



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FES IZTACALA

**EFICIENCIA BIOLÓGICA DEL CULTIVO DE *Lentinula edodes*
(BERK.) PEGLER EN PAJA DE TIGO SUPLEMENTADA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGO
PRESENTA:**

HORACIO PERALTA MARQUEZ

**DIRECTORA DE TESIS:
M en C. IRENE FRUTIS MOLINA**

Los Reyes Iztacala, Edo. de Mex.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Al creador, al señor, al gran misterio, a la energía o a la casualidad que me permite vivir, respirar, sentir, oler, ver, correr, oír y percibir lo que me rodea para hacer proyectos de vida.

A mis padres:

ELIA MARQUEZ F. y OSCAR S. PERALTA C.

Con todo mi amor, respeto y admiración por ser dos pilares de mi vida.
Por su amor, apoyo, comprensión, tolerancia, paciencia porque su mayor herencia es el conocimiento y este logro es los tres.

A mis hermanos:

Marú, Jorge, Fernando, Genaro y Oscar así como a sus familias por su cariño, apoyo y respeto.

A mis amigos y amigas:

A todos sin excepción alguna, con los que compartí momentos inolvidables, risas, aventuras, con que cruce miradas, platicas, bebidas, etc. No pongo nombres porque estaría olvidando algunos por lo tanto a todos y a todas que de alguna forma han sido parte de esta aventura que es la carrera.

A ti:

Esmeralda con especial mención por ser parte esencial de este trabajo, por tú ayuda, apoyo, cariño, y por todos los momentos especiales que pasamos.

A los sinodales:

Sin excepciones por su tiempo, apoyo, comentarios, sugerencias, y por ser parte de esta aventura.

Biol. Maria Edith López Villafranco.

Biol. Luís Antonio Hernández González.

M. en C. Irene Frutis Molina.

Biol. Marcial García Pineda.

Biol. Víctor Manuel Esparza Martínez.

INDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Producción Mundial.....	2
Producción Latinoamericana.....	3
Producción Nacional.....	3
Historia.....	4
Cultivo.....	5
Importancia nutricional.....	5
Importancia medica.....	7
Justificación.....	8
Objetivos.....	8
Antecedentes.....	8
Materiales y Métodos.....	12
La obtención de la cepa.....	12
Aislamiento de la cepa hasta la obtención de una cepa pura.....	12
Obtención del inóculo.....	12
Propagación del hongo.....	13
Preparación del sustrato.....	13
Pasteurización del sustrato.....	14
Inoculación.....	14
Incubación.....	14
Inducción.....	14
Cosecha y medición de la E.B.%.....	14
Resultados y Discusión.....	15
Obtención de la cepa.....	15
Obtención del inóculo activado.....	15
Siembra de shiitake.....	16
Conclusiones.....	21
Anexo fotográfico.....	22
Bibliografía.....	28

INDICE DE FIGURAS

Tabla 1.....	13
Tabla 2.....	16
Tabla 3.....	17
Grafica 1.....	17
Grafica 2.....	18
Grafica 3.....	19
Grafica 4.....	20
Grafica 5.....	20

RESUMEN

Lentinula edodes, es un hongo que se ha cultivado desde hace 1000 años en China y Japón, y de la década de los 50s hasta nuestros días, hemos tenido la necesidad de seguirlo cultivando como alimento a nivel mundial por sus propiedades funcionales y organolépticas. La mayoría de los hongos que son comestibles a parte de ser excelentes en sabor, aroma y textura, se ha descubierto que tienen propiedades tanto nutricionales como medicinales, promoviendo así técnicas más modernas que sean de beneficio en costo y tiempo, obteniendo mayor producción en biomasa, utilizando restos agrícolas y forestales, así este trabajo tiene la finalidad de evaluar la eficiencia biológica en sustrato de paja de trigo y suplemento con azúcar y carbohidratos, para esto se llevo a cabo, la obtención de la cepa pura y del inóculo, se utilizo paja de trigo para la propagación del hongo y suplementos como: salvado, harina de trigo, azúcar y carbonatos, el sustrato se pasteurizo a 95 °C durante 3 hr., los suplementos son esterilizados a 1.5 lb. por 30 minutos ambos son mezclados y se llenan bolsas de 2 kg. Estos se mantienen a una temperatura de 25°C a una humedad relativa de 70%, la inducción a la fructificación fue de 70 días a una temperatura de 10 - 17°C de 12 – 24 hrs., para la cosecha, fue a una temperatura ambiental de 16- 21°C con una iluminación de 12 hr. de luz – 12 hr. de oscuridad, para completar la incubación se requirió en promedio de 4 meses, para la inducción de madurez del micelio fue 2 meses, para la inducción de la fructificación fue de 1 mes, para la madurez del hongo fue de 14 días aproximadamente, para los cortes se obtuvo tallas de 10 a 15 cm. del pileo, con un total de eficiencia biológica de 76.36% por lo que se concluye que fue optima la suplementación de la paja y la obtención de tallas grandes, así como la factibilidad de llevar a cabo un cultivo artesanal del hongo.

Palabras claves: Hongo comestible, suplementos, cultivo de Shiitake

INTRODUCCION

Hoy en día existe la necesidad de promover el cultivo de hongos, dada a la gran tendencia mundial con respecto a la alimentación humana en el siglo XXI es el consumo de alimentos naturales no sólo de buen sabor, sino también inocuos, nutritivos y con propiedades benéficas para la salud, requisitos que tienen los hongos. La mayoría de nosotros consume hongos comestibles por su excelente sabor, aroma, y textura. Sin embargo, es poco conocido su gran potencial como alimento funcional con propiedades nutricionales y medicinales que promueven la salud. Tan sólo en los Estados Unidos de Norteamérica, la demanda de productos orgánicos, suplementos alimenticios y medicinales se ha incrementado de \$ 3.3 billones a 14 billones de dólares durante el período 1990-2000 (Martínez-Carrera et. al. 2004).

El cultivo de hongos se promueve bien porque pueden crecer en una gran cantidad de restos agrícolas como la paja de arroz, cereales, cáscara de semilla de algodón, aserrines entre otros y no requiere de condiciones controladas. Además se ha consolidado como una alternativa viable para la producción de alimentos para consumo humano, además de generar complementos en la dieta animal y biofertilizantes para la agricultura (Chang y Miles, 1983) (Mata y Martínez-Carrera, 1988).

PRODUCCIÓN MUNDIAL

Actualmente, la producción mundial supera los 7 millones de toneladas de hongos comestibles cultivados frescos por año, cuyo valor económico aproximado supera los 30 billones de dólares. La tasa promedio de incremento anual en la producción de hongos es superior al 11% debido a que se han descubierto en varios hongos notables propiedades medicinales como anticancerígenas, antibióticos, que reducen el nivel de colesterol y la hipertensión, antitrombóticas, antidiabéticas, etc., ha brindado un impulso adicional al desarrollo de este campo. Se estima que se generan operaciones comerciales de alto valor agregado superiores a los 3.6 billones de dólares en los mercados internacionales de la industria alimenticia, farmacéutica, de perfumería y cosméticos, con una creciente demanda en Europa, Norteamérica (Martínez-Carrera et. al. 2006).

A nivel mundial el champiñón (*Agaricus ssp*) es el hongo comestible más importante con un nivel de producción superior a los 2 millones de toneladas métricas anuales, seguido por el shiitake (*Lentinula edodes*) con más de 1.5 millones de toneladas, y las setas (*Pleurotus ssp.*) con alrededor de un millón de toneladas. La importancia ecológica de esta actividad radica en la utilización y reciclaje acelerado de millones de toneladas de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales utilizados como sustrato de cultivo (Martínez-Carrera et. al. 2006).

PRODUCCIÓN LATINOAMERICANA

En Latinoamérica en el período de 1995- 2001 la producción comercial de hongos comestibles en la región ha aumentado un 32%, de 49,975 a 65,951 ton/año. El incremento ha sido de 5% por año. América Latina produce solamente el 1.3% de la producción total del mundo en el cultivo de hongos; la mayor parte es en hongo fresco y una pequeña porción es procesado para su distribución. Nuestro país es el mayor productor de América Latina, ya que genera alrededor del 58.9% de la producción total de esa región seguido por Chile (17.6%) y Brasil (10.6%), esta producción lo ubica como el 16o. productor a nivel mundial. El valor total acumulado en América Latina es alrededor de 167 millones de dólares por año, y genera alrededor de 34 mil empleos directos o indirectos en esta actividad, así como la utilización de 656,796 toneladas de subproductos de la agricultura y de la actividad forestal (Martínez-Carrera, 2002).

PRODUCCIÓN NACIONAL

El papel que juegan los hongos como alimento en México es desde tiempos prehispánicos al presente. Se sabe que existen más de 200 especies comestibles que crecen en diferentes tipos de bosques, que son consumidos en gran cantidad por la población indígena, campesina, o en menor grado por la población urbana y suburbana del país, mediante la venta de estos hongos en los mercados (Martínez-Carrera et. al. 1984).

Actualmente, la producción nacional de hongos comestibles cultivados es una actividad relevante. Se estima que los volúmenes de producción ascienden a más o menos 47,468 toneladas anuales de hongos frescos. El monto anual de las operaciones comerciales supera los 200 millones de dólares, generando alrededor de 25 mil empleos directos e indirectos. La importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 474,000 toneladas anuales de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales. Los hongos comestibles que se cultivan comercialmente en México (*Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Ganoderma*, *Grifola*). La mayor proporción es del 95.35% corresponde a los champiñones (champiñón blanco: 44,931.5 ton/año; champiñón café: 328.5

ton/año), seguido por las setas con 4.62% (blanca, gris, café: 2,190 ton/año), y el *shiitake* con 0.038% (18.2 ton/año) (Martínez-Carrera et. al. 2004 y 2006).

Comparativamente con otros productos, en 2004, el volumen de producción de hongos comestibles en el país es superior al de cacao (43,974 ton/año), equivalente al de ajo (47,917 ton/año), y un poco inferior al del chícharo (53,717 ton/año), del tomate cherry (54,592 ton/año), y de las hortalizas (62,487 ton/año). También es relevante la comparación con los equivalentes orgánicos de estos productos, tales como el café cereza orgánico (31,571 ton/año), ya que la importancia de la producción orgánica de hongos comestibles cultivados es cada día mayor, se desarrolla a un nivel más acelerado, y representa una importante ventaja competitiva del producto en el corto plazo (Martínez-Carrera et. al. 2006).

En México los estados que presentan una mayor potencialidad para el cultivo de hongos comestibles son Jalisco, México, Chiapas, Guanajuato y Michoacán, ya que se producen el 51.7% del total. Las pajas de ajonjolí, arroz, cártamo, cebada, trigo y sorgo se producen en 30 Estados de la República. Las especies que se pueden cultivar en dichos esquilmos son *Pleurotus Ostreatus* y *Volvariella bakeri*. Los principales residuos forestales son los de encino con 242,203 toneladas, diversos tropicales con 360,614 toneladas. y los pinos con 4,408,103 toneladas. a partir de los cuales podrían obtenerse 84,771 toneladas de shiitake, 133,427 toneladas *Auricularia fuscosuccinea* y 1,102,025 toneladas de *Flammulina velutipes*, respectivamente (Mata y Martínez-Carrera, 1988).

En México como podemos ver que los residuos forestales de encino, pinos y otros podríamos producir 84, 771 toneladas de shiitake que es un hongo muy famoso en los mercados internacionales por ser un excelente alimento funcional, ya que proporciona beneficios a la salud y ayuda a prevenir, tratar y aliviar enfermedades, si se consume regularmente dentro de la dieta (Martínez-Carrera et. al. 2004) (Mata y Martínez-Carrera, 1988).

HISTORIA

Este hongo aproximadamente 800 años atrás, se desarrollo una forma primitiva de cultivar shiitake en China y se llamo “Hoang-ko”. En documentos antiguos el uso ancestral del shiitake en este país es referido como ko-ko o como hoang-mo. De acuerdo con el registro histórico en el año 199 A.C. el emperador Japonés Chuai le fue ofrecido el shiitake por una tribu nativa del Japón los Kyusuyus. Es altamente probable que esta forma primitiva de cultivo hubiese sido primeramente introducida al Japón por cultivadores Chinos. (Chang y Hayes, 1978).

EL CULTIVO

El shiitake *Lentinula edodes* es un hongo asiático, cuyo cultivo data de casi 1000 años pero las primeras técnicas rústicas de cultivo se desarrollaron ampliamente a partir de la década de los '50s. Estas técnicas aun son utilizadas en China y Japón, consiste en emplear troncos de diversos árboles, principalmente de encino como sustrato de cultivo. El método moderno para el cultivo intensivo del shiitake es relativamente reciente. Se desarrollo en la década de los '80s y se lleva a cabo con aserrín de maderas duras, el cual se suplementa y se esteriliza en bolsas de polipropileno. Las bolsas con el aserrín estéril se inoculan con la semilla. Se incuban a 25-30 °C y después de 60-90 días, el sustrato colonizado se ha pigmentado y se somete a una estimulación térmica para inducir fructificaciones. Es cultivado principalmente en Japón y en los últimos años ha sido introducido exitosamente a otros países asiáticos, E.U.A. y Europa (Martínez-Carrera et. al. 2004) (Salmones, 1997).

En México, los estudios sobre el cultivo de esta especie *Lentinula edodes* se iniciaron en 1984 por Hongos Leben, en Guadalupe Victoria, estado de México. El cultivo fue hecho en bolsas de plástico usando aserrín mezclado con varios ingredientes en el sustrato. Castillo reporta el cultivo de shiitake en troncos de encino en el estado de Nuevo León en 1986; México (Morales y Martínez-Carrera, 1990).

IMPORTANCIA NURICIONAL

El shiitake tiene un excelente valor nutricional, conteniendo proteínas (2.22-2.60% en fresco y 25.9% en peso seco, digestibilidad del 80-87%), total de carbohidratos 67%, insolubles (41.6%) y solubles (3.4%), fibra dietética (47.3g/100g.) y minerales (especialmente calcio y también hierro, potasio, fósforo, cobre, selenio, magnesio, manganeso, zinc), y un balance apropiado de vitaminas (A, B1, B2, B6, B12, C, D2, D3, niacina, provitamina D2). Cantidades altas de ergosterol, una provitamina que se trasforma en vitamina D en presencia de la luz solar. Es un hecho, los estudios a la exposición directa de la luz solar 3hr/diario, en shiitake han demostrado un incremento directo en vitamina D2 conteniendo 5 veces más que cuando esta fresco. Por lo anterior constituye un alimento excelente para dietas bajas en calorías, dietas ricas en fibra, así como para personas vegetarianas (Martínez-Carrera et. al. 2004) (Tobbs, 1996).

El contenido de proteína es elevado en el shiitake 25.9% en peso seco. Otros alimentos de consumo tienen un contenido equivalente o más bajo,

tales como la leche (25.2%), el maíz (11.2%), fríjol negro (24.2%) (Martínez-Carrera et. al. 2004).

La composición de los carbohidratos totales es muy relevante debido a su complejidad ya que contiene polisacáridos, disacáridos, monosacáridos, alcoholes azucarados, y azúcares libres. En fibra es el hongo comercial con el más alto contenido (47.3/100g. en base seca). Una buena parte de la fibra esta formada por quitina y beta-glucanos, los cuales tienen propiedades antitumorales y pueden llegar a prevenir el cáncer rectal y de colon. Las fibras son un buen medio para el desarrollo de enterobacterias, cuya combinación puede ayudar a prevenir la arteriosclerosis, la trombosis, la hipertensión, y la diabetes mediante la absorción intestinal de colesterol y otras sustancias potencialmente dañinas para la salud (Martínez-Carrera et. al. 2004).

La presencia de lípidos es baja, pero de resaltarse porque contiene desde ácidos grasos, glicolípidos, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, esteroides y fosfolípidos. Su balance también es adecuado ya que el 76.5% son ácidos grasos insaturados, considerando esenciales para la dieta humana (Martínez-Carrera et. al. 2004).

Es una buena fuente de vitaminas A, complejo B, C, D₂, D₃, niacina y pro-vitamina D₂. Debe mencionarse que los hongos, y en particular el shiitake, constituyen el único alimento natural de origen no animal que contiene vitamina D (para el raquitismo, la osteomalacia, y osteoporosis posmenopáusicas) (Martínez-Carrera et. al. 2004) (Tobbs, 1996).

En orden de importancia, altas concentraciones de potasio, fósforo, magnesio, sodio, zinc, cobre, hierro, boro y manganeso. El potasio es importante en la regulación de la presión arterial y la condición muscular, mientras que el fósforo es fundamental para la transferencia de energía, y la información genética dentro del cuerpo. El selenio es esencial para la dieta del humano ya que funciona como cofactor del sistema enzimático glutatión-peroxidasa, cuya función principal es proteger los lípidos de la membrana celular contra los daños ocasionados por radicales libres (Martínez-Carrera et. al. 2004) (Tobbs, 1996).

IMPORTANCIA MÉDICA

Shiitake ha sido reconocido en Japón y China como alimento y como medicamento a través de cientos de años. Es el hongo más cultivado en Japón y se caracteriza por tener varias sustancias benéficas por ejemplo flavonoides, lentinina, rico en vitamina D inducida por el sol o la radiación UV en el secado, actividad antitumoral por polisacáridos, actividad hipocolesterol de un derivado de la adenina (Chang y Hayes, 1978).

Los efectos farmacológicos fueron descritos por un famoso físico chino de nombre Wu Shui a principios de la dinastía Ming (1369-1644). De acuerdo a Shui, el shiitake puede proveer a la gente de vigor y energía, y es muy efectivo en la prevención del tratamiento para hemorragias cerebrales. Recientemente, los efectos médicos del shiitake han sido estudiados por científicos Japoneses, y remarcan los efectos de remoción de colesterol, actividad antiviral y antitumoral han sido certificadas (Chang y Hayes, 1978).

En la pared celular contiene 30 enzimas y más de 10 aminoácidos, en el cuerpo fructífero contiene todos los aminoácidos esenciales, como la arginina y lisina que son los más abundantes, metionina y fenilalanina no son muy abundantes. La base de estos hallazgos es que se consuma más fructificaciones maduras porque contienen el máximo valor nutricional (Tobbs, 1996).

Shitake es fuente de dos preparaciones que se están estudiando para evaluar sus efectos farmacológicos una se llama extracto de micelio de *L. edodes* (LEM) y la Lentinan. La Lentinan es el extracto de células de la pared celular del cuerpo fructífero; es purificado de sustancias provenientes del citoplasma, es soluble en agua, es ácidamente estable y alcalinamente lavable. El LEM es una preparación del extracto del micelio antes de hacer la primera cosecha cuando está en crecimiento. La Lentinan y el LEM han demostrado una fuerte actividad antitumoral por vía oral y de inyección en animales y humanos. Estas sustancias trabajan en mejorar varias funciones del sistema inmune y atacando a las células tumorales (Tobbs, 1996).

ANTECEDENTES

En México existe una especie similar al shiitake que es *Lentinus boryanus* (Berk. et. mont.) Sing. (= *L. cubensis* B, etc.) un hongo comestible común en las regiones subtropicales de México y de venta incluso en los mercados del centro de Veracruz en donde se le conoce con el nombre de hongo de encino, hongo de palo y cuerudo (Mata y Guzmán, 1989). La similitud del hongo asiático y el mexicano, planteó la necesidad de estudiar ambas cepas, para poder implementar las técnicas asiáticas del cultivo del shiitake en México. En la facultad de Biología en la Universidad Autónoma de Baja California en Ensenada y el instituto tecnológico de Cd. Victoria se está desarrollando estudios sobre el cultivo de shiitake con cepas Japonesas provenientes de E.U.A (Mata y Guzmán, 1989).

El cultivo de una cepa asiática de *Lentinus edodes*, en viruta de *Carpinus carolina* mezclada con cascarilla de arroz y semilla de mijo blanco lo hizo Mata en 1990. Las bolsas le produjeron de 4 a 5 cosechas de hongos y la eficiencia biológica promedio fue de 87.5% (Mata et. al. 1990).

Para 1990 Morales y colaboradores presenta una revisión de los antecedentes del cultivo de *Lentinula edodes* en México. Una cepa del shiitake se cultivo sobre una mezcla de aserrín de encino suplementado, en bolsas de plástico, lográndose una eficiencia biológica de 53.79% (Mata y Martínez-Carrera, 1990).

En ese mismo año Royse determino el efecto de seleccionar un sacárido en el rendimiento y tamaño del cuerpo fructífero de shiitake cultivado en aserrín de encino, trigo y mijo con o sin sacarosa, fructuosa y glucosa. La adición de sacarosa (0.6 a 1.2%) estimulo el rendimiento de 11 a 20% más. El mayor incremento fue en la primera cosecha (Royse et. al. 1990).

El aserrín es el ingrediente más popular en el uso de formulas de sustratos lignocelulosicos para el cultivo de shiitake en los E.U.A. (Miller y Jong, 1987; Royse, 1990), pero hay otros ingredientes como pajas, cereales o ambos. Hay ciertos suplementos (20-60% en peso seco) como harinas de trigo, arroz, mijo, centeno y maíz que se pueden adicionar a la mezcla. Estos suplementos sirven para proveer más nutrientes y obtener un óptimo crecimiento en el medio (Royse, 1997).

Salmones y colaboradores en 1997 cultivo 4 cepas de *Lentinula edodes*, en bagazo de caña de azúcar. Donde obtuvo 4 a 5 cosechas y una eficiencia biológica de 97 a 133% (Salmones et al. 1997).

Mata y colaboradores en 1997 cultivo shiitake en paja de trigo pasteurizada, una técnica desarrollada en Francia. La paja debe tener una humedad de 60% se le adiciona yeso (10%) y se somete a un tratamiento térmico con vapor a 65°C por 24 hr. El sustrato inoculado se coloca en bolsas de 10-12 kg. con perforaciones. La incubación a temperatura de 25°C, iluminación de 12 hr luz y 12 hr oscuridad. Al terminó de la colonización se retira el plástico y se humedece abundantemente, la temperatura de 16 a 18°C y una humedad de 90 a 98 %. El 90% de la producción se obtiene entre 50 –70 días después de la siembra, con un rendimiento del 20% (Mata et. al. 1997).

Royse y Sánchez-Vázquez para el 2000, cultivo *Lentinula edodes* (shiitake) en 4 diferentes sustratos de aserrín y se agruparon por el tamaño de la partícula del aserrín para determinar la influencia en el tamaño del aserrín para el rendimiento. El sustrato preparado con viruta de la clase 4 (<0.85 mm) tuvo el rendimiento más bajo, pero 27.7%, 12.4% y 2% para los grupos I, II y III respectivamente comparado con el control (Royse y Sánchez-Vázquez, 2000).

Royse 2001 utiliza varias combinaciones de sustratos lignocelulosicos para el cultivo de shiitake; teniendo de base el aserrín de encino, pero también se utilizo pajas de cereales con suplementos como trigo, el arroz, el mijo, el centeno, etc. La humedad de la mezcla entre un 60%; la mezcla se coloca en bolsas para después ponerlas en un autoclave para su esterilización por 2hr. a 121 °C. Se sacan y se inocula con el hongo. Después de 20 a 25 días de propagación se meten en un cuarto durante 4 semanas hasta que salgan los primordios. Entre los 9 a 11 días los hongos están listos para ser cosechados y una eficiencia biológica de 75 a 125% (Royse, 2001).

Jaramillo para el 2001 estudio el cultivo de shiitake en restos del café por dos razones, la primera es el uso de la biomasa ya utilizada en otra vía de aprovechamiento y la segunda una oportunidad económica para cientos de productores de café. Bajo condiciones controladas de laboratorio los índices de eficiencia biológica reportada fueron de 75% con los procesos descritos en este artículo. Esto puede ser una fuente de ingresos y tener una seguridad nutricional para varios productores de café (Jaramillo et. al. 2001).

En 2001 Alice W.Chen hace una recopilación del cultivo de *Lentinula edodes* en diferentes formulaciones de sustratos a base de aserrín en varias partes del mundo; desde la preparación de la semilla hasta la producción

del hongo estableciendo rangos de temperatura en incubación y en fructificación (Chen, 2001).

Royse para el 2002, determina el efecto de la humedad en el rendimiento y talla del hongo shiitake; para esto hace que los bloques sean humedecidos tradicionalmente y al vacío. El rendimiento de los bloques que se humedecieron al vacío fueron más altos 26.7%, 18.6% y 35.8% para los grupos I, II y III respectivamente comparados con los humedecidos normalmente. Sin embargo, la talla de los hongos en los bloques al vacío promedio fue de 11.2 g. y 17 g., para los bloques al vacío (Royse et al. 2002).

Philippoussis en 2002, monitorio el crecimiento micelial y las fructificaciones de *Lentinula edodes* en varios restos agroindustriales (aserrín de encino, paja de trigo, granos de maíz y restos de algodón), fueron evaluados comparativamente para el cultivo de cinco cepas de shiitake en tubos, demostrando una significancia en los índices de crecimiento del micelio en aserrín de encino y paja de trigo más que en restos de algodón y granos de maíz. Los resultados evaluados demuestran un uso potencial del aserrín de encino en combinación con paja de trigo y granos de maíz para el cultivo del shiitake (Philippoussis et. al. 2002).

Para ese mismo año Ramírez-Carrillo revisa las condiciones del cultivo en interior para incrementar los rendimientos de *Lentinula edodes*. Los parámetros más importantes para incrementar los rendimientos son identificados en este estudio. La selección de cepas, condiciones en la incubación, el cambio de color, shock frío o la sumergida en agua al final del período de incubación. Siete cepas comerciales se usaron para el estudio y se clasificaron en dos tipos de cepas. El primer grupo de cepas son las que tuvieron altos índices de rendimientos con eficiencia biológica entre 143% y 261%. Y el segundo grupo, las cepas presentaron bajos índices de rendimiento y la eficiencia biológica entre 24 y 83% (Ramírez-Carrillo, 2002).

Shu- Ting en ese mismo año hace un estudio del pasado y las tendencias presentes en la producción de *Lentinula edodes* en Asia. Japón fue el mayor productor del mundo en la década de los '70s con China como segundo seguido por Taiwán y Sur Corea. En 1974 el total de la producción mundial fue de 143,000 toneladas. Con Japón representando el 94.5%, China con 4.2%, Taiwán con 1.1% y Sur Corea 0.2%. A finales de 1983 Japón tenía más del 82% de la producción total mundial y al mismo tiempo China representaba un 9.4%; pero 4 años más tarde en 1987, la producción de *Lentinula edodes* en China por primera vez excedió al Japón con

178,800 toneladas y 162,600 toneladas respectivamente. En 1991 China produjo el 60% de la producción mundial y para 1997 ya tenía el 80% (Chang, 2002).

Royse en el 2003 cultivo *Lentinula edodes* en un sustrato lignocelulosico que consiste en aserrín de roble (50%), mijo (28%), centeno (11%) y trigo (11%) suplementados con carbonos de calcio. Los sustratos no suplementados con CaCO₃ fueron los más bajos por 14.1%, 18.4% y 24.9% comparado con los tratamientos suplementados con 0.2%, 0.4% y 0.6% de CaCO₃ respectivamente. (Royse y Sánchez-Vázquez, 2003).

En el 2003 Rossi cultivo Shiitake (*Lentinula edodes*) para medir la producción en un sustrato esterilizado de bagazo de caña de azúcar y suplementado con cascarilla de arroz y melaza de azúcar. Se midió la eficiencia biológica (BE), el peso de los hongos (MW) y la calidad del Shiitake. Se obtuvieron 4 cosechas durante el ciclo productivo, pero solo se tomaron en cuenta 3 cosechas para el análisis. El sustrato suplementado con cascarilla de arroz al 25 y 30% fue el más alto con una BE de 98.42% y 99.84% respectivamente, aproximadamente 230 días después de la inoculación. Los resultados más bajos fueron con los sustratos con 15 y 20% de arroz. La cantidad más alta de melaza (60g/Kg.) obtuvo una BE de 90.3 y 23.6% en el primer y segundo corte respectivamente y no afectó a la calidad del hongo ni tampoco a la cantidad de hongos. (Rossi et. al 2003).

JUSTIFICACION

En México se generan residuos de la industria agrícola y forestal, como esquilmos, subproductos agrícolas y aserrines que a nivel nacional son de varios millones de toneladas donde se podrían producir hasta 20 millones de toneladas de hongo comestibles. La finalidad de este trabajo es generar alternativas en la producción de shiitake a un nivel artesanal donde no se necesite de un laboratorio para la producción de este hongo y ver la producción en paja suplementada. El shiitake empieza a ser conocido a nivel nacional por ser de un excelente sabor, aroma, también por sus propiedades nutricionales y funcionales que ayudan a la salud para prevenir, tratar y aliviar enfermedades.

OBJETIVO

Evaluar el comportamiento de la producción de *Lentinula edodes* utilizando como sustrato paja de trigo suplementada con sacarosa, harina de trigo, salvado y yeso.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología propuesta para llevar a cabo las diferentes fases del desarrollo de la investigación se divide en: fase de implementación; trabajo de laboratorio; trabajo en nave de producción y cosecha, trabajo de gabinete donde se efectuarán el análisis de resultados. Por lo tanto la metodología que proponemos es la siguiente:

OBTENCIÓN DE LA CEPA (ver anexo fotográfico pág. 22)

La cepa de *Lentinula edodes* se obtuvo de un pastel comercial de Michoacán crecido en aserrín de encino (*Quercus* sp) con trigo y salvado se obtuvo el inóculo de las fructificaciones y propagado en agar extracto de malta, para este proceso se hacen los siguientes pasos:

A) Aislamiento de la cepa hasta la obtención de una cepa pura (ver anexo fotográfico pág.22)

Para hacer el aislamiento vegetativo del hongo de *Lentinula edodes*, se obtuvo de un trozo del interior del cuerpo fructífero llamado contexto, con unas pinzas o aguja de disección previamente esterilizadas, esto se obtiene abriendo el hongo con las manos desinfectadas con alcohol del 70%, el trozo se deposita en la caja con el medio de cultivo, se rotularon escribiendo fecha, nombre de la cepa y nombre de la persona que hizo el aislamiento, enseguida se colocaron en una incubadora en total oscuridad aproximadamente hasta la invasión total del micelio de 10 a 14 días dependiendo que tan vigorosa sea, se hicieron resiembras en el caso que haya contaminaciones hasta la obtención de una cepa pura.

B) Obtención de inóculo (anexo fotográfico pág. 23)

Para la obtención del inóculo del micelio, se utiliza cualquier semilla de las gramíneas en este caso se empleó sorgo; el grano se sometió al siguiente tratamiento, es lavado con agua corriente y se dejó hidratando por 24 hr con el 10% de aserrín de encino, al día siguiente se escurre, posteriormente es colocada en frascos de litro llenándose la tercera parte de los frascos se esterilizan en una autoclave a 1.5lb de presión durante 1 hr, transcurrido este tiempo se dejaron enfriar a una temperatura ambiente golpeando un poco los frascos con la mano para que el grano se disgregue y no quede apretado al momento de la inoculación con la cepa del hongo, con un sacabocado de aproximadamente 1cm previamente esterilizado se marcaron los trozos que posteriormente se toman con una aguja de disección previamente desinfectada y son llevados los trozos a los frascos con el grano, se

inocularon con 3 trozos, se dejaron a temperatura ambiente hasta notar la invasión total del micelio aproximadamente de 15 a 20 días, a esta fase se le llama fase primaria, para la obtención de frascos secundarios se hizo el mismo procedimiento de semilla como se elaboraron para los primarios, para la inoculación de los frascos secundarios se fragmentaron los primarios se tomaron tres cucharadas que se agregaron al grano nuevo agitándolo un poco para que se disperse en todo el frasco, se dejaron a temperatura ambiente durante 15 a 20 días hasta la invasión total del micelio, para los frascos terciarios se repite el mismo proceso anterior hasta la invasión total del micelio sobre el grano de sorgo de aproximadamente de 15 a 20 días.

PROPAGACIÓN DEL HONGO

Lentinula edodes es un hongo lignocelulolítico de madera de encino principalmente, motivo por el cual se usará el siguiente sustrato de paja de trigo y los suplementos a usar son harina de trigo, salvado que se consiguieron en una forrajera del estado de México también se uso yeso y azúcar.

A) Preparación del sustrato (ver anexo pág. 24)

La paja de trigo fue picada con un machete y se pesaron 3,500 gr. peso seco; los suplementos (harina de trigo 910 gr, salvado 1050 gr, yeso 70 gr. y azúcar 70 gr.) fueron pesados en seco con las siguientes proporciones en porcentaje de la fórmula como se observa en la tabla 1.

paja	70%
salvado	15%
Trigo	13%
azúcar	1%
carbonatos	1%

Tabla 1 los porcentajes de suplementos

La paja fue introducida dentro de un costal para humedecerla dentro de botes de plástico con capacidad de 20 lt. por 24 hr. Para obtener una humedad entre 70 y 90%.

B) Pasteurización y Esterilización (ver anexo fotográfico pág. 24)

La paja fue pasteurizada con un calentador y gas a 95°C por 3 hr y posteriormente se escurren el exceso de agua. Los suplementos se esterilizaron aparte en una autoclave a 1.5lb de presión por 30 minutos.

C) Inoculación (ver anexo fotográfico pág. 25)

La semilla de sorgo de las bolsas terciarias con el micelio propagado se mezclaron con el sustrato estéril y los suplementos, a una temperatura del sustrato de 18 a 25°C con una tasa de inoculación de 5-7 % (w/w), la mezcla se hizo en una mesa estéril y posteriormente se llenaron las bolsas a 2 kg. de sustrato inoculado.

D) Incubación (ver anexo fotográfico pág. 25)

Las bolsas se colocaron en un cuarto oscuro sobre anaqueles a una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 70%.

E) Inducción (ver anexo fotográfico pág. 26)

Ya que el micelio abarcó la totalidad del sustrato, se dejaron a la luz del día y se abren las bolsas para la ventilación, a los 70 días los panes se han puesto de color café. Posteriormente se retira la bolsa de plástico para la inducción a la fructificación. Los panes se sumergieron en agua fría (10-17°C) durante 12-24 hr. con una temperatura en el ambiente de 16-21°C, con una iluminación de 12h luz – 12h oscuridad.

F) Cosecha y Medición de la Eficiencia Biológica (ver anexo fotográfico pág. 26 y 27)

En esta etapa la temperatura del ambiente es de 21-27°C con una humedad relativa de 60-80% y con el mismo régimen de iluminación. Se hicieron de 3 a 4 cosechas y se pesaron los hongos frescos para obtener la eficiencia biológica (Kg. de hongos frescos/ Kg. de sustrato seco por 100). Se medio el tiempo de invasión total del micelio, tiempo de aparición de primordios, tiempo de maduración y una medición del píleo y estípite.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultados de la investigación se obtuvo que es factible usar paja de trigo suplementada (azúcar, yeso, harina de trigo y salvado) de manera artesanal para el cultivo de shiitake.

OBTENCIÓN DE LA CEPA

Los resultados obtenidos en los aislamientos en medio de cultivo E.M.A. agar extracto de malta, del cuerpo fructífero de *Lentinula edodes* fueron 10 cajas petri inoculadas de las cuales se eligieron 5 cajas que fueron las más rápidas y vigorosas en su crecimiento, ya que tardaron de 15 a 20 días en llenar las cajas petri a una temperatura promedio de 18°C - 28°C. Todas fueron guardadas en una caja de plástico que se usan para el pan. Hubo que hacer más resiembras de esas cajas en primera para asegurar la pureza de la cepa y otra para obtener más cajas con un micelio vigoroso.

OBTENCION DEL INOCULO ACTIVADO

Estas 5 cajas se cuadrícularon para inocular 15 frascos primarios de 1lt., de los cuales 10 frascos completaron su crecimiento entre los 15 y 20 días a una temperatura similar de 18°C - 28°C.

Estos 10 frascos se utilizaron solamente 5. Con una espátula se fracturo el micelio para inocular 15 frascos secundarios de 1lt., de los cuales 10 frascos completaron su crecimiento entre los 15 y 20 días a una temperatura similar de 18°C - 28°C.

De estos 10 frascos se tomaron 5. Con una cuchara sopera se fracturo el micelio para inocular 15 frascos terciarios de 1lt., de los cuales 10 frascos completaron su crecimiento entre los 15 y 20 días a una temperatura similar de 18°C - 28°C.

SIEMBRA DE SHIITAKE.

bolsas	estrell.	incub.	inducc.	primor.	madurac.
1	6días	4meses	2meses	1mes	14d
2	2d	3meses	2meses	1mes	14d
3	4d	4meses	2meses	1mes	14d
4	4d	4meses	2meses	1mes	14d
5	7d	5meses	2meses	1mes	14d
6	3d	4meses	2meses	1mes	14d
7	7d	5meses	2meses	1mes	14d
8	3d	3meses	2meses	1mes	14d
9	7d	5meses	2meses	1mes	14d
10	contamin.	cont	cont	cont	Cont

Tabla 2 Tiempos de estrellamiento, incubación, inducción, primordios y maduración.

En la tabla 2 se observa el tiempo para que las bolsas estuvieran totalmente invadidas por el micelio, pasaron de 3 a 4 y hasta 5 meses algunas; se tomo más del doble de tiempo en comparación con otros autores que mencionan que de 26 días hasta 2 meses para una invasión total. (Morales (1990); Mata (1990); Mata (1997); Salmones (1997); Jaramillo (2001). Pasado el tiempo de incubación las bolsas se sacan del cuarto oscuro a la luz y se perforan las bolsas para la oxigenación y a una temperatura ambiente, en esta etapa hay agregaciones hifales y el micelio se torna de un color café, estuvieron 2 meses cuando otros autores, (Morales (1990); Royse (2000); Rossi (2003) mencionan que en este proceso de maduración del micelio, tardaron 1 mes aproximadamente. Los tiempos obtenidos se debieron a que en primer lugar la temperatura no se controló, fue a una temperatura ambiente esto quiere decir que pasaron por momentos de estrés porque el rango por temporadas era muy amplio (10 a 30°C), cuando se inocularon las bolsas fue en primavera y al término del ciclo ya era invierno. Otra variable que no se controló fue la ventilación, las bolsas en el primer mes no crecieron muy bien, por esta razón se tomó la decisión de abrir las bolsas para su respiración. Tras haber estado abriendo cada tercer día las bolsas se observó que las mismas mejoraron su crecimiento pero ya tenían un retraso en su crecimiento. Otra fue el espacio porque se estuvieron moviendo de domicilio las bolsas por cuestiones de cuidado y personales; este movimiento también pone en un estado de estrés al micelio en crecimiento.

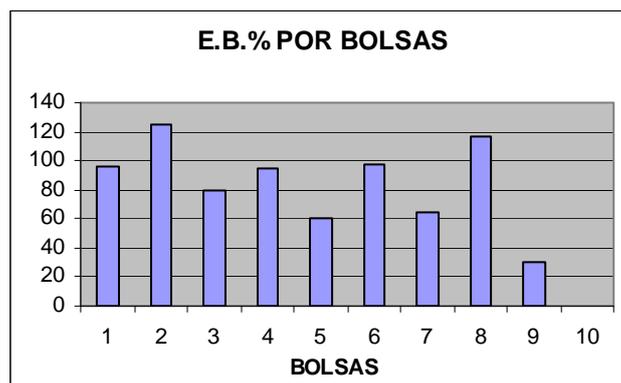
La inducción se hizo cuando los panes ya estaban totalmente cafés y los primordios aparecieron aproximadamente al mes de la inducción, la maduración de los hongos fue de 14 días, entonces el ciclo completo fue de 210 días después de la inoculación, cuando en otros trabajos hablan de entre los 60 a 90 días (Royse (1990); Mata (1990); Mata (1997); y solamente Rossi, (2003) su ciclo completo fue mayor con 230 días.

También en esta etapa no hubo un control de las condiciones ambientales. Para una buena maduración del micelio se baja la temperatura entre los 15 y 19°C y para la fructificación se necesita una humedad de 80 a 90% con una buena ventilación, en esta fase contamos con un rango de temperaturas de (15 a 28°C) y con una humedad en promedio de (20 a 50%).

Bolsas	E.B.%	#hongos	talla gr.
1	95,71	8	41,87
2	124,28	11	39,54
3	80	4	70
4	94,28	9	36,66
5	60	3	70
6	97,14	10	34
7	64,28	8	28,12
8	117,14	9	45,55
9	30,85	3	27
10	0	0	0
promedio	76,368	6,5	39,274

Tabla 3 promedios de E.B., fructificaciones y talla en gr.

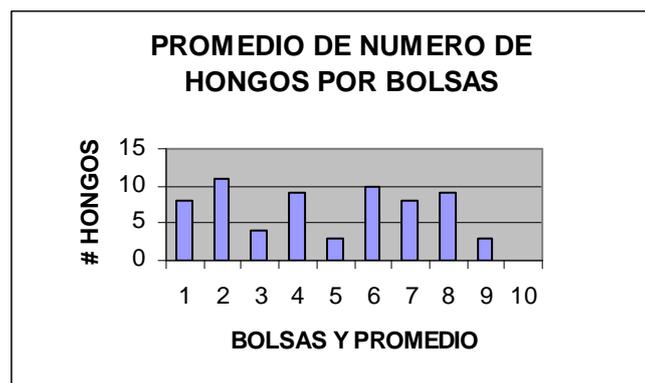
En la tabla 3 se observa las E.B.% por bolsas en los tres cortes el promedio total de Eficiencia Biológica fue de 76.36% pero hubo un rango de 30.85% hasta 124.28%, el número de hongos por bolsas en los tres cortes, tiene promedio total de 6.5 hongos hubo pasteles que dieron desde 3 hasta 11 hongos y el promedio de la talla en gr. por bolsa para los tres cortes fue de un total es de 39.27 gr. se obtuvieron rangos de 20 gr. hasta 100 gr. por hongo.



Grafica 1E.B% total por bolsas.

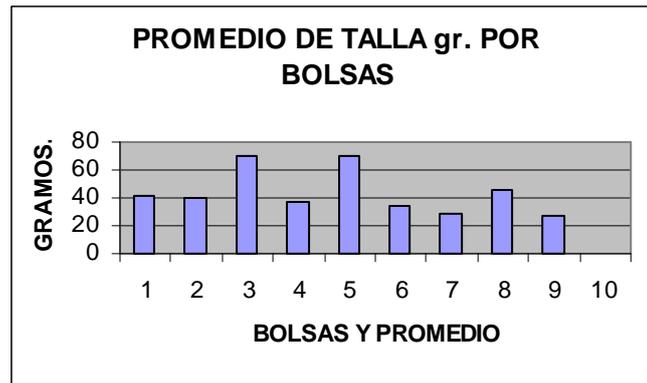
En la grafica 1 se observan las E.B.% de las bolsas donde el promedio total es de 76.36%, pero se obtuvieron 2 bolsas con más de 100%, la bolsa 2 con 124.28% y la bolsa 8 con 117.14% también hubo 3 bolsas con más de 90% la bolsa 1 con 95.75%, la bolsa 4 94.28% y la bolsa 6 97.14%, se tuvo una bolsa con 80% que fue la bolsa 3 y dos bolsas con 60% y 64.28% que fueron las bolsas 5 y 7 respectivamente y una con 30.85% que fue la bolsa

9, la bolsa 10 se contaminó y se desechó. Consideramos que la E.B.% total se encuentra en un término medio con respecto a otros trabajos donde se utilizaron diferentes sustratos y diferentes cepas todos en condiciones de laboratorio como Morales (1990) tuvo una E.B. 53.79% utilizando una mezcla de aserrín de encino suplementada con una sola cosecha. Mata (1990) obtuvo una E.B. acumulada 4 a 5 cortes de 87.5% utilizando como sustrato viruta de *Carpinus caroliniana*. Royse (1990) tuvo una E.B. que va 41.2% a 65.4% utilizando encino (*Quercus* spp.) suplementado como sustrato. Salmones (1997) utilizando como sustrato la caña de azúcar obtuvo de 4 a 5 cosechas con una E.B. de 97% a 133.4%. Royse (2000) usando como sustrato encino (*Quercus* spp.) suplementado obtuvo una E.B. de 74.6% a 121.8% en tres cortes. Jaramillo (2001) obtuvo una E.B. de 75% de 3 a 5 cosechas usando como sustrato los restos del proceso del café. Royse (2003) en tres cosechas obtuvo una E.B. de 62.3% a 90.6% utilizando como sustrato encino (*Quercus* spp.) suplementado. Rossi (2003) obtuvo tres cosechas con una E.B. que va de 98.42% a 99.84% utilizando como sustrato bagazo de caña de azúcar con melaza.



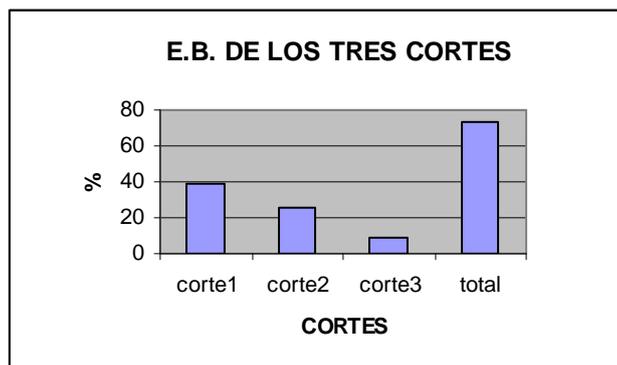
Grafica 2 Promedio de fructificaciones por bolsas.

En la grafica 2 vemos los promedios en el número de hongos por bolsas en los tres cortes y al final el promedio total, que fue de 6.5 hongos, consideramos que el promedio es bajo ya que no fue parejo el número de hongos, tuvimos bolsas con tres hongos y otras con más de 10. En el trabajo obtuvieron dos picos, la bolsa 2 con un promedio de 11 hongos y en la bolsa 6 con 10 hongos ambos en los tres cortes, tuvimos 2 bolsas con 9 hongos en promedio que fueron las bolsas 4 y 8, otras 2 bolsas con 8 hongos en promedio que fueron las bolsas 1 y 7 las demás bolsas tuvieron menos de 5 hongos en promedio. No podemos comparar con otros trabajos ya que no mencionan cuantos hongos cosecharon.



Grafica 3 Promedio de tallas por bolsas.

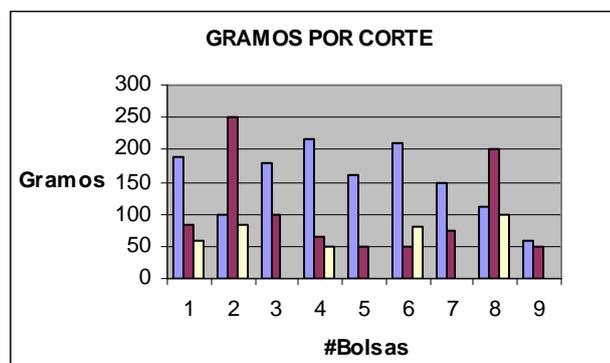
En la grafica 3 se observan los promedios de las tallas en gramos en los tres cortes por bolsa y al final el promedio total que fue de 39.27 gr., en el trabajo se obtuvieron dos picos, la bolsa 3 y la bolsa 5 ambas con un promedio de 70 gr., dos bolsas tuvieron con un promedio arriba de 40 gr. la bolsa 1 con 41.87 gr. y la bolsa 8 con 45.55 gr., hubo tres bolsas con más de 30 gr., la bolsa 2 con 39.54 gr. la bolsa 4 con 36.66 gr. y la bolsa 6 con 34 gr., y 2 con menos de 30 gr. la bolsa 7 con 28.12 y con la bolsa 9 con 27 gr. En comparación con otros trabajos podemos decir que promedio total es alto; ya que Mata (1990) obtuvo tallas de 10 a 17 gr., Royse (1990) tuvo tallas que van de 12.1 a 21.3 gr., y Royse (2003) 14.7 a 16.8 gr. Que son los únicos que hacen referencia a la talla. Royse en 1990 mencionan que la adición de sacáridos aumenta la E.B.% y la talla de los hongos en sustratos basados en aserrín, en este trabajo se adiciono azúcar en la paja y sabemos que las pajas tienen un mayor contenido de azúcares que los aserrines y tal vez sea la razón por la cual nuestra E.B.% en términos generales sea buena a pesar de las condiciones del trabajo y las tallas de los hongos sean considerablemente mayores a los demás trabajos.



Grafica 4 E.B.% de los tres cortes.

En la grafica 4 observamos las E.B.% de todas las bolsas en los tres cortes, que en el primer corte la E.B. es de 39.22%., para el segundo corte la E.B. es de 25.99% y para el tercer corte fue de 8.42% de E.B. y la suma total es de 76.36% E.B.

En el primer corte el promedio de hongos por bolsa fue de 2 hongos con una talla promedio de pileo 10.64cm. y estípite 5cm., con un total de 1373 gr. y con una E.B. 39.22%. En el segundo corte el promedio de hongos por bolsas fue de 3.55 hongos con una talla promedio de pileo 8.14 cm, de estípite 3.6 cm., con un total de 910gr. y con una E.B. 25.99%. En el tercer corte el promedio de hongos por bolsas fue de 2 hongos con una talla promedio de pileo de 9.45 cm, de estípite 4.15 cm., con un total de 295 gr, con una E.B. 8.42%.



Grafica 5 La suma de los gramos por cortes en la etapa de fructificaciones.

En la grafica 5, observamos los gramos en cada uno de los cortes en el periodo de fructificación para cada una de las bolsas. En general se observa que en el primer corte se obtuvo la mayor parte del peso total con un 53.25% y en el segundo corte con un 35.29% y el tercer corte con un 11.44% el peso total fue de 2578 gr. También se observa que en dos bolsas en el segundo corte se obtuvo la mayor parte del peso que fue la bolsa 2 y la bolsa 8. Se observa que solamente 5 bolsas tuvieron un tercer corte y que fueron las que tuvieron un mayor peso y una mayor E.B.% y lo interesante

es que no tuvieron las tallas mas grandes en promedio que fueron las bolsas 3 y 5.

CONCLUSIONES

-En el presente trabajo se muestra la utilidad de suplementar la paja con azúcares para obtener una mayor E.B.% y una talla más grande de fructificaciones.

-La factibilidad de llevar a cabo un cultivo artesanal que a pesar de que fue muy largo el ciclo se pueden hacer variantes en la metodología y tratar de cuidar las condiciones ambientales y no estar moviendo de un lugar a otro el cultivo.

-Y hacer más ensayos con más cepas y mezclas de sustratos para encontrar la cepa, el sustrato y el método más idóneo para las condiciones artesanales.

-Por lo tanto son aceptables los resultados a pesar de no hacerlo en condiciones de laboratorio y estas tecnologías se pueden llevar a comunidades rurales.

ANEXO FOTOGRAFICO

OBTENCIÓN DE LA CEPA



Foto 1 pastel comercial de Michoacán.

A) Aislamiento de la cepa hasta la obtención de una cepa pura.



Foto 2 Preparación del medio de cultivo (EMA).



Foto 3 Vaciado del medio a las cajas.



Foto 4 Resiembras para obtener una cepa pura.

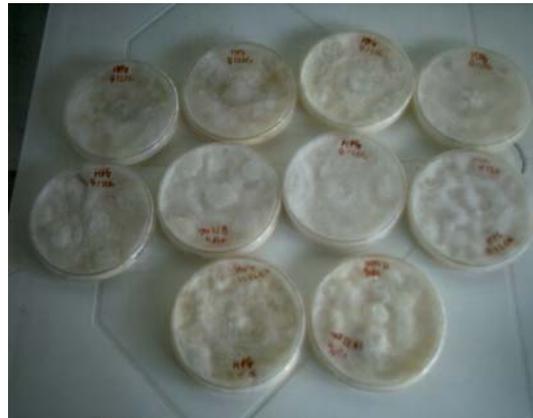


Foto 5 cepas puras.

B) Obtención de inóculo



Foto 6 Lavado del sorgo.



Foto 7 Remojo del sorgo.



Foto 8 Llenado de los frascos.



Foto 9 Inoculación de frascos primarios.



Foto 10 Crecimiento del frascos 2.



Foto 11 Inoculo activado.

PROPAGACIÓN DEL HONGO

A) Preparación del sustrato.



Foto 12 Picado de la paja.



Foto 13 Los suplementos.



Foto 14 Remojo de la paja.

B) Pasteurización y Esterilización



Foto 15 ollas de precisión para esterilizar.

C) Inoculación



Foto 16 Inoculo o Semilla.



Foto 17 La semilla y la mesa para la mezcla.



Foto 18 Mezcla con la semilla y suplementos.



Foto 19 El llenado de las bolsas.

D) Incubación



Foto 20 Bolsas en mesa de trabajo para revisión.



Foto 21 Bolsas en los anaques.

E) Inducción



Foto 22 Los panes totalmente café.



Foto 23 Panes después de la inducción.

F) Cosecha y Medición de la Eficiencia Biológica



Foto 24 Un solo primordio.



Foto 25 Varios primordios.



Foto 26 Primordio más grande.



Foto 27 Hongo casi para corte.



Foto 28 Bolsa con un solo hongo.



Foto 29 Bolsa con dos hongos.



Foto 30 Bolsa con varios hongos.



Foto 31 Bolsa con varios hongos para corte.



GRACIAS.

Literatura citada

- Chang, S.T., W. A. Hayes 1978. They Biology and Cultivation of Edible Mushroom. Academic Press Inc. N.Y. San Francisco.pp 445-473
- Chang, S.T., P.G. Miles1983.A New Look At Cultivated Mushrooms. Bioscience. E.U.A. 34(6):358-362.
- Chang, S.T. 2002. Past and Present Trends in the Production of *Lentinula edodes* in Asia. Proceedings of the fourth international conference. U.A.E.M. Cuernavaca, México.
- Chen, W. A. 2001. Cultivation of *Lentinula edodes* on Synthetic Logs. The Mushroom Growers Newsletter. U.S.A.
- Jaramillo, L. C., N. V. Rodríguez y S. T. Shang. 2001. Cultivation of Shiitake in Coffee Waste. CENICAFE(Centro Nacional de Investigaciones de Café). Chinchina, Colombia. Pp 1-6.
- Martínez-Carrera, D., M. Quitarte, C. Soto, D. Salmenes y G. Guzmán 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. Biol.. Soc. Mex. Mic 19. Xalapa, Veracruz.
- Martínez-Carrera, D. 2002. Current Development of Mushroom Biotechnology in Latin America. Biol. Mic. Aplicada Internacional. 14(2): 61-74.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal, P. Morales, W. Martínez, M. Martínez y Y. Mayett. 2004. Los Hongos Comestibles: Propiedades, Nutricionales, Medicinales y su Contribución a la alimentación Mexicana. Colegio de Posgraduados. Puebla. pp 44
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla y W. Martínez. 2006. México Ante la Globalización en el siglo XXI: el Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles. In El Cultivo de *Pleurotas* en México. ECOSUR-IE-UNAM-COLPOS. México, D.F.
- Mata, G., D. Martínez-Carrera. 1988. Estimación de la producción de residuos agroindustriales potencialmente utilizables para el cultivo de hongos comestibles en México. Rev. Mex. Mic. 4: 287-296.

- Mata, G., G. Guzmán. 1989. Hibridación entre una cepa mexicana de *Lentinus boryanus* y una asiática de *Lentinus edodes*. Rev. Mex. Mic. 5: 77-80.
- Mata, G., D. Salmones, G. Guzmán. 1990. Cultivo del Shiitake Japonés, *Lentinula edodes*, en bolsas con viruta de madera Rev. Mex. Mic. 6: 245-251.
- Mata, G., J.M. Savoie, J.M. Olivier y P. Delpech. 1997. El cultivo de Shiitake en paja de trigo pasteurizada. Sinopsis del sistema desarrollado en Francia. VI Congreso Nacional de Micología/ IX Jornadas Científicas. Tapachula. Chiapas.
- Morales, P., D. Martínez-Carrera. 1990. Cultivación de *Lentinula edodes* en México. Micol. Neotrop. Apl. 3:13-17.
- Philippoussis, A., P. Diamantopoulou y G. Zervakis. 2002. Monitoring of Micelial Growth and Fructification of *Lentinula edodes* on Several Agricultural Residues. Proceedings of the fourth international conference. U.A.E.M. Cuernavaca, México
- Ramírez- Carrillo, R. 2002. Culture Conditions For Increasing Yields of *Lentinula edodes*. Proceedings of the fourth international conference. U.A.E.M. Cuernavaca, México.
- Rossi, I.H., A.C. Monteiro, J.O. Machado, J.L. Andrioli y J.C. Barbosa. 2003. Shiitake (*Lentinus edodes*) production on a stelilized bagasse substrate enriched with rice bran end sugarcane molasses. Braz. J. Microbiol. 34(1):1-7.
- Royse, J.D., B.D. Bahler y C.C. Bahler. 1990. Enhanced Yield of Shiitake by Saccharide Amendment of the Synthetic Substrate. American Society for Microbiology. 56-2: 479-482.
- Royse, J.D., 1997. Speciality Mushrooms; Consumption, Production and Cultivation. Rev. Mex. Mic. 13: 1-11.
- Royse. J.D., J.E. Sanchez-Vazquez. 2000. Influence of substrate wood-chip particle size on Shiitake (*Lentinus edodes*) yield. Bioresource Technology 76: 229-253.
- Royse, J.D., 2001. Cultivation of Shiitake on Natural and Synthetic Logs. The Pennsylvania State University. U.S.A. pp 2-10.

- Royse, J.D., T.W. Rhodes y J.E. Sanchez-Vazquez, 2002. Vacuum-soaking of Wood Chip Shiitake (*Lentinula edodes*) Logs to Reduce Soak Time and Logs Weight Variability and to Stimulate Mushroom Yield. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58:58-62.
- Royse, J.D., J.E. Sanchez-Varquez. 2003. Influence of precipitated calcium carbonate (CaCO₃) on Shiitake (*Lentinus edodes*) yield and mushroom size. *Bioresource Technology* 90:125-228.
- Salmones, D; R. Gaitán-Hernández., V. Alvarez y R. Pérez-Merlo. 1997. Cultivo de Shiitake en bagazo de caña de azúcar. VI Congreso Nacional de Micología/ IX Jornadas Científicas. Tapachula, Chiapas.
- Salmones, D. 1997. El cultivo del Shiitake en México; situación actual y perspectivas. VI Congreso Nacional de Micología/ IX Jornadas Científicas. Tapachula, Chiapas.
- Tobbs, C, 3er. Ed. 1996. *Medical Mushroom and Exploration of Tradition Healing and Culture*. Botánica Press. Empire Grade. Santa Cruz C.A.