

MANUAL DE —  
BIOFABRICACIÓN  
CON HONGOS





Synbio Lab



**LABVA**  
LABORATORIO  
BIOMATERIALES  
VALDIVIA



MUSEO  
DEL  
HONGO



ESCUELA DE ARQUITECTURA  
FACULTAD DE ARQUITECTURA, DISEÑO  
Y ESTUDIOS URBANOS

FUNDACION FUNGI

FFungi

[www.ffungi.org](http://www.ffungi.org)

BiE|||

Biofabricación  
de Elementos  
Marítimos



FABLAB  
U.deChile

## LABORATORIO DE BIOFABRICACIÓN FADEU

### Director

Francisco Chateau Gannon

### Coordinador Administrativo

Aníbal Fuentes Palacios

### Coordinador Tecnológico

Sebastián Rodríguez Jara

### Coordinadora de Infraestructura y Hardware Abierto

Catalina De Pablo Alday

### Asesor Biológico

Fernán Federici Noé

### Jefe de Laboratorio

Andrés Romero Quezada

### Investigadores (2018 - 2019)

Aníbal Fuentes Palacios  
Sebastián Rodríguez Jara  
Catalina De Pablo Alday  
Andrés Romero Quezada  
Carolina Pacheco Glen  
Alejandro Soffía Vega  
Tomás Vivanco Larraín

### Productora

Galit Hojman Betancourt

### Editora de Contenidos

Gabriela Fuentes Palacios

### Asistentes de Diseño

Ricardo Aliste Salvo  
Esteban Lagos Hernández

### Asistente de Laboratorio

Felipe Muñoz Castillo

### Asistente de Hardware Abierto

Claudia Gaete Zúñiga

### Practicantes y Colaboradores (2018 -2019)

Antonia Valencia Talhouk  
Josefa Ballacey Cobo  
Javiera Videla Valdivia  
Daniel Nuñez Quijada  
Axel Sepúlveda Olivares  
Carmine Costoya Ruiz  
Heloísa Oss Boll



# MANUAL DE BIOFABRICACIÓN CON HONGOS

## Edición y producción general

Aníbal Fuentes Palacios  
Sebastián Rodríguez Jara

## Edición de contenido y corrección de estilo

Gabriela Fuentes Palacios

## Diseño de imagen

Constanza Prado Durán

## Diseño editorial y fotografía

Sebastián Plaza Kutzbach

## Contenidos

Fernán Federici Noe  
Aníbal Fuentes Palacios  
Tamara Matute Torres  
Felipe Muñoz Castillo  
Daniel Nuñez Quijada  
Isaac Nuñez Quijada  
Sebastián Rodríguez Jara  
Andrés Romero Quezada  
Daniela Torres Acuña

## Financia

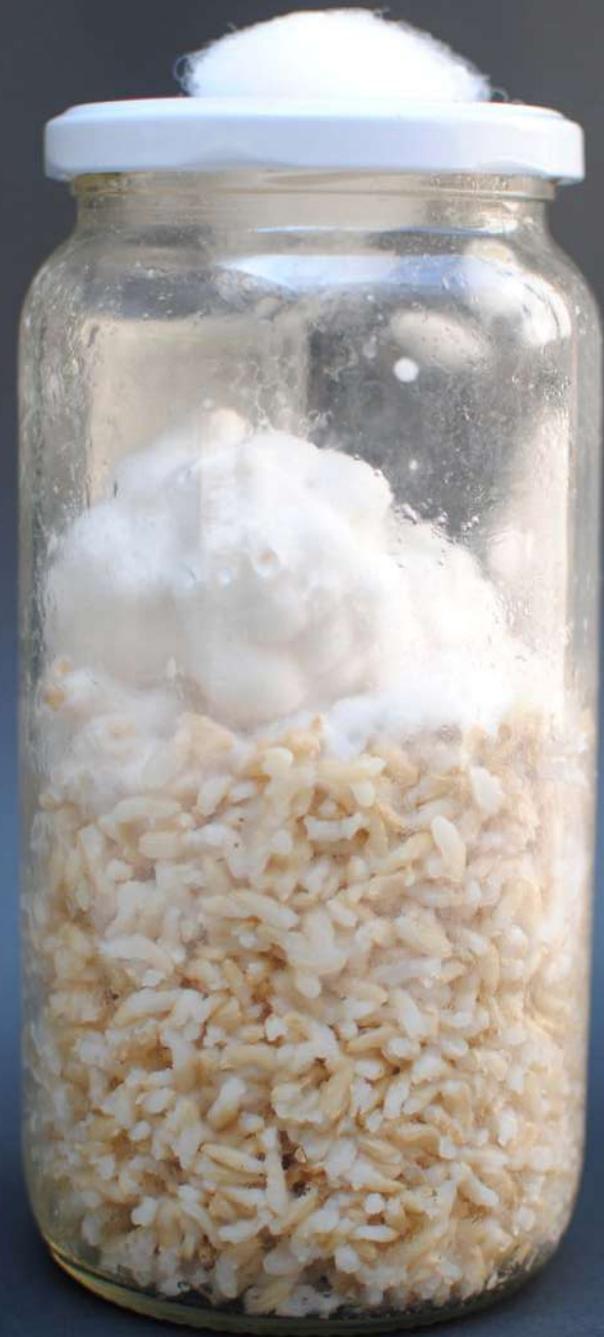
Ministerio de las Culturas, las Artes y el Patrimonio. Fondart Nacional, convocatoria 2018

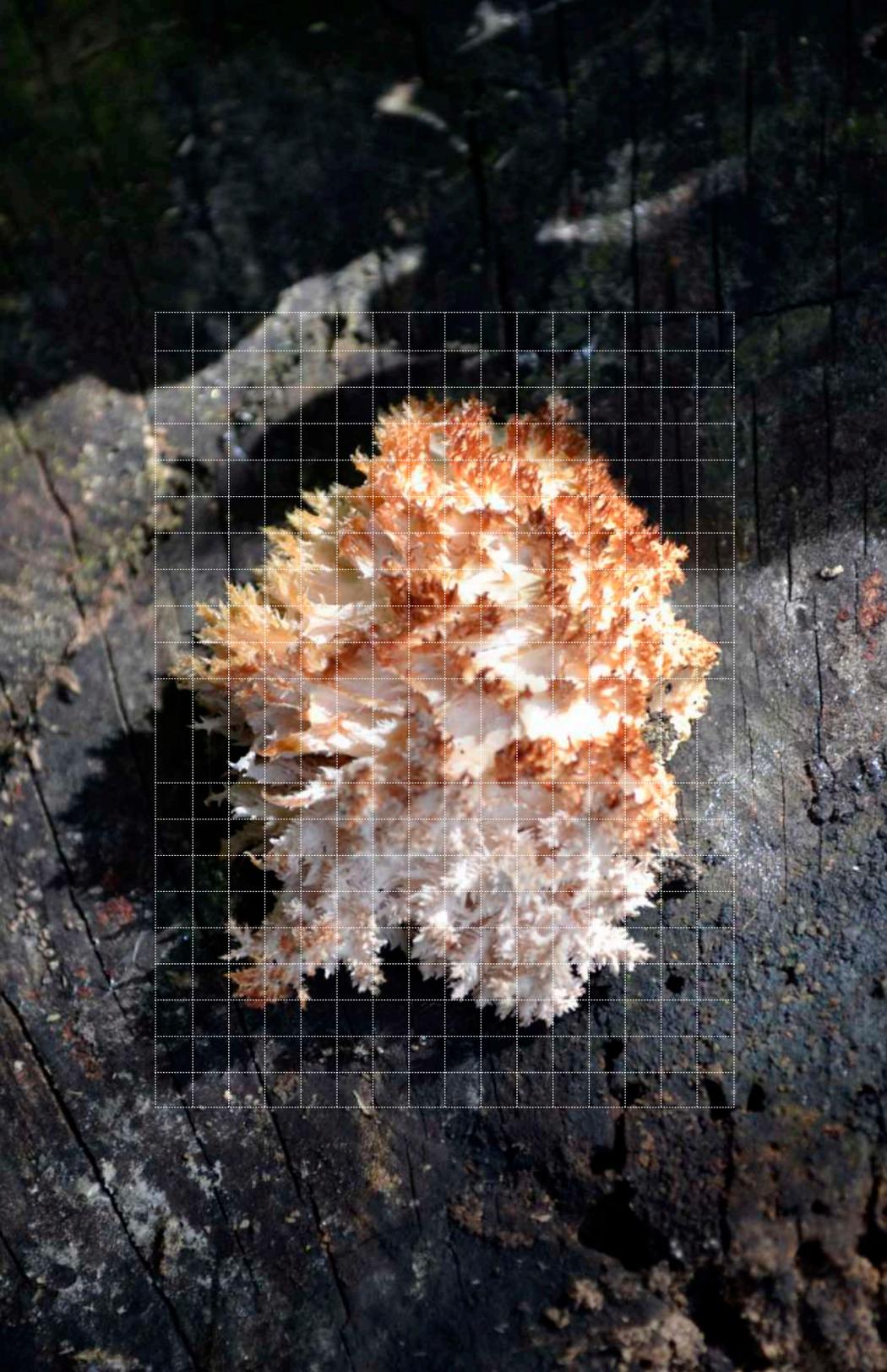
Vicerrectoría de Investigación, Pontificia Universidad Católica de Chile

Instituto Milenio iBio - Iniciativa Científica Milenio MINECON

## Licencia

Esta publicación está disponible bajo la licencia Creative Commons Atribución-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-SA 4.0), lo que implica que usted es libre de copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato, así como de adaptar, remezclar, transformar y construir a partir del material para cualquier propósito, incluso comercialmente, siempre que se dé crédito de manera adecuada a los autores de la obra y se indique si se han realizado cambios. Si remezcla, transforma o crea a partir del material, debe distribuir su contribución bajo la misma licencia del original. Para ver una copia de la licencia visite <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/legalcode.es>





# INDICE

8	AGRADECIMIENTOS
9	INTRODUCCIÓN
10	BREVE ANATOMÍA Y ECOLOGÍA DE LOS HONGOS
14	EL REINO FUNGI EN CHILE
17	RECOLECCIÓN
18	RECOMENDACIONES GENERALES
19	PASOS
20	CULTIVO IN VITRO
21	RECOMENDACIONES GENERALES
22	MÉTODO 1
23	MÉTODO 2
25	PRODUCCIÓN DE INOCULO (SPAWN)
26	RECOMENDACIONES GENERALES
27	PASOS
28	MÉTODO 1
29	MÉTODO 2
30	PRODUCCIÓN DE BIOMATERIALES
31	RECOMENDACIONES GENERALES
32	PASOS
34	APLICACIONES DEMOSTRATIVAS
35	RECOMENDACIONES GENERALES
36	FORMAS BÁSICAS
38	FORMAS COMPLEJAS
41	ANEXOS
44	GLOSARIO
45	BIBLIOGRAFÍA

# AGRADECIMIENTOS

El conocimiento que aquí les presentamos proviene del trabajo realizado por un enorme número de investigadores provenientes de distintas organizaciones, quienes han aportado desinteresadamente y por un largo tiempo al desarrollo de materiales biodegradables, de bajo costo, y con tecnologías disponibles para la mayor cantidad de gente posible.

Agradecemos a la Fundación Fungi por su aporte al entendimiento del reino de los hongos y al SynBioLab por impulsar el desarrollo de protocolos abiertos y fomentar la ciencia libre.

Agradecemos a la Vicerrectoría de Investigación y a la Facultad de Arquitectura, Diseño y Estudios Urbanos de la Pontificia Universidad Católica de Chile por su constante apoyo.

El contenido específico sobre la producción de materiales y objetos que aquí se puede encontrar, así como la producción de este manual, han sido posibles gracias al financiamiento de los Fondos de Cultura del Ministerio de las Culturas, las Artes y el Patrimonio. Por su parte, el conocimiento sobre los procesos de colecta, aislamiento y cultivo de hongos in vitro ha sido posible gracias al financiamiento de la Vicerrectoría de Investigación de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Finalmente, agradecemos a cada uno de los miembros de la RedFungi, cuya labor y amistad alimentan cada uno de nuestros proyectos.

# INTRODUCCIÓN

En este manual te enseñaremos cómo fabricar tus propios materiales y objetos a partir de hongos nativos descomponedores de madera y desechos agroforestales. Esto puede sonar complejo o incluso difícil de imaginar, pero en realidad se trata de algo bastante similar a cocinar, o mejor dicho, a cocinar bien.

Por ejemplo, cuando preparamos un pan con masa madre, lo primero que tenemos que hacer es preparar el inóculo (la masa madre) y esperar a que organismos microscópicos la colonicen, se alimenten de ella y cambien su composición. Una vez lista, podemos comenzar con la preparación de la masa del pan, la que luego de varios procesos de fermentación podrá finalmente ir al horno para ser cocinada.

Pues bien, aquí se trata de algo similar: buscar los ingredientes correctos, seguir la receta y, con mucha paciencia, experimentar una y otra vez hasta que tengamos el material que nos guste o que sea funcional para nosotros.

Al igual que en la cocina, el compartir las recetas, los conocimientos asociados y las fuentes de los ingredientes es fundamental para que todo el mundo pueda tener acceso a estas tecnologías. Es por esta razón que compartimos nuestras investigaciones a través de este manual y que invitamos a nuestros lectores a que compartan sus descubrimientos.

Ahora los invitamos a probar, jugar y experimentar con la posibilidad de construir sus propios objetos y materiales, y junto con ello, los invitamos a ser parte de nuestra comunidad de investigación y biofabricación.

# BREVE ECOLOGÍA Y ANATOMÍA DE LOS HONGOS

Los hongos son cruciales para que la vida exista en la forma en que la conocemos. Fueron ellos quienes permitieron que las plantas se pudiesen establecer en la tierra, colonizar y formar los grandes bosques que podemos ver actualmente. Esto ocurrió gracias a una asociación entre los hongos y las raíces de las plantas, llamada micorriza, en donde ambos organismos colaboran y se ayudan mutuamente.

El hongo provee a la planta de nutrientes que esta no puede sintetizar, y aumenta su capacidad de absorción llegando a lugares donde la raíz por sí sola no podría.

Si pensáramos en un mundo sin hongos, además de tener que olvidarnos de los bosques de nuestro planeta, tendríamos que imaginarnos rodeados de basura, ya que son ellos junto a las bacterias quienes reciclan los desechos de naturaleza. En general, los recicladores se alimentan de diferentes restos vegetales y animales, pero existen otros que se alimentan de otros sustratos menos comunes como el plástico o el kerosene. Es más, para cada elemento de la tabla periódica existe un hongo que lo descompone (Neves, 2018). Del proceso de descomposición se obtienen elementos y nutrientes que promueven la formación de organismos y el alimento de las nuevas generaciones de plantas y animales, sosteniendo así toda la cadena alimentaria de la cual los humanos también dependemos.

No es exagerado decir entonces que la vida que conocemos no podría existir sin los hongos (Furci, 2013).

Se estima que el reino Fungi cuenta con un poco más de 5 millones de especies (Blackwell, 2011), de las cuales solo conocemos el 5%. Las levaduras, los mohos y las setas son parte de este reino. Los hongos que forman las setas o callampas son hongos filamentosos, es decir, forman filamentos llamados hifas, los que se entrelazan formando una capa densa similar a una telaraña. Este tejido es llamado micelio.

El micelio es el verdadero hongo, y es este el que da origen, cuando las condiciones climáticas y temporales lo permiten, a la seta o callampa. Por lo tanto, lo que nosotros percibimos a simple vista es solo una parte del hongo: su parte reproductiva.



Imagen 1. "Trametes Versicolor (cola de pavo)". Fundación Fungi

Podemos imaginarnos al micelio como un gran árbol que está bajo tierra y que nosotros lo que vemos son solo los frutos de estos "árboles-micelio" enterrados.

Dentro de este grupo de los hongos filamentosos están los descomponedores de madera, y son los únicos capaces de degradarla, ya que producen enzimas que le ayudan a degradar la lignina y/o celulosa. En este grupo podemos encontrar a los denominados "orejas de palo" y los "cola de pavo" (Imagen 1 y 2).

Para producir nuestros biomateriales utilizaremos este tipo de hongos: los descomponedores de madera. Una manera de saber si el hongo se alimenta de lignina o celulosa es observando la madera sobre la que crece. Si los restos de madera descompuestos por el hongo son de color café y de textura polvorienta, entonces los hongos se alimentaron de la celulosa dejando disponible la lignina, cuando veamos este caso estamos en presencia de los hongos de pudrición café. Por el contrario, si los restos descompuestos de la madera son de color blanquecino y de textura fibrosa, entonces el hongo se ha alimentado de la lignina, dejando disponible la celulosa, estos se llaman hongos de pudrición blanca.

El hongo como tal, en su forma de micelio está presente durante todo el año, y es preferentemente en otoño y primavera que podemos observar el aparato reproductor del mismo. Esta seta, callampa o carpóforo puede tener una durabilidad corta en el tiempo o ser perenne. Los hongos sorprenden por su variabilidad de formas, tamaños, colores, olores y texturas (Furci, 2013).



Imagen 2: "Ganoderma Lucidum (oreja de palo)". Sebastián Rodríguez

El hongo como tal, en su forma de micelio está presente durante todo el año, y es preferentemente en otoño y primavera que podemos observar el aparato reproductor del mismo. Esta seta, callampa o carpóforo puede tener una durabilidad corta en el tiempo o ser perenne. Los hongos sorprenden por su variabilidad de formas, tamaños, colores, olores y texturas (Furci, 2013).



Imagen 3: "Anatomía carpóforo". Sebastián Rodríguez

# EL REINO FUNGI EN CHILE

En Chile, la diversidad geográfica y climática favorece el desarrollo de diferentes tipos de hábitats como tundras, pastizales, selva, bosque, desiertos, entre otros, permitiendo el desarrollo de una gran variedad de hongos. La investigación realizada en el territorio nacional, sin embargo, es «heterogénea e incompleta, dejando extensas áreas de difícil acceso con estatus de “tierra incógnita” con respecto a su diversidad fúngica, como es el caso para gran parte de la Patagonia y Magallanes» (Furci & Repetto-Giavelli, 2012).

A pesar de las limitantes geográficas y de la poca investigación que se ha realizado sobre este reino, en Chile se han registrado más de 3.000 especies de hongos (Mujica y Vergara, 1980), de las cuales solo se ha descrito alrededor de un 10%, y de estas, se sabe que alrededor de 53 especies silvestres son comestibles (Valenzuela, 2003).

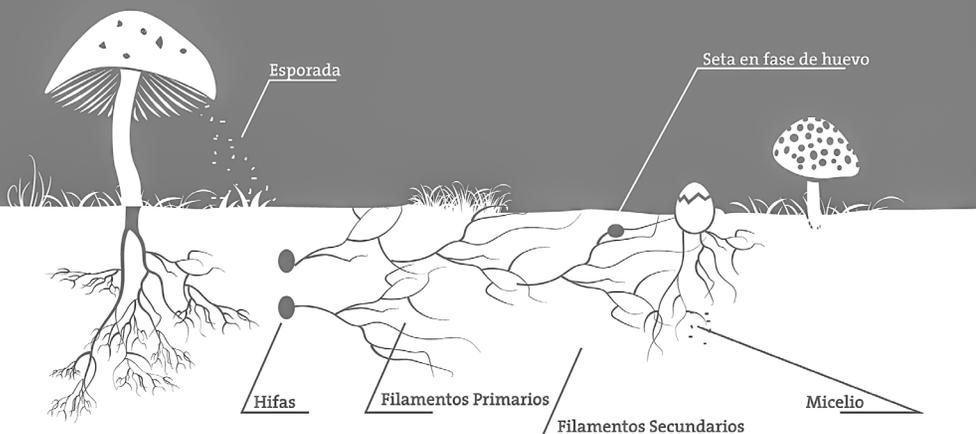


Imagen 4: "Estructura de un hongo de sombrero". Constanza Prado.

La mayor cantidad de especies se encuentra desde la IV región hacia el sur de Chile (Conama, 2008), por lo que la investigación sobre la diversidad fúngica de nuestro país se ha centrado principalmente en las regiones australes, en particular en la zona de la Patagonia. Según Gamundí y Amos (2007), en Tierra del Fuego se describieron 1269 especies de hongos entre los años 1901 y 2006. Los hongos descritos en estas zonas del planeta se encuentran en bosques muchas veces prístinos y de difícil acceso. En estos territorios los gárgales, las ganodermas y las colas de pavo abundan.

En los últimos años se ha observado e identificado que en el norte de Chile (incluso en el desierto) existe una diversidad de especies de hongos antes impensada, las que aún no han sido estudiadas en profundidad. En estos ecosistemas encontramos, por ejemplo, a los de la clase Gasteromycete.

Estas investigaciones han permitido que en la actualidad distintas instituciones y organizaciones chilenas tengan las bases para explorar las posibilidades que los hongos de nuestro país otorgan para producir materiales sostenibles y con un bajo impacto en los ecosistemas de nuestra región. La gran variedad de especies de hongos chilenos nos permite pensar en una multiplicidad de materiales posibles que aún queda por explorar. De momento, te enseñaremos solo una de las tantas formas que existen de aproximarse a la biofabricación con hongos, pero que te permitirán entrar en este fascinante mundo.



Imagen 5: "Favolaschia". Fundación Fungi



Imagen 6  
"Hongo no identificado"  
Fundación Fungi

## RECOLECCIÓN

### MATERIALES

1. Bolsas de recolección (papel o plástico)
2. Cuchillo para toma de muestras
3. Guía de campo para identificación de hongos
4. Lupa
5. GPS (o smartphone)
6. Cámara fotográfica
7. Etiquetas de identificación
8. Cajas de recolección
9. Reglas o referencia de tamaño
10. Lápiz y cuaderno

## RECOMENDACIONES GENERALES

Para el desarrollo de materiales trabajaremos principalmente con hongos descomponedores de madera. Para encontrarlos se recomienda realizar la búsqueda en sectores de alta humedad o bosques con presencia de árboles muertos (caídos, talados o incluso quemados).

No obstante, estos hongos pueden encontrarse en árboles vivos e incluso depender de él.



Imagen 6: "Registro de foto en terreno". Red Fungi

## PASOS

1. Ubicar el hongo según indican las recomendaciones generales.
2. Tomar fotografías técnicas de lejos y cerca, de modo que se pueda distinguir el sustrato y entorno en que se encuentra (Ejemplo: tipo de bosque, madera viva o muerta, especie huésped).
3. Tomar fotografías de cerca con una referencia de tamaño e identificador. Es importante tomar las fotografías antes de tocar el carpóforo y anotar cualquier información adicional que no pueda ser apreciada en ésta (Ej: olor, textura, presencia de baba, escamas u otras).
4. Recolectar. Para hacerlo, con un cuchillo o similar, podemos tomar el carpóforo o solamente su micelio, el que comúnmente es de color blanco para hongos de este tipo:
  - Si solo hay un cuerpo fructífero: recolectar un trozo de éste, reduciendo al máximo el daño al organismo. Esto principalmente si son de los tipos perennes ya que tardan años en crecer y desarrollarse.
  - Cuando son de crecimiento caduco (como los Trametes o cola de pavo), se puede sacar el carpóforo completo, dejando los más pequeños en el lugar.
  - Si se encuentra solo micelio: tomar la muestra con un trozo de madera que permita la posterior disección en esterilidad.
  - Se debe anotar cualquier información adicional que pueda ser apreciada al momento de la recolección (ej. cambio en la coloración al contacto).



Imagen 7: "Referencia de tamaño e identificador". Fundación Fungi

## CULTIVO IN VITRO

### MATERIALES

1. Bisturí estéril
2. Pinzas (opcional)
3. Mechero o similar
4. Placas petri con medio PDA
5. Cinta o pegamento instantáneo
6. Parafilm o cinta para sellar las placas
7. Alcohol (etanol) al 70%
8. Micelio recolectado

## RECOMENDACIONES GENERALES Y PREPARACIÓN DE ZONA DE TRABAJO

Las muestras deben ser cultivadas lo antes posible luego de su recolección para aumentar las probabilidades de éxito, idealmente dentro de las 24 horas siguientes a la recolección.

El cultivo de las muestras debe hacerse en condiciones de esterilidad, siendo esta condición la más relevante para asegurar el éxito del cultivo (ver anexo 1).

Finalmente, cabe recordar que si bien muchos de los hongos que se puedan recolectar son cultivables por este método, existen varios que serán difícilmente cultivable o no podrán ser cultivados.

Dado lo anterior, es importante sacar siempre varias muestras y seguir los pasos con la mayor precisión posible para aumentar las probabilidades de éxito.



Imagen 8: "Cultivo en placa petri". Sebastián Plaza

## MÉTODOS

### MÉTODO 1: A PARTIR DE MICELIO

1. Mediante el uso de un bisturí estéril (y pinzas de ser necesario) se debe cortar un pequeño trozo del micelio del hongo. Para evitar contaminación con otros microorganismos, el trozo de micelio no debe haber estado en contacto nunca con el ambiente y debe ser preferiblemente de una parte del micelio que se encuentre dentro de la madera o de la parte interior del carpóforo (si la morfología del hongo lo permite). Para lo anterior, se recomienda cortar un cubo y, de este, volver a cortar un cubo más pequeño, con el fin de obtener parte del hongo que efectivamente no haya estado en contacto con el ambiente. Es importante entonces asegurar que cada corte se realice con un bisturí previamente esterilizado siguiendo las indicaciones del Anexo 1, ya que de lo contrario estaremos arrastrando microorganismos desde el exterior en el bisturí. Este paso puede ser particularmente difícil para hongos que presenten una superficie muy pequeña, por lo que es necesario tomar varias muestras para aumentar la probabilidad de éxito.

2. Colocar el pequeño trozo de micelio obtenido en una placa con PDA. Es recomendable colocar múltiples trozos para aumentar la probabilidad de éxito. Todas las placas deben ser correctamente selladas con parafilm para evitar su deshidratación.

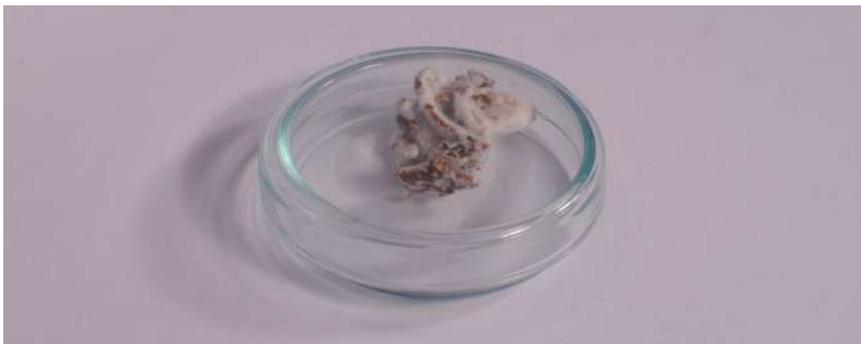


Imagen 9: "Crecimiento de micelio sobre sustrato". Sebastián Plaza

### MÉTODO 2: A PARTIR DE ESPORADA

1. Mediante el uso de un bisturí estéril (y pinzas de ser necesario) se debe cortar un pequeño trozo del cuerpo fructífero del hongo en el que se pueda distinguir claramente los poros o lamelas de éste.

2. Pegar el trozo de cuerpo fructífero bajo la tapa una placa petri. Lo anterior puede hacerse con cinta o algún pegamento instantáneo. El trozo del cuerpo fructífero debe ser pegado por su lado superior con el fin de dejar expuestos los poros o lamelas del hongo. Es importante asegurarse que el trozo cortado sea lo suficientemente delgado como para no tocar el PDA al cerrar la tapa de la placa.

Las lamelas o poros deben quedar sobre el agar y no tocarlo para que las esporas caigan sobre éste. Al igual que en el método anterior es recomendable colocar múltiples trozos para aumentar la probabilidad de éxito.

3. Repetir puntos 3) al 6) del método 1.

De ser posible, se recomienda realizar cultivos utilizando ambos métodos en paralelo para aumentar las probabilidades de un correcto aislamiento.

Finalmente, cabe recordar que si bien muchos de los hongos que se puedan recolectar son cultivables por este método, existen varios que serán difícilmente cultivable o no podrán ser cultivados.

Dado lo anterior, es importante sacar siempre varias muestras y seguir los pasos con la mayor precisión posible para aumentar las probabilidades de éxito.



Imagen 10: "Cultivo de un hongo en medio PDA". Red Fungi

## PRODUCCIÓN DE INOCULO (SPAWN)

### MATERIALES:

1. Placa madre con micelio de hongo
2. Arroz integral
3. Algodón siliconado
4. Bisturí esteril
5. Cuchara
6. Alcohol (etanol) al 70%
7. Parafilm
8. Toalla de papel.
9. Olla a presión con modificación
10. Frasco de vidrio con tapa
11. (Deben caber dentro de la olla a presión modificada)
12. Incubadora de bajo costo (ver anexo 3)



Imagen 10: "Cultivo de hongos en placas con PDA a diferentes temperaturas". Biofab

## RECOMENDACIONES GENERALES Y PREPARACIÓN ZONA DE TRABAJO

Los frascos, ollas y otros instrumentos y/o herramientas a utilizar deben estar estériles siguiendo las indicaciones del Anexo 1.

Las placas a utilizar deben, en lo posible, haber sido colonizadas completamente (en toda la cobertura del gel), de esta manera, si se producen contaminaciones o algún tipo de falla en etapas posteriores, es posible volver a la cepa original.



Imagen 11: "Crecimiento de micelio en arroz". Sebastián Plaza

## PASOS

1. **Preparación del frasco:** Realizar una perforación en el centro de la tapa del frasco con una broca de 8mm (esto permitirá un intercambio gaseoso entre el interior y el exterior del frasco) y luego introducir algodón siliconado en el agujero (el algodón actuará como filtro).
2. **Cocción del arroz:** Cocinar el arroz durante 40 minutos (1 taza  $\frac{1}{4}$  de agua por cada taza de arroz). Para poder verificar que el contenido de humedad es el ideal podemos poner algunos granos sobre una toalla de papel y observar que esta no quede húmeda al momento de retirarlos. El rendimiento del arroz es aproximadamente  $\frac{1}{2}$  a  $\frac{3}{4}$  de taza por cada frasco a preparar.
3. **Preparación de frascos y vaciado del arroz:** Una vez controlado el contenido de humedad en el arroz, este se deposita en el frasco, llenándolo hasta máximo  $\frac{3}{4}$  de su contenido para permitir la circulación de aire y poder agitar la mezcla.
4. **Pasteurización de los frascos:** Posteriormente, los frascos con sustrato se deben esterilizar en una olla a presión por 1 hora y 20 minutos, para eliminar la carga de microorganismos (Ver protocolo de pasteurización del sustrato en Anexo 2). Finalmente, dejar enfriar los frascos en una superficie desinfectada.
5. **Aplicar uno de los dos métodos** de replicación de hongos descritos a continuación, siguiendo las indicaciones de esterilidad descritas en el anexo 1.

## MÉTODO 1: PRODUCCIÓN DE INOCULO MADRE A PARTIR DE PLACAS

1. Tomar muestras de la placa de la cepa elegida con un bisturí, generando un corte en el gel, en forma de cuadrado o triángulo con aristas de 6 a 10 mm.
2. El trozo de gel cortado se traslada en el mismo bisturí hacia el interior de un frasco con sustrato. Debe siempre asegurarse de tomar una buena cantidad de micelio desde la placa para aumentar la probabilidad de desarrollo del hongo en el frasco. Una vez listo, cerrar el frasco.
3. Si se está inoculando el hongo sobre una gran cantidad de sustrato, se recomienda agitar el frasco durante pocos segundos, teniendo siempre la extrema precaución de que el micelio quede en el arroz y no en la tapa o las paredes del frasco.
4. (Se recomienda realizar este procedimiento con dos o tres frascos para aumentar las probabilidades de éxito).
5. Incubar el frasco a 25°C.
6. Al tercer o cuarto día de incubación se podrá observar crecimiento del micelio en el sustrato. En este punto será necesario agitar el frasco para que, durante los próximos días, el hongo pueda crecer uniformemente. Se debe observar periódicamente el crecimiento y agitar el inóculo cuando sea necesario, hasta que el hongo colonice completamente el arroz.
7. Una vez que el frasco esté colonizado, se encuentra listo para ser utilizado como inóculo madre siguiendo los pasos del método 2

## MÉTODO 2: PRODUCCIÓN DE INÓCULO (SPAWN) A PARTIR DE INÓCULO MADRE

1. Tomar una muestra del frasco con el inóculo madre con una cuchara estéril, verificando que cada cucharada contenga arroz y micelio.
2. Depositar la muestra en el interior de un frasco con sustrato. Debe siempre asegurarse de tomar una buena cantidad de micelio desde el frasco de inóculo madre para aumentar la probabilidad de desarrollo del hongo. Se recomienda agregar 3 cucharadas al nuevo sustrato.
3. Seguir pasos del 3 al 6 del método 1. Para mantener el micelio vivo se recomienda realizar este método cada dos semanas.
4. Una vez colonizados los frascos se puede comenzar a reproducir el micelio para producir el biomaterial.



Imagen 12: "Detalle del hongo colonizando sustrato". Sebastián Plaza

## PRODUCCIÓN DE BIOMATERIALES

### MATERIALES:

1. Inóculo en frasco (Spawn)
2. Sustrato
3. Frascos de vidrio o contenedor de plástico
4. Cuchara
5. Alcohol (etanol) al 70%
6. Parafilm
7. Toalla de papel.
8. Olla a presión con modificación
9. Agua (idealmente desmineralizada o en su defecto filtrada)
10. Balanza
11. Incubadora de bajo costo (ver anexo 3)

## RECOMENDACIONES GENERALES

Para la fabricación del biomaterial con hongos descomponedores de madera, necesitamos sustratos que tengan los mismos componentes que esta, es decir, lignina y/o celulosa dependiendo del hongo que usemos. Puesto en términos simples, nos sirven todos los restos de vegetales secos, como por ejemplo la cáscara de nuez, el aserrín, el bagazo de la cerveza, la paja de trigo, el afrechillo, etc.

Se recomienda usar contenedores plásticos o frascos de vidrio de 1 litro para comenzar. Una vez que se logre dominar el proceso con este volumen, se puede ir aumentando gradualmente hasta lograr el volumen deseado.

Los frascos, ollas y otros instrumentos y/o herramientas a utilizar deben estar estériles siguiendo las indicaciones del anexo 1.



Imagen 13: "Biomaterial compuesto a base de bagazo de cerveza". Sebastián Plaza

## PASOS

1. Pesar la cantidad de sustrato necesaria para llenar el contenedor.
2. Agregar agua al sustrato. La cantidad de agua depende de su capacidad de absorción. En términos generales, el sustrato deberá quedar húmedo al tacto, sin que haya exceso de agua, es decir, si apretamos un puñado de sustrato húmedo, no deberían caer gotas de agua.
3. Pasteurizar el sustrato siguiendo los pasos del protocolo de pasteurización indicados en el anexo 2.
4. Una vez pasteurizado, agregar el sustrato elegido al contenedor.
5. Tomar una muestra del inóculo (spawn), usando una cuchara estéril, correspondiente al 10% del peso del sustrato, verificando que contenga arroz y micelio (Por ejemplo, un litro de paja pesa aproximadamente 40 gramos, por lo tanto la cantidad de inóculo que se tendrá que agregar es de 4 gramos).
6. Depositar la muestra en el interior del contenedor con el sustrato.
7. Revolver la mezcla con una cuchara o la mano usando guantes (dependiendo de la cantidad)
8. Incubar el contenedor a 25°C.
9. Al tercer o cuarto día de incubación, se podrá observar crecimiento del micelio en el sustrato. Alrededor de una semana después, dependiendo del hongo que utilizemos, podremos observar que nuestro micelio ha colonizado todo el sustrato. Una vez que esto suceda, estamos listos para darle forma a nuestro biomaterial.



## APLICACIONES DEMOSTRATIVAS

### MATERIALES:

1. Biomaterial de micelio Sustrato
2. Moldes (depende del objeto a realizar)
3. Alcohol (etanol) al 70%
4. Cuchara
5. Film plástico
6. Taladro
7. Pernos
8. Tuercas
9. Lija
10. Horno o deshidratadora
11. Incubadora de bajo costo

## RECOMENDACIONES GENERALES

Las potencialidades del biomaterial de micelio son amplias, esto se debe a su capacidad de crecer adoptando la forma del molde que lo contiene. El tamaño del molde dependerá de dos factores: la cantidad de biomaterial de micelio que tenemos para llenarlo y el tamaño del horno para contener la pieza. El molde contenedor debe ser rígido, fácil de limpiar, de material inoxidable, fácil de llenar con sustrato y fácil de desmoldar.

Por otro lado, te recomendamos que, como primer ejercicio de aproximación, realices objetos simples, sin geometrías complejas, para no dificultar la aplicación y el proceso.

En una primera etapa, puedes fabricar tus primeros prototipos a partir de pequeños contenedores de plástico, como te indicamos a continuación.



Imagen 14: "Rastrojo de trigo". Sebastián Plaza

## FORMA BÁSICA BLOQUE

1. Limpiar con alcohol el molde elegido.
2. Depositar el biomaterial dentro del molde llenándolo completamente.
3. Tapar el molde con film plástico e incubar a 25°C.
4. Durante aproximadamente 7 días el micelio crecerá adoptando la forma del molde. Cuando la pieza este completamente blanca (producto del crecimiento del micelio) es momento de desmoldar.
5. Desmoldar y poner el bloque dentro de un contenedor hermético más grande o directamente dentro de la incubadora, controlando que esté permanentemente limpia y con condiciones ambientales estables. Dejar crecer el micelio durante 7 días, aproximadamente, dependiendo del hongo.
6. En una última etapa la pieza se cura en un horno convencional (eléctrico o de gas) y se deja a 170°C por 20 minutos y después se le dan otros 40 minutos a 100°C, esto es para que el hongo muera y no siga creciendo y para que la pieza pierda humedad. Otra opción para el curado es poner la pieza en una deshidratadora durante 8 horas a 60°C. Luego de este proceso el bloque queda terminado.



Imagen 15: "Registro biomaterial". Sebastián Plaza



Imagen 16: "Molde de biomateriales". Sebastián Plaza



Imagen 17: "Formas simples de biomateriales". Sebastián Plaza

## FORMA COMPLEJA

### CUENCOS

1. Tomar dos moldes, un molde y un contra molde. El modo más simple de hacerlo es usar dos contenedores de plástico de la misma línea o modelo pero que difieran en tamaño, para que el biomaterial adopte la forma entre los moldes (relleno).
2. Perforar ambos moldes con taladro y una broca de 3 a 4 mm de espesor, cuidando que el plástico no se destruya. Se recomienda perforar todo el contenedor dejando entre cada perforación entre 5 a 8 cm.
3. Una vez que está perforado se deben lijar los moldes tanto por dentro como por fuera para sacar las impurezas que pudo haber dejado las perforaciones.
4. Ubicar un molde sobre otro y unirlos con un perno en el centro, dejando el espacio adecuado para generar el espesor de la pieza.
5. Una vez que tenemos definido nuestro espesor fijamos con tuercas los contenedores [img Fig. 16. Esquema moldaje cuenco]
6. Depositar el biomaterial entre el molde y el contramolde, compactándolo lo más posible para que pueda cubrir todos los espacios.
7. Tapar los moldes con film plástico e incubar a 25°C.
8. En los próximos días el micelio del biomaterial crecerá adoptando la forma del molde. Cuando la pieza este completamente blanca (producto del crecimiento del micelio) es momento de desmoldar.
9. Desmoldar y poner el bloque dentro de un contenedor hermético más grande o directamente dentro de la incubadora, controlando que esté permanentemente limpia y con condiciones ambientales estables. Dejar crecer el micelio durante 7 días, aproximadamente, dependiendo del hongo.
10. Finalmente, la pieza se cura en un horno convencional (eléctrico o de gas) y se deja a 170°C por 20 minutos y después se le dan otros 40 minutos a 100°C. Otra opción para el curado es poner la pieza en una deshidratadora durante 8 horas a 60°C. Luego de este proceso el cuenco queda terminado.

## OTRA FORMAS

Ya conoces las formas más simples de cómo producir un objeto a partir de hongos. El siguiente paso será que tú mismo experimentes nuevas formas diseñando tus propios moldajes. Para ello, debes simplemente seguir las indicaciones que te dimos en las recomendaciones generales de este apartado, adaptar los pasos de las aplicaciones, y seguir las recomendaciones de esterilidad que puedes encontrar en el anexo 1.



Imagen 17: "Formas simples de biomateriales". Sebastián Plaza



## ANEXO 1 PROTOCOLOS DE SEGURIDAD, MANEJO Y ESTERILIZACIÓN DE INSTRUMENTOS

### 1. Características de la zona de trabajo

Se recomienda trabajar en un mesón con el suficiente espacio para manipular un mechero, las muestras recolectadas o inóculos y los implementos necesarios para la inoculación.

Aleje de esta zona todo tipo de manteles, cortinas, papeles y otros elementos inflamables.

Considerando que queremos generar cultivos en medios ricos en nutrientes, se sugiere trabajar en un espacio cerrado, sin corrientes de aire y con la menor carga ambiental de microorganismos o contaminantes. En otras palabras, se recomienda no trabajar frente a una ventana abierta, ya que podría favorecer la presencia de esporas, ácaros, etc., y evitar hablar durante los procedimientos de manera de reducir el riesgo de contaminación de placas y frascos.

### 2. Esterilización y manejo de implementos

- Manipulación de placas y frascos

Se recomienda exponer el contenido de placas y frascos lo menos posible hacia el exterior, abriéndolos sólo dentro del perímetro de esterilidad del mechero. Con esto reducimos la probabilidad de contaminar nuestros medios y organismos de interés.

- Flameo entre inoculaciones

Este procedimiento se debe realizar cada vez que se quiera cultivar el micelio de interés en una nueva placa, o cada vez que se inocule un sustrato. Previo a cada una de las inoculaciones de placas o sustratos, se recomienda limpiar el bisturí, cuchara o herramienta a utilizar, de la siguiente manera:

- Poner al fuego (flamear) la herramienta a utilizar durante unos segundos. Se debe poner cuidado en no quemarse, considerando que el metal transmite el calor.
- Retirar del fuego, manteniéndola dentro de la zona de esterilidad. En caso de quedar residuos en la herramienta escogida, esta puede limpiarse con una toalla de papel con etanol. Se debe tener cuidado de no acercarse demasiado al fuego, considerando que el etanol es inflamable.
- Se sugiere esperar que baje la temperatura de la herramienta utilizada antes de volver a cortar el micelio o sacar una muestra de inóculo, tratando de dañar lo menos posible el tejido.

## ANEXO 2

### PASTEURIZACIÓN DE SUSTRATO.

La pasteurización del sustrato tanto para la generación de inóculo como de biomaterial, se debe realizar de la siguiente manera:

1. Calentar el frasco con sustrato en una olla a presión, procurando que el frasco no toque el agua.
2. Para esto se mantiene una temperatura entre 80°C y 100°C, durante 80 minutos. Esto permite disminuir la cantidad de microorganismos presentes en el sustrato, favoreciendo a su vez la generación del cultivo de nuestro interés. nuestros medios y organismos de interés.

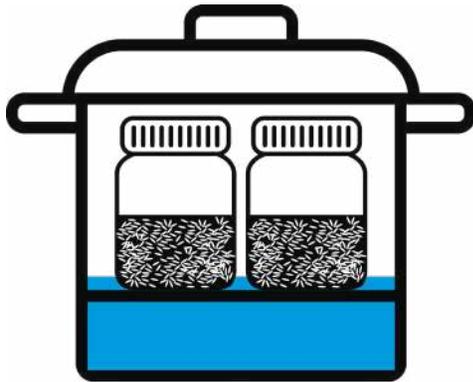


Imagen 18: "Modificación olla a presión". Biofab

## ANEXO 3

### INCUBADORA DE BAJO COSTO

#### MATERIALES

- Dos Contenedores de plástico, uno más grande que el otro
- Calefactor de acuario
- Termómetro
- Agua

Disponer los elementos según las indicaciones del diagrama. El termómetro te servirá para verificar la temperatura que están recibiendo nuestros hongos, y modificarla en el regulador del calefactor.

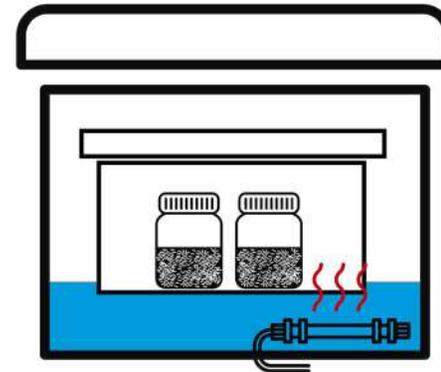


Imagen 19: "Incubadora de bajo costo". Biofab

## GLOSARIO

**Agar:** Polisacárido de consistencia gelatinosa obtenido de la pared celular de varias especies de algas. Se utiliza como solidificante para la preparación de medios de cultivo para el desarrollo de hongos y bacterias.

**Colonización:** Proceso en el que individuos de una misma especie se relacionan para establecer una colonia.

**Especie huésped:** Organismo vivo que recibe o proporciona condiciones de subsistencia para un parásito, como puede ser: alimento, estímulo hormonal para maduración sexual, estímulo en el crecimiento, o simplemente protección.

**Esporada:** Depósito o impronta de esporas.

**Esterilización:** Proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos viables, eliminando la carga microbiana del producto.

**Incubación:** Etapa en la que se fomenta el desarrollo de micelio y por ende la colonización del sustrato elegido dentro de un dispositivo a una temperatura, luz, ventilación y humedad determinadas.

**Medio PDA:** –en inglés Potato Dextrose Agar. Medio de cultivo microbiológico que se preparan a partir de infusión de patata y dextrosa. Es el medio más utilizado para el crecimiento de hongos.

**Parafilm o cinta para sellar las placas:** Lámina de material semitransparente, flexible y resistente al agua que se utiliza como barrera contra la humedad de instrumentos o equipos.

**Placas de petri:** Recipiente redondo de vidrio o plástico, cuyo diámetro es 60 mm x 20mm y cubierta de la misma forma. Se utiliza para el estudio de los microorganismos bajo condiciones aisladas. Suele cubrirse el fondo con distintos medios de cultivo dependiendo del microorganismo que se quiera cultivar.

## BIBLIOGRAFÍA

Blackwell, M. (2011). The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?. *American Journal Of Botany*, 98(3), 426-438. doi: 10.3732/ajb.1000298

Comisión Nacional del Medio Ambiente. (2008). *Biodiversidad de Chile, Patrimonio y Desafíos* (pp. 366-375). Santiago: Ocho Libros Editores.

Furci George-Nascimento, G. & Repetto-Giavelli, F. (2012). Catálogo preliminar de los hongos del valle La Paciencia, sur-este de Tierra del Fuego, Chile. *Anales Del Instituto De La Patagonia*, 40(2), 47-54. doi: 10.4067/s0718-686x2012000200004

Furci George-Nascimento, G. (2013). *Guía de Campo Hongos de Chile* (2nd ed., Vol. 1). Santiago: Fundación Fungi.

Gamundí, I., & Amos, V. (2007). Exploraciones Micológicas en Tierra del Fuego. *Boletín De La Sociedad Argentina De Botánica*, 42.

Mujica, F., & Vergara, C. (1980). *Flora fungosa chilena* (2nd ed.). Santiago de Chile: Editorial Universitaria.

Neves, M. (2018). La Fascinación por los hongos. En Furci George-Nascimento, G. *Guía de Campo Hongos de Chile* (2nd ed., Vol. 2). Santiago: Fundación Fungi.

Valenzuela, F. E. (2003). Hongos comestibles silvestres colectados en la X región de Chile. *Boletín Micológico*, 18. doi: 10.22370/bolmicol.2003.18.0.374



LABORATORIO DE  
BIOFABRICACIÓN  
FADEU

LABORATORIO DE  
BIOFABRICACIÓN  
FADEU