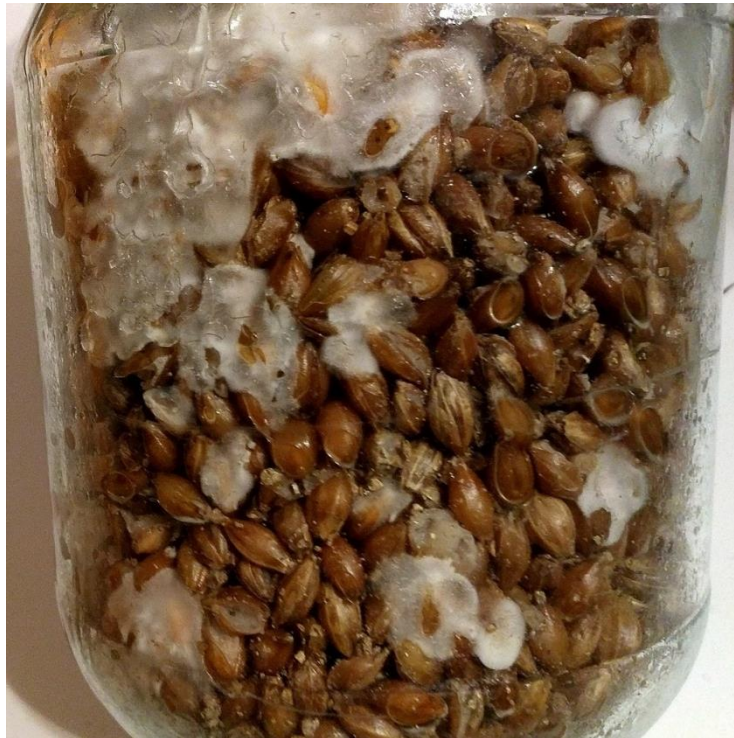
Es normal, devolvemos botes a la incubadora y aproximadamente 5-7 días más tarde el micelio coloniza grano por completo:



En este momento será visible la diferencia entre las cepas. Por ejemplo, *Ecuador*, *Pink Buffalo* y *Argentina*:



El exceso de agua en botes que se presenta en forma de gotas en los puntos de contacto de granos con vidrio provoca acidificación del sustrato:



El problema se soluciona agitando botes si hay suficiente cantidad de vermiculita en el fondo para absorber agua.

Si las gotas se ven turbias o hay un olor agridulce similar a la sidra de manzana que sale del filtro de aire, podemos sin duda tirar el bote.

Consideremos la situación cuando nada crece en los bancos. Las razones más probables son:

- Otra forma de vida, bacterias o contaminantes, crece silenciosamente en el bote. Tarde o temprano se manifestará y habrá que desechar el bote.
- Demasiado seco (no hay transpiración en el cristal). Podemos agregar agua esterilizada con una jeringa y agitar el bote.
- Demasiado húmedo (se acumula agua libre en el fondo). Si no hay vermiculita en el bote para bajar la humedad, no podemos hacer nada, habrá que desechar el bote.
- Demasiado antibiótico. No se recomienda que el volumen de antibiótico sea superior a 1/10 del volumen de la suspensión. No se recomienda mantener las esporas en el antibiótico durante más de 15 a 20 minutos.

El micelio tiene que colonizar grano por completo antes de trasladarlo al sustrato base.

Muy poca cantidad de micelio va a colonizar el sustrato base mucho tiempo que ralentiza cultivo industrial subiendo la probabilidad de contaminación.

Crecimiento vegetativo de micelio (multiesporas)

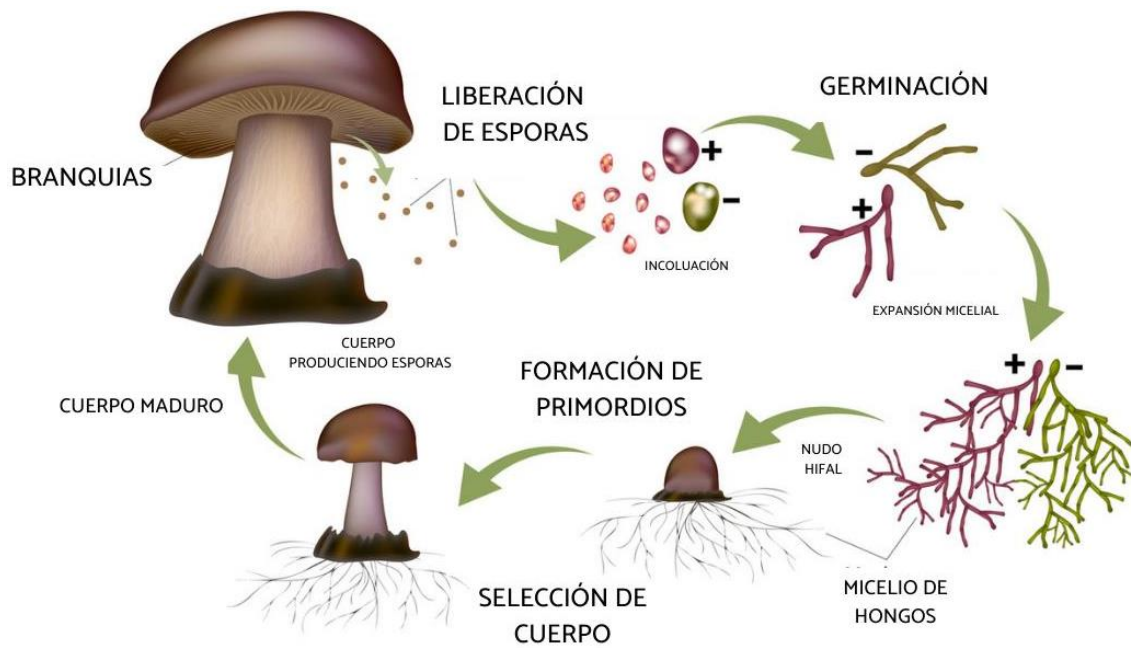
El material genético obtenido con papel aluminio se llama *multiesporas*. El micelio cultivado con esa técnica da una buena cosecha, pero tiene numerosas desventajas:

- Distribución desigual de primordios en el sustrato base incluso con una capa de cobertura uniforme y correctamente hecha. Algunas zonas del sustrato pueden quedarse no colonizados.
- Uso ineficaz de nutrientes por parte de micelio lo que reduce el rendimiento de cultivo.
- Muchos abortos de primordios incluso con pleno cumplimiento de las condiciones de fructificación.
- Aparición de setas con morfología incorrecta incluso con pleno cumplimiento de las condiciones de fructificación.
- Diferente tiempo de crecimiento y madurez de setas que complica la cosecha. En caso de *multiesporas* las setas crecen como sea, mientras unas crecen rápidamente hacia arriba otras abren sombreros antes de alcanzar unos 2 cm de altura.
- Diferentes cuerpos frutíferos tienen diferentes concentraciones de la sustancia mágica que provoca el problema con dosificación.



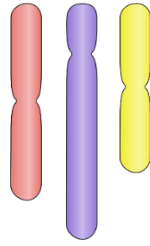


Consideremos con más detalle qué es el micelio obtenido por inoculación *multiesporas*, así como la reproducción de setas:

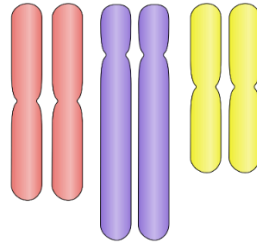


Una impresión pequeña contiene una gran cantidad de esporas individuales. Cada espora que germina es la *célula vegetativa monocariótica* (contiene un solo núcleo). Esta célula es una *haploide*, es decir, tiene un juego de cromosomas no apareado:

Haploid (N)



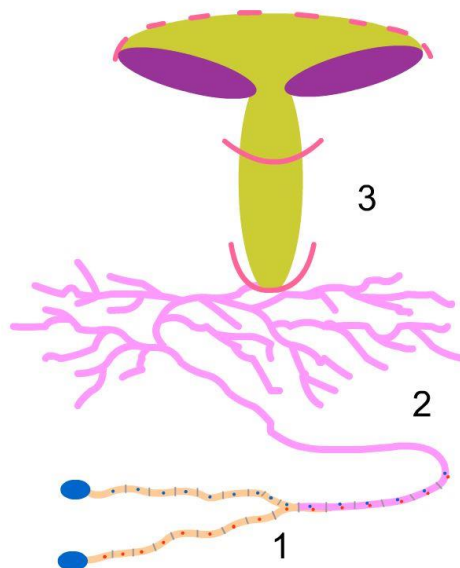
Diploid (2N)



https://es.wikipedia.org/wiki/Célula_haploide

<https://es.wikipedia.org/wiki/Germinación>

Esta célula comienza a dividirse formando un *hilo de micelio monocariótico*. Cuando dos hilos de micelio, que crecen a partir de diferentes esporas, se encuentran y al mismo tiempo encajan entre sí (se dividen según el sexo en positivas y negativas), se conectan formando un *micelio dicariótico*, cada célula del cual tiene dos núcleos y el juego completo de cromosomas:



(1) Micelio primario *monocariótico*, (2) Micelio secundario *dicariótico*, (3) Micelio terciario formando *plecténquima*.

A su turno, aquellas parejas creciendo y encontrándose en el sustrato con otras parejas formaran lo que se llama *colonias*. Cada colonia lleva su propio conjunto de *ADN*, que determina la forma, el tamaño y otras características de las setas que produzca:



Una gran cantidad de esporas forma una gran cantidad de colonias de micelio diferentes. Algunas de estas colonias pueden interactuar entre sí, otras no. Por lo tanto, un bote de grano cubierto de micelio *multiesporas* contiene muchas colonias diferentes, muchas de cuales crecen aisladas entre sí y bajo ninguna circunstancia formarán cuerpos fructíferos.

Ahora queda claro por qué la formación de primordios de *multiesporas* se produce de manera desigual. Cada colonia individual tiene su propia genética por eso varía el tiempo de formación de primordios.

Las técnicas de *aislamiento de cepas* y de *clonación* nos ofrecen una probabilidad alta de que las colonias cultivadas están compatibles entre sí.

Aislamiento de cepas

Para evitar los problemas relacionados con *multiesporas* se utiliza una técnica de selección llamada *aislamiento de cepa*:

- Añadimos una pequeña cantidad de esporas a una taza Petri con agar intentando coger la menor cantidad de esporas posible.
- Cuando la taza comienza a cubrirse de micelio, transferimos un pequeño trozo de micelio que nos guste más a una otra taza.

- En la otra taza, a partir del fragmento transferido, crecerán solo aquellas colonias que estaban contenidas en este pequeño trozo y aquellas son compatibles entre sí.
- Así en cada una taza posterior la cantidad total de colonias de disminuye. Realizamos tantas transferencias cuantas sean necesarios.

En final obtenemos la *cepa aislada* que tiene una serie de ventajas:

- El micelio es compatible consigo mismo, es seguro que va a fructificar.
- Al cubrir sustrato, el micelio será más o menos homogéneo y los nutrientes del sustrato se aprovecharán de la forma más eficiente posible.
- La formación de primordios será casi simultánea, es decir, la genética del micelio será uniforme.
- Cantidad de la sustancia mágica en todos los cuerpos será uniforme.
- Colonización de sustrato con el micelio será más rápida.
- Los cuerpos fructíferos serán aproximadamente del mismo tamaño:



Aislar una cepa es un proceso largo, requiere una caja laminar y la pureza máxima de procesos. Pueden ser necesarias decimas de transferencias. Durante aislamiento es obligatorio comprobar periódicamente la fructificación. En algunos casos el cultivo aislado no sea capaz de formar cuerpos fructíferos, pero puede crecer maravillosamente en agar y sustrato base.

Después de un cierto número de transferencias el micelio pierde capacidad de reproducirse.

Por esta razón cualquier cultivador industrial depende de su proveedor de material genético. A veces es necesario refrescar la genética con que trabajamos:



Clonación

Clonación de cuerpo fructífero es la técnica muy útil, permite elegir cualquier seta y reproducirla en cualquier cantidad. Esa técnica facilita obtención de micelio de setas comestibles de las tiendas: compramos setas por su gusto, clonamos y obtenemos el micelio que nos da la impresión de esporas.

Es una buena forma de aumentar la cantidad y la calidad de cultivo en las mismas condiciones de crecimiento. Cuerpos fructíferos serán casi idénticos, primordios se formarán de manera uniforme y el sustrato se cubrirá de micelio más rápido.

Para tener confianza en la capacidad de un conjunto determinado de colonias para formar cuerpos fructíferos, se puede recoger un cultivo para su aislamiento posterior directamente de cuerpo fructífero. Esta técnica se llama la *clonación*.

Se toma una muestra de cultivo del interior de una seta y se coloca en agar. Al encontrarse en condiciones de crecimiento vegetativo (falta de intercambio aéreo y de luz), el micelio comienza a colonizar agar. En la taza obtenemos un conjunto de colonias que forman la parte de seta original de la que se tomó la muestra.

Incluso clonando cuerpo fructífero no obtenemos una cepa aislada. Esto puede verse en el agar por patrón de crecimiento del micelio, en diferentes zonas de la taza crecerán colonias individuales de micelio.

Habiendo colonizado el sustrato las colonias comienzan a formar cuerpos fructíferos. Es un punto importante, otra vez, los cuerpos fructificados no se formarán hasta la colonización completa de sustrato.

Las colonias que forman cuerpo en la zona de tallo pueden ser completamente diferentes a las que forman la zona de sombrero, es una especie compleja.

La técnica descrita no requiere algunos equipos, se puede trabajar en una habitación bien ventilada o al aire libre. Utilicemos un medio líquido.

Será ideal, si la seta elegida es de primera ola y con velo del sombrero aún sin romper. Si en la muestra caen esporas de esta o de cualquier otra seta, volvemos a obtener *multiesporas*.

El cuerpo fructífero debe provenir de las setas que formaron primordios como primeras y se encuentran entre las más grandes. Se recomienda elegir una seta entre aquellos que crecen en grupo. En este caso las setas cultivadas a partir de la cepa cubrirán el sustrato más densamente.

También es necesario asegurarse de que la seta está bien desarrollada, no tiene defectos físicos. Necesitamos unos pequeños botes de unos 125 mililitros:



También necesitaremos una jeringuilla con aguja más gruesa posible (unas 0,8 micras).

Preparamos el medio líquido, es una solución de *miel de acacia* al 4%. Para eso por cada 100 mililitros de agua mineral o filtrada tomamos 4 gramos de miel.

Esterilizamos durante unos 15 minutos y enfriamos.

Humedecemos generosamente una tira de algodón con líquido desinfectante. La tira debe ser lo suficientemente larga y ancha. Envolvemos la parte inferior del tallo en la tira.



Calentamos la aguja en el centro y enfriamos en un líquido desinfectante. Realizamos la biopsia:

- Extraemos a la jeringuilla unos 2 mililitros del medio líquido.
- Calentamos y enfriamos la aguja.
- Perforamos la seta a través de la tira en un solo movimiento. Es importante insertar la aguja en línea recta, sin cambiar el ángulo con respecto al vector de punción. La punción no debe realizarse perpendicularmente, sino en ángulo con el tallo como se muestra en la foto.
- Sacamos la aguja e insertamos en el puerto de inoculación del bote con medio líquido. Presionamos bruscamente el pistón devolviendo el líquido de la jeringuilla al bote.



Al pasar, la aguja recoge una muestra del cuerpo fructífero. Por eso es necesario aumentar su recorrido introduciéndolo en ángulo con el tallo de la seta. También, por eso mejor tenerla más gruesa.

Para una biopsia exitosa es importante:

- Antes de recoger la muestra, enfriar bien la aguja en un líquido desinfectante.
- A la vez preparar 6-7 botes de medio líquido a partir de un cuerpo fructífero.
- Etiquetar los botes, enumerando y anotando cada una.

Algunos manuales dicen, que el contacto constante con antibióticos provoca degeneración del cultivo. También, que antibióticos en el sustrato ralentizan crecimiento de formas vegetativas de micelio. Por estas razones, no se recomienda usar antibióticos donde vivirá la forma vegetativa del micelio, por ejemplo, agregando al medio líquido de clonación.

Aproximadamente la mitad de botes tendrá éxito, el micelio comienza a crecer a partir de un pequeño trozo de seta en todas direcciones. 4 días después de la biopsia:



5 días después de la biopsia:



7 días después de la biopsia:



El décimo día la nube de micelio llenó el bote casi por completo. Como podemos ver en las fotos, crecimiento del micelio es muy suave y uniforme. Si miramos a través de una lupa, veamos micro hilos de micelio que se extienden desde la muestra en todas direcciones, entrelazados entre sí.

Hay que examinar cuidadosamente botes en los que ha comenzado el crecimiento. No debe haber enturbiamiento, cambios sospechosos de color o morfología de micelio. Ante la menor sospecha el bote se separa de los demás para observaciones más detalladas.

Digamos, que de 6 botes 3 sobrevivieron y en ellos creció una nube enorme de micelio. Ahora necesitamos realizar pruebas. Para ello preparamos grano, seleccionamos el micelio de cada bote numerado con una jeringuilla individual e inoculamos tres botes, rotulado con el mismo número que botes con cultivo líquido.

Si las tres pruebas sobrevivieron y el micelio creció bien, pues tenemos el cultivo libre de contaminación. Si alguna prueba falla en grano, es probable que el cultivo líquido de ese bote esté contaminado. O nos deshacemos del bote o repetimos la prueba.

Ya tenemos el cultivo clonado, está probado y resulta ser limpio de contaminación. Es aconsejable conservarlo y utilizarlo de forma eficaz:

- El cultivo líquido se almacena en frío.
- Para inocular grano tomamos un otro bote, transferimos la cantidad necesaria de cultivo e inocular desde el nuevo bote.

Alpiste colonizado por un clon en medio líquido. Preste atención la uniformidad del micelio y la densidad de su crecimiento:



Propagación vegetativa de grano a grano (g2g)

La técnica de propagación vegetativa del micelio de grano a grano es una de más riesgosas, el número de fracasos alcanza hasta los 25%, para novatos los 50% es muy buen resultado. El alto porcentaje de contaminación no se debe a la complejidad de la técnica, sino al hecho de que las tapas de botes con grano se abren por completo. Esta técnica también se llama *g2g* (ing. *grain to grain*).

Sin embargo, *g2g* es la forma más rápida de obtener una gran cantidad de grano cubierto con micelio. En condiciones normales, los botes nuevos quedan completamente cubiertos en aproximadamente 5 días.

Los botes con grano madre para *g2g* deben seleccionarse y revisarse con mucha atención, a la menor sospecha de anomalía el bote no se usa. Agitamos bien el bote seleccionado para romper el micelio en granos individuales. Luego, dejamos por 24 horas y volvemos a inspeccionarlo atentamente. El olor del filtro debe ser puramente a setas, si el olor es sospechoso, el bote no se usa.

Un bote de 1 L de grano cubierto de micelio se divide en 5-6 botes de grano esterilizado.

Al echar grano, el bote debe girarse alrededor de su eje y no agitarse. En último caso, se pueden romper accidentalmente ambos botes dentro del flujo laminar.

Fructificación (setas)

Después del crecimiento vegetativo tenemos que proporcionar al micelio un clima adecuado para la *fructificación*. Para todos los *Psilocybe Cubensis* es lo mismo:

- Humedad 80-90%.
- Temperatura 22-23 grados.

El rango de temperatura aceptable es 21-25 grados:

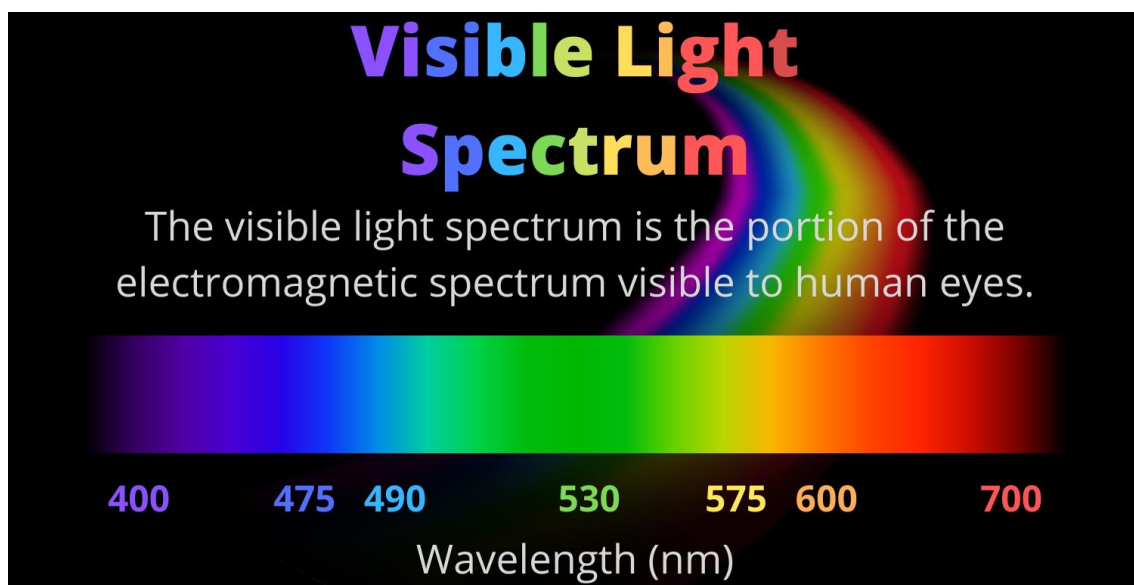
- En el límite inferior el crecimiento puede ralentizarse.
- En el límite superior existe el riesgo de que el micelio vuelva a su fase vegetativa y no producirá frutos, o que frutos contengan un nivel bajo de la sustancia mágica.

Teniendo en cuenta las zonas de donde procede la seta podemos concluir que mejor aguanta temperaturas demasiado altas que demasiado bajas.

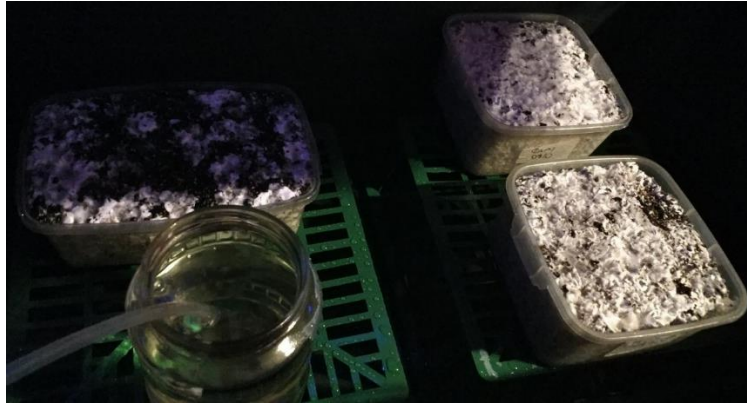
En el invernadero creamos las mejores condiciones para la aparición de *primordios* y desarrollo de *cuerpos frutíferos*.

El invernadero debe cumplir los siguientes requisitos:

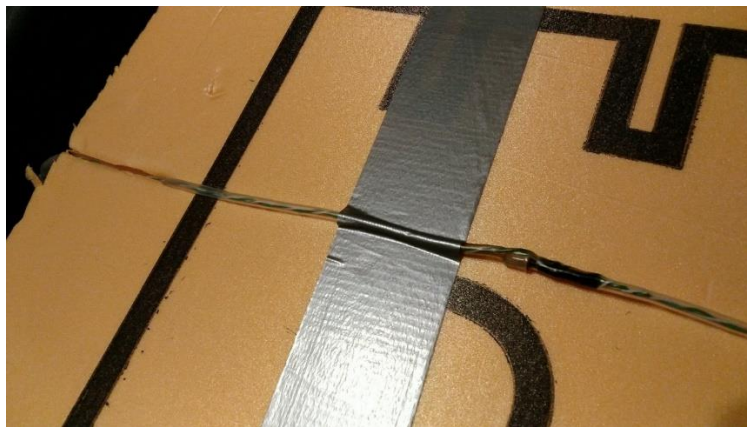
- Debe mantener una temperatura adecuada para la especie.
- Debe mantener alta humedad, es decir, cerrarse bien.
- Las setas consumen oxígeno y liberan dióxido de carbono, que se acumula en el fondo, por lo que se necesitan orificios de ventilación con filtros a nivel del sustrato.
- Para mantener un buen nivel de oxígeno tiene que ventilarse con frecuencia.
- Cuanto más grande sea el invernadero, más fácil será mantener el microclima.
- A las setas les gusta la luz débil en el espectro azul (aproximadamente 435 *nanómetros*) para guiar el crecimiento.



En caso de un cultivo privado el invernadero es un contenedor, al fondo de cual se hecha el agua mineral o filtrada con una cantidad de *peróxido de hidrogeno* (unos 50 mililitros para un contenedor). Al agua se colocan algunos soportes encima de cuales se colocan envases con sustrato. Allí mismo se instala un bote con agua que se vaporiza con un calentador del agua (preferible) o una pompa del aire para acuarios:



Calentar un contenedor podemos con las mismas mantas para reptiles que utilizamos para la incubadora. Podemos añadir un par de luces LED azules a las tapas de contenedores:



La manera más económica mantener una alta humedad en el interior de invernadero es la vermiculita. Se echa al fondo de contenedor una capa de unos 2 centímetros y se remoja bien con el agua. Vermiculita tiene que ser muy húmedo, pero no mojado, el agua no tiene que escurrirse al fondo, aparecerse en forma de charcos, etc.

Para subir la humedad tenemos que rociar con el agua las paredes de contenedores.

Las paredes siempre tienen que ser cubiertas de gotas grandes de condensado, eso significa que la humedad es suficiente.

La temperatura y la humedad en invernaderos tienen que ser constantes.

Es importante ventilar bien invernaderos 3-4 veces al día, el nivel de CO₂ en su interior crece muy rápido. Es una de las causas porque para invernaderos se recomienda comprar contenedores de volumen más grande.

Si un contenedor no tiene ventilación a nivel del sustrato, es necesario ventilar el sustrato con un periódico o abanico durante 30-40 segundos para eliminar el dióxido de carbono.

Un invernadero más grande se monta de una estantería con bandejas anchas y bajas en cada estante. Las bandejas anchas y bajas le permiten colocar de 7 a 12 cm de sustrato, este es el espesor óptimo.

El exterior de la estantería se cubre con un film plástico transparente. Como una opción se puede pegar el film con cinta adhesiva de dos caras al techo alrededor de la estantería, creando algo parecido a una cabina de ducha.

En la parte superior de la estantería se instala un humidificador de aire y se hacen unos orificios de entrada de aire protegidas por filtros. La suspensión de agua formada en la parte superior caerá por su propio peso a través del invernadero, creando una humedad uniforme en todo el volumen.

Porque el sustrato llena las bandejas casi hasta el borde, dióxido de carbono liberado por el micelio fluye por las paredes exteriores de bandejas por su propio peso. En la parte inferior se hacen unos orificios de salida de aire protegidas por filtros para la liberación de dióxido de carbono. Los orificios inferiores sirven como ventilación forzada pasiva, dióxido de carbono escapa a través de ellos creando una corriente de aire natural.

La principal señal de la fructificación es un cambio en la composición del aire, en laboratorio se aparece el olor agradable de setas frescas.

2 días en la fructificación:



4 días en la fructificación:



Otro signo de suficiente humedad es la formación de condensación en el micelio:



Normalmente la primera ola comienza entre los días 7 y 10. Se considera como normal un plazo hasta 14 días.

Primero, los hilos de micelio se tejen en nudos, a partir de los cuales se forman pequeñas bolas muy blancas, son los primordios. Poco a poco empezarán a crecer pequeñas setas a partir de ellos. 15 días en la fructificación:



17 días en la fructificación:



El crecimiento se acelera. 18 días en la fructificación:



19 días en la fructificación:



Al día 20 podemos recoger la primera ola:

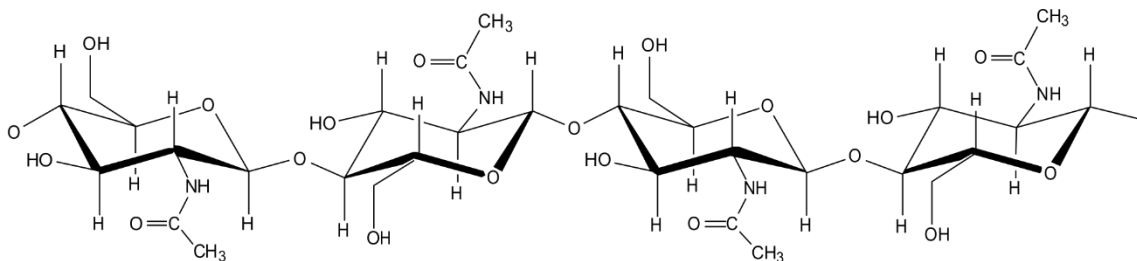


La primera ola no suele ser muy abundante, normalmente contiene muchas setas pequeñas. La segunda (después de rehidratación) suele ser el más potente. Con cada oleada posterior hay cada vez menos hongos, pero los cuerpos fructíferos serán más grandes. La última ola suele estar formada por 4-5 setas grandes.

Relación de carbono a nitrógeno

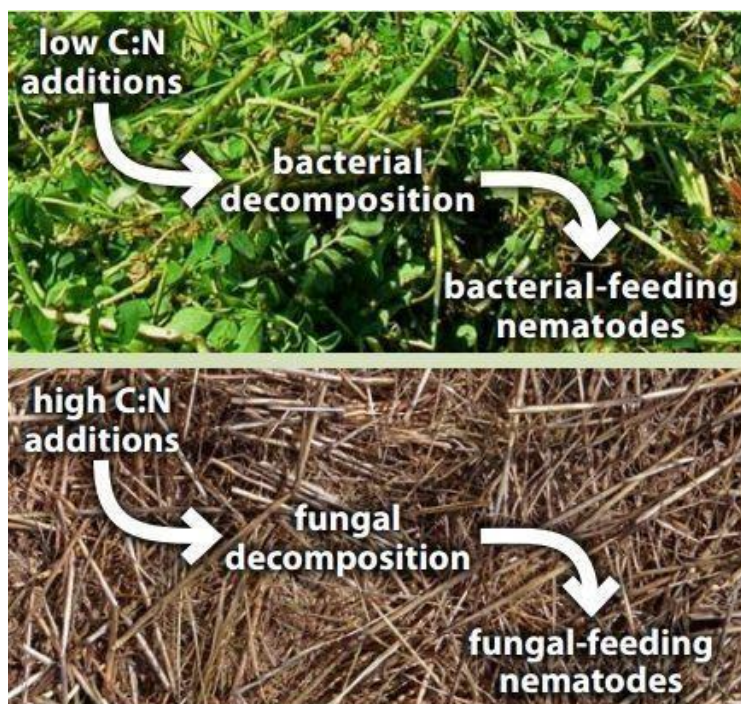
El principal indicador de la calidad de un sustrato es la *relación de carbono a nitrógeno*.

El carbono se utiliza como fuente de energía para la síntesis celular de las setas. El nitrógeno sirve como material de construcción para micelio, las paredes celulares de setas están compuestas en gran parte por *quitina*, que es un polisacárido que contiene nitrógeno:



Una buena cantidad de nitrógeno en sustrato es al menos los 2% de todos nutrientes.

El consumo de nitrógeno por las setas depende de la cantidad presente de carbono. Si un sustrato contiene demasiado o muy poco de carbono, el nitrógeno no se consumirá.



Para diferentes variedades de setas la relación óptima de carbono a nitrógeno será ligeramente diferente. En su libro *El cultivador de hongos*, Paul Stamets dice que la relación óptima para el sustrato base es a 17/1.

El ensayo *Proporciones carbono-nitrógeno para Agaricus Brasiliensis según el método axénico* afirma que el mejor crecimiento micelial produce una relación de 11/1, un crecimiento moderado en el rango de 15/1 a 50/1 y un crecimiento débil a <100/1.

Para evitar numerosos experimentos consideraremos el rango óptimo de 17/1 a 13/1.

Base	% C	% N ₂	C/N
Aserrines	40	0,1	400/1
Podas, tallos	45	0,3	150/1
Maíz	45	0,3	150/1
Fibra de coco	50	0,5	100/1
Paja de caña	40	0,5	80/1
Hojas de arboles	40	1	40/1
Estiércol de equino	15	0,5	30/1
Vermicompost	46	2	23/1
Estiércol de ovino	16	0,8	20/1
Trigo, avena, alpiste	60	3	20/1
Heno	40	2	20/1
Café	40	2	20/1
Estiércol de bovino	7	0,5	14/1
Estiércol de suino	8	0,7	12/1
Estiércol de gallina	15	1,5	10/1
Harina de sangre	35	15	2/1

Por ejemplo, estiércol de caballo en su forma pura tiene esa relación de 50/1 a 25/1 dependiendo de lo que comió el caballo. En continuación veamos cómo podemos conseguir en sustratos una relación mejor que de estiércol.

Obviamente, relación de carbono a nitrógeno en un sustrato determinado varía mucho dependiendo de muchas condiciones. En caso de grano, depende de su especie incluso de la variedad dentro de la especie.

Bases de sustratos

Todos los sustratos para cultivo se preparan con la misma manera, tenemos que elegir una *base* que formará la mayoría de la masa de futuro sustrato y añadirle algunos *aditivos* para conseguir mejores características. Las bases más comunes son:

- Heno.
- Aserrín de madera dura.
- Estiércol.
- Compost.
- Fibra de coco.

Para el cultivo de *Psilocybe Cubensis* como la base probaremos la fibra de coco con varios aditivos.

Heno

Podemos conseguir heno en una tienda de mascotas, en un supermercado, en un parque, en un bosque o en el jardín vecino. Durante de una hora se puede recoger heno suficiente para unos años de cultivo:



A la hora de recoger se recomienda tomar heno fresco. Competencia por nutrientes entre microorganismos es bastante dura, así que en cuanto algo muera, habrá alguien que quiera comérselo. Por tanto, heno más fresco será más limpio de patógenos.

La paja es menos susceptible a la contaminación porque es más rígida y contiene menos nutrientes. Sin complicar la vida recogemos todo lo que crece. Intentemos no recoger semillas y flores. Son demasiado nutritivos y, más probable, están ocupados por alguien.

Ventajas:

- Disponible en cualquier lugar donde crezcan plantas o haya una tienda de mascotas. En el primer caso es gratuito, en el segundo es un precio aceptable.
- Amplio rango de temperaturas/exposiciones de pasterización.
- Con pasterización adecuada puede permanecer sin contaminarse durante mucho tiempo lo que les da a las setas buena oportunidad de colonizarlo rápido.

Desventajas:

- Necesidad de cortar heno, habitualmente a mano. Esto añade a su coste unas tijeras brutales para jardín.
- Baja higroscopicidad, absorbe mal el agua y la libera rápidamente.
- Debido a la baja higroscopicidad y débil comunicación capilar, la humedad residual drenada de heno se acumula en el fondo de contenedores y provoca contaminación. El problema se soluciona parcialmente vertiendo vermiculita en el fondo.
- Complejidad de pasterización: enormes tanques con heno, un mar de agua caliente y vapor, encima mucho polvo.
- Puentes aéreos en sustrato que ocupan volumen útil y ralentizan la colonización. El problema se soluciona parcialmente cortando heno más fino, pero eso alarga preparación de sustrato y lo hace más difícil físicamente.

Es muy cómodo pasterizar el heno en *contenedores de poliestireno*. Esos contenedores pueden mantener temperatura elevada durante más de 12 horas. Al llenar un contenedor con heno y agua caliente no es necesario compactar el heno ya que después de cerrar la tapa temperatura en su interior es suficiente para pasterización en cualquier punto de sustrato.

Aserrín de madera dura

En ciudades se puede encontrar aserrín de madera blanda, pero de madera dura es más difícil. Mejor empezar de tiendas de mascotas buscando algo como virutas de madera dura para nidos de pájaros, reptiles o roedores:



Ventajas:

- Bastante fino en fracción lo que significa el uso más eficaz de volumen.
- Relativamente desagradable para culturas enemigas.
- Tiene pocos puentes aéreos, lo que significa una colonización más rápida.

Desventajas:

- Muy inerte a la humedad, se remoja mucho tiempo y muy lento pierda el agua. Una compresión excesiva durante la colocación de sustrato puede provocar que la capa inferior esté demasiado húmeda.
- Pasterización de aserrín, como de heno, genera mucho vapor y polvo.

Estiércol

Hay dos tipos de estiércol igualmente buenos para cultivo:

- Estiércol de vaca.
- Estiércol de caballo.

Estiércol de caballo aún está mejor. Está partido en porciones de manera natural y contiene granos de avena fermentados no digeridos.

Ventajas:

- Se utiliza como en su forma pura así en sustratos compuestos. Un buen sustrato sería la mezcla a 70/30 de heno y estiércol.
- Rico en nutrientes fácilmente disponibles (proporciona nutrición de fácil acceso). Lo ideal es que los jugos gástricos y de rumiantes transformen la materia vegetal justo en lo que quieren las setas. Por eso en la naturaleza muchas setas crecen sobre estiércol.
- Tiene relación de carbono a nitrógeno de 35:1, lo que acerca su valor al del grano (20:1).

- Al ser producto de la actividad vital de un animal, se trata previamente con enzimas digestivas y microflora intestinal. Esto le confiere inmediatamente varias ventajas. En primer lugar, los alimentos que comen animales son variados y nutritivos. En segundo lugar, están enriquecidos con suplementos vitamínicos y minerales. En tercer lugar, contienen una gran cantidad de enzimas de composición compleja lo que aumenta la protección del sustrato.
- Buena capacidad de absorber y liberar humedad, así como buena comunicación capilar. En caso de su uso con heno, recoge el exceso de agua que sale de heno después de pasterización y la devuelve al aire más tarde.
- Proporciona posibilidad de inocular pequeñas porciones de sustrato.
- Cómodo de manejar, se tritura fácilmente hasta obtener la fracción deseada.
- Se almacena durante mucho tiempo y pesa poco.

Desventajas:

- No proporciona puentes aéreos.
- Es difícil conseguirlo en ciudades.
- Es necesario secarlo mucho tiempo antes de usar.

Al recoger estiércol de vaca se toman pasteles del año pasado con signos evidentes de crecimiento del *actinomicetales*, pero sin rastros de combustible, aceite de máquina y otras impurezas:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Actinomycetales>

Al recoger estiércol de caballo se recomienda tomar trozos redondos con un bajo contenido de paja de lecho (no más del 10%). Estiércol debe estar seco. En algunas piezas se puede ver una capa blanca parecida a una telaraña (esto es un indicador de la calidad de estiércol), es una colonia de micro hongos actinomicetos amigables:



El estiércol ligeramente podrido de un año es la mejor opción. Sus nutrientes están aún más disponibles para las setas y tiene una mejor relación de carbono a nitrógeno comparando con estiércol fresco. Los actinomicetos que crecen naturalmente en él utilizan carbohidratos libres y los convierten en su masa muscular, es decir en compuestos proteicos orgánicos.

El micelio de actinomiceto se puede identificar fácilmente destruyendo un trozo de estiércol. Es una red blanca, similar al micelio de setas, solo que más fina, que penetra estiércol en todas direcciones. A las setas les encanta alimentarse de actinomicetos, es una valiosa adición a su dieta.

No se recomienda recolectar estiércol muy viejo. En condiciones naturales la lluvia elimina sustancias solubles y el sol destruye algunas sustancias orgánicas. Como resultado, estiércol pierde la mayor parte de sus nutrientes y se compone principalmente de restos insolubles de alimentos no digeridos (heno, paja, grano fermentado, etc.).

Estiércol se seca con el sol sobre una hoja de hierro durante 4 (de caballo) – 6 (de vaca) días. Por el medio del período hay que echarle agua de una regadera simulando lluvia. Cuando estiércol se rompe como una galleta y deja de oler fuerte, está listo para su pasterización.

Antes de su uso, el estiércol se tritura, es importante porque trozos grandes se pasterizan peor. Durante el proceso de trituración se eliminan restos no deseados como ramas, trozos de corteza de árboles, etc. Además de los actinomicetos, el estiércol atrae a insectos. Por lo tanto, al triturarlo se utiliza una malla metálica fina la celda de cual tiene aproximadamente 5 milímetros.

Estiércol contiene una gran cantidad de bacterias termófilas y cuando se pasteuriza adecuadamente resiste muy bien la contaminación. Además, al añadirse también protege el sustrato base.

Compost

En condiciones naturales *compost* se forma en la capa superior del suelo con bastante lentitud y en pequeñas cantidades gracias a muchos microorganismos y reacciones químicas. Es una fuente de *nitrógeno exógeno* producido por organismos vivos.

Para cultivo el compost se prepara. Se trata de estiércol de caballo recogido junto con lecho de paja. Todo esto se amontona de tal manera que todavía existe posibilidad de intercambio de aire. Gracias a la actividad de diversos microorganismos, se producirá la fermentación con liberación de una gran cantidad de calor, es decir, se producirá el tratamiento térmico natural.

Poco a poco los compuestos amoniacales se eliminan del sustrato y la temperatura se baja. Al llegar a la temperatura ambiental el compost está listo para su uso.

Veamos cómo se consigue la relación de 17/1 con compost en cultivo industrial.

Se toma una base, normalmente es paja de trigo. Se humedece durante varios días con agua de grifo. Luego se toma el segundo componente, digamos, estiércol de caballo en un volumen del 80-110% de la base. También se añade yeso o alabastro en polvo, aproximadamente el 5% del peso de todo el sustrato.

Toda esa mierda se mezcla, se amontona y se humedece periódicamente durante un par de semanas. La humidificación suele producir añadiendo *nitrato de amonio* en forma de polvo al agua para aumentar nivel de concentración de nitrógeno:



https://es.wikipedia.org/wiki/Nitrato_de_amonio

Al agregar ingredientes al futuro compost la relación de carbono a nitrógeno será 30/1.

El compostaje es un proceso complejo, millones de organismos vivos trabajan para producir el producto final. Los microorganismos viven y se reproducen en compost consumiendo carbono

y convirtiendo compuestos nitrogenados en formas más accesibles y fácilmente digeribles. Esto libera una gran cantidad de calor y *amoníaco*.



<https://es.wikipedia.org/wiki/Amoníaco>

En última instancia obtenemos la relación deseada de 17/1 o incluso mayor a favor del nitrógeno.

Compost es fantástico, pero su producción es complicada y no puede ser realizada en una vivienda. Normalmente compost o *vermicompost* (una mezcla de compost y vermiculita) se compra:



Fibra de coco

El coco para sustratos puede estar en estado de:

- Fibra.
- Chips.
- Turba.



Es mejor comprar la fibra para terrarios, ya que fibra para plantas contiene una gran cantidad de sal marina. La fibra para terrarios se lava a fondo antes de prensarla y secarla. Una briqueta estándar pesa 600 gramos:



La fibra juega un papel importante, es a la vez fuente de nutrición, reservorio de agua e ingrediente que mejora intercambio de aire en el sustrato.

Preparemos el sustrato base que será suficiente para la fructificación de *Psilomyces Cubensis*. A continuación, vamos a mejorar el sustrato con varios aditivos acercándose a la relación recomendada de carbono a nitrógeno.

Sustrato con fibra de coco

Como la base tomamos una briqueta de fibra de coco. Hay un número determinado que permite decir qué es el sustrato y qué es el pan. Todo lo que tenga más de un 60% de vermiculita es *pan*, y todo lo que tenga más de un 60% de fibra de coco es *sustrato*.

En algunos manuales la fibra se mezcla con vermiculita en la proporción 1/1.

Echamos a una olla aproximadamente 4 L del agua de grifo, añadimos 2 cucharadas de *yeso* o *alabastro*. Añadimos a la solución 1 cucharada de bicarbonato de sodio y encendemos el fuego.

Rompemos una briqueta de fibra a un contenedor. Añadimos 1 L de vermiculita encima:



Cuando hierva el agua, dejamos hervir durante 2-3 minutos y apagamos el fuego. Inmediatamente vertimos toda el agua en el contenedor. Antes de verter, mezclar muy bien la disolución para que no se precipita el yeso.

Cerramos el contenedor con tapa, envolvemos en una manta y dejamos enfriarse durante un par de horas. Retiramos de la manta y dejamos enfriarse hasta la temperatura ambiental. Para mejor fermentación el contenedor puede enfriarse en la manta todo el tiempo.

El sustrato base está preparado.

Calculemos qué es una briqueta de fibra. El peso seco de una briqueta estándar es de 600 gramos, la cantidad de nitrógeno en la fibra es del 0,5%:

$$100 \text{ gr de fibra} = 500 \text{ mg de nitrógeno} \times 6 = 3000 \text{ mg} = \mathbf{3 \text{ gr de nitrógeno por briqueta}}$$

En consecuencia, basándose en la proporción de fibra a 100/1:

$$3000 \text{ mg} \times 100 = 300000 \text{ mg} = \mathbf{300 \text{ gr de carbono por briqueta}}$$

Ahora calculemos lo mismo para un bote de grano que fue inoculado en el ejemplo anterior. Para mayoría de granos la relación de carbono a nitrógeno será alrededor de 20/1 (el promedio de las pruebas de harinas integrales). A un bote de 1 L suele contener unos 300 gramos de grano en peso seco. El contenido de nitrógeno en trigo integral se encuentra en el rango de 2,4-3,1% (para simplificar los cálculos tomaremos el contenido de nitrógeno como 2,6%):

$$2600 \text{ mg} \times 3 = 7800 \text{ mg} = 7,8 \text{ gr de nitrógeno por bote}$$

$$7800 \text{ mg} \times 20 = 156000 \text{ mg} = 156 \text{ gr de carbono por bote}$$

Si mezclamos los dos sustratos:

$$3000 \text{ mg} + 7800 \text{ mg} = 10800 \text{ mg de nitrógeno}$$

$$300000 \text{ mg} + 156000 \text{ mg} = 456000 \text{ mg de carbono}$$

$$456000/10800 = 42,2/1 \text{ la relación}$$

Al mezclar una briqueta de fibra con un bote de grano la relación que se obtiene es de 42,2/1, que está dentro del rango de crecimiento de micelio, pero no llega a 17/1. Ahora imaginemos que se utilizan dos botes de grano para inocular una briqueta:

$$3000 \text{ mg} + 15600 \text{ mg} = 18600 \text{ mg de nitrógeno}$$

$$300000 \text{ mg} + 312000 \text{ mg} = 612000 \text{ mg de carbono}$$

$$612000/18600 = 32,9/1 \text{ la relación}$$

Si utilizar 3 botes de grano la relación se acercará aún más al valor deseado. Pero nosotros tomamos otro camino, en lugar de bajar la cantidad de carbono probamos subir la cantidad de nitrógeno.

Pues, el grano tiene una buena relación de carbono a nitrógeno, pero para ser agregado al sustrato principal tiene que ser completamente colonizado por micelio. O ser agregado estéril a un sustrato estéril. En cualquier caso, es necesario aumentar o la cantidad de trabajo o el volumen de cacerola para pasterización. También, si aumenta el volumen de grano, hay que esperar más a que se cubra por micelio.

Existe una forma sencilla de aumentar la cantidad de *nitrógeno* en sustrato utilizando aditivos naturales. El primer aditivo es café.

El café contiene aproximadamente un 2% de nitrógeno y tiene la relación de carbono a nitrógeno de 20/1, al igual que grano.

El café no es solamente un sustituto de grano, contiene una gran cantidad de sustancias útiles cuya adición al sustrato reduce el tiempo de colonización entre 1 y 1,5 días.

El yeso o alabastro reducen el pH de café que se desplaza hacia el lado ácido. Su pH puede variar de 5 a 5,5, por lo que no se recomienda añadir al sustrato más de 1/6 del peso seco de fibra. La cantidad recomendada son 100 gramos de granos de café por briqueta.

No es necesario comprar una súper mezcla, la más barata servirá. Se recomienda comprar café en grano y molerlo justo antes de añadir a sustrato. Para una briqueta de fibra tomamos 100 gramos de granos de café tostados.

Añadimos *100 gramos de café molido* de la fracción más fina posible al contenedor con fibra y vermiculita. A continuación, todo es igual.

Agregando café obtuvimos una relación de 38,7/1.

Sin calculadora está claro que incluso si reemplazamos toda la fibra con grano o café, la relación de carbono a nitrógeno no excederá 20/1.

Por razones obvias, utilizar fuentes de nitrógeno inorgánicos es ineficaz.

Entonces, ¿Qué podemos añadir al sustrato?

El nitrógeno en vermicompost puede estar entre 1,5 y 2,5%, para los cálculos tomaremos el valor medio. Mezclamos una briqueta de fibra con grano añadiendo 1 L de vermicompost, en peso es aproximadamente 1 kilo:

$$3000 \text{ mg} + 7800 \text{ mg} = 10800 \text{ mg} + 2000 * 10 = 30800 \text{ mg de nitrógeno}$$

$$300000 \text{ mg} + 156000 \text{ mg} = 456000 \text{ mg} + 2000 * 13 * 10 = 716000 \text{ mg de carbono}$$

$$716000 / 30800 = 23,2/1 \text{ la relación}$$

Podemos a ver, la relación se ha cambiado significante, de 42,2/1 a 23,2/1.

Si aumentamos la cantidad de vermicompost a 2 L, la relación será de 19,2/1, es decir, más que de grano.

Algunas palabras sobre lo que debe recordar al agregar vermicompost:

- Porque vermicompost es un sustrato vivo en términos de microorganismos, no tolera una pasterización dura, se debe mantener la selectividad del sustrato.
- No añadir más de 1/3 del volumen total de sustrato.
- Dado que vermicompost es bastante nutritivo, micelio debería colonizarlo con rapidez. Por eso se recomienda utilizar al menos 2 botes de 1 L de grano por briqueta de fibra con vermicompost.
- Se recomienda utilizar grano de fracción fina para obtener más puntos de inoculación.

Fibra de coco, incluso con café, no tiene muchos microorganismos, por lo que puede pasteurizarse sin piedad. Cuando hablamos de un aditivo como vermicompost, se debe cambiar la técnica de pasterización, reducir la temperatura y el tiempo sin comprometer la calidad de sustrato. Para eso necesitamos una *manta de rescate*.

La base para sustrato será una briqueta de fibra de coco, de acuerdo con esto se realizan todos los cálculos:

- 1 briqueta de fibra de coco.
- 1 L de vermiculita.
- 60 gr de café molido.
- 1 L de vermicompost.
- 1 cucharada de bicarbonato de sodio.
- 2 cucharadas de yeso o alabastro.
- 4,2 L de agua.
- 2 botes de 1 L de grano con micelio para inoculación.

Podemos añadir un paquete de heno (aproximadamente 400 gramos). En este caso la cantidad de agua se aumenta hasta 4,5 L. Cortamos heno lo más fino posible y colocamos en el fondo del recipiente para cocinar al vapor. Colocamos vermiculita encima de heno y fibra de coco encima de vermiculita.

Pasterización de vermicompost es similar a la técnica básica para la fibra. La temperatura de agua que se vierte tiene que ser de algunos 90 grados, al apagar gas hay que dejarle enfriarse 2-3 minutos.

Inmediatamente después de verter agua en el sustrato tenemos que envolver el recipiente en una manta de rescate con el lado reflectante hacia adentro hasta conseguir varias capas. Dejamos hasta que esté completamente frío, no forzar el proceso de enfriamiento.

Agregar estiércol al sustrato es similar al vermicompost. Pero junto con estiércol es necesario añadir más agua y un amortiguador, porque estiércol no tiene una buena capacidad de retención ni de intercambio de humedad.

No es necesario agregar café ya que estiércol tiene una alta relación de carbono a nitrógeno, siempre mejor que 1/35 (dependiendo de condiciones y tiempo de descomposición).

Una briqueta de fibra se mezcla con 18 L de estiércol seco, aproximadamente 1 parte de fibra por 3 partes de estiércol. Para 3 L de estiércol triturado tomamos 1 L de agua y 0,5-0,7 L de vermiculita:

- 1 briqueta de fibra de coco.
- 18 L de estiércol seco.
- 4 L de vermiculita.
- 2 cucharadas de bicarbonato de sodio.
- 5 cucharadas de yeso o alabastro.
- 10 L de agua.

En un recipiente mezclamos estiércol seco, vermiculita y yeso:



Rompemos fibra de coco en trozos pequeños, vertimos en el recipiente y volvemos a mezclar:



Calentamos agua y disolvemos bicarbonato de sodio. Dejamos que agua hierva, apagamos gas y esperamos 2-3 minutos (es muy sensible a superar la temperatura de 85-90 grados).

Echamos agua en el recipiente con ingredientes, cerramos con tapa y lo envolvemos en una manta de rescate y luego en una normal para que se mantenga bien la temperatura y durante mucho tiempo. Dejamos resfriarse por un día.

Tomemos para inoculación tres botes de 1 L cada uno de grano (avena sin pelar):



Después de inoculación, añadimos una capa de cobertura del sustrato restante de unos 3 cm de espesor. 10 días más tarde:



12 días más tarde:



14 días más tarde:



16 días más tarde:



21 día más tarde:

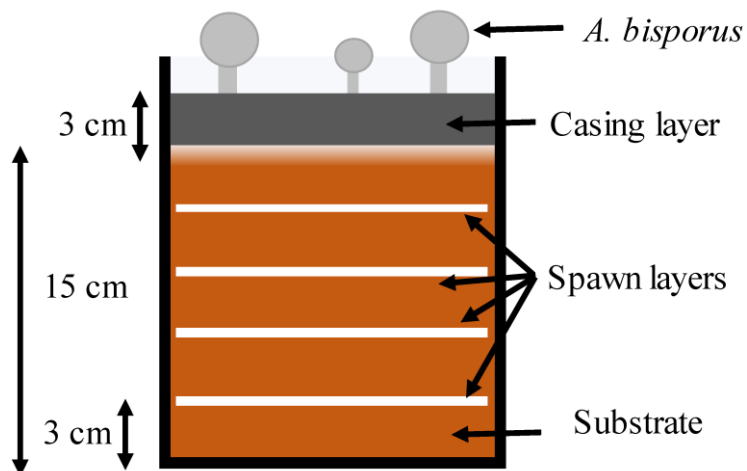


La primera ola de fructificación:



Colocación de sustrato

Casing (ingl.) es el proceso de formar el micelio en formas (cakes (ingl.), panes (esp.)) convenientes para la fructificación en recipientes, normalmente de plástico.



Las diferentes maneras de colocar sustratos no muestran tanta diferencia en gramos de cultivo, pero alguna sí. Como siempre, hay que probar.

Mezcla de sustratos

El camino más fácil es mezclar los dos sustratos y colocar lo todo al mismo contenedor. Colocamos todo el sustrato en un contenedor y lo mezclamos bien con una cucharada.

Apartamos aproximadamente 1/5 del sustrato para la capa de cobertura.

Tomamos un bote con grano. Con la cucharada sacamos grano a la superficie de sustrato rompiendo el micelio en granos separados.

Normalmente se toman 2 botes de 1 L por 1 briqueta para crear bastante puntos de inoculación. El ejemplo utiliza sólo un bote para mostrar que la técnica funciona bien incluso con menores cantidades de grano.

Mezclamos los sustratos. Aseguramos de que no queden partículas de sustrato o granos que no participen en la mezcla. Una vez que estén mezclados, presionamos ligeramente el sustrato para eliminar bolsas de aire.

Tomamos el resto de sustrato y creamos una capa de cobertura. Simplemente lo colocamos en la superficie y alisamos un poco con una cucharada, pero no presionamos.

Tapamos el contenedor con film transparente fijándolo en estado tenso. Perforamos el film con un cuchillo haciendo unos orificios de ventilación.

12-14 días más tarde el sustrato será colonizado por micelio:



Los defensores de este método de colocación argumentan que en este caso el micelio coloniza el sustrato más rápido.

Capas de sustratos

Mezclamos fibra con vermiculita en una proporción de 1/1. Antes de eso remoja fibra con agua de grifo para que a la hora de esterilizar su volumen no se aumentara en 10 veces en la olla.

Ponemos el sustrato a botes y esterilizamos en la olla durante 1 hora. Dejamos resfriar hasta la temperatura ambiental.

Echamos en el fondo de un contenedor de 1-1,5 L un poco de vermiculita:



Echamos encima el grano cubierto de micelio. Tenemos que dejar 2-3 centímetros libres para la capa de cobertura. Compactemos un poco el grano para eliminar las burbujas de aire de su interior:



Ahora colocamos el sustrato sobre la superficie del grano y lo nivelamos un poco con una cuchara para que no se vea el grano. La capa de cobertura debe quedar suelta, no se recomienda compactarla:



Envolvemos el contenedor con papel aluminio. Esto es necesario para que las capas inferiores del sustrato reciban la menor cantidad de luz posible y colonias de micelio atraviesen la capa de cobertura en lugar de formar primordios en los lados del sustrato:



Papel aluminio soluciona este problema, pero algunos primordios seguirán apareciendo en los lados. Esto sucede porque el proceso de secado de sustrato crea un espacio entre de sustrato y paredes del recipiente. La humedad se condensa en las paredes y crea un buen microclima para la aparición de primordios.

Siembra

Siembra es multiplicación inicial del micelio en el sustrato base.

Creamos una tapa con papel aluminio que no debe ejercer presión sobre el sustrato y no debe ajustarse mucho a él. El sustrato debe respirar, por lo que hacemos unos 9-12 pequeños agujeros en el papel:



Devolvemos el sustrato a la incubadora para 4-7 días. Durante este tiempo micelio coloniza el nuevo sustrato y crece a través de la capa de cobertura.

Cuando el micelio ocupa más de la mitad de la superficie de la capa de cobertura, tenemos que exponer el sustrato a la fructificación:



Si tardamos, el sustrato se cubrirá con una densa y esponjosa capa de micelio, a través de la cual los cuerpos fructíferos no podrán atravesar. Tenemos que raspar parte del micelio con un tenedor y solo entonces ponerlo a fructificar:



La siembra es una etapa no obligatoria pero deseada.

Capa de cobertura

La capa de cobertura se utiliza para estimular la formación de cuerpos fructíferos en una zona concreta de sustrato. El objetivo es crear en esa zona las condiciones más adecuadas para la formación de *primordios*.

Algunas especies de setas son sensibles a la ausencia de esa capa y no darán frutos sin ella. Algunas, como Seta de Ostra, no necesitan ninguna capa de cobertura para fructificar.

Condiciones para la formación de primordios:

- Colonización completa del sustrato.
- Reducción de la temperatura ambiental al rango de fructificación.
- Reducción de la concentración de dióxido de oxígeno debido a la circulación del aire.
- Alta humedad.
- Disponibilidad de la luz, una iluminación ambiental difusa.

Algunas setas pueden colonizar sustrato y dar frutos en oscuridad. Pero falta de la luz provoca que cuerpos fructíferos crecen finos y deformados.

Imaginemos que se utiliza como sustrato una mezcla de fibra de coco y café. Mezclamos 4/5 del sustrato con grano y colocamos el 1/5 restante en una capa encima. Su composición es exactamente la misma, en la teoría, el micelio tiene que percibir todo el volumen como homogéneo. Pasamos a la práctica, veamos un recipiente listo para fructificar:



El micelio estira y compacta las hifas incluso si la capa de cobertura no difiere en composición del sustrato base, la compactación y el estiramiento de hifas se produce debido a cambios en la composición del aire y su humedad. Además, la superficie es una zona por la que se evapora abundantemente el agua.

La cantidad de aire y la humedad estimulan la formación de primordios en la capa de cobertura.

Si observar la fructificación de setas en bolsas plásticas, se puede ver que los cuerpos fructíferos crecen solo en aquellos lugares donde las bolsas están cortadas.

La penetración a través de la capa de cobertura correctamente colocada debe ser uniforme:



Normalmente cultivo se realiza en bandejas, por lo que el espesor de sustrato no supera unos 7-10 cm. En este caso el espesor de la capa de cobertura no debe exceder unos 2 cm.

El espesor recomendado de la capa de cobertura es unos 1-2 cm.

No se recomienda hacer la capa de cobertura más grande, 1-2 cm es suficiente para cumplir con su objetivo y no molestar a colonias del micelio salir a la superficie del sustrato.

Algunos manuales recomiendan hacer la capa menos nutritiva que el sustrato base, es decir de vermiculita puro.

Algunos manuales recomiendan hacer la capa de fracción más fina, mezclando vermiculita con turba de coco a 1/1 en lugar de la fibra, que forma el sustrato.

Rehidratación

Los cuerpos fructíferos se componen casi en su totalidad de agua y el agua juega un papel importante en la vida de setas. Las setas pueden sobrevivir a unas temperaturas altas y bajas, adaptarse a una alimentación inadecuada pero la falta de agua los mata rápidamente.

Al saturar sustrato con agua ocurre otro proceso importante. Como sabemos, las setas utilizan la digestión externa. Primero liberan enzimas digestivas en el sustrato colonizado y cuando las enzimas realizan su función el micelio vuelve a absorber la solución nutritiva. Las enzimas gastadas permanecen parcialmente en el sustrato y lo acidifican, bajando el pH y creando un ambiente ácido.

La mayoría de las bacterias prefiere ambientes ácidos. Por lo tanto, los bloques que han pasado por un par de olas de fructificación son más fácil de contaminar. La situación se complica porque a las setas no les gustan ambientes ácidos, esto debilita su inmunidad y ralentiza procesos vitales.

Al rehidratar por inmersión, los productos de desecho de las setas pasan parcialmente a la solución acuosa y se eliminan cuando se drena el sustrato.

Sustrato madre

Cuando grano se cubre de micelio, la cantidad de humedad que contiene el bote se disminuye. Una parte consume el micelio, otra parte se evapora a través de ventilación. Inmediatamente después de la inoculación del sustrato base, el micelio intenta de recompensar la falta de agua del nuevo sustrato. Esto suele tardar entre 1 y 2 días.

La rehidratación de sustrato madre reduce el tiempo de colonización de sustrato base en 1-2 días.

Tomamos 500 mililitros de agua, hervimos durante 2-3 minutos, vertemos en un bote de vidrio, ponemos encima *Tyverk* y cerramos con una tapa con ventilación. Dejamos enfriar hasta la temperatura ambiental.

Tomamos un bote de 1 L de grano con micelio e inspeccionamos atentamente para detectar contaminación posible. Agitamos el bote para romper su contenido en trozos grandes, pero no en granos individuales.

Echamos el agua preparada en el bote casi hasta llenarla. Cerramos el bote, lo agitamos ligeramente y ponemos en el frío.

El tiempo de rehidratación de grano es aproximadamente 8-12 horas.

Dejamos escurrir del bote toda el agua, enroscamos la tapa y agitamos rompiendo el contenido en granos individuales. Inoculamos el sustrato base.



El líquido que se queda después de rehidratación contiene fragmentos de micelio, así como una cantidad de azúcares simples disueltos, que siempre están presentes en la superficie del grano en forma de *almidón* y otras sustancias útiles. Es decir, es el cultivo líquido preparado que podemos utilizarlo para inocular grano. Para eso necesitaremos:

- Un bote de grano cubierto de micelio.
- Un bote de agua esterilizada (hervida).
- Un bote vacío.
- Una jeringuilla de mayor volumen posible para una aguja estándar.

Mantenemos la mayor posible pureza de procesos.

Agitamos el bote con micelio rompiendo sustrato hasta granos individuales, cuanto más fina será la fracción de sustrato mejor.

Transferimos con la jeringa la máxima cantidad de agua esterilizada al bote con micelio. Antes de cada transferencia no olvidamos calentar la aguja al fuego y enfriarla en un líquido desinfectante.

Cuando el bote con micelio esté casi lleno (*Tyvek* evita que el filtro de aire se moje), agitamos el bote y dejamos rehidratarse durante 20 minutos.

Agitamos de nuevo. Con la jeringuilla transferimos la cantidad máxima de líquido del bote con micelio al bote vacío a través de puertos de inoculación.

Colocamos el bote con cultivo líquido resultante en una incubadora para 2-3 días, las micropartículas de micelio comenzarán a crecer y se harán visibles.

Ahora se puede utilizar el cultivo líquido como cualquier otro. No puede almacenarse mucho tiempo ya que el agua contiene poca nutrición para el micelio. El problema se soluciona parcialmente añadiendo miel de acacia.

Debido a la presencia de partículas de grano dicho cultivo es susceptible de agriarse.

Sustrato base

Las setas contienen aproximadamente un 92% de agua. Toda esta agua se elimina del sustrato con la cosecha. Añadimos aquí el agua que se evapora de la superficie durante de la colonización y la fructificación. Añadimos también el agua consumida por micelio y quedará claro que la pérdida de agua incluso después de la primera ola es muy notable. Por supuesto, pérdidas de agua dependen de las técnicas utilizadas, pero en cualquier caso el bloque pierde agua y es necesario renovarlo.

Dependiendo de las propiedades del sustrato las condiciones de rehidratación pueden variar. Si hablamos de grano, que casi es no higroscópico, el tiempo de rehidratación aumentará. Si hablamos de fibra, disminuirá.

Cuanto menor sea la capacidad del sustrato de hidratarse, mayor será la exposición de rehidratación.

En caso de una alta capacidad el micelio absorberá rápidamente agua del sustrato. Con una baja capacidad necesitará más tiempo para renovar sus reservas de agua.

Para rehidratar el sustrato base se puede utilizar agua mineral o filtrada.

Si grano fue expuesto a fructificación sin sustrato base, podemos rehidratarlo colocando el bloque en agua limpia durante un período de 8-12 horas en el frío a una temperatura de +6+12 grados.

La higroscopicidad de heno es ligeramente mayor que la de grano, por lo que la rehidratación lleva menos tiempo, de 6-8 horas en el frío a una temperatura de +6+12 grados.

Aserrín está formado de la parte interior de árboles y sus partículas no tienen ninguna protección natural como cascaras de granos o tallos de paja. Por tanto, es importante no humedecer aserrín demasiado. El tiempo máximo de rehidratación es de 6 horas en el frío a una temperatura de +6+12 grados.

La fibra absorbe y libera muy bien la humedad, el agua en fibra se encuentra muy móvil. Comparando con la fibra, heno absorbe y libera mal el agua, aserrín absorbe bien y libera muy mal.

Esta característica de fibra permite rehidratar bloques sin inmersión. Simplemente podemos rociarlo generosamente con agua limpia entre de olas. Si el bloque se queda en el mismo contenedor, escurrimos con cuidado el agua. Si se traslada a un otro mejor inventar una especie de soporte intermedio para que se escurra un poco.

Sustratos a base de fibra de coco se recomienda rehidratar por inmersión durante 8-12 horas en el frío a una temperatura de +6+12 grados.

Podemos añadir al agua *peróxido de hidrógeno*, 20-30 mililitros por 1-1,5 L de volumen. Con cada ola, el sustrato se vuelve más débil y más susceptible a la contaminación. En este caso, la tapa debe tener un orificio de ventilación para que el oxígeno, que se libera durante la

reacción de la materia orgánica con *peróxido de hidrógeno*, no derribe la tapa e inunde el frigorífico con agua.

Compost es extremadamente nutritivo, con una proporción de carbono a nitrógeno de 13/1. Además, se disuelve muy bien en el agua. Por lo tanto, rehidratar un bloque por inmersión puede provocar su destrucción. El estiércol puro de caballo o vaca es mucho más resistente a la rehidratación.

Debido al alto valor nutricional y la especificidad del sustrato, las setas secretan enzimas digestivas de manera muy activa. Por un lado, esto ayuda alimentarse al micelio, por otro lado, después de la segunda ola de fructificación, los productos de desecho del micelio se vuelven demasiado numerosos y aparecen por la superficie del bloque.

Cosecha

Si los sombreros de *Psilocybe Cubensis* comienzan a oscurecerse, se están oxidando y preparándose para liberar esporas. Deberíamos haber recogido setas ayer:



El momento en el que la seta está lista para cosechar depende de su especie. Se recomienda recoger las setas que tengan sombreros bien formados y que sean de color más oscuro (comienzan a mostrar signos de degradación). Las setas muy pequeñas es mejor dejar en sustrato, producirán unas setas grandes y hermosas de la siguiente ola.

Según algunos manuales, el sustrato debe limpiarse por completo en un máximo de 18 horas. No es del todo cierto.

Durante la fijación inicial se forman primordios para proporcionar las dos primeras olas de fructificación, por lo que no se recomienda limpiar completamente el bloque.

No es obligatorio limpiar el bloque de abortos antes de rehidratarlo, casi no provocan contaminación, el micelio consumirá algunos de ellos.

Si setas se cultivan a partir de *multiesporas*, variarán en tamaño y madurez. Algunos manuales recomiendan recoger toda la ola de una vez, ya que las setas que se quedan dejarán de desarrollarse tras sufrir un shock. Tampoco es cierto. En las condiciones naturales, elefantes/cabras/bichos pueden venir corriendo y comer/pisotear algunas setas. Pero las setas no dejan de crecer en todo el micelio. Por lo tanto, se puede recoger una ola por varias veces.

Hay el rumor que al romper el velo se para acumulación de la sustancia mágica. Pero no se ve ningún estudio publicado que lo confirma o refuta.

Si no necesitamos esporas, se recomienda recoger setas con sombreros todavía cerrados, en Holanda *Psilocybe Cubensis* fresca se vende con el velo intacto. El otro motivo es el ritmo de cultivo. Si no necesitamos impresiones, podemos cosechar un par de días más rápido.

Las setas deben *retorcerse* o *balancearse*, retirando del sustrato, pero en ningún caso cortarse, eso puede provocar contaminación del micelio. Tenemos que quitar todo lo que la seta arrastra consigo, si es un trozo de micelio o sustrato, tenemos que retirarlo también.

Deshidratación

La forma más sencilla de deshidratar setas es una secadora eléctrica para alimentos.

Las setas se secan a una temperatura de 30-50 grados con ventilación encendida durante 24-30 horas.

Si setas se secan en el aire abierto, tienen que ser separadas una de otra. Las setas puestas juntas pueden un tiempo alimentarse una de otra y seguir abriendo los sombreros. También recomendado darles vueltas 2-3 veces al día.

Las setas secas hasta el estado de galleta cuando se rompen con un crujido. En este punto habrán perdido unos 80-90% de su masa inicial.

Si se aplica un tratamiento térmico, durante el secado se descompone una pequeña cantidad de la sustancia mágica inestable (*psilocina*), pero se mantiene la sustancia mágica estable (*psilocibina*).

Almacenamiento

Las setas frescas pueden almacenarse en frío durante 2-3 días envueltos en un periódico en una bolsa plástica.

Para el almacenamiento a largo plazo, es necesario lograr un acceso mínimo de aire y luz a las setas secas. Normalmente se colocan en una bolsa de papel o de una tela natural y se almacenan en un lugar seco y oscuro.

Podemos envasar setas al vacío. En este caso se puede enviarles sin riesgo a distancias largas y almacenar en ambientes húmedos.

Contaminantes

Cualquier biólogo tira a la basura kilos de grano y otros sustratos, es normal. Incluso para un buen cultivador las pérdidas de 10-15% son normales. Un gran porcentaje de contaminaciones ocurren durante las operaciones de inoculación de grano a grano y transferencias en agar.

Para cultivo industrial el porcentaje de pérdidas es mayor:

- Grandes volúmenes de sustrato no permiten mantener pureza de procesos.
- Almacenando y trabajando al aire libre, la probabilidad de contaminación de componentes del sustrato es significativamente mayor.
- El proceso de pasteurización de grandes volúmenes de sustrato será más complicado.

Trabajando con pequeñas cantidades de sustrato se puede conseguir una ausencia casi total de organismos competitivos.

La competencia por recursos en el mundo de microorganismos requiere ciertas características, la reproducción debe ser rápida y el número de crías producidas debe ser grande. En la naturaleza es así: cuanto más simple es el organismo, más rápido es su ciclo de vida. En consecuencia, los hongos inferiores siempre crecerán más rápido que los superiores. Por ejemplo, *Psilocybe Cubensis* pertenece a los hongos superiores y sus competidores pertenecen a los más simples (algunos pertenecen a los superiores, pero la mayoría pertenece a los inferiores). La tasa de reproducción de los competidores es mucho más alta.

Tenemos que crear las condiciones bajo de cuales las formas superiores de hongos puedan colonizar el sustrato más rápido que las inferiores.

La esterilidad de grano en botes no es un valor absoluto. Se disminuye con el tiempo incluso con una buena barrera protectora. Los botes con la protección descrita en este libro pueden resistir la presión de contaminantes durante al menos 8 semanas (si el propio cultivador no introdujo el contaminante en el bote) pero tiene su límite.

Muchos hongos inferiores no forman cuerpos fructíferos, por ejemplo, *Trichoderma*, que pertenece al género *Hyphomycetes*. Aquellos hongos forman *condyenópodos* (crecimientos verticales del micelio) de los cuales se esparcen las esporas. Su formación requiere poco tiempo y la esporulación es abundante.

Algunos hongos están capaces de producir las *micotoxinas*:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Micotoxina>

Aspergillus Niger es uno de los principales grupos de hongos responsables de la producción de micotoxinas nocivas para plantas y animales.

El efecto en los seres humanos de los productos metabólicos de algunos contaminantes simplemente no se ha estudiado ni publicado. Algunos contaminantes han sido bien estudiados porque se utilizan en la industria farmacéutica o alimentaria. El problema es que sin un conocimiento profundo y estudios microscópicos es imposible establecer a qué cepa nos enfrentamos.

Los contaminantes se pueden dividir en tres grupos:

- Algunos contaminantes producen micotoxinas.
- Las esporas de muchos contaminantes son alérgenos graves.
- Algunas cepas pueden instalarse en el cuerpo humano (eso puede ocurrir con personas con sistema inmunitaria gravemente débil).

Podemos estar seguro de que un bloque está contaminado si está dando frutos, pero una parte del sustrato no está cubierta de micelio.

Una de las condiciones para la fructificación es la colonización del 100% de sustrato. Si setas no han dominado alguna parte de sustrato, significa que ya está ocupado por un competidor. Estas zonas suelen estar situadas en lo profundo del bloque, por lo que el problema no será visible en la superficie durante algún tiempo. Por ello, es necesario inspeccionar frecuente y atentamente botes y contenedores con sustrato.

El primer signo de contaminación es un olor desagradable que sale de la incubadora. En este caso, es necesario oler los filtros del aire y sacar de la incubadora aquellos cuyo olor difiere del olor de las setas frescas.

El sustrato contaminado debe eliminarse inmediatamente, antes de que las corrientes de aire transporten las esporas por todo el laboratorio.

Condiciones anaeróbicas

Muchos manuales dicen que los hongos requieren poco o ningún aire fresco durante la colonización. Esto no es del todo cierto, existe una gran diferencia entre el aumento de dióxido de carbono y la falta de oxígeno.

La mayoría de los hongos pasan su ciclo de vida en la capa fértil superior de suelo. La profundidad habitual es hasta 15 centímetros. Una gran profundidad no proporciona las condiciones necesarias para crecimiento del micelio.

Dependiendo de la composición de esta capa, su aireación será diferente y empeorará al aumentar la profundidad. Un requisito previo para una buena fructificación es el intercambio de aire constante en sustrato.

El intercambio de aire en sustrato es tanto la entrada de oxígeno como la eliminación de dióxido de carbono.

La colonización no requiere una salida de dióxido de carbono, pero sí una entrada de oxígeno. Dado que el dióxido de carbono es más pesado que el aire, se acumula en la superficie de sustrato y permanece en botes y contenedores incluso con ventilación adecuada. Cuantos mayores sean los contenedores y los volúmenes de sustrato utilizados, mayores deben ser los puertos de ventilación.

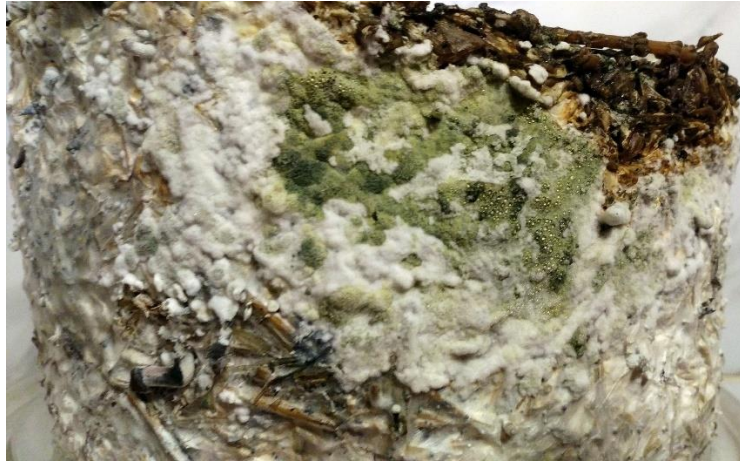
Además del hecho de que los hongos necesitan aire para crecer, también es necesario para evitar la creación de condiciones anaeróbicas en las que la microflora patógena se desarrolla con mucha rapidez.

El proceso de entrada de oxígeno durante la colonización es especialmente importante para sustratos a base de fibra de coco. Dado que su fracción es bastante pequeña y su capacidad para retener agua es alta, para garantizar una aireación suficiente la capa de sustrato no debe tener más de 15 cm (preferiblemente menos). Los puertos de ventilación deben ser de tamaño suficiente y estar más bajo posible al nivel de sustrato.

La ausencia de zonas anaeróbicas en sustrato soluciona parcialmente el problema de contaminación por algunos microorganismos.

Trichoderma

Después de la ola 4-5 aumenta la probabilidad de contaminación, en este caso, el bloque se desecha inmediatamente:



En la naturaleza, *Trichoderma* es una bacteria del suelo, por lo que es muy fácil llevarla en laboratorio con tierra en zapatos:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Trichoderma>

En un espacio cerrado y a temperaturas elevadas, *Trichoderma* se propaga muy rápido. Esto se facilita por la presencia de zonas con condiciones anaeróbicas en el sustrato. En esas zonas se forman varios ácidos orgánicos que son alimentos favoritos de *Trichoderma*.

Si al sustrato se añade un tampón (yeso o *alabastro*), se previene de forma natural la aparición de Tricodermia.

Si el sustrato no se esteriliza suficiente, la posibilidad de contaminación con *Trichoderma* es muy alta.

Este tipo de hongo protozoario es capaz no solo de crecer sobre el sustrato, sino también de parasitar en micelio. Además, es muy probable que las impresiones obtenidas de un bloque atacado por *Trichoderma* estén contaminadas.

Ante los primeros signos de *Tricoderma*, es necesario desechar el bloque y desinfectar completamente laboratorio con un líquido que contenga *Cloro*:



<https://es.wikipedia.org/wiki/Cloro>

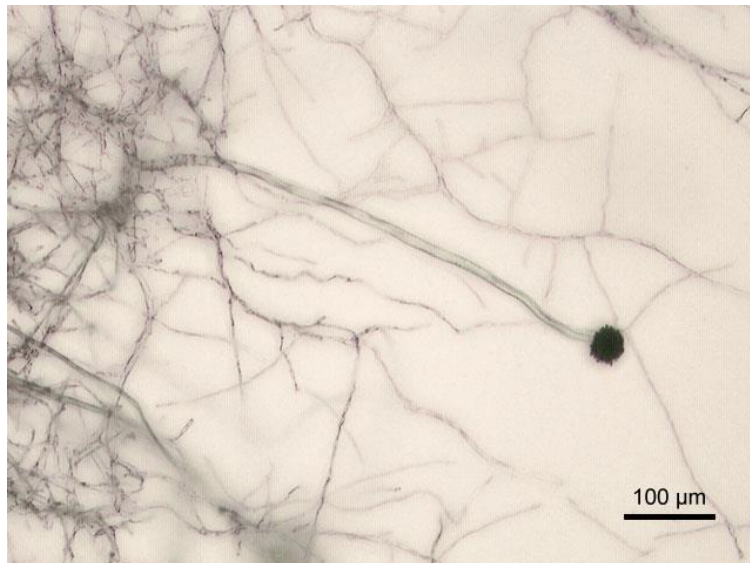
Toda la vermiculita en laboratorio debe lavarse con el mismo líquido o reemplazarse por nuevo. Todos los filtros del aire en laboratorio deben reemplazarse por nuevos. Esta especie produce muchas esporas muy pequeñas y tenaces que pueden provocar una larga cadena de infestaciones.

Nunca abrir botes o contenedores afectados por *Trichoderma* cerca de fructificación. Para deshacerse del sustrato afectado, primero se debe llenar bote o contenedor con agua caliente. Los organismos portadores de esporas se propagan principalmente por el aire, al llenar con agua, precipitamos las esporas y evitamos que se eleven al aire.

Pero algunas de esporas aún terminarán en el aire, por lo que es mejor vestirse mínimamente (las esporas se pegan a la ropa en grandes cantidades) e inmediatamente después de destruir el bloque, lavarse con jabón antibacteriano.

Aspergillus Niger

Aspergillus Niger también aparece por falta de esterilización y pureza de procesos:



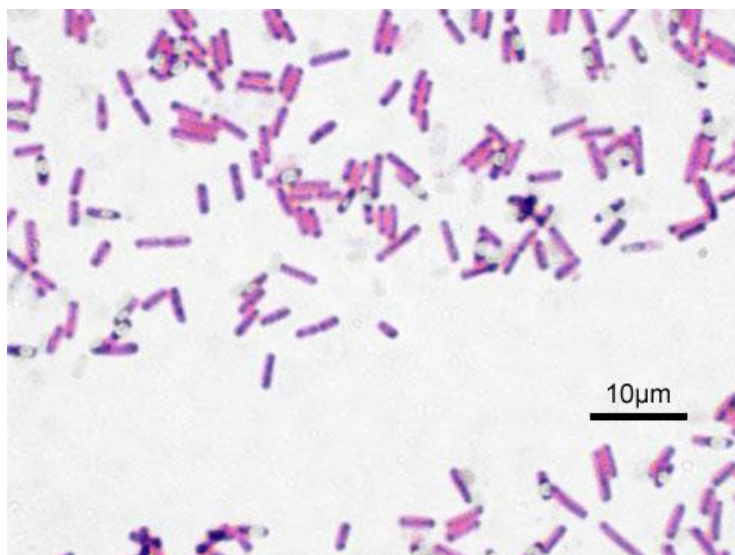
https://es.wikipedia.org/wiki/Aspergillus_niger

Bacillus (Wet Spot)

Bacteria *Wet Spot* aparece en grano como fragmentos empapados, muy similar al desequilibrio en la humedad, o granos reventados durante pasterización:



Wet Spot es una bacteria del género *Bacillus*, este género incluye la bacteria que causa el ántrax:

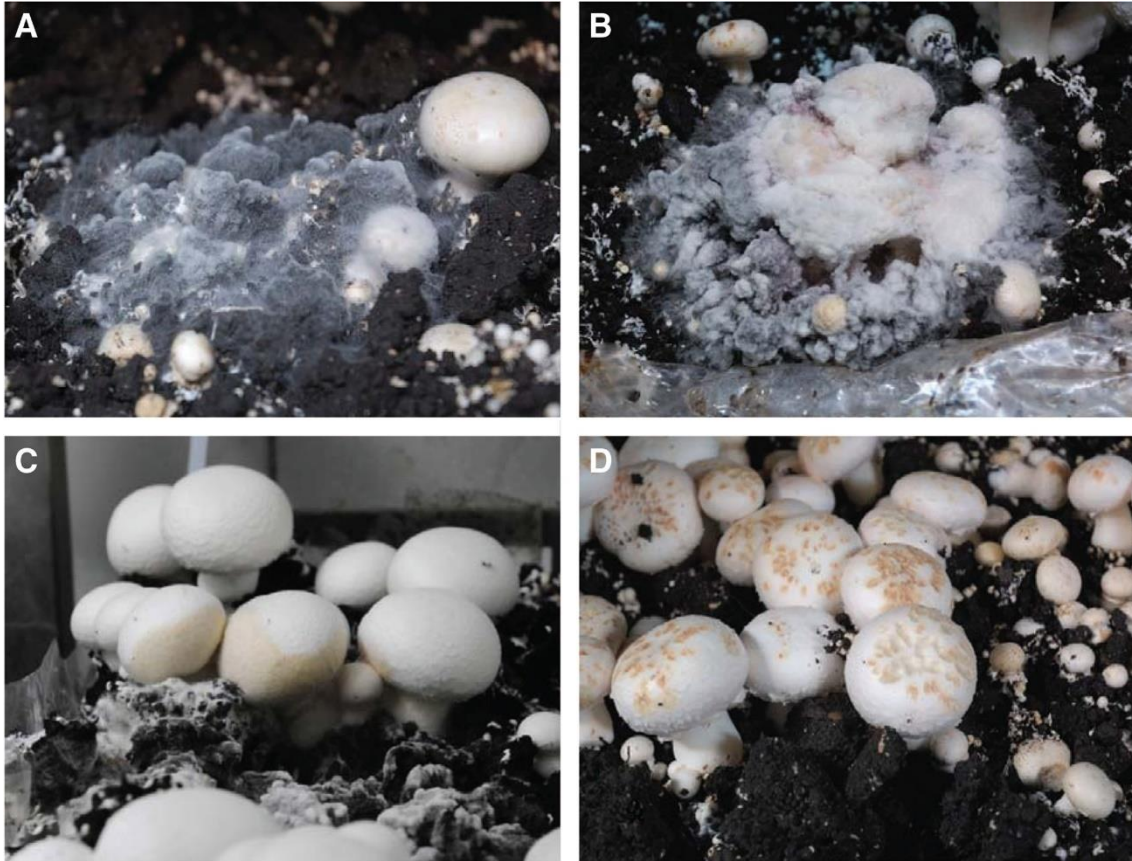


<https://es.wikipedia.org/wiki/Bacillus>

El sustrato base inoculado con dicho grano no producirá cosecha. Si se sospecha una contaminación, se recomienda no correr riesgos y desechar el bote comprometido.

Cladobotryum Mycophilum o Cladobotryum Dendroides (Cob Web)

Cob Web ataca la capa de cubierta y los cuerpos fructíferos formados:



Si se encuentra *Cob Web*, es necesario eliminarlo con cuidado junto con el fragmento afectado de sustrato y rociar el lugar donde creció con una solución de *peróxido de hidrógeno*. Un día después de la retirada repetir la pulverización.

Si se extendió significativamente, rociar el sustrato 3-4 veces con un intervalo de 12 horas con una solución de *peróxido de hidrógeno* a 3%.

Setas más rentables para cultivo en España

Hoy en día se comercializan más de 30 especies cultivadas en el mundo, pero algunas son desconocidas, otras necesitan una inversión fuerte. Desglosamos las setas más conocidas y rentables en el cultivo industrial, fáciles de cultivar y con mejor precio en el mercado.

Pleurotus Ostreatus (Seta de Ostra aka Seta Común)



Es la seta más fácil de cultivar y que tiene mayor consumo en Europa, siempre por debajo del champiñón.

Requiere unas instalaciones buenas si se quiere incubar y cultivar durante todo el año, pero si lo que queremos es solamente producir en otoño, invierno y parte de la primavera, basta con un umbráculo sencillo. Nuestro clima es estupendo en esas estaciones y solo necesitaremos aportar agua con un sistema de riego por microaspersión.

Sustratos

Una vez incubado tendremos que sembrarlo o mezclarlo con el sustrato base.

El sustrato pueden ser desechos vegetales, aserrines, tallos, heno, pero lo más recomendable y habitual es usar paja de cereal.

Mezclamos el contenido de los botes incubados con paja con una proporción del 3% en peso. La paja debe ser esterilizada, enfriada y oreada antes de hacer la mezcla.

Después de hacer la mezcla se prensa y se empaca con plástico opaco (bolsas de basura). Esto mantendrá la humedad del sustrato y evitará la exposición a la luz. Una vez hecha la mezcla necesitamos que el micelio se desarrolle e invada el sustrato antes de entrar en fase de fructificación.

Se mantiene a 24-27 grados con un 80-90% de humedad.

Fructificación

En este momento tenemos listo todo para entrar en fase de fructificación. Hacemos unas 6-8 cortes de unos 3-4 cm distribuidas por la superficie de la bolsa. Las condiciones que vamos a necesitar dependen de la especie y variedad cultivada:



Seta de Ostra Gris (*Pleurotus Ostreatus*)

Bastantes renovaciones de aire y bajo CO₂.
Iluminación media de 8 a 12 horas/día.
Humedad al 80-95%.
Temperaturas entre 6 y 22 grados según variedad.



Seta de Ostra Amarilla (*Pleurotus Citrinopileatus*)

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂, cierto aire en movimiento.
Iluminación media de 8 a 12 horas/día.
Humedad al 85-92%.
Temperaturas entre 16 y 28 grados. El color amarillo se aclara y palidece conforme aumenta la temperatura.



Seta de Ostra Rosa (*Pleurotus Djamor*)

Bastantes renovaciones de aire y bajo CO₂.
Con renovaciones de aire insuficientes y/o poco movimiento de aire sale con forma de "coral".
Iluminación media-alta de 8 a 12 horas/día.
Humedad al 80-95%.
Temperaturas entre 18 y 30 grados. El color rosa se aclara y palidece conforme aumenta la temperatura.

En unos días empezarán a generarse los primordios y en un par de semanas tendremos una exquisita producción de Pleurotus Ostreatus.

Día 1:



Día 4:



Día 8:



Día 10:



Día 11:



Día 12:



Día 14:



Como podemos observar, en 2 semanas hemos obtenido una producción de 2,8 kg de *Pleurotus Ostreatus*. Si se cosechan y se hacen nuevas perforaciones podemos obtener segundas y hasta terceras olas, pero menos cuantiosas.

Agaricus Bisporus (Champiñón Blanco)



Es una especie cuyo cultivo está muy tecnificado, por lo que es difícil emprender un negocio de cultivo de champiñones con poca inversión.

En la zona de Guadix y otros pueblos del este de Granada o Almería se está cultivando en cuevas y comercializándose en fruterías y restaurantes locales. En cuevas la temperatura y la humedad es mucho más agradables para champiñones durante todo el año que en su exterior, encima son muy constantes. Eso permita no gastar recursos caros como la electricidad y el agua para mantener un ambiente adecuado para la fructificación. A su vez, la ausencia de estos costes hace que el cultivo sea muy rentable.

Se puede encontrar en muchos sitios que cultivar champiñones no es rentable. El champiñón es un cultivo muy rentable, aquí está los análisis económicos del cultivo del champiñón:

<https://www.champyacademy.com/el-champinon-un-cultivo-muy-rentable/>

Sustratos

El sustrato base se prepara de paja de cereales, compost y posos de café.

Agaricus Brunnescens (Portobello)



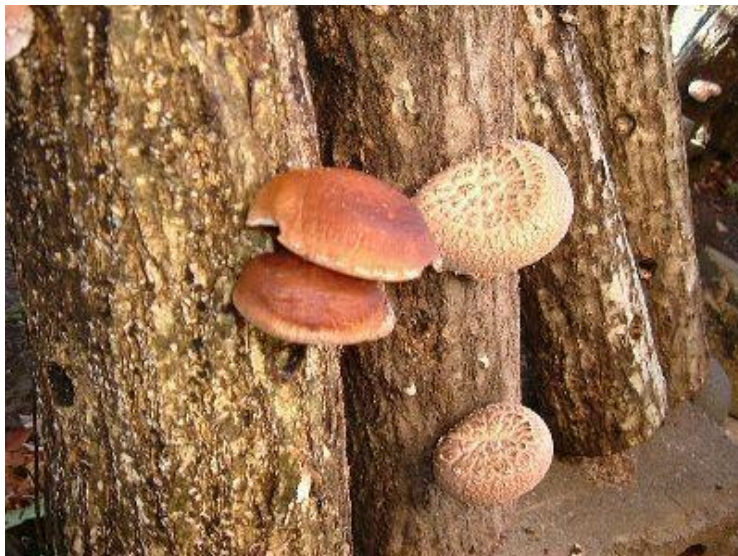
Portobello es un champiñón con tonos pardos en el sombrero. Muy fino de paladar, mejor que el champiñón blanco y que perdura en la nevera más tiempo sin abrirse y madurar. Sin embargo, es menos consumido por el público.

Su precio es más elevado, lo que le hace más atractivo a la hora de iniciar una empresa de cultivo, porque, además, se pueden utilizar las mismas instalaciones que para el champiñón blanco.

Lentinus Edodes (Shiitake)



El origen del Shiitake se remonta a la China de hace 1000 años, aunque se sospecha que ya se conocía incluso antes. Incluso en la dinastía Ming (1368-1644) ya existían evidencias de las propiedades saludables y curativas de esta seta comestible. Su nombre viene dado porque solía aparecer en el tronco del árbol del *Shii* (*Castanopsis Cuspidata*) de la familia de las Fagáceas, un árbol nativo de la zona asiática de Japón y Corea:



Es una seta gourmet y medicinal que se está introduciendo poco a poco en España. Se produce fundamentalmente en La Rioja, aunque hay algunas empresas en Andalucía. Tiene un gran potencial económico cuando se descubra al gran público.

Se puede cultivar fácilmente en troncos o en aserrín esterilizado de maderas blandas. Desde hace pocos años, se está cultivando también en paja de cereal pasteurizada. Su cultivo es un poco más complicado que el de la Seta Común y las cosechas son más bajas, por eso su precio es un poco más elevado.

Sustratos

Se cultiva en sustrato base formado por serrín de madera dura, grano y yeso.

Recomendado para fructificar golpe de frío de mínimo 24 horas.

Fructificación

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂ y sobre todo aire en movimiento para no coger *Trichoderma*.

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 80-90%.

Temperaturas entre 10 y 18 grados. Recomendada entre 12 y 16 grados como temperatura óptima.

Agrocybe Aegerita (Seta de Chopo aka Seta Silvestre)



Es una seta muy aromática y de buen sabor. Se cultiva en paja de cereal pasteurizada. Su cultivo se puede realizar en las mismas instalaciones que para el Shiitake o la Seta Común, pero es un poco más complicado y difícil encontrar proveedores.

Tiene precios superiores a la Seta Común y cómo mucha gente conoce a la Seta Silvestre, no hace falta introducirla en el mercado.

Fructificación

Seta que tarda en salir hasta que tiene las condiciones propicias. Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂, y cierto aire en movimiento.

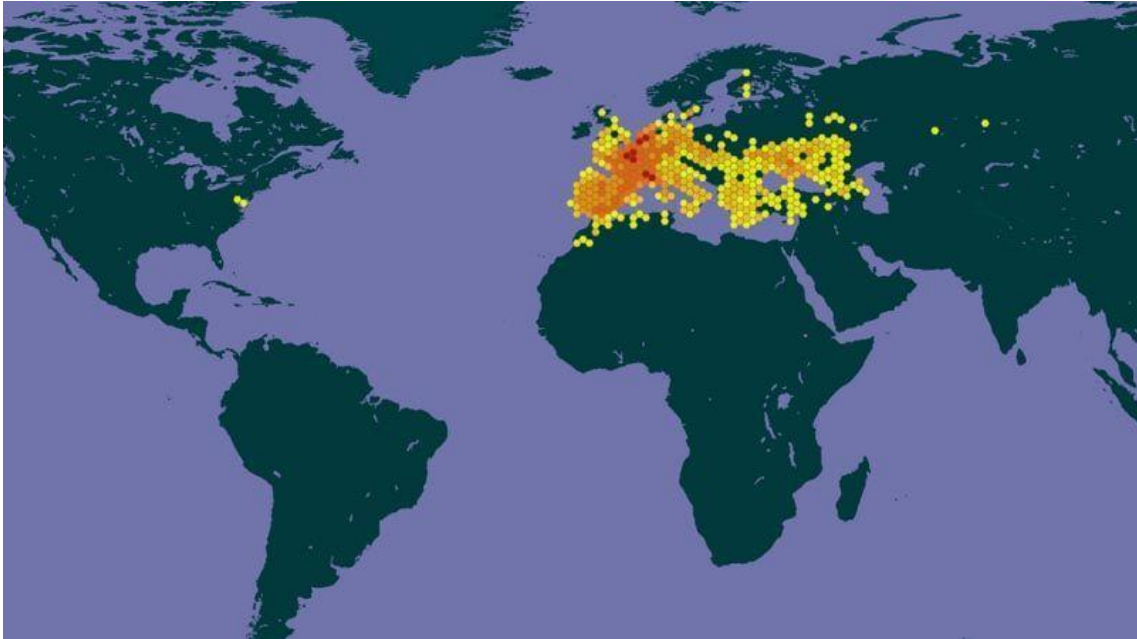
Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%. Temperaturas entre 12 y 20 grados.

Pleurotus Eryngii (Seta de Cardo)



La Seta de Cardo es un hongo de origen europeo, hay muy pocos sitios a parte de Europa en los que se haya descrito:



Esta seta crece de la raíz de un cardo concreto, el *Eryngium Campestre*. Por eso el nombre de la especie es *Eryngii*. Es esta asociación la que impide su distribución por otros lugares del mundo ya que, este cardo es únicamente del continente europeo y poco más. Como podemos ver en el mapa, se centra sobre todo en Europa occidental y central, yendo hacia el este en zonas templadas de Rusia y zonas cálidas de Medio Oriente.

La seta fácil de cultivar.

Sustratos

Normalmente se cultiva sobre paja de trigo.

Fructificación



Seta de Cardo Coreano (*Pleurotus Eryngii*)

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂ para salir sin “verrugos”, y cierto aire en movimiento.

Iluminación media-baja de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%.

Temperaturas entre 10 y 18 grados.



Seta de Cardo Blanco (Pleurotus Eryngii)

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂ para salir sin “verrugas”, y cierto aire en movimiento.
Iluminación media-baja de 8 a 12 horas/día.
Humedad al 85-92%.
Temperaturas entre 10 y 18 grados.



Seta de Cardo Negro (Pleurotus Eryngii)

Nivel medio-alto de renovaciones de aire y CO₂, y cierto aire en movimiento.
Iluminación media-baja de 8 a 12 horas/día.
Humedad al 85-92%.
Temperaturas entre 10 y 18 grados.



Seta de Cardo Gris (Pleurotus Eryngii)

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂ para salir sin “verrugas”, y cierto aire en movimiento.
Iluminación media-baja de 8 a 12 horas/día.
Humedad al 85-92%.
Temperaturas entre 10 y 18 grados.

Pholiota Nameko (Nameko)



Seta muy parecida a la Chestnut (de la misma familia) y de similares características de cultivo, pero algo más complicada de fructificar si varían sus condiciones ambientales.

Fructificación

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂, y cierto aire en movimiento. Iluminación media de 8 a 12 horas/día. Humedad al 85-92%. Temperaturas entre 10 y 18 grados.

Pholiota Adiposa (Seta de Nuez aka Chestnut)



Seta que tarda en salir, pero que lo hace durante muchas fructificaciones.

Fructificación

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂, y cierto aire en movimiento.

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%.

Temperaturas entre 10 y 18 grados.

Hypsizygus Marmoreus (Shimeji Blanco)



Seta algo complicada.

Fructificación

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂ para salir en forma de “fideos”, y cierto aire en movimiento.

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%.

Temperaturas entre 8 y 18 grados.

Hypsizygus Tessulatus (Shimeji Marrón)



Seta algo complicada.

Fructificación

Nivel medio de renovaciones de aire y CO₂ para salir en forma de “fideos”, y cierto aire en movimiento.

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%.

Temperaturas entre 8 y 18 grados.

Flammulina Velutipes (Enoki Golden)



Fácil de fructificar.

Fructificación

Nivel bajo de renovaciones de aire y alto CO₂ para salir en forma de “fideos”, y cierto aire en movimiento.

Iluminación media-baja de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%.

Temperaturas entre 5 y 16 grados.

Ganoderma Lucidum (Ganoderma)



Esta variedad (*G. Lucidum*) es la comercialmente más cultivada en el mundo. Es una seta agresiva y muy medicinal que desde que comienza a fructificar tarda entre 60 y 90 días en estar lista para su recolección.

Fructificación

Con un nivel alto de renovaciones de aire y CO₂, y bastante aire en movimiento crecerá en forma de “conchas”. Con un nivel bajo de renovaciones de aire y CO₂, y poco o nulo aire en movimiento crecerá en forma de “cuernos”.

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 80-92%.

Temperaturas entre 16-18 y 24 grados.

Trametes Versicolor (Cola de Pavo aka Turkey Tail)



Especie muy medicinal y con componentes antitumorales que desde que comienza a fructificar tarda entre 40 y 60 días en estar lista para su recolección.

Fructificación

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92%.

Temperaturas entre 14-16 y 20-22 grados.

Setas medicinales

Hericium Erinaceus (Melena de León)



Crecimiento muy sencillo, pero algo más complicado fructificarla totalmente perfecta.

Fructificación

Nivel medio-alto de renovaciones de aire y bajo CO₂ para salir sin forma de “coral” ni amarillenta, y cierto aire en movimiento para no ennegrecer.

Iluminación media de 8 a 12 horas/día.

Humedad al 85-92% sin mojarse.

Temperaturas entre 12 y 23 grados.

Algunos cálculos

Normalmente un cultivo industrial se construye en varias etapas:

- Se compran bloques de sustrato con micelio. Se realiza solo la fructificación.
- Se compra solo genética (esporas). Se organiza su propia producción de sustratos. Se realizan como la incubación así la fructificación.
- Se forma su propio banco de esporas. Se realizan todas tres etapas: trabajo con esporas, la incubación y la fructificación.

Veamos, cuanto tiempo puede ocupar un cultivo de *Psilocybe Cubensis* desde las esporas hasta las setas. Normalmente el número de olas de fructificación es 4-5, pero puede llegar hasta las 8:

1 día	Mañana	Limpiamos el grano. Dejamos en remojo en el agua hasta la tarde.
	Tarde	Limpiamos el grano. Dejamos en remojo en la solución de peróxido de hidrógeno hasta la mañana.
1 día	Mañana	Esterilizamos el grano. Dejamos de enfriarse hasta la mañana.
	Tarde	Preparamos la suspensión de esporas. Dejamos en remojo en el agua hasta la mañana.
1 día		Aplicamos un antibiótico (en caso de su uso). Inoculamos el grano.
15 días		Incubación.
7 días		Siembra. Inoculamos el sustrato base y devolvemos a la incubadora.
15 días		Primera ola.
15 días		Segunda ola.
15 días		Tercera ola.
15 días		Cuarta ola.
1 día		Deshidratación y empaquetado.
86 días		

En total son aproximadamente 3 meses teniendo en mente 4 olas de fructificación.

Para rellenar 4 botes de 1 L a 3/4 tomamos 1 L de trigo integral en peso seco.

Cálculo del sustrato base para 1 kg de fibra de coco:

- 5 L de agua.
- 3 cucharadas de yeso.
- 2 cucharadas de bicarbonato de sodio.
- 1,7 L de vermiculita.
- 125 gramos de café molido.

Después de escurrir el exceso de agua se queda aproximadamente 6 L de sustrato húmedo. Al añadir 2 botes de grano el volumen de mezcla se aumenta hasta 8 L.

Las setas contienen aproximadamente un 92% de agua. De este modo, para conseguir 100 gramos de setas secas tenemos que cultivar aproximadamente 1 kilo de setas frescas.

Creditos

Fungimur – Cultivador Murciano de Setas:

www.fungimur.es

<https://www.linkedin.com/company/fungimur/>

<https://www.instagram.com/felizkatus/>

El autor principal del libro:

felizkatus@gmail.com

La página de soporte del libro:

<http://fungimur.es/consultas-y-formacion.html>

HAPPY GROWING, MAGIC PEOPLE 😊