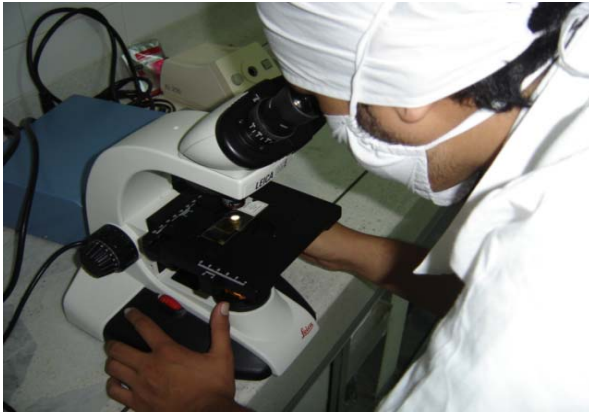


Proyecto: "Adaptación e implementación de cinco cepas de hongos comestibles en diferentes subproductos agrícolas para mejorar la productividad y competitividad de ASOFUNGICOL en el Huila"

---

## **IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS CONTAMINANTES MÁS FRECUENTES EN EL CULTIVO DE SETAS COMESTIBLES Y MEDICINALES**



## **PROTOCOLO**

Realizado por: Nelson Rodríguez Valencia  
Investigador Científico I. Cenicafé.  
Martha Liliana Araque Fonseca  
Servicios Profesionales. Cenicafé.  
Francenid Perdomo Perdomo.  
Servicios Profesionales. Cenicafé.

# PRESENTACIÓN


El proyecto empresarial de innovación y desarrollo tecnológico “Adaptación e implementación de 5 cepas de hongos comestibles en diferentes subproductos agrícolas para mejorar la productividad y competitividad de la Asociación de productores de hongos comestibles de Colombia ASOFUNGICOL”, tuvo como propósito encontrar las mejores formulaciones de sustrato, elaborados a partir de los subproductos agrícolas más abundantes en el departamento del Huila e identificar las cepas de hongos de mayor rendimiento, facilitadas por el Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé), de forma que se mejore el proceso de cultivo de setas de los asociados.

De igual manera, busca transferir a la Asociación todos los conocimientos relacionados con el manejo del material biológico y la producción de semilla comercial, por ser éste uno de los mayores obstáculos que han tenido los cultivadores.

El proyecto se realizó con la financiación del SENA, la Gobernación del Huila y la CAM, bajo la dirección técnica de Cenicafé.

En su desarrollo se utilizaron los laboratorios del Centro Agropecuario la Angostura perteneciente al SENA, Regional Huila, para la obtención de la semilla de los hongos y para el manejo postcosecha del cultivo.

La fase de campo se realizó en los cultivos de los asociados en los Municipios de Rivera, Garzón , Tesalia y Teruel, en el Departamento del Huila.



# TABLA DE CONTENIDO

	Página
<b>Generalidades de los hongos contaminantes</b>	<b>4</b>
<b>Identificación de hongos contaminantes</b>	<b>6</b>
<b>Principales hongos contaminantes</b>	<b>10</b>

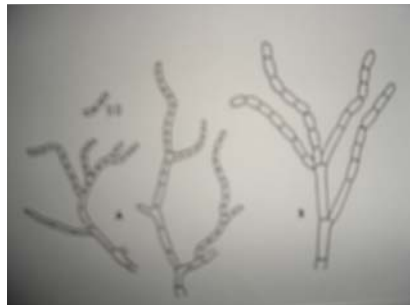
# GENERALIDADES DE LOS HONGOS CONTAMINANTES

Dentro del reino Fungi se encuentran los mohos, los cuales se caracterizan por no tener clorofila, son eucarióticos quimiorganotróficos, unicelulares o multicelulares, heterótrofos, saprófitos o parásitos, inmóviles, aerobios estrictos y tienen la capacidad para reproducirse sexual y/o asexualmente.



*Trichoderma* spp

Sus cuerpos son usualmente alargados y filamentosos, poseen pared celular que contiene quitina y/o celulosa. El talo del hongo se compone característicamente de filamentos tubulares microscópicos llamados hifas y el conjunto de ellas se llama micelio. El micelio forma un tejido de malla floja o compacta llamada colonia. El micelio es vegetativo o reproductor el primero penetra en el sustrato para obtener los nutrientes y el segundo es el responsable de la producción de propágulos (esporas y conidias)



Estructuras morfológicas de *Geotrichum* spp

Fisiológicamente los mohos se adaptan a condiciones adversas de acidez, temperatura, humedad, etc. Su crecimiento óptimo ocurre en microambientes con pH promedio de 6.0 y temperatura de 20-30°C. Son organismos poco exigentes en cuanto requerimientos nutricionales mínimos; pequeñas concentraciones de nitrógeno y carbono y algunos oligoelementos son sus únicas exigencias para desarrollarse en un medio.

Los hongos se encuentran en variados ambientes, algunos causando efectos benéficos y otros perjudicando a sus huéspedes, debido a sus habilidades enzimáticas y catabólicas.

En la producción de las setas comestibles y medicinales, los mohos encuentran en los sustratos y en las condiciones ambientales para estos cultivos, condiciones ideales para su crecimiento, por esto es importante la inocuidad en cada una de las etapas en el proceso productivo, para prevenir la aparición de estos contaminantes microbiales.



*Aspergillus* spp

# IDENTIFICACIÓN DE HONGOS CONTAMINANTES



Colonias de hongos contaminantes

La esterilidad y el adecuado manejo del proceso productivo de las setas comestibles y medicinales, son las mejores maneras de prevenir el desarrollo de los hongos contaminantes que compiten por los nutrientes de los sustratos y que inhiben el crecimiento del micelio de las setas; pero en el caso de que se presenten se debe aprender a identificarlos en el cultivo, teniendo en cuenta sus características macroscópicas y en el laboratorio con un examen microscópico.

La observación constante de las tortas inoculadas para el cultivo de las setas, es importante porque puede arrojar la primera información que facilitará la caracterización de las colonias de los hongos contaminantes. Algunas de esta características morfológicas de las colonias se agrupan de la siguiente manera:

## 1. Textura:

- **Cremosa:** blanda de consistencia como mantequilla
- **Glabra:** lisa sin pelos como cuero
- **Polvorienta:** como harina, polvo, talco
- **Granular:** más grueso que polvoriento
- **Aterciopelado:** como terciopelo o pana
- **Algodonoso:** lanoso
- **Rugosa:** bordes irregulares

## 2. Color: (Color inicial y final de la colonia)

- **Hialino:** azules, amarillos, color traslucido y brillante

- **Dematiaceo:** castaño, gris, verde oscuro o negro, color consistente y opaco

Cuando estás características no pueden describirse fácilmente, se requiere tomar muestras para ser cultivadas en el laboratorio y continuar con la fase de observación microscópica.

Para el aislamiento e identificación de hongos contaminantes en el laboratorio se requieren los siguientes procedimientos:

### A. CULTIVO DE HONGOS CONTAMINANTES EN PLACA :

Para identificar debidamente los hongos contaminantes es necesario cultivarlos en condiciones de laboratorio. Para lograr esto es preciso elegir un medio de cultivo selectivo que permita un crecimiento masivo del hongo. Los medios más usados para este fin por su alta concentración de azúcar y bajo pH, son: Papa Dextrosa Agar, Agar Sabouraud y Agar Extracto de Malta; los cuales se preparan de acuerdo a las instrucciones de la casa comercial, utilizando cajas de petri para su cultivo. Los hongos se siembran y se incuban a 25°C por 5 días. Es importante la continua observación del crecimiento micelial para establecer los cambios de color durante su desarrollo y el color de la colonia en el reverso de la placa.



Placas con hongos contaminantes

### B. EXAMEN EN EL MICROSCOPIO:

Una vez desarrollado el hongo en las placas del medio de cultivo, se toman porciones pequeñas de micelio y se prepara una lámina con un portaobjetos, se lleva al microscopio y se visualiza la morfología microscópica del hongo con la ayuda de un colorante que facilite la descripción de las estructuras sexuales.

## PROTOCOLO

### A. Cultivo en placa:

1. Tomar trozos de sustrato que contenga el hongo contaminante.
2. Limpiar y desinfectar el laboratorio y el área de siembra con Timsen (1g timsen/500ml agua), Vanodine (2.5g vanodine/500ml agua), Cloruro de benzalconio (2.5g de cloruro de benzalconio/500ml agua).
3. Realizar los cálculos correspondientes para la preparación del medio selectivo (Agar Sabouraud, PDA o Extracto de Malta Agar), de acuerdo con las indicaciones de la casa comercial, teniendo en cuenta la cantidad de placas que se necesitan.
4. Verter el agua destilada y el medio de cultivo según los cálculos en un erlenmeyer y agitar la solución.
5. Hervir la solución anterior y luego esterilizarla en una autoclave según las especificaciones del medio de cultivo.
6. Dejar enfriar hasta los 35 °C y servir 20 ml por caja de petri, y esperar que solidifique el agar.
7. Organizar la zona de siembra, encender la cabina de flujo laminar y el mechero.
8. Flamear el asa. Destapar la caja cerca al mechero.
9. Enfriar el asa en un extremo del medio. Tapar la caja.
10. Tomar un trozo de hongo contaminante presente en el sustrato.
11. Destapar nuevamente la caja cerca al mechero.
12. Sembrar el inóculo en el centro de la caja, haciendo una pequeña incisión en el medio.
13. Tapar la caja de petri e incubar en posición invertida a 25 °C durante 5 días.
14. Observar constantemente el crecimiento micelial y registrar la pigmentación de las colonias al inicio y final de la incubación, al igual que la coloración de la colonia al reverso de la placa.



## B. Examen en el microscopio:

1. Tomar la placa del hongo contaminante que mejor se desarrolló.
2. Tomar un portaobjetos y agregarle una gota de azul de lactofenol.
3. Flamear el asa.
4. Destapar la placa cerca al mechero y enfriar el asa en el medio.
5. Tomar un inóculo pequeño y tapar la placa.
6. Depositar el inóculo en la gota de azul de lactofenol.
7. Cubrir con una laminilla el portaobjetos de manera inclinada, evitando la formación de burbujas.
8. Lleve al microscopio y visualice las estructuras morfológicas que permitan identificar el género del hongo contaminante.



Examen en el microscópico

## PRINCIPALES HONGOS CONTAMINANTES



### MUCOR:

**Características macroscópicas:** Inicialmente la colonia es blanca, luego cambia a amarillo-café, con un micelio aéreo denso. Reverso de la colonia es incolora.

**Características microscópicas:** Columela ovoide, elipsooidal, con una base truncada. Esporangióforos ramificados, largos y lisos. Esporangios globosos-hialinos. Clamidoconidias en gran cantidad.

### ASPERGILLUS:

**Características macroscópicas:** Colonias de crecimiento rápido, granuladas, densas, negro-verdosas, negro-café, negro-púrpuras, negro-carbón, con base blanca o amarilla. Reverso incoloro.

**Características microscópicas:** Conidias globosas con estriaciones longitudinales, vesícula globosa hialina, fiálides biseriadas, metulas grandes, conidióforo hialino y liso.



### PENICILLIUM:

**Características macroscópicas:** Colonias de crecimiento rápido, de color verde oliva, aterciopeladas, borde blanco y definido. Reverso amarillo-naranja o café púrpura.

**Características microscópicas:** Conidióforos hialinos y lisos, salen directamente de las hifas vegetativas, metulas con 4 a 7 fiálides en forma de anforas cortas. Las conidias globosas que forman cadenas.

## TRICHODERMA

**Características macroscópicas:** Moho algodonoso de rápido crecimiento, que crece en colonias circulares, al principio de color blanco o grisáceo pero que se torna de color verde al esporular.

**Características microscópicas:** Conidiósporas redondas con núcleo definido. Las conidioesporas se producen sucesivamente de los extremos de las fialides y se agrupan en pequeños fragmentos húmedos. Las conidias globosas y forman cadenas.



## LITERATURA CONSULTADA

PELCZAR, M. Microbiología. . México. McGraw-Hil, 1984.

COLLINS, C.H. Métodos microbiológicos. Zaragoza. Acribia, 1989

BARNETT. H. L. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Estados Unidos. Macmillan Publishing, 1987.

**Identificación de los hongos  
contaminantes más  
frecuentes en el cultivo de  
setas comestibles y  
medicinales**

Fotografía  
Archivo Cenicafé  
Archivo Proyecto

Diseño  
Martha Liliana Araque Fonseca  
Cenicafé  
Versión preliminar

Copyright © FNC –Cenicafé 2006

CON EL APOYO DE:



**ASOFUNGICOL**  
Asociación de productores de  
hongos comestibles de Colombia

