



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Evaluación del efecto del choque térmico sobre  
los rendimientos de 3 cepas de *Lentinula edodes***

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**Cristina Jacqueline Morales Olivares**

México, D.F. 2011





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.

Jurado Asignado:

Presidente	Hermilo Leal Lara
Vocal	Beatriz de Guadalupe Serrano López
Secretario	Rebeca Ramírez Carrillo
1er sup.	Maricarmen Quirasco Baruch
2ndo sup.	Sandra Paola Sánchez Rodríguez

Sitio donde se desarrollo el tema:

Facultad de Química, Departamento de Alimentos y Biotecnología, Laboratorio 324,  
Conjunto E, Ciudad Universitaria.

Asesor del tema: \_\_\_\_\_  
Dra. Rebeca Ramírez Carrillo

Sustentante: \_\_\_\_\_  
Cristina Jacqueline Morales Olivares

Agradecimientos.

Al Colegio de Profesores de la Facultad de Química y a la sección 024 de la AAPAUNAM por el apoyo otorgado a través de la cátedra “Raúl Cetina Rosado”.

## Dedicatoria

A mis padres Víctor y Cristina por su enseñanza, amor, paciencia, apoyo, comprensión. A mis hermanos Fernando e Iván que siempre han estado para apoyarme, cuidarme, regañarme, orientarme, abrazarme y ayudarme en todo lo que han podido. Sin ustedes no sería posible cada paso que doy, gracias por impulsarme y por creer en mí.

A mi abuelita Carmen, mi tía Margarita, a mi tío Sergio y primas: Maycarmen, Yazmín y Alejandra, por estar al tanto, por el apoyo y confianza depositada en mi. Gracias familia son lo más importante para mi.

A Carlos Daniel por el apoyo incondicional, por escucharme, tolerarme, consolarme en los momentos más difíciles, por desvelarte conmigo, por todos los extraordinarios momentos vividos a tu lado. Gracias por todo.

A Jorge por su amistad incondicional, largas pláticas, los regaños, la tolerancia, las vivencias, las aventuras, por el apoyo y ayuda, muchas gracias.

A mis queridas amigas de la prepa 9, Consuelo, Dosta, Silvia, Sandra, Ana Laura, Elina, por sus comentarios, sugerencias y opiniones, gracias por crecer conmigo. A Nava por su apoyo durante las correcciones de mi tesis y por su amistad.

A Karla y Anne por permanecer cerca a pesar de la distancia, han sido un gran apoyo.

A la Dra. Rebe por su paciencia, orientación, tiempo brindado y por su cariño.

Al Dr. Hermilo por su tiempo, enseñanzas y las observaciones realizadas en este trabajo.

Thierry y Monse por el apoyo que me han brindado en todo momento, gracias por todas las vivencias y aprendizaje.

## Índice

1	Resumen.....	1
2	Introducción.....	3
3	Antecedentes.....	6
3.1	Generalidades de los hongos.....	6
3.2	Estructura de un hongo.....	12
3.3	<i>Lentinula edodes</i> , shiitake.....	13
3.3.1	Ciclo de vida .....	13
3.3.2	Hábitat.....	14
3.3.3	Descripción morfológica.....	14
3.3.4	Valor nutricional.....	15
3.3.5	Propiedades terapéuticas.....	16
3.3.6	Cultivo.....	17
4	Objetivos e hipótesis.....	21
4.1	Objetivo general.....	21
4.2	Objetivo particular.....	21
4.3	Hipótesis.....	21
5	Materiales y métodos.....	22
5.1	Material biológico.....	23
5.2	Preparación de medio EMA.....	23
5.3	Resiembra de cepas en cajas petri con medio EMA e incubación.....	23
0 5.4	Preparación, esterilización e inoculación del inóculo de grano de trigo.....	24
5.5	Incubación.....	25

5.6	Determinación de humedad y capacidad de retención de agua del aserrín, cascarilla de algodón, mijo y sorgo.....	25
5.7	Preparación, esterilización e inoculación del sustrato.....	26
5.8	Incubación del sustrato inoculado.....	29
5.9	Inducción para la fructificación.....	30
5.10	Fructificación y cosecha de hongos.....	31
6	Resultados.....	33
6.1	Experimento 1.....	33
6.1.1	Determinación de humedad.....	33
6.1.2	Resultados de eficiencia biológica.....	33
6.2	Experimento 2.....	40
6.2.1	Preparación de sustrato.....	40
6.2.1.1	Cálculos para determinar las cantidades necesarias de cada componente para la preparación del sustrato.....	41
6.2.2	Resultados de eficiencia biológica.....	44
6.3	Interpretación estadística de resultados obtenidos en los dos experimentos.....	51
7	Discusión.....	56
8	Conclusiones.....	61
9	Referencias.....	62
	Anexo 1.....	69
	Anexo 2.....	79

## 1. Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de cuatro condiciones para inducir la fructificación sobre la eficiencia biológica de tres cepas de *L. edodes* (L5, L9 y L15), en un sustrato sintético.

Los tratamientos de inducción para la fructificación se evaluaron en dos experimentos. En el primero, se evaluaron: 1) tratamiento control, sin choque térmico y sin inmersión en agua; 2) choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría; 3) choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua. En el segundo experimento se evaluaron nuevamente los tratamientos de: choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión y sin inmersión en agua fría y se compararon con un tercer tratamiento de inmersión de los sustratos en agua a temperatura ambiente por 48 horas.

Para el experimento se prepararon 30 bolsas con 1.5 Kg de sustrato formulado con cascarilla de algodón, aserrín, mijo y sorgo molido y se incubaron 10 semanas a 24°C. Posteriormente se asignaron 10 bolsas para cada tratamiento de inducción para la fructificación.

El tratamiento control se trasladó al cuarto de fructificación y se mantuvo durante 12 semanas de cosecha, el resto de las bolsas fueron sometidas al tratamiento de inducción para la fructificación designado, y posteriormente se pasaron al cuarto de fructificación.

Como resultado del primer experimento, se observó que los tratamientos de choque térmico para inducir la fructificación produjeron incrementos significativos en los rendimientos de las tres cepas estudiadas en comparación con el tratamiento control (15 – 48%). La cepa L9 sometida a choque térmico por inmersión en agua fría fue la que presentó la mayor eficiencia biológica (EB = 168%). En el segundo experimento el tratamiento de choque térmico sin inmersión en agua, fue donde las tres cepas evaluadas produjeron las mayores eficiencias biológicas (L5 140%, L9 134% y L15 132%).

Las interacciones (tratamiento x cepa) que presentaron el mayor rendimiento en general fueron: choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría con cepas L9 (137%) y L15 (128%); y choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua fría con la cepa L9 (130%).

## 2. Introducción

En los últimos años se ha observado un aumento en la demanda mundial de alimentos, debido fundamentalmente al acelerado crecimiento poblacional, lo cual ha provocado el desarrollo de sistemas agrícolas más eficientes, rentables, evitando el riesgo a la salud del consumidor, ambiente y sobre todo sean sostenibles a largo plazo (Martínez-Carrera *et al.*, 1992; Martínez-Carrera y Larque-Saavedra, 1993). La producción mundial de los hongos comestibles cultivados, también ha aumentado considerablemente en los últimos años. El cultivo del champiñón (*Agaricus bisporus*), shiitake (*Lentinula edodes*) y setas (*Pleurotus ostreatus*) dominan con más del 50% la producción mundial de hongos comestibles cultivados (Chen, 2004).

El shiitake es famoso en los mercados internacionales por ser un excelente alimento funcional que puede consumirse regularmente dentro de cualquier dieta. Sus propiedades nutricionales y medicinales se han popularizado a través de diversos medicamentos, extractos o concentrados utilizados como suplementos alimenticios a nivel mundial, para fortalecer el sistema inmunológico, reducir hipertensión y prevenir y tratar cáncer, diabetes, SIDA, enfermedades cardiovasculares y parasitarias (Przybylowicz y Donoghue, 1990; Chang, 1996, Miles y Chang, 1997; Chang, 1999; Oei, 2003; Chang y Miles, 2004). Esto ha impulsado notablemente el mercado internacional del shiitake, registrando tasas de crecimiento superiores al 25% (Chang, 1999; Royse *et al.*, 2002).

Las mayores ventajas de producir shiitake en bolsas de aserrín, comparadas con la producción de shiitake en troncos naturales son: el suministro consistente al mercado

mediante producción durante todo el año, mayores rendimientos y disminución del tiempo requerido para completar un ciclo de cultivo. El ciclo para el cultivo de bloques de aserrín suplementado requiere aproximadamente 3 - 6 meses. Las eficiencias biológicas para el sustrato en bolsas de aserrín suplementado con nutrientes, fluctúan entre 75 y 125%. En contraste, el ciclo de cultivo natural en troncos normalmente se extiende hasta 6 años, con eficiencias máximas del 33% aproximadamente (Royse, 1997).

Para inducir la fructificación cuando el micelio de shiitake ha invadido por completo el sustrato la literatura recomiendan las siguientes acciones:

- Reducir la temperatura.
- Elevar la humedad del medio ambiente.
- Incrementar la humedad del sustrato por inmersión en agua.
- Promover la eliminación del CO<sub>2</sub>, suministrando aire fresco mediante un sistema de ventilación.
- Someter el sustrato a un choque térmico.

Existe en la literatura poca información del efecto de sumergir los sustratos en agua para promover su fructificación e incrementar los rendimientos en la producción de *Lentinula edodes*. Los reportes indican ciertas controversias de sumergir los sustratos en agua fría para aumentar la producción del hongo *Lentinula edodes* (Ramírez-Carrillo y Leal, 2002). Royse (1997) recomienda periodos de 3 a 4 horas a 12°C. Sin embargo, Stamets (1993) indica que una buena fructificación es promovida por largos periodos de remojo del sustrato de 28 a 48 horas, mientras que Rinker (1991) indica que sólo es necesario sumergir los sustratos en agua por 12 horas para inducir la formación de

hongos. Según Royse (1997) sumergir el sustrato en agua (12°C) por 3 o 4 horas estimula la maduración del primordio; debido a que permite que el agua desplace al dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de los espacios en el sustrato, además de incrementar la humedad del sustrato, lo que promueve la abundante formación de hongos en un corto tiempo (9 a 11 días después de sumergir el sustrato en agua).

### **3. Antecedentes**

#### **3.1 Generalidades de los hongos**

Los hongos son organismos vivos separados en un reino distinto a los vegetales, agrupados en microscópicos y macroscópicos; dependiendo si presentan o no cuerpos fructíferos. Las fructificaciones de los hongos también se conocen como esporóforos o carpóforos.

Aunque carecen de clorofila, muchos hongos tienen pigmentos que les proporcionan coloraciones diversas (Herrera y Ulloa, 1990). Presentan quitina como componente principal de sus paredes celulares y glucógeno como material de reserva, son heterótrofos, es decir obtienen los nutrientes requeridos para su desarrollo, por una fuente externa que les proporcione dichos nutrientes; semejante a las plantas, presentan crecimiento vegetativo; raíz, tronco o estípite y sombrero o píleo.

Su nutrición es a través de absorción, no sintetizan sus alimentos, de acuerdo a la forma de cómo adquieren sus nutrientes se pueden clasificar en: hongos que toman sus nutrientes ingiriendo partículas del medio, este es el caso de los mixomicetos, que tienen una nutrición holozoica; hongos que viven de otros organismos por lo que son parásitos; hongos que se asocian simbióticamente con otros organismos, como es el caso de los líquenes y las micorrizas; hongos que obtienen sus nutrientes de materia orgánica por lo que son considerados organismos saprobios o saprófitos (Chacón *et al.*, 1995). En este último grupo encontramos a todos los hongos que degradan el complejo lignocelulósico que forma parte de la pared de los vegetales. Básicamente existen dos

subgrupos de hongos saprófitos: los degradadores primarios que corresponden a los hongos colonizadores que inician el proceso de degradación, ejemplos, *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*, y los degradadores secundarios que sólo pueden acceder a las sustancias orgánicas más simples que han sido pre-degradadas por los degradadores primarios, como es el caso de champiñón o *Agaricus bisporus* (Cisneros Lagos, 2003).

De acuerdo a la clasificación, sólo los últimos pueden ser cultivados bajo ambiente controlado ya que al ser independientes de otros seres vivos, basta desarrollar un sustrato lignocelulósico determinado y propiciar las condiciones de temperatura, ventilación, humedad y luz adecuadas para lograr su crecimiento y fructificación.

Estructuralmente los hongos en su gran mayoría (excepto levaduras), están formados por filamentos llamados hifas, las cuales constituyen sus células. La unión de los filamentos forma una masa algodonosa, que recibe el nombre de micelio, la masa de hifas o micelio bajo ciertas condiciones medio ambientales desarrolla el cuerpo fructífero del hongo, el cuál generalmente es macroscópico, y en él se forman las esporas, se diseminan y perpetúan la especie del hongo. Los cuerpos fructíferos son los que definen a las especies de los hongos, por su morfología, textura, color y tamaño entre otros.

Los hongos que pertenecen a los ascomicetos, a sus fructificaciones se le conocen como ascocarpos, y para los basidiomicetos como basidiocarpos o basidiomas.

La clasificación de los hongos ha cambiado mucho en las últimas décadas. Tradicionalmente, los seres vivos se incluían en dos reinos: Animal y Vegetal. Los

hongos pertenecían a este último, dentro del subreino *Talobionta* (las talofitas, o plantas con talo). Se creía que descendían de algún grupo de las algas rojas (rodofíceas).

En 1969, Whittaker propuso un sistema de clasificación de los seres vivos en 5 reinos. En la base figuraba el reino *Monera*, donde se incluían todos los organismos procariotas. Los otros reinos estaban integrados por organismos eucariotas; los eucariotas más sencillos, de cuerpos menos complejos, se incluían en el reino *Protista*. Los eucariotas complejos se separaban en 3 reinos: *Plantae* (vegetales), que realizan la fotosíntesis; *Animalia* (animales), que se alimentan por ingestión y *Fungi* (hongos), que se alimentan mediante absorción.

La comparación de diversas moléculas (por ejemplo, ARN ribosomal 12S) ha permitido trazar árboles filogenéticos bastante precisos entre seres vivos. En muchos casos, han confirmado las teorías de los taxónomos clásicos, mientras que en otros han supuesto auténticas sorpresas. Una de ellas es que el sistema de 5 reinos es demasiado simplista, sobre todo a nivel de protistas.

Actualmente se considera que los seres vivos deben agruparse en 3 dominios, más que en 5 reinos.

Los organismos que conocemos como hongos, no constituyen un grupo **monofilético** (descienden todos de un antepasado común), sino **polifilético** (descienden de antepasados diferentes; las semejanzas se deben a convergencia evolutiva y no a un origen común). Los organismos considerados como hongos se situaron en 3 reinos diferentes según la IX edición del *Dictionary of the Fungi*:

- I. **Reino *Protozoa***: Incluye a los paramecios o amebas. Son organismos que no presentan pared celular y se alimentan por fagocitosis. Y se distinguen 3 filos: *Dictyosteliomycota*, *Myxomycota* y *Acrasiomycota* .
- II. **Reino *Chromista***: Incluye a protistas con mitocondrias de crestas tubulares y con células cuyos flagelos presentan una especie de pelillos adosados llamados **mastigonemas**. Aquí se pueden encontrar las algas pardas, diatomeas y algunos hongos, que en realidad descienden de algas que han perdido la clorofila, como los mildius, y también algunos hongos que antes se incluían en *Myxomycota*, como los labirintulales. En general, las paredes celulares de estos seres no presentan quitina ni glucanos.
- III. **Reino *Fungi***: Son los hongos verdaderos, con paredes celulares de quitina y glucanos. Están más emparentados con los animales que con las plantas y se distinguen 4 filos:

**Filo *Chytridiomycota***: Es el único grupo de hongos verdaderos que presenta esporas flageladas. Reciben el nombre de quitridos.

**Filo *Zygomycota***: Presentan micelio cenocítico (sin tabiques). Aquí pueden hallarse hongos tan frecuentes como el moho negro del pan, o muchos formadores de endomicorizas.

**Filo *Ascomycota***: Es el grupo con mayor número de especies. Entre ellas destacan muchos hongos fitopatógenos (oídios, cornezuelo, grafiosis del olmo, etc.), parásitos en humanos (candidiasis, criptococosis, pie de atleta, etc.) y comestibles (trufas, colmenillas, etc.).

**Filo *Basidiomycota*:** Incluye a los hongos de mayor complejidad morfológica. Aquí pueden hallarse las setas o los yesqueros, y algunos fitopatógenos de enorme importancia (royas, carbones, etc.). Su papel en la naturaleza es esencial, sobre todo los degradadores; por ejemplo, entre los yesqueros se encuentran especies capaces de degradar la lignina. Otros, como royas y carbones, son peligrosos fitoparásitos. Por otro lado, el micelio de muchas setas forma ectomicorrizas con árboles; su papel para la supervivencia de los bosques es esencial. Finalmente, muchos de estos hongos son cultivados para obtener setas comestibles (*Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, etc.).

La característica común a los basidiomicetos es la presencia de basidios, células especializadas que tras la cariogamia y la meiosis producen 4 (a veces más o menos) basidiosporas en su parte exterior.

La clasificación de los basidiomicetos ha cambiado con frecuencia. Hoy, basándose en características morfológicas y comparación de ácidos nucleicos, parece claro que *Basidiomycota* es un grupo hermano de *Ascomycota* (la presencia de micelio septado dicariótico se da en ambos). Entre los *Basidiomycota* se distinguen 3 clases:

- *Teliomycetes*: las royas y hongos afines.
- *Ustomycetes*: los carbones y afines.
- *Hymenomycetes*: son los basidiomicetos en sentido estricto, como setas, yesqueros, gelatinosos, etc.

Se creyó que royas y carbones, cuyas características son distintas del resto de Basidiomycota, estaban estrechamente emparentados. Salvo excepciones no presentan basidiomas, ni el complejo septo dolíporo. Al germinar da lugar a un promicelio que funciona como metabasidio, y de él surgen las basidiósporas. Normalmente son parásitos de plantas vasculares. Sin embargo, las diferencias entre royas y carbones son claras, y por ello se separan en dos clases diferentes:

- **Royas:** Forman 4 basidiosporas por promicelio; el crecimiento en placa de Petri es extremadamente difícil; parasitan pteridófitos, gimnospermas y angiospermas; a veces necesitan dos hospedantes alternativos, que pueden pertenecer a taxones muy diferentes.
- **Carbones:** Forman un número indefinido de basidiosporas por promicelio; crecen fácilmente en medios de cultivo, donde pueden comportarse como levaduras; parasitan angiospermas (salvo contadas excepciones) (<http://www.ual.es> , 2010)

### **3.2 Estructura del cuerpo fructífero**

La mayoría de las especies de los hongos están constituidas por filamentos largos o hilos ramificados muy delgados llamados hifas. Tanto las hifas cenocíticas (no septadas) como las septadas pueden ser fértiles o estériles. Las hifas fértiles forman órganos de reproducción, las estériles carecen de estos órganos.

Las hifas de los hongos en la mayoría de los casos se desarrollan en abundancia, ramifican y entrelazan formando una estructura llamada micelio. El micelio presenta una apariencia algodonosa y por lo regular blanquecina, se localiza por debajo del mantillo o capas externas del suelo en el bosque, se cultiva en el laboratorio en forma de colonias con crecimiento radial formando masas discoidales (en forma de disco) sobre la superficie en donde crecen (Herrera y Ulloa, 1990).

La zona fértil del hongo se encuentra en la superficie llamada himenio; el himenio esta en la parte inferior del sombrero del cuerpo fructífero, puede ser laminada, dentada, lisa, venosa o porosa.

El píleo tiene forma de sombrero, está bien desarrollado en los Basidiomicetos, mientras que no es así en los Ascomicetos y su forma varia de convexo a plano. El anillo es una estructura membranosa que esta arriba del pie en algunos hongos. La volva es una capa membranosa, es el resto de una cubierta que envuelve el cuerpo fructífero en los estados jóvenes, que al romperse por la presión que ejerce el sombrero al empujarlo hacia arriba, deja en la base del pie dicha capa (Chacón *et al.*, 1995).

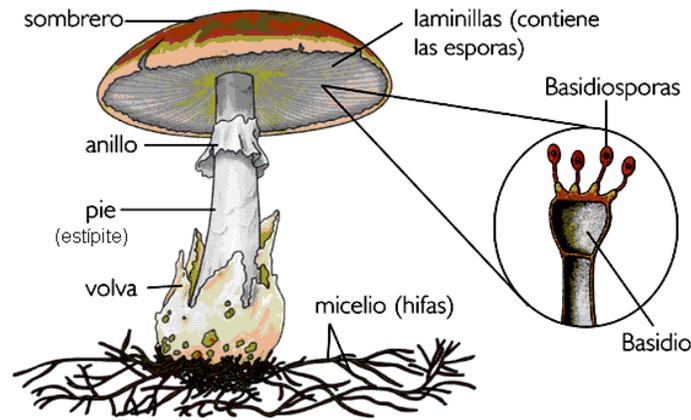


Figura 1: Estructuras de un cuerpo fructífero (Kalipedia, 2009).

### 3.3 *Lentinula edodes* o shiitake

Su nombre científico es *Lentinula edodes*, en donde *Lentinula* proviene de “lentis” por la forma convexa de un lente, similar al píleo y *edodes* se refiere a la naturaleza comestible de los hongos de esta especie (Staments y Chilton, 1983). El nombre común más popular es shiitake, pero también se le conoce como hongo negro, japonés u hongo negro chino. El nombre shiitake viene de la asociación del crecimiento de este hongo en el árbol conocido por el nombre de “shii” (*Castanopsis cuspidata*) y “take” significa “hongo”. En China el nombre común que se le da es “Xiang-Gu” y significa hongo fragante (Chen, 2005).

#### 3.3.1 Ciclo de vida

El ciclo de vida de los hongos perteneciente a los basidiomicetos, como *Lentinula edodes* (shiitake), básicamente consta de las siguientes etapas: formación de esporas de origen sexual llamadas basidiosporas a partir de las células especializadas llamadas basidios, germinación, micelio primario, fusión de hifas o micelio secundario, formación

de primordios o micelio terciario y culmina con la formación del cuerpo fructífero maduro.

Las basidiósporas (haploides) germinan y dan lugar a un micelio primario, monocariótico. Esta fase suele ser corta, ya que pronto ocurre la somatogamia o fusión de hifas y se obtiene un micelio secundario, dicariótico, que crece mediante fíbulas. Este micelio es el más abundante en la naturaleza.

### **3.3.2 Hábitat**

*Lentinula edodes* es un degradador de maderas, muy común en troncos muertos de árboles de hojas caducas, sobre todo de la familia *Fagaceae* (roble, shiia, castaños, haya). En la naturaleza se desarrolla perfectamente en el roble y fructifica al degradar el árbol colonizando durante el inicio del invierno y la primavera. Puede desarrollarse en cualquier tipo de clima, siempre que la temperatura no sea menor a 0°C (Herrera y Ulloa, 1990).

### **3.3.3 Descripción morfológica**

*Lentinula edodes* presenta un píleo de 5 a 11 cm de diámetro, color café claro a café oscuro con tonos de café rojizo, casi negro al inicio de la fructificación, de forma convexa volviéndose más amplio con el paso del tiempo, la orilla del píleo se encuentra enrollada cuando es joven. Su consistencia es firme y flexible. Las laminillas son

blancas, de cerradas a apretadas, frecuentemente con bordes dentados. El estípite o tallo se encuentra centrado en el píleo (Staments y Chilton, 1983). El píleo es blanquecino a color café rojizo, con escamas color café oscuro; la esporada es blanca al igual que el micelio, las esporas son cilíndricas-elipsoides de pared delgada de 5.8-6.4 x 2.8-3.3  $\mu\text{m}$  de diámetro (Mata, 1990).

### 3.3.4 Valor nutricional

*Lentinula edodes* (shiitake) es cada vez más demandado por su potencial nutracéutico (hace referencia a todos aquellos alimentos que se proclaman como poseedores de un efecto beneficioso sobre la salud humana).

Nutricionalmente es una buena fuente de proteínas con 20.25 %; además tiene 63.76% de carbohidratos del cual 47.3 g/100 g es fibra dietética (Martínez-Carrera *et al.*, 2004), 7.49% de fibra cruda; tiene un bajo contenido de grasas (3.47%), y 5.03% de cenizas, contiene altas concentraciones de minerales como son: calcio, cobre, fósforo, fierro, magnesio, manganeso, potasio, selenio y zinc, puede considerarse una buena fuente de vitaminas: A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y niacina (Kwon y Hobbs, 2005).

El sabor y aroma del shiitake (*Lentinula*) son únicos entre los hongos comestibles. La mayoría de los consumidores los consideran incluso más intensos, en comparación con los champiñones (*Agaricus*) y las setas (*Pleurotus*). Diversos compuestos específicos se han logrado identificar como responsables del excelente sabor (nucleótidos, aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular, ácidos orgánicos, azúcares,

glutamato) y aroma (lentionina, matsutakeol, etil-n-amil cetona) (Martínez-Carrera *et al.*, 2004).

### **3.3.5 Propiedades terapéuticas**

A *Lentinula edodes* se le atribuyen propiedades terapéuticas que incluyen actividad antitumoral (polisacáridos, glicoproteínas), antiviral (ácido nucleicos antivirales), disminución de los niveles de colesterol (previene enfermedades de tipo cardiovascular). Shiitake ha sido incluido en estudios experimentales contra cáncer y SIDA.

Lentinan es un compuesto de la pared celular, extraído de los cuerpos fructíferos y el micelio de *Lentinula edodes*. Lentinan estimula a las células T. Cuando se administró lentinan a pacientes con cáncer en tratamiento con quimioterapia, se observó que disminuía el tamaño de los tumores y en los que no recibían quimioterapia prolongaba su vida (Kwon y Hobbs, 2005). En el tratamiento contra el SIDA, se ha observado que lentinan activa las células T y potencia el efecto del medicamento administrado (AZT), que actúa sobre la replicación del virus (Kwon y Hobbs, 2005).

Eritadenina es un derivado de la adenina, la cual demostró disminuir los niveles de colesterol en 7%, en un estudio practicado a mujeres jóvenes japonesas cuando estas incluían en su dieta el consumo de 9 g de shiitake fresco durante 7 días. En otro grupo se incluyó el consumo de 90 g de shiitake fresco durante 7 días, disminuyendo los niveles de colesterol en un 14%. Por otra parte, otro estudio en personas de 60 años en

adelante demostró que el nivel de colesterol decrecía un 9% al incluir shiitake en su dieta diaria ya fuese seco o fresco (Kwon y Hobbs, 2005).

### 3.3.6 Cultivo

*Lentinula edodes* es uno de los hongos cultivados más importantes en China, el actual líder en su producción (Xian Gu). Se pueden reconocer siete fases en el desarrollo de su cultivo en forma artificial (Chang, 2002).

1. Cultivo en troncos de madera. Cultivo tradicional de *Lentinula edodes* en troncos de maderas duras, en la antigüedad, los productores abrían con un hacha la corteza de los troncos y esperaban que las esporas entraran al tronco, el micelio lo invadiera y produjera hongos, lo que resultaba un método muy lento y muy poco predecible.
2. Inoculación de troncos. Basado en la inoculación del micelio puro desarrollado por los japoneses en 1928. Este método revolucionó el proceso productivo de *Lentinula edodes*, al desarrollar la capacidad de producir micelio puro.
3. Cultivo en bolsas de plástico con aserrín. Utilizando pequeñas bolsas de plástico con aserrín como sustrato. Este método fue desarrollado en Taiwán a principios de 1970.
4. El uso de ladrillos o bloques de sustrato comprimidos fue introducido en Shanghai en 1979 para el cultivo a escala comercial.
5. Cultivo en “troncos sintéticos”. Desarrollado en 1986 en el municipio de Gutin en la provincia de Fujian (China). Esta innovación expandió la industria de *Lentinula edodes* en China. Desde la introducción de este método el cultivo de *L. edodes*

creció más de 20 veces en 15 años, y a principios de 1987, China le quitó a Japón la posición de mayor productor de *L. edodes*, dominando el mercado mundial desde entonces.

6. Uso de las “bolsas sintéticas”. Desarrollando en el condado de Quinguan, en la provincia de Zhejiang. Las bolsas de fructificación son más cortas que los troncos sintéticos pero mucho más anchas, las bolsas inoculadas se colocan en repisas. La producción en este municipio representa el 10% de toda la producción mundial y una quinta parte de la producción total de China.
7. El cultivo en invernaderos de plástico se deriva del método de la bolsa sintética que fue desarrollado en el condado de Biyang, en la provincia de Helan (China). Las bolsas se colocan en repisas dentro del invernadero. Durante climas secos y fríos, se produce con este método la mejor calidad de hongos, Donko o flor Donko, donde el contexto es notablemente más grueso y el píleo se resquebraja descubriendo un patrón como una flor con las grietas en la superficie.

Hoy en día, se utiliza aún el método tradicional, donde shiitake se produce en troncos con rendimientos relativamente bajos, dependiendo de los efectos climáticos y requiriendo de 3 a 5 años para completar un ciclo productivo. En las últimas décadas, la producción de shiitake se ha introducido en los EUA y Europa, sustituyendo el método de cultivo tradicional por el llamado “método sintético” con aserrín como componente básico de la formulación del substrato acompañado de suplementos como cereales (Pryzbylowicz y Donoghe, 1990).

El método sintético muestra dos ventajas sobre el método tradicional, el tiempo de cultivo y la eficiencia biológica. Mientras que con el método sintético se requieren de 4 a

6 meses desde la inoculación hasta el agotamiento del sustrato, el método tradicional el ciclo de cultivo toma hasta 6 años. Las bajas eficiencias biológicas (g de hongo fresco/100 g sustrato seco), 9 a 35% alcanzadas con el método tradicional (Royse y Schisler, 1986; Royse *et al.*, 1985) se incrementan con el cultivo en sustrato sintético de 45 a 65% (Delpech y Olivier, 1991; Rinker, 1991; Levanon *et al.*, 1993) y recientemente se reportan rendimientos de 75 a 125% (Royse, 1997).

Actualmente se realizan investigaciones para determinar los factores que afectan el rendimiento y su variación. Según Royse (1985) entre los factores que afectan en forma considerable la producción se pueden mencionar: duración del período de incubación, concentración y tipo de suplementos nutricionales, contenido de agua y tasa de intercambio gaseoso, entre otros (Royse y Sánchez-Vázquez, 2001). Otros factores son: la formulación del sustrato, el genotipo de la cepa utilizada, así como: condiciones ambientales, tales como iluminación, temperatura, aireación, humedad del sustrato y medio ambiente (Kitamoto, 1990)

A nivel mundial, el segundo hongo comestible comercialmente cultivado más importante es el shiitake, ya que se produjeron 1, 534,600 toneladas de producto fresco en 1997. La mayor parte (>98.5%) de esta producción comercial se genera en el Sureste de Asia, principalmente en China (87.1%), Japón (8.6%), Taiwán (1.7%) y Corea del Sur (1.1%) (Chang, 2002). En Latinoamérica, se iniciaron diversos esfuerzos empíricos para cultivar el shiitake, desde principios de 1980, en Colombia, Guatemala y México (Martínez-Carrera, 2000, 2002). A partir de 1990 también se desarrollaron experiencias en otros países, tales como Argentina, Brasil, Colombia, Guatemala y Perú.

Actualmente, los mayores niveles de producción comercial y consumo se han logrado en Brasil (800 toneladas por año) ya que cuenta con una amplia población inmigrante procedente del sureste de Asia.

En México comenzó la producción comercial de hongos comestibles entre 1981 y 1990, en los estados de: Morelos (Intecali, S.A.), Querétaro (Grupo VISA), y Tlaxcala (Bulco, S.A.). En el periodo de 1991 al 2009, se registraron 25 nuevas empresas productoras de champiñones en los estados de Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tlaxcala y Veracruz. También se registraron un gran número de nuevas empresas y productores de “setas”, shiitake y reishi. El shiitake, cuya producción comercial era prácticamente nula en 1991, alcanzó las 18.2 toneladas de producto fresco por año en el 2009. Hongos Leben S.A., se ha especializado y ha desarrollado ampliamente el nicho de mercado de las “setas” y el shiitake, manteniéndose como el mayor productor y comercializador de dichas especies (Martínez-Carrera y López-Martínez de Alva, 2010)

## **4. Objetivos e hipótesis**

### **4.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto del choque térmico para inducir la fructificación sobre la producción de tres cepas de *Lentinula edodes* (L5, L9 y L15), en un sustrato sintético.

### **4.2 Objetivo particular**

Evaluar el efecto de cuatro condiciones para inducir la fructificación sobre la producción de tres cepas de *Lentinula edodes* (L5, L9 y L15), en un sustrato sintético.

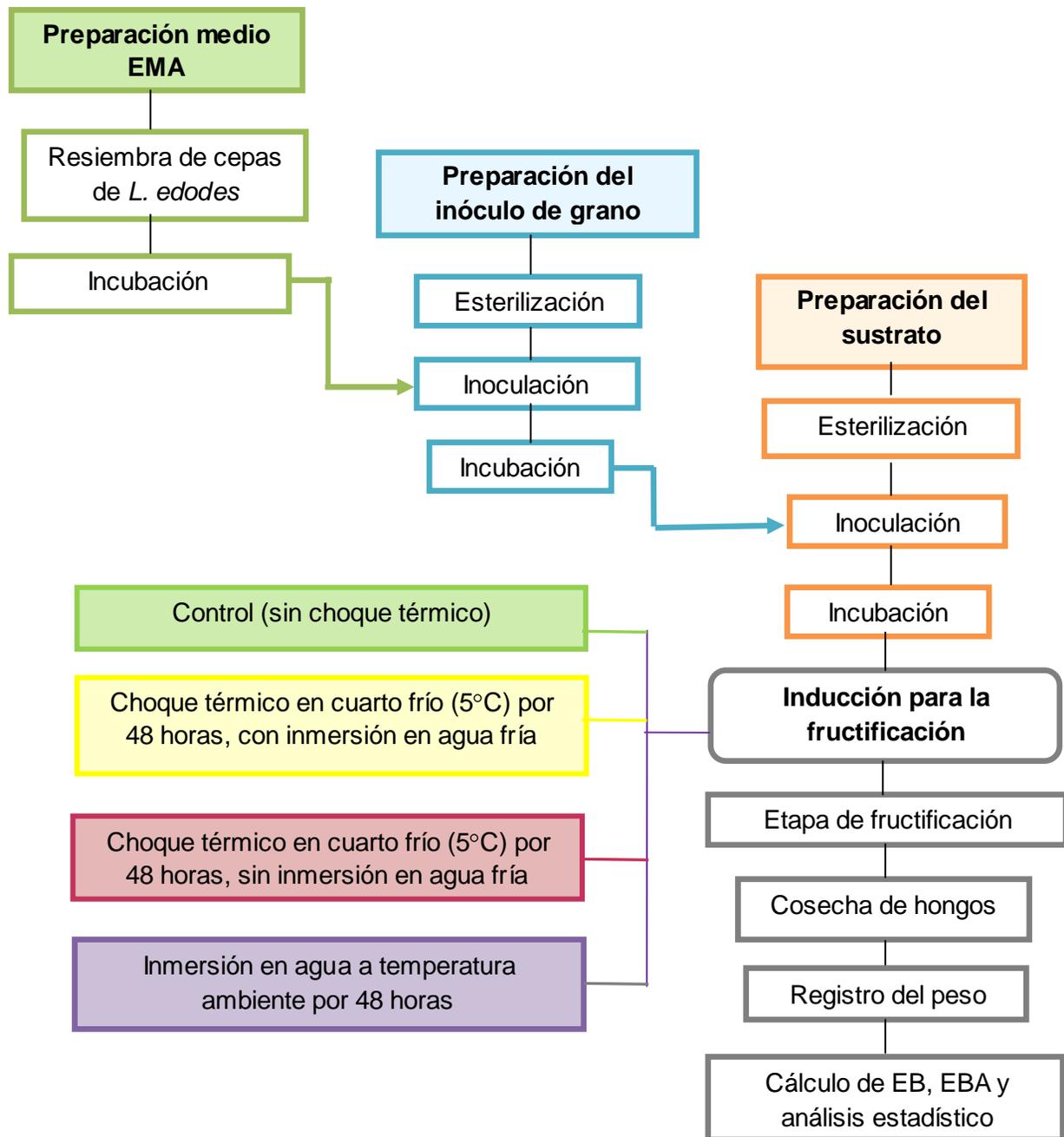
Identificar el tratamiento o tratamientos de inducción para la fructificación que produzca altos rendimientos y sea factible su implementación para el cultivo de shiitake a escala de producción.

### **4.3 Hipótesis**

Si el descenso en la temperatura es esencial para que inicie la formación de cuerpos fructíferos del hongo *Lentinula edodes*, al someter el sustrato a un choque térmico por 48 horas continuas, aumentará la producción de cuerpos fructíferos.

## 5. Materiales y métodos

Figura 2: Diagrama general para evaluar el efecto del choque térmico sobre la producción de tres cepas de *L. edodes*.



### **5.1 Material biológico**

Las cepas utilizadas fueron obtenidas de varias fuentes, cepa L5 (Consejo de Investigación Nacional de Canadá, donada por Dr. Ian Reid), cepas L9 y L15 (Instituto de Investigación Forestal de Corea donadas por Dr. Tai-Soo Lee).

### **5.2 Preparación de medio de extracto de malta agar (EMA)**

Para preparar 500 mL de medio, en un matraz Erlenmeyer con capacidad de 1 L se pesaron 7.5 g de extracto de malta y se disolvieron en 100 mL de agua destilada. Posteriormente se añadieron 9 g de agar bacteriológico en el matraz y agitó para su hidratación y se adicionaron 400 mL de agua destilada. A continuación se tapó el matraz, con hule espuma y papel aluminio y se esterilizó en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 45 minutos. Terminada la esterilización se transfirieron 10 mL del medio estéril y caliente en cajas Petri estériles. Este paso se realizó en una campana de flujo laminar para mantener las condiciones de esterilidad del medio y el vaciado se realizó con la ayuda de una jeringa de llenado continuo. Una vez que el medio solidificó se guardó en bolsas de plástico y se incubó a 24°C durante 24 - 48 horas para verificar su esterilidad.

### **5.3 Resiembra de cepas en cajas petri con medio EMA e incubación**

Una vez que se comprobó la esterilidad del medio, se sembraron 8 cajas con medio EMA por cepa y se incubaron durante 2 semanas para la propagación del micelio en

toda la superficie del medio de agar. La temperatura de incubación fue de 24°C, en condiciones de oscuridad (el período de incubación terminó cuando el micelio de cada cepa invadió por completo el medio de la caja Petri).

#### **5.4 Preparación, esterilización e inoculación del inóculo de grano de trigo**

Se pesaron 4.2 Kg de trigo seco y una vez limpio se le dio un proceso de cocción de aproximadamente 45 minutos, (evitando la gelificación total del almidón). Inmediatamente después se enjuagó el grano con agua fría para detener la cocción, se drenó el exceso de agua y se pesó, obteniendo 7.8 Kg de trigo húmedo. Con base en el peso húmedo del trigo se añadió  $\text{CaSO}_4$  (1.3%) y  $\text{CaCO}_3$  (0.3%) y se mezcló. En bolsas de polipropileno con filtro y capacidad para 2 Kg, se colocaron 1.3 Kg de grano preparado y se esterilizó en autoclave por 2 horas a 121°C y 15 libras de presión. Las bolsas con el grano estéril se dejaron enfriar durante 24 horas hasta alcanzar una temperatura entre 24 y 26°C. Posteriormente el grano estéril se inoculó con el micelio que previamente se desarrolló en las cajas Petri con medio EMA. En la figura 3 se presentan imágenes de la preparación, inoculación e incubación del inóculo de grano de trigo.

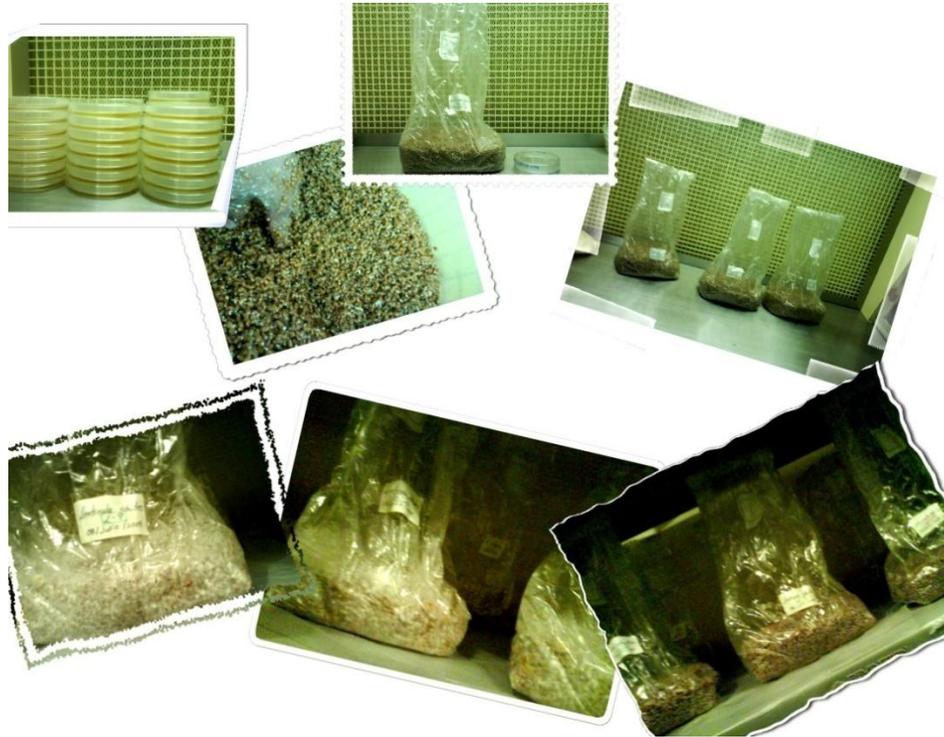


Figura 3: Preparación, esterilización e inoculación del inóculo de grano de trigo.

## 5.5 Incubación

Las bolsas con grano inoculadas se incubaron a 24°C, en condiciones de oscuridad durante 3 semanas o hasta la invasión total del grano con el micelio.

## 5.6 Determinación de humedad y capacidad de retención de agua del aserrín, cascarilla de algodón, mijo y sorgo

Para preparar el sustrato es necesario hidratar el aserrín, cascarilla de algodón y mijo durante 24 horas. Este proceso se puede realizar sumergiendo los sustratos en un exceso de agua por 24 horas y posteriormente drenando el exceso de agua. Sin embargo, el proceso de drenado del agua es tedioso y muy laborioso. En el segundo experimento se realizó de forma alterna la hidratación de los materiales. Para ello

primero se determinó la humedad que presentaba cada material (aserrín, cascarilla de algodón, mijo y sorgo) y por otro lado se determinó la capacidad de hidratación de cada material.

Para determinar la humedad se pesaron muestras de 10 g de cada material y se secaron en estufa de secado a 60°C hasta obtener peso constante.

Para determinar la capacidad de hidratación para cada componente del sustrato, se sumergió cada componente (10 g) en un exceso de agua (100mL) durante 24 horas y posteriormente se drenó el exceso de agua y se determinó la humedad retenida para cada material en estufa de secado a 60°C hasta obtener peso constante. Todas las determinaciones de humedad se realizaron por triplicado. Con los valores obtenidos de la capacidad de hidratación, se realizó el cálculo para determinar la cantidad de material seco y de agua necesario para la hidratación de cada componente del sustrato.

Con la capacidad de hidratación de los componentes se buscó obtener una humedad del 60% en el sustrato para asegurar el desarrollo del micelio.

## **5.7 Preparación, esterilización e inoculación del sustrato**

El sustrato se preparó de acuerdo a la formulación reportada en la tabla 1. Los componentes como son: aserrín, cascarilla de algodón y mijo, se pesaron y añadió el agua calculada para su hidratación y se dejaron hidratar durante 24 horas. Después de las 24 horas los componentes húmedos se mezclaron en las proporciones calculadas, en el caso del sorgo molido, se determino la capacidad de hidratación, se incorporó a la

mezcla de componentes sin hidratación previa, y el agua se incorporó al final; el resto de los componentes secos (sorgo molido, sulfato de amonio, ácido cítrico y benlate se incorporaron y mezclaron hasta que se observó una distribución homogénea. Con el sustrato húmedo se llenaron bolsas de polipapel con 1.5 Kg. Para cada lote se tomaron muestras para determinar la humedad del sustrato antes y después de esterilizar para conocer la humedad final del sustrato.

Tabla 1: Formulación del sustrato para el cultivo de *L. edodes* en base húmeda

Componentes del sustrato	Cantidad (%)
Aserrín de encino*	50
Cascarilla de algodón*	36
Mijo*	6
Sorgo molido**	6
Benlate	1
Ácido cítrico	0.5
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5

\* Componentes del sustrato previamente hidratados

\*\* Componente sin hidratar con adición del agua por separado

El sustrato empacado en bolsas se esterilizó en autoclave durante 2 horas a 121°C y 15 libras de presión. Las bolsas de sustrato estériles se dejaron enfriar durante 2 días dentro de la autoclave. Posteriormente se inocularon con el inóculo de grano en una proporción del 5% en una campana de flujo laminar. En la figura 4 se ilustra el proceso de elaboración, esterilización e inoculación de los sustratos.



Figura 4: A: Mezcla de los componentes del sustrato. B: Llenado de bolsas con 1.5 Kg de sustrato, C: Esterilización del sustrato en autoclave. D: Sustratos a temperatura ambiente. E y F: Inoculación del sustrato y toma de muestra para determinación de humedad. G: Lote de 30 bolsas de sustrato por cepa. H: Incubación de sustratos a 24°C en oscuridad.

## 5.8 Incubación del sustrato inoculado

Los sustratos inoculados se incubaron a una temperatura de 24°C en oscuridad. Los sustratos permanecieron en el cuarto de incubación 10 semanas. A partir de la cuarta semana de incubación se observó la formación de primordios. En la figura 5 se presentan imágenes de los sustratos durante el período de incubación.



Figura 5: Avance del crecimiento micelial durante el período de incubación. 1) Sustratos recién inoculados; 2 y 3) Despunte o aparición de manchas blancas en el sustrato durante la primera semana de incubación. 4 y 5) Invasión micelial del sustrato después de 1 mes de incubación (80 a 90%). 6 y 7) Invasión total del sustrato con el micelio del hongo. 8, 9, 10 y 11) Formación y desarrollo de primordios. 12 y 13) Formación de costra café. 14) Transferencia de las bolsas al cuarto de fructificación después de 10 semanas de incubación.

## 5.9 Inducción para la fructificación

Finalizado el tiempo de incubación (10 semanas), los sustratos fueron sometidos a los diferentes tratamientos de inducción para la fructificación. En el primer experimento se evaluaron:

- 1) Tratamiento control, sin choque térmico y sin inmersión en agua.
- 2) Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría.
- 3) Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua fría.

En este experimento se evaluaron tres condiciones de inducción para la fructificación, para el tratamiento control, (sin choque térmico, sin inmersión en agua) los sustratos permanecieron en el cuarto de fructificación durante las 12 semanas de cosecha. Para el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, el tratamiento se llevó a cabo en dos ocasiones; al inicio de la fructificación, antes que los sustratos fueran trasladados al cuarto de fructificación, y a la semana 8 cuando disminuyó la producción de hongos.

Para el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua fría, se realizó en tres ocasiones, al inicio de la fructificación, entre las semanas 7 y 8 de producción, y a la semana 11.

En el segundo experimento se evaluaron:

- 1) Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría;
- 2) Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua fría.

3) Inmersión en agua a temperatura ambiente por 48 horas.

Los tratamientos de inducción para la fructificación se realizaron, la primera vez al final del período de incubación y posteriormente cada 3 semanas durante la etapa de fructificación (cuatro ocasiones en total).

### **5.10 Fructificación y cosecha de hongos**

Después del tratamiento de inducción para la fructificación, los sustratos fueron transferidos al cuarto de fructificación y se esperó hasta que comenzaron a desarrollarse los cuerpos fructíferos. Diariamente se cosecharon y pesaron los hongos producidos, durante 12 semanas.

Con los datos del peso diario obtenido para cada tratamiento de inducción para la fructificación se calculó la producción semanal por bolsa, cepa y tratamiento. Posteriormente se calculó la eficiencia biológica semanal ( $EB = \text{g hongos frescos}/100 \text{ g de sustrato seco}$ ) y la eficiencia biológica semanal acumulada (EBA). Con los valores obtenidos se realizó un análisis de varianza para determinar el tiempo óptimo de cosecha para cada caso o también conocido como rendimiento máximo significativo (RMS). Con los valores del RMS de todas las condiciones se realizó un segundo análisis de varianza para determinar las condiciones en donde la producción de hongos fue mayor. En la figura 6 se ilustran las etapas de: inducción para la fructificación, cosecha y cuantificación de hongos.



Figura 6: Producción de hongos: a, b) Sustratos después del período de incubación, c) Tratamiento de inducción para la fructificación, d, e, f y g) Desarrollo de los cuerpos fructíferos, h, i) Cosecha de cuerpos fructíferos, j) Registro del peso y cantidad de hongos por bolsa, k) Tratamiento de inducción para la fructificación, l) Formación de nuevos cuerpos fructíferos.

## 6. Resultados

### 6.1 Experimento 1

#### 6.1.1 Determinación de humedad

Una vez que los sustratos fueron preparados se tomaron muestras para determinar la humedad antes y después de la esterilización de cada lote de sustrato. En la tabla 2 se presentan los resultados de humedad de cada lote antes y después de la esterilización. Todos los lotes presentaron una humedad aceptable dentro del rango 59 - 61%. El valor de humedad después de esterilizar los sustratos es de suma importancia para poder calcular la eficiencia biológica (g hongos frescos / 100 g de sustrato seco).

Tabla 2: Humedad de los sustratos en los 3 lotes antes y después de su esterilización.

Lote	Humedad antes de esterilizar (%)	Humedad después de esterilizar (%)
1	60.90 ± 0.54	60.13 ± 0.51
2	62.54 ± 0.44	59.73 ± 0.29
*2 <sup>a</sup>	62.07 ± 0.17	61.06 ± 0.14
3	61.71 ± 0.04	59.65 ± 0.11

\* Para el lote 2 se realizó un segundo lote (2<sup>a</sup>) debido a que la mitad de los sustratos se contaminaron.

#### 6.1.2 Resultados de eficiencia biológica

En la tabla 3 se presentan los valores de eficiencia biológica semanal para las cepas L5, L9 y L15 en los tres tratamientos de inducción para la fructificación. Con los valores obtenidos de la eficiencia biológica semanal, se calculó la eficiencia biológica semanal acumulada (tabla 4). Para cada cepa y tratamiento de inducción para la fructificación se

realizó un análisis de varianza, considerando como variables las semana de corte y repetición (Anexo 1, Tabla: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17). Como resultado del análisis de varianza se observaron diferencias altamente significativas en las EB obtenidas en las diferentes semanas de corte. Para determinar en qué semana se obtuvo el rendimiento máximo significativo (RMS) se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan (Anexo 1 tabla: 2, 4, 6, 8, 10, 12,14, 16,18). El RMS corresponde a la semana donde se alcanzó la mayor eficiencia biológica e indica que los incrementos posteriores ya no son estadísticamente significativos.

En la tabla 4 se presenta la eficiencia biológica semanal acumulada de las cepas L5, L9 y L15 en las tres condiciones de inducción para la fructificación. Los valores sombreados corresponden a la semana donde se alcanzó el RMS.

Para el tratamiento control, el RMS para las cepas L5 y L15 se alcanzó en la 6ta semana con valores de 15.3 y 48.0% respectivamente y para la cepa L9 se obtuvo en la 7ma semana con un valor de 29.0% de eficiencia biológica.

Para el choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, las cepas L5 y L15 alcanzaron el RMS en la 12va semana, con valores de EB de 121 y 135% respectivamente, mientras que la cepa L9 obtuvo el RMS en la 11va semana con un valor de EB de 164.4%

Para el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua, las cepas L5 y L9 alcanzaron el RMS en la 12va semana con valores de EB de 84.2 y 127.9% respectivamente y la cepa L15 alcanzó el RMS a la 13va semana con un valor de EB de 88.4% (tabla 5).

Después de determinar la semana donde se obtuvo el RMS para cada cepa en cada tratamiento se realizó un segundo análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para determinar las condiciones en donde la producción de hongos fue mayor. En el diseño factorial las variables consideradas fueron: tratamientos, cepas y la interacción cepas x tratamiento (Anexo 1: Tabla 19). Como resultado del análisis de varianza se observaron diferencias altamente significativas para las variables: tratamientos, cepas y la interacción (cepas x tratamiento). Como la interacción cepas x tratamiento presentó una diferencia altamente significativa, esto nos indica que las variables cepas y tratamientos no se comportaron como independientes, razón por la cual no se deben interpretar por separado.

Para la interpretación de la interacción (cepa x tratamiento) se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan, para las 9 condiciones de la interacción (3 cepas y 3 tratamientos) (Anexo 1, tabla: 20). Como resultado las 9 condiciones se agruparon en 5 grupos estadísticamente diferentes. En la tabla 5 y gráfica 1 se presenta un resumen de los análisis estadísticos para las variables cepas y tratamientos de inducción para la fructificación.

La cepa L5 presentó una EB de 15.3%, con el tratamiento control y su rendimiento se incrementó aproximadamente 5 veces al ser sometido al tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua (EB 84.2%). El mayor incremento (8 veces aproximadamente) se observó con el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, (EB 121%).

La cepa L9 presentó una EB de 29.0%, con el tratamiento control y su rendimiento se incrementó aproximadamente 4 veces al ser sometido al tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua (EB 127.9%). El mayor incremento (5 veces) se obtuvo en el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría (EB 168.3%).

Para la cepa L15 el menor rendimiento se obtuvo con el tratamiento control (EB 48%) y su rendimiento se incrementó aproximadamente 2 veces con el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua (EB 86.4%). De nuevo para esta cepa el mayor incremento (3 veces) se obtuvo con el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría (EB 135.2%).

En la tabla 5 y gráfica 1, se observa que para el tratamiento control, las EB fueron de 15 a 48%, siendo estadísticamente mayor para la cepa L15. Para el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua, las EB fueron de 84 a 128%, presentando la mayor EB la cepa L9. Finalmente para el choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, se obtuvieron EB de 121 a 168% correspondiendo la mayor EB a la cepa L9. Por lo que se puede observar que en cualquiera de los tratamientos con choque térmico, los rendimientos aumentan considerablemente en comparación con el tratamiento control.

Tabla 3: Eficiencia biológica semanal de 3 cepas de *Lentinula edodes* sometidas a 3 tratamientos de inducción para la fructificación (Experimento 1).

Eficiencia biológica semanal (g hongos frescos/ 100 g sustrato seco)									
Semana de corte	Control (sin choque térmico)			Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas					
				Sin inmersión en agua fría			Con inmersión en agua fría		
	L5	L9	L15	L5	L9	L15	L5	L9	L15
1	4.8 ± 5.8	10.7 ± 5.5	24.4 ± 19.3	13.8 ± 7.7	19.3 ± 1.9	17.6 ± 7.4	26.7 ± 8.0	63.3 ± 15.5	46.3 ± 7.8
2	0 ± 0	1.9 ± 3.5	0 ± 0	12.6 ± 0.8	22.5 ± 4.0	17.3 ± 4.4	32.2 ± 7.8	37.1 ± 8.6	36.0 ± 8.8
3	3.5 ± 6.3	0 ± 0	7.3 ± 16.4	1.8 ± 1.0	29.0 ± 2.5	13.6 ± 4.4	3.5 ± 2.9	17.3 ± 7.4	7.2 ± 6.7
4	0 ± 0	6.6 ± 9.0	5.2 ± 7.3	14.3 ± 10.0	2.8 ± 4.6	4.5 ± 6.3	26.7 ± 2.6	13.7 ± 3.7	10.8 ± 2.8
5	0 ± 0	2.6 ± 4.8	2.6 ± 3.6	9.6 ± 9.4	12.9 ± 11.1	9.6 ± 8.5	1.1 ± 0.9	18.5 ± 9.8	13.6 ± 2.9
6	7.0 ± 7.3	0.7 ± 1.8	8.4 ± 9.6	9.5 ± 10.9	12.9 ± 12.4	5.2 ± 9.2	2.1 ± 0.9	6.2 ± 7.5	4.1 ± 3.1
7	0 ± 0	6.5 ± 6.5	2.3 ± 3.2	11.5 ± 12.2	8.1 ± 7.7	5.2 ± 4.9	0.7 ± 0.4	0.8 ± 0.6	0.6 ± 1.0
8	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2.0 ± 3.4	2.1 ± 4.3	1.3 ± 2.1	3.2 ± 5.8	0.2 ± 0.4	0.1 ± 0.2
9	0 ± 0	1.6 ± 2.5	0 ± 0	1.6 ± 2.2	9.1 ± 8.0	3.1 ± 3.5	9.0 ± 9.2	7.4 ± 5.2	7.3 ± 5.8
10	0 ± 0	1.8 ± 3.3	0.5 ± 1.0	0.8 ± 1.1	2.7 ± 4.9	1.7 ± 3.2	3.4 ± 4.5	2.2 ± 3.3	2.2 ± 3.9
11	0 ± 0	0 ± 0	0.6 ± 1.3	4.0 ± 3.1	3.8 ± 4.5	4.2 ± 4.0	4.2 ± 4.6	1.7 ± 2.4	1.3 ± 4.2
12	0 ± 0	0 ± 0	0.6 ± 0.14	2.8 ± 3.1	2.3 ± 4.6	3.1 ± 3.2	8.2 ± 11.1	4.3 ± 3.9	5.8 ± 5.3
13				3.9 ± 4.2	3.5 ± 3.0	2.0 ± 2.0			
14				1.5 ± 2.6	3.3 ± 3.4	2.5 ± 2.2			

Tabla 4: Eficiencia biológica semanal acumulada de 3 cepas de *Lentinula edodes* sometidas a 3 tratamientos de inducción para la fructificación (Experimento 1).

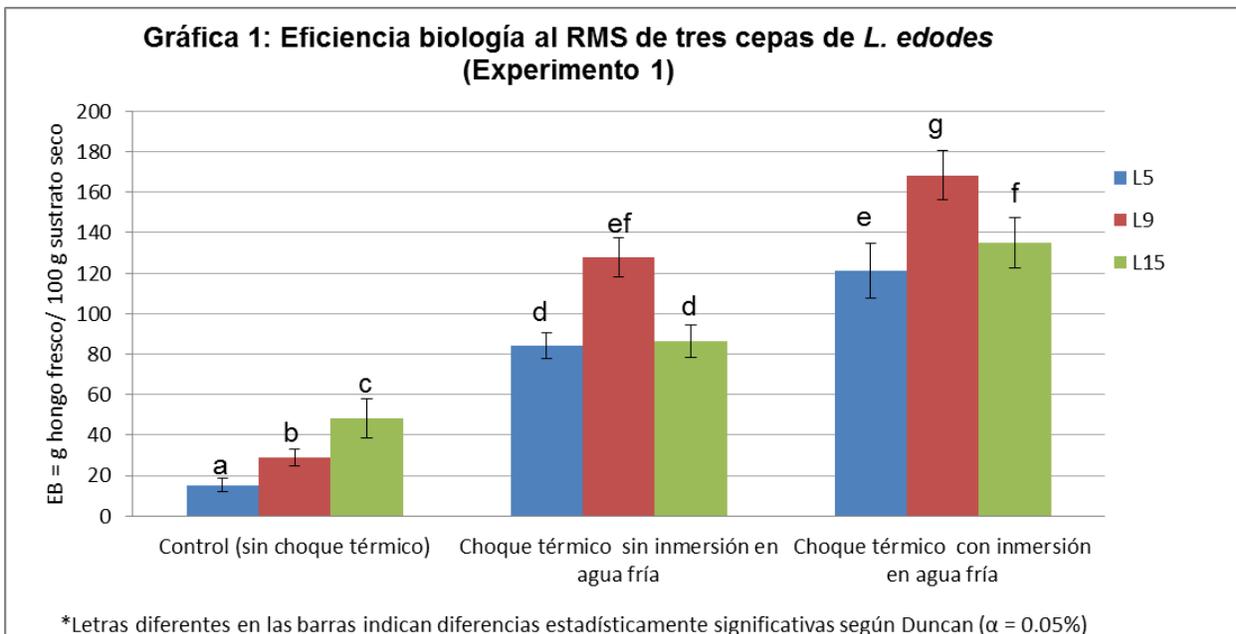
Semana de corte	Control (sin choque térmico)			Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas					
				Sin inmersión en agua fría			Con inmersión en agua fría		
	L5	L9	L15	L5	L9	L15	L5	L9	L15
1	4.8 ± 5.8	10.7 ± 5.5	24.4 ± 19.3	13.8 ± 7.7	19.3 ± 1.9	17.6 ± 7.4	26.7 ± 8.0	63.3 ± 15.5	46.3 ± 7.8
2	4.8 ± 5.8	12.6 ± 4.9	24.4 ± 19.3	26.4 ± 7.8	41.9 ± 5.0	34.8 ± 7.4	59.0 ± 0.8	100.4 ± 12.7	82.2 ± 9.8
3	8.3 ± 5.8	12.6 ± 4.9	31.8 ± 15.1	28.2 ± 8.0	70.9 ± 7.4	48.5 ± 9.3	62.5 ± 3.3	117.7 ± 11.4	89.5 ± 11.0
4	8.3 ± 5.8	19.2 ± 8.8	36.9 ± 9.1	42.4 ± 11.2	73.7 ± 4.0	53.0 ± 8.3	89.1 ± 0.8	131.3 ± 12.4	100.3 ± 11.0
5	8.3 ± 5.8	21.8 ± 8.2	39.6 ± 12.0	52.0 ± 7.8	86.7 ± 12.0	62.5 ± 6.1	90.3 ± 1.5	149.8 ± 16.3	113.9 ± 12.7
6	15.3 ± 3.5	22.5 ± 8.2	48.0 ± 9.7	61.5 ± 12.8	99.6 ± 7.2	67.7 ± 8.8	92.3 ± 1.4	156.1 ± 11.6	118.0 ± 12.8
7	15.3 ± 3.5	29.0 ± 4.0	50.3 ± 9.8	73.0 ± 5.0	107.7 ± 11.8	72.9 ± 6.9	93.0 ± 1.2	156.9 ± 11.4	118.6 ± 12.4
8	15.3 ± 3.5	29.0 ± 4.0	50.3 ± 9.8	75.0 ± 5.9	109.9 ± 9.4	74.3 ± 7.2	96.2 ± 6.1	157.0 ± 11.4	118.7 ± 12.4
9	15.3 ± 3.5	30.6 ± 5.8	50.3 ± 9.8	76.6 ± 6.0	119.0 ± 13.3	77.4 ± 8.8	105.2 ± 7.8	164.4 ± 12.2	125.9 ± 12.9
10	15.3 ± 3.5	32.4 ± 4.7	50.7 ± 9.3	77.5 ± 6.6	121.7 ± 12.2	79.1 ± 7.5	108.6 ± 7.8	166.6 ± 12.4	128.1 ± 12.3
11	15.3 ± 3.5	32.4 ± 4.7	51.3 ± 8.9	81.5 ± 6.6	125.5 ± 11.3	83.3 ± 6.5	112.8 ± 5.4	168.3 ± 12.2	129.4 ± 14.4
12	15.3 ± 3.5	32.4 ± 4.7	51.9 ± 9.1	84.2 ± 6.5	127.9 ± 9.8	86.4 ± 8.9	121.0 ± 13.5	172.6 ± 14.3	135.2 ± 12.4
13				88.2 ± 7.6	131.3 ± 10.8	88.4 ± 7.9			
14				89.7 ± 6.5	134.6 ± 12.0	90.9 ± 8.1			

Los valores sombreados corresponden a la semana donde se alcanzó el RMS.

Tabla 5: Eficiencia biológica al RMS de 3 cepas de *L. edodes* sometidas a 3 tratamientos de inducción para la fructificación.

Cepa	Control Sin choque térmico	Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas	
		Sin inmersión en agua fría	Con inmersión en agua fría
L5	15.3 ± 3.5 a	84.2 ± 6.5 d	<b>121.0 ± 13.5 e</b>
L9	29.0 ± 4.0 b	127.9 ± 9.8 ef	<b>168.3 ± 12.2 g</b>
L15	48.0 ± 9.7 c	86.4 ± 8.9 d	<b>135.2 ± 12.4 f</b>

\* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la interacción cepa x tratamiento



## **6.2 Experimento 2**

Con los resultados del primer experimento, y debido a que la refrigeración es un proceso costoso para su aplicación a escala industrial, se planteó evaluar el efecto de sumergir los sustratos en agua a temperatura ambiente durante 48 horas y compararla con los dos tratamientos de inducción de la fructificación en cuarto frío (con y sin inmersión en agua fría), para determinar si el incremento en la producción de hongos justifica el uso de temperaturas bajas para inducir la fructificación de shiitake a mayor escala.

Por otro lado con base en los resultados del primer experimento se determinó que los tratamientos de inducción para la fructificación deberían realizarse en periodos de tiempo igualmente espaciados. Por ello en este experimento los tratamientos de inducción para la fructificación se realizaron, la primera vez al final del período de incubación y posteriormente cada 3 semanas durante la etapa de fructificación (cuatro ocasiones en total).

### **6.2.1 Preparación de sustratos**

Para preparar el sustrato se determinó la humedad que presentaba cada material (aserrín, cascarilla de algodón, mijo y sorgo) y por otro lado se determinó la capacidad de hidratación de cada material. En la tabla 6 se presentan los valores promedio de humedad, capacidad de hidratación y base seca para cada componente.

Con los valores de la capacidad de hidratación de cada material (Tabla 6) y la composición del sustrato (Tabla 1), se procedió a realizar los cálculos de la cantidad de

cada material y el volumen de agua necesario para obtener una humedad final del 60% aproximadamente.

Tabla 6: Evaluación de la humedad y capacidad de hidratación de los componentes principales del sustrato.

Materiales	Humedad (%)	Capacidad de hidratación (%)
Aserrín de encino	35.23± 0.86	40.46 ± 0.92
Cascarilla de algodón	8.95± 0.53	65.35±0.85
Mijo	6.85± 0.12	40.37±4.20
Sorgo	7.53± 0.55	47.62±0.96

### 6.2.1.1 Cálculos para determinar las cantidades necesarias de cada componente

El aserrín de encino representa un 50% de la formulación del sustrato. Si cada bolsa de sustrato pesa 1500 g, de acuerdo a la formulación el 50% corresponde a 750 g de aserrín húmedo. La capacidad de hidratación del aserrín fue de 40.46% y la base seca corresponde a 59.54%. Al multiplicar el valor de la base seca por la cantidad de aserrín húmedo necesario para cada bolsa de sustrato, se obtiene la cantidad de aserrín seco que se debe utilizar para preparar cada bolsa de sustrato ( $750 \text{ g} \times 0.5954 = 446.5 \text{ g}$  de aserrín seco). Para calcular la cantidad de agua necesaria se le restan a los 750 g de aserrín húmedo la cantidad de aserrín seco ( $750 - 446.55 = 303.45 \text{ g}$  de agua). Como la densidad del agua es cercana a 1, los gramos de agua serán considerados como ml de agua.

Para el segundo experimento fue necesario preparar 90 bolsas con 1.5 Kg de sustrato para cada bolsa. Para su preparación se realizaron 3 lotes de 30 bolsas y para cada lote se necesitaron 13.395 Kg de aserrín seco ( $446.5\text{g} \times 30 = 13,395 \text{ Kg}$  de aserrín seco) y 9103.5 ml de agua ( $303.45 \text{ ml de agua} \times 30 = 9103.5 \text{ ml de agua}$ ).

Los cálculos para la cascarilla de algodón, mijo y sorgo se realizaron de la misma forma. El sorgo molido no se hidrató previamente, pero al momento de preparar el sustrato con los otros materiales previamente humedecidos se adicionó el sorgo molido en seco y la cantidad de agua calculada para su hidratación.

Para el benlate, ácido cítrico y sulfato de amonio, se calculó la cantidad necesaria considerando el peso total de la bolsa de 1500 g y el porcentaje en base seca de cada componente y con ese valor se calculó la cantidad de cada componente en seco para las 30 bolsas de sustrato de cada lote. En la tabla 7 se presentan las cantidades necesarias de cada componente para una bolsa de sustrato y para un lote que corresponde a 30 bolsas de sustrato, así como la cantidad de agua necesaria para la hidratación de cada componente.

Tabla 7: Cantidades necesaria de cada componente del sustrato y agua adicionada para su previa hidratación por lote (30 bolsas con 1500 g de sustrato)

Componentes del sustrato	Composición del sustrato		Bolsa (1500 g)		Lote (30 bolsas de 1500 g)		
	Cantidad %	Peso húmedo (g)	Peso de cada material (g)	Agua adicionada (ml)	Peso de cada material (g)	Agua adicionada (ml)	Peso total
Aserrín	50	750	446.55	303.45	13396.5	9103.5	22500
Cascarilla de algodón	36	540	187.11	352.89	5613.3	10586.7	16200
Mijo	6	90	53.67	36.33	1610.01	1089.99	2700
Sorgo molido	6	90	47.14	42.86	1414.26	1285.74	2700
Sulfato de amonio	0.5	7.5	7.50*	-	225		225
Ácido cítrico	0.5	7.5	7.50*	-	225		225
Benlate	1	15	15.00*	-	450		450
Total	100	1500	764.47	735.53	22934.07	22065.93	45000

En la tabla 8 se presenta la cantidad de cada componente necesaria para preparar una bolsa con 1500 g de sustrato. Además se presenta la cantidad de agua que aporta cada componente y se observa que la humedad teórica del sustrato fue del 61%.

Tabla 8: Aporte de agua de cada componente y humedad teórica del sustrato.

Componentes	Peso de cada material (g)	Peso de cada material en base seca (g)	Aporte de agua (g)
Aserrín de encino	446.55	289.23	157.32
Cascarilla de algodón	187.11	170.36	16.75
Mijo	53.67	49.99	3.68
Sorgo	47.14	43.59	3.55
Sulfato de amonio	7.50	7.50	
Ácido cítrico	7.50	7.50	
Benlate	15.00	15.00	
Agua añadida	735.53		735.53
Total	1,500	583.17	916.83
%	100.00	38.878	61.12

Para cada lote se tomaron muestras para determinar la humedad del sustrato antes y después de esterilizar para conocer el valor promedio de la humedad final de los sustratos, este paso es importante, debido que se necesitan los valores del sustrato seco para la determinación de la eficiencia biológica (g hongos fresco /100g de sustrato seco).

En la tabla 9 se presentan los resultados de humedad promedio de cada lote antes y después de la esterilización. Todos los lotes presentaron una humedad aceptable dentro del rango 59 a 61%.

Tabla 9: Humedad de los sustratos en los 3 lotes antes y después de su esterilización.

Lotes	Humedad del sustrato (%)	
	Antes de esterilizar	Después de esterilizar
1	64.78 ± 0.90	59.62 ± 0.98
2	65.12 ± 2.16	60.71 ± 1.04
3	64.55 ± 1.30	58.93 ± 2.11

### 6.2.2 Resultados de eficiencia biológica

En la tabla 10 se presentan los valores de eficiencia biológica semanal de las cepas L5, L9 y L15 en los tres tratamientos de inducción para la fructificación. Con los valores obtenidos de la eficiencia biológica semanal, se calculó la eficiencia biológica semanal acumulada. Para cada cepa en cada tratamiento se realizó un análisis de varianza, tomando como variables: semana de corte y replicas (Anexo 2, Tabla: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17). Como resultado se observaron diferencias altamente significativas en las

EB obtenidas en las diferentes semanas de corte, por ello se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan, para determinar en qué semana se obtuvo el rendimiento máximo significativo (RMS) para cada cepa, en cada tratamiento (Anexo 2 Tabla: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18). En la tabla 11 se presenta la eficiencia biológica semanal acumulada de las cepas L5, L9 y L15 en las tres condiciones de inducción para la fructificación. Los valores sombreados corresponden a la semana donde se alcanzó el RMS.

Para el tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente, el RMS para las cepas L5 y L15 se alcanzó en la 8va semana, con valores de 104.9% y 101.7% respectivamente y para la cepa L9 el RMS se obtuvo en la 10ma semana (EB 116.6%).

Para el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua, la cepa L5 alcanzó el RMS a la 9na semana (EB 139.9%), mientras que las cepas L9 y L15 alcanzaron el RMS a la semana 12, con valores de 133.8% y 131.9%, respectivamente.

Para el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, la cepa L5 y L15 alcanzaron el RMS a la semana 9, con valores de 106.8% y 117.3%, respectivamente, mientras la cepa L9 obtuvo su RMS a la 5ta semana (91.5%).

Después de determinar el RMS para cada cepa en cada tratamiento se realizó un segundo análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para determinar las condiciones en donde la producción de hongos fue mayor. Considerando como variables: tratamientos, cepas e interacción: cepas x tratamientos (Anexo 2: Tabla 19). Como

resultado del análisis de varianza se observaron diferencias altamente significativas para las variables: tratamientos, cepas y la interacción (cepas x tratamiento). Como la interacción cepas x tratamiento presentó una diferencia altamente significativa, esto nos indica que las variables cepas y tratamientos no se comportaron como independientes, razón por la cual no se deben interpretar por separado.

Para interpretar la interacción: cepas x tratamientos se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan para las 9 condiciones de la interacción (3 cepas y 3 tratamientos). Como resultado las 9 condiciones fueron clasificadas en 4 grupos estadísticamente diferentes (Anexo 2, Tabla 20). En la tabla 12 y gráfica 2, se presenta la clasificación de las EB de las 9 condiciones según la prueba de Duncan.

La cepa L5 presentó un rendimiento de 104.9% con el tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente, que al compararlo con el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, no existe diferencia significativa. Sin embargo, con el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua se obtuvo el mayor rendimiento para esta cepa con valor de 139.9%.

La cepa L9 presentó una EB de 116.6% con el tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente y ésta fue superior al tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría, que fue de tan sólo 91.5%. El tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua, presentó el mayor rendimiento para esta cepa (EB 133.8%).

La cepa L15 también presentó un comportamiento semejante produciendo EB semejantes entre el tratamiento control (con inmersión en agua a temperatura ambiente) y el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, con inmersión en agua fría (EB  $101.7 \pm 9.5$  y  $117.3 \pm 13.6$ , respectivamente). De nuevo el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas, sin inmersión en agua fue el que presentó el mayor rendimiento (EB 131.9%).

Los tres tratamientos evaluados en el segundo experimento produjeron rendimientos mayores a los obtenidos en el tratamiento control, evaluado en el primer experimento para las tres cepas de *L. edodes*.

Tabla 10: Eficiencia biológica semanal de 3 cepas de *Lentinula edodes* sometidas a 3 tratamientos de inducción para la fructificación (Experimento 2.)

Eficiencia Biológica Semanal (g hongos frescos/ 100 g sustrato seco)									
Semana de corte	Inmersión en agua a temperatura ambiente			Choque térmico en cuarto frío					
				Sin inmersión en agua fría			Con inmersión en agua fría		
	L5	L9	L15	L5	L9	L15	L5	L9	L15
1	51.3 ± 27.5	6.8 ± 13.4	60.9 ± 11.5	84.2 ± 11.2	74.9 ± 17.7	81.2 ± 18.2	71.0 ± 8.5	44.8 ± 25.4	75.7 ± 10.7
2	22.2 ± 18.0	66.25 ± 22.5	6.3 ± 6.6	5.6 ± 5.1	6.5 ± 15.2	5.8 ± 9.9	7.5 ± 7.9	23.1 ± 25.0	8.8 ± 7.2
3	6.2 ± 7.5	5.6 ± 9.5	15.7 ± 10.5	17.4 ± 10.9	25.6 ± 7.3	18.4 ± 12.1	8.7 ± 11.1	12.5 ± 6.7	12.5 ± 9.5
4	7.0 ± 6.4	7.0 ± 5.8	2.9 ± 4.6	17.4 ± 5.9	1.5 ± 4.2	4.1 ± 5.4	6.0 ± 6.2	0.4 ± 0.7	5.6 ± 9.5
5	1.3 ± 3.2	11.3 ± 7.0	0.5 ± 1.3	10.0 ± 7.6	2.3 ± 3.5	1.9 ± 3.3	5.2 ± 8.5	10.6 ± 6.8	8.8 ± 7.2
6	12.5 ± 11.8	7.3 ± 8.8	11.0 ± 8.8	0 ± 0	1.7 ± 2.5	3.2 ± 4.0	1.5 ± 3.0	1.8 ± 3.3	0.9 ± 2.3
7	1.2 ± 1.9	2.0 ± 3.0	0.3 ± 0.6	1.6 ± 3.4	2.6 ± 2.9	1.5 ± 2.0	2.3 ± 3.8	1.0 ± 1.9	1.2 ± 3.0
8	3.3 ± 4.3	3.7 ± 5.0	4.1 ± 10.0	1.8 ± 3.4	3.8 ± 4.0	0 ± 0	3.9 ± 4.9	0.3 ± 0.7	0.6 ± 0.9
9	0.3 ± 0.8	1.3 ± 2.5	0 ± 0	1.8 ± 2.6	3.8 ± 2.8	4.1 ± 3.7	0.6 ± 1.3	0 ± 0	3.1 ± 4.7
10	2.9 ± 3.1	5.6 ± 4.0	2.4 ± 2.4	4.1 ± 3.9	2.4 ± 3.0	2.5 ± 3.3	3.4 ± 3.7	2.0 ± 1.7	4.4 ± 4.5
11	2.4 ± 3.0	2.4 ± 1.9	2.4 ± 2.8	0.7 ± 0.9	2.1 ± 2.0	1.9 ± 1.4	1.7 ± 2.6	0.3 ± 0.7	0 ± 0
12	0.9 ± 1.3	1.3 ± 1.7	0.5 ± 0.8	2.5 ± 4.1	6.5 ± 4.3	7.3 ± 4.3	0.1 ± 0.3	0 ± 0	1.3 ± 2.1

Tabla 11: Eficiencia biológica semanal acumulada de 3 cepas de *Lentinula edodes* sometidas a 3 tratamientos de inducción para la fructificación (Experimento 2.)

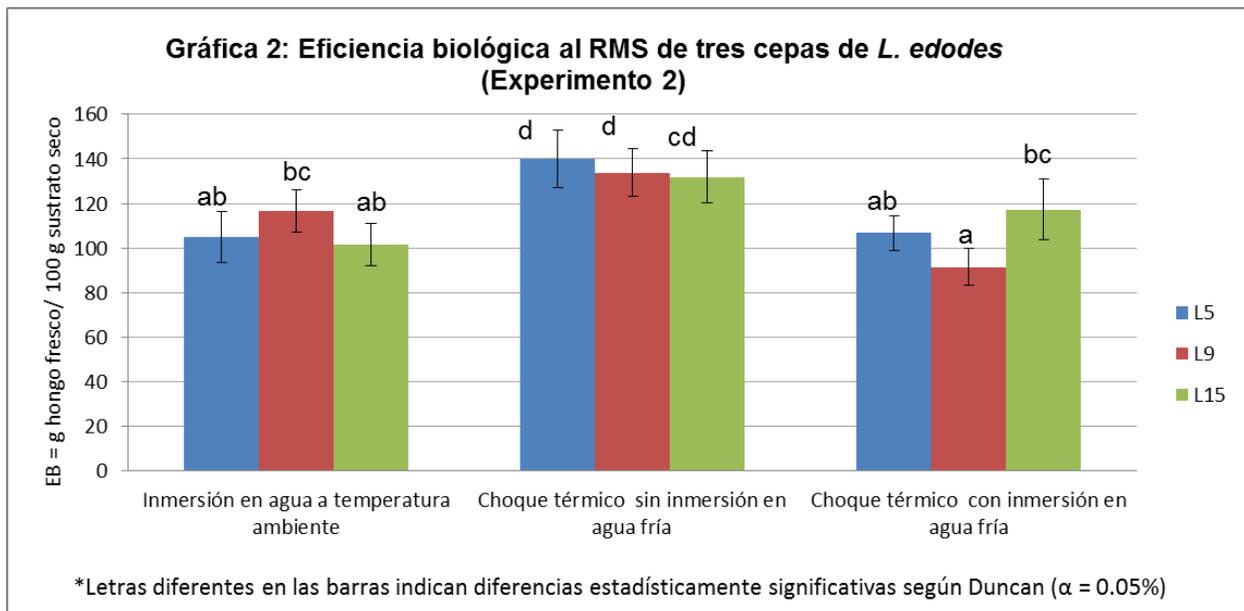
Eficiencia Biológica Semanal (g hongos frescos/ 100 g sustrato seco)									
Semana de corte	Inmersión en agua a temperatura ambiente			Choque térmico en cuarto frío					
				Sin inmersión en agua fría			Con inmersión en agua fría		
	L5	L9	L15	L5	L9	L15	L5	L9	L15
1	51.3 ± 27.5	6.8 ± 13.4	60.9 ± 11.5	84.2 ± 11.2	74.9 ± 17.7	81.2 ± 18.2	71.0 ± 8.5	44.8 ± 25.4	75.7 ± 10.7
2	73.4 ± 12.5	73.0 ± 13.9	67.1 ± 11.5	89.8 ± 12.2	81.5 ± 4.1	87.0 ± 18.3	78.5 ± 10.3	67.9 ± 7.5	84.4 ± 10.0
3	79.6 ± 12.9	78.6 ± 8.2	82.9 ± 11.6	107.2 ± 11.3	107.0 ± 9.0	105.4 ± 10.9	87.3 ± 4.2	80.4 ± 9.4	97.0 ± 10.5
4	86.6 ± 11.9	85.5 ± 9.2	85.8 ± 9.9	124.7 ± 18.5	108.5 ± 8.2	109.5 ± 11.8	93.3 ± 7.4	80.9 ± 8.9	102.6 ± 14.1
5	87.9 ± 12.7	96.9 ± 9.8	86.3 ± 9.0	134.7 ± 15.0	110.8 ± 6.4	111.4 ± 11.6	98.5 ± 6.7	91.5 ± 8.4	111.4 ± 11.6
6	100.4 ± 14.0	104.2 ± 12.0	97.4 ± 6.7	134.7 ± 15.0	112.6 ± 6.6	114.6 ± 10.9	100.0 ± 5.3	93.3 ± 8.4	112.4 ± 11.0
7	101.6 ± 12.9	106.1 ± 11.3	97.6 ± 6.3	136.2 ± 14.8	115.2 ± 6.5	116.1 ± 10.0	102.3 ± 6.7	94.3 ± 7.5	113.6 ± 12.0
8	104.9 ± 11.6	109.8 ± 8.9	101.7 ± 9.5	138.1 ± 12.8	119.0 ± 8.5	116.1 ± 10.0	106.2 ± 7.4	94.6 ± 7.5	114.2 ± 11.2
9	105.2 ± 11.6	111.1 ± 9.8	101.7 ± 9.5	139.9 ± 13.0	122.8 ± 7.6	120.2 ± 9.9	106.8 ± 7.7	94.6 ± 7.5	117.3 ± 13.6
10	108.1 ± 11.0	116.6 ± 9.6	104.1 ± 7.7	144.0 ± 13.7	125.2 ± 8.1	122.7 ± 8.4	110.2 ± 8.8	96.6 ± 7.8	121.7 ± 12.3
11	111.1 ± 11.3	119.0 ± 8.4	106.5 ± 6.6	144.7 ± 13.8	127.3 ± 8.4	124.6 ± 8.6	111.8 ± 8.7	96.9 ± 8.1	121.7 ± 12.7
12	111.9 ± 11.4	120.3 ± 9.0	107.0 ± 6.1	147.2 ± 13.6	133.8 ± 10.9	131.9 ± 11.6	111.9 ± 8.8	96.9 ± 8.1	123.0 ± 12.0

Los valores sombreados corresponden a la semana donde se alcanzó el RMS.

Tabla 12: Eficiencia biológica al RMS de 3 cepas de *L. edodes* sometidas a 3 tratamientos de inducción para la fructificación (Experimento 2)

Cepas	Inmersión en agua a temperatura ambiente	Choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas	
		Sin inmersión en agua fría	Con inmersión en agua fría
L5	104.9±11.6 ab	<b>139.9 ± 13.0 d</b>	106.8 ± 7.7 ab
L9	116.6 ± 9.6 bc	<b>133.8 ± 10.9 d</b>	91.5 ± 8.4 a
L15	101.7 ± 9.5 ab	<b>131.9 ± 11.6 cd</b>	117.3 ± 13.6 bc

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la interacción cepas x tratamiento de inducción para la fructificación.



### **6.3 Interpretación estadística de resultados obtenidos en los dos experimentos**

Con el objeto de observar si los resultados obtenidos en los dos experimentos realizados pueden ser interpretados de manera conjunta, se realizó un análisis de varianza de tipo factorial aleatorio (anexo 2, tabla 21), para las variables, experimentos, cepas, tratamientos de inducción para la fructificación y las interacciones: experimento x cepa, experimento x tratamiento, cepa x tratamiento y experimento x cepa x tratamiento; con los valores del RMS. Como resultado del análisis de varianza, se observó que para las variables experimento y triple interacción (experimento x cepa x tratamiento), no existe diferencia significativa entre el experimento 1 y 2, por tanto se pueden interpretar los resultados de ambos experimentos de manera conjunta. También se observó que existe diferencia altamente significativa para las variables; cepas, tratamientos y las interacciones: experimentos x cepas, experimentos x tratamientos y cepa x tratamiento. Como se encontró diferencia altamente significativa en las interacciones dobles, no se debe interpretar el efecto de las variables de manera independiente. Por ello se realizó la prueba Duncan para las interacciones dobles para identificar las condiciones que produjeron los mayores rendimientos en cada caso.

En la tabla 13, se presenta la prueba de rango múltiple, para la interacción experimento x cepa, y se observó que existe diferencia significativa para la cepa L5 obteniendo mayores rendimientos en el segundo experimento. Para las cepas L9 y L 15 no existe diferencia significativa entre experimento 1 y 2.

En el experimento 1 los sustratos fueron sometidos entre 2 y 3 veces al tratamiento de inducción para la fructificación, mientras que en el experimento 2 los sustratos fueron

sometidos 4 veces al tratamiento de inducción (cada 3 semanas). Es muy probable que el tratamiento de inducción realizado en este caso a intervalos regulares de tiempo fuera un factor que favoreció la mayor producción de hongos para la cepa L5. Mientras que las cepas L9 y L 15 no fue influenciada por esta variación en los tratamientos de inducción para la fructificación.

Tabla 13: Pruebas de rango múltiple para la interacción experimento x cepa

Experimento	Cepa		
	L5	L9	L15
1	74.1± 44.6 a	120.0 ± 57.3 b	99.3 ± 36.7 b
2	118.7± 19.7 b	115.8 ± 19.6 b	117.8 ± 16.9 b

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en los valores de EB al RMS de las 3 cepas en los 2 experimentos.

En la tabla 14, se presenta la prueba de rango múltiple, para la interacción de las variables experimento x tratamiento. Como se puede observar el mismo tratamiento de inducción para la fructificación presentó un comportamiento totalmente diferente en ambos experimentos. Así para el choque térmico sin inmersión en agua fría, el mayor rendimiento se obtuvo en el segundo experimento (135.5%) y el menor rendimiento en el primer experimento (100.2%), mientras que, para el tratamiento de choque térmico con inmersión en agua fría, se obtuvo mayor rendimiento en el primer experimento (144.7%) y menor en el segundo experimento (104.8%).

Estos resultados nos indican que para el tratamiento de choque térmico sin inmersión en agua fría, fue más recomendable someter el sustrato al choque térmico mayor

número de veces en tiempos igualmente espaciados. Sin embargo, en el tratamiento de choque térmico con inmersión en agua fría es mejor que los sustratos sólo sean sumergidos en agua menor número de veces a intervalos de tiempo más espaciados.

Tabla 14: Pruebas de rango múltiple para la interacción de las variables experimento x tratamiento de inducción para la fructificación

Experimento	Tratamiento de inducción para la fructificación			
	Control	Choque térmico		Inmersión en agua a temperatura ambiente
		Sin inmersión en agua fría	Con inmersión en agua fría	
1	29.8 ±14.7 a	100.2 ± 22.6 b	144.7 ± 23.2 c	ND
2	ND	135.5 ± 11.9 c	104.8 ± 13.8 b	109.0 ± 11.8 b

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción experimento x tratamiento. ND: No determinado.

En la tabla 15 y grafica 3, se presenta la prueba de rango múltiple para la interacción cepa x tratamiento.

Para la cepa L5 el tratamiento control produjo la menor EB al RMS (15%) y el resto de los tratamientos presentaron un incremento substancial (105 a 115%) de casi 7 veces con respecto al tratamiento control, sin embargo entre ellos no hubo diferencia significativa.

Para la cepa L9 nuevamente el tratamiento control produjo la menor EB al RMS (29%), se observó un incremento de casi 5 veces (116 a 137%) con cualquiera de los 3

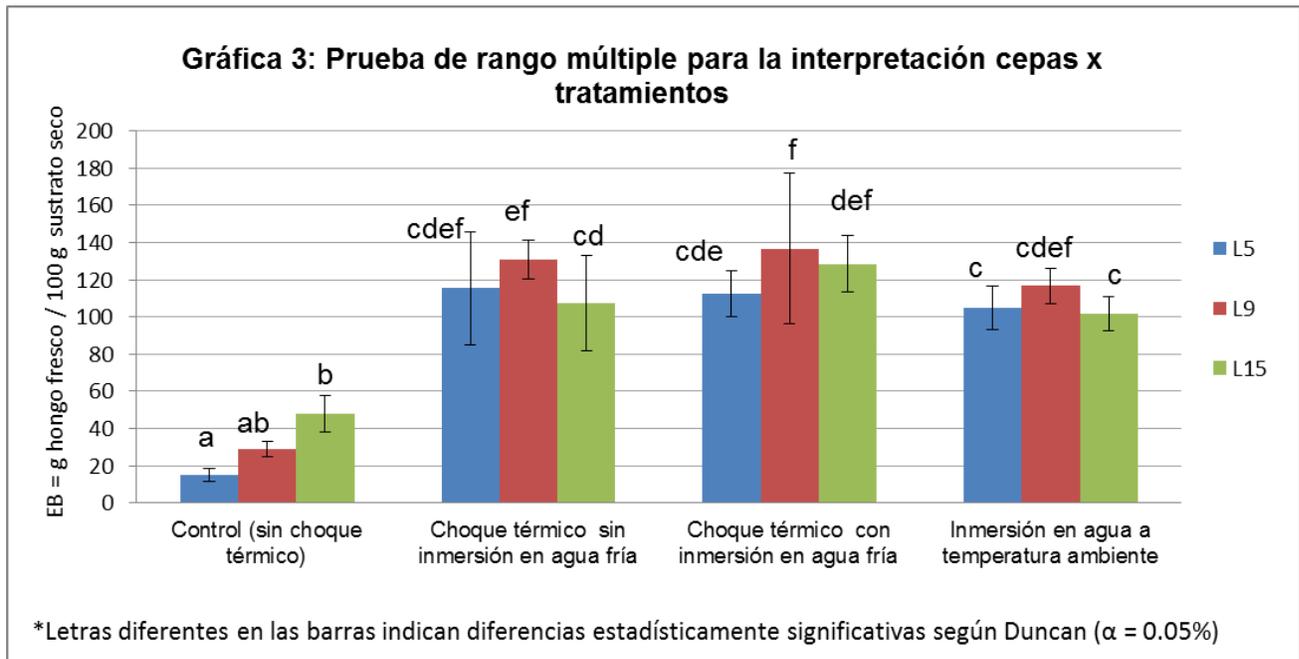
tratamientos de inducción para la fructificación y no hubo diferencia significativa entre estos.

Para la cepa L15 también se observó que el tratamiento control presentó la menor EB al RMS (48%) y hubo un incremento significativo al utilizar los tratamientos de choque térmico en cuarto frío, sin inmersión en agua fría y el tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente (102 a 107%). En este caso el tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría fue el que presentó la mayor EB al RMS (128%).

Tabla 15: Prueba de rango múltiple para la interpretación cepa x tratamiento.

Cepas	Tratamiento de inducción para la fructificación			
	Control	Choque térmico		Inmersión en agua a temperatura ambiente
		Sin inmersión en agua fría	Con inmersión en agua fría	
L5	15.3 ± 3.5 a	<b>115.5 ± 30.3 cdef</b>	112.5 ± 12.3 cde	104.9 ± 11.6 c
L9	29.0 ± 4.0 ab	<b>131.0 ± 10.5 ef</b>	<b>136.7 ± 40.4 f</b>	<b>116.6 ± 9.6 cdef</b>
L15	48.0 ± 9.7 b	107.6 ± 25.5 cd	<b>128.5 ± 15.3 def</b>	101.7 ± 9.5 c

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción cepa x tratamiento.



## 7. Discusión

En la literatura existe muy pocos reportes que evalúen el efecto de sumergir los sustratos en agua para promover su fructificación e incrementar los rendimientos en la producción de *Lentinula edodes*. Los reportes indican ciertas controversias de la necesidad de sumergir los sustratos en agua fría o agua a temperatura ambiente, para aumentar la producción del hongo.

Royse (1997) recomienda periodos de 3 a 4 horas a 12°C; Stamets (1993) indica que una buena fructificación es promovida por largos periodos de remojo del sustrato (24 a 48 horas), Rinker (1991) indica que es necesario sumergir los sustratos en agua (12 horas) para inducir la formación de hongos. La página electrónica <http://shiitake.com.co/> sugiere que para obtener una producción homogénea es preciso someter el sustrato a un cambio de temperatura. Para ello proponen bajar la temperatura por lo menos 10°C, colocando las bolsas con sustrato invadido por el hongo en un refrigerador durante 24 horas, a una temperatura entre 4 y 8°C. Sobal *et al.* (2010) mencionan que el método moderno para inducir la fructificación durante el cultivo intensivo de shiitake debe incluir una etapa de estimulación térmica, es decir sumergir el sustrato colonizado y pigmentado (60 – 90 días) en agua fría durante 24 horas. En Perú, Henna y Rojas (2010) mencionan que después de 3 meses de incubación del sustrato para el cultivo de shiitake, se procede a inducir la fructificación por medio de inmersión en agua por 24 horas. Así observamos que diversos autores sugieren la inmersión de los sustratos en agua a temperatura ambiente o fría como una etapa previa para la obtención de los

cuerpos fructíferos de shiitake. Sin embargo, no existen reportes que demuestren el incremento en la EB por el hecho de sumergir los sustratos en agua fría, o en agua a temperatura ambiente.

Considerando los tratamientos que sugiere la bibliografía para promover la fructificación en este estudio se evaluó el efecto del choque térmico a baja temperatura y el incremento de la humedad del sustrato por inmersión en agua a temperatura ambiente y fría.

En experimentos previos realizados en el laboratorio, el trabajo de Mireles Palomares y López García (2005), evaluó la producción de shiitake en sustratos de aserrín con suplementos. Como resultados reportaron una eficiencia biológica acumulada al rendimiento máximo significativo de 35.5% para la cepa L5 de en un sustrato con 60% de aserrín, incubado por 10 semanas y sin someter el sustrato a ningún tratamiento de inducción para la fructificación. Con la cepa L9 se obtuvo una EB de 77.5% en un sustrato con 50% de aserrín; y su EB bajo a 48.1% en un sustrato con 60% de aserrín. Esos valores de EB son inferiores a los obtenidos en esta investigación en el tratamiento control, donde el sustrato no fue sometido a ningún tratamiento de inducción para la fructificación.

Por otro lado Ayala Piña (2008) utilizó el sustrato más productivo reportado por Mireles Palomares y López García (2005) y evaluó el uso de cepas que no habían sido sometidas a resiembras sucesivas. Como resultado obtuvo una EB para la cepa L5 de 90.4% y para la cepa L9 de 114.1%. Estos valores fueron superados por los tratamientos de inducción para la fructificación evaluados en este trabajo. Así para la

cepa L5 se obtuvieron EB de 104.9 a 114.3% y para la cepa L9 las EB fueron de 116.6 a 136.7%.

El trabajo de Sánchez Marín (2010) evaluó el efecto de diferentes sustratos sobre la producción de shiitake. Las mayores EB que reportó para la cepa L5 fluctuaron entre 48 y 79.4% y para la cepa L9 entre 66 y 101%. Nuevamente los tres tratamientos de inducción para la fructificación evaluados en el presente estudio produjeron mayores EB con las dos cepas evaluadas (104.9 a 114.3% para la cepa L5 y 116.6 a 136.7% para la cepa L9).

Sólo al comparar con el trabajo de Ramírez Carrillo y Leal Lara (2002) nuestros valores de EB al RMS fueron significativamente menores a los de dicho reporte. Ellos obtuvieron para la cepa L5 una EB de 143.9% y para la cepa L9 de 261.3% al tercer brote. Sin embargo, en ese reporte se utilizó un sustrato donado por una empresa comercial, donde se desconocía la composición del sustrato utilizado.

Por otro lado, Royse (2002) determinó los efectos de sumergir sustratos sintéticos bajo dos condiciones. En el primer caso sólo sumergió los sustratos en agua fría (13°C) hasta que recuperaban su peso original de 2.5 kg (3 a 4 horas en el primer remojo, 8 a 16 horas en el segundo y 14 a 24 horas el tercer remojo). Para la segunda condición, colocó los sustratos en un recipiente de metal, adicionó agua casi hasta cubrirlos y con una bomba de vacío eliminó parcialmente el aire del contenedor (con presiones de vacío de 16 y 22 ml de Hg) por periodos de 60 y 80 segundos, tiempo en el cual los sustratos recuperaron su peso original de 2.5 kg. Como resultados reportaron para el tratamiento de inmersión de los sustratos en agua una producción promedio de 456 g

de hongos frescos/bolsa de sustrato y para el tratamiento de inmersión en agua con vacío, de 580 g de hongos frescos/bolsa de sustrato y en cada caso obtuvieron 3 cosechas. Si consideramos que cada bolsa de sustrato pesó 2.5 Kg y presentó una humedad del 59%, el peso seco de cada bolsa corresponde a 1025 g, y las EB fueron de 133.5 y 169.8%. Comparando el valor de EB de 133.5% de los sustratos que fueron solamente sumergidos en agua fría (13°C), con nuestros valores al considerar los dos experimentos, obtuvimos EB en el tratamiento de choque térmico con inmersión en agua fría de 112.5 a 136.7%, valor muy semejantes en ambos casos.

Por otro lado en el primer experimento el tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría produjo una EB de 168.3% (cepa L9), valor semejante a cuando Royse empleó vacío (169.8%) siendo este tratamiento más accesible para su aplicación a escala comercial en nuestro país que el uso de vacío.

Estos resultados nos indican que en este caso para el tratamiento de choque térmico con inmersión en agua fría se debe recomendar que los sustratos sólo sean sumergidos en agua menor número de veces a intervalos de tiempo más espaciados.

Como resultados de este trabajo, los rendimientos con cualquiera de los tres tratamientos para inducir la fructificación dieron EB mayores a 100%, siendo muy aceptables. El tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente, vale la pena considerarlo, debido a que este tratamiento es de más bajo costo, que los tratamientos que llevan bajas temperaturas, y el rendimiento obtenido con la cepa L9 fue de los más altos 116.6%.

Los tratamientos de choque térmico con y sin inmersión en agua, así como sólo la inmersión en agua a temperatura ambiente fueron condiciones extremas a las que el micelio respondió para cambiar de la fase vegetativa a la fase generativa, dando como resultado una mayor producción de cuerpos fructíferos en menor tiempo que el sustrato control que no fue expuesto a tales condiciones.

## 8. Conclusiones

- El tratamiento control para inducir la fructificación, fue en donde se obtuvieron los menores rendimientos de EB (15 a 48%)
- El reducir la temperatura e incrementar la humedad produjo un aumento significativo en los rendimientos.
- Los tres tratamientos de inducción para la fructificación (choque térmico con inmersión en agua fría y sin inmersión en agua fría, así como el tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente) produjeron incrementos significativos en los rendimientos con respecto al tratamiento control.
- La cepa L9 presentó las mayores EB al RMS con los tratamientos de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas con inmersión en agua fría y con choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas sin inmersión en agua fría (137 y 130%).
- La cepa L15 presentó el mayor rendimiento con el tratamiento de choque térmico en cuarto frío (5°C) por 48 horas con inmersión en agua (128%).
- La cepa L5 obtuvo los mayores rendimientos en cualquiera de los tres tratamientos de inducción para la fructificación (104.9 – 114.3%).
- El tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente, produjo valores de EB por arriba del 100%, los cuales son muy aceptables para su aplicación a mayor escala ya que su uso representará menores costos de producción para los productores.

## 9. Referencias

- Andrade Chavarría, V. L. 2007. Caracterización de dicariontes de cepas con grandes esporóforos del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake). *Tesis Licenciatura*, Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 1 - 9, 12 - 19.
- Ayala Piña, P. 2008. Evaluación de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en 2 tiempos de incubación con cepas almacenadas con resiembras y sin resiembras. *Tesis Licenciatura*, Facultad de Química, UNAM, México, D.F., 6 - 13.
- Chacón, S., G. Guzmán, L. Montoya, V. M. Bandala. 1995. *Guía ilustrada de los hongos del jardín botánico Francisco Clavijero de Xalapa, Veracruz y áreas circunvecinas*. Instituto de Ecología A.C. Xalapa Veracruz, México, 5 - 13.
- Chang, R. 1996. Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition Reviews* 54: S91 - S93.
- Chang, S. T. 1999. Global impact of edible and medicinal mushrooms on human welfare in the 21st century: nongreen revolution. *Int. Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 1 - 7.
- Chang, S. T. 2002. Past and present trends in the production of *Lentinula edodes* in Asia. In: *IV International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. Cuernavaca, México, 1 - 8.

- Chang, S. T., P. G. Miles. 2004. *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, environmental impact*. CRC Press, Boca Raton, 451.
- Chimey, H., H. Rojas. 2010. Los hongos comestibles silvestre y cultivados en Perú en: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP. Puebla. ISBN 970-9752-01-4, 388 - 395.
- Delpechh, P., J. M. Olivier. 1991. Cultivation of shiitake on straw based pasteurized substrates. *Mushroom Science* 12: 523 – 528, 217.
- Kitamoto, Y. 1990. Effects of light on fruit-body development as a basis o fungal cultivation. *In: The IUSM Congress: Bacteriology & Micology*. Osaka, Japan, 269.
- Kwon, H., C. Hobbs. 2005. Nutritional and medicinal values of shiitake. *In: Shiitake Cultivation, Mushroom Growers' Handbook 2*. Mush World Korea, 17 - 27.
- Levanon, D., N. Rothschild, O. Danai, S. Masaphy. 1993. Bulk treatment of substrate for cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) on straw, *Bioresourc Technnol* 45: 63 – 64.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, A. Larqué-Saavedra. 1992. Reconstrucción en la industria de los hongos. *Tecnoindustria* 7: 52 - 59.

- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, P. Morales, M. Sobal, W. Martínez, A. Aguilar. 1993. Los hongos comestibles en México: biotecnología de su reproducción. *Ciencia y Desarrollo (CONACYT)* 108: 41 - 49.
- Martínez-Carrera, D. 2000. Mushroom biotechnology in tropical America. *The International Journal of Mushroom Sciences*, 3: 9 - 20.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué, M. Aliphath, A. Aguilar, M. Bonilla, W. Martínez. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. *II Foro nacional sobre seguridad y soberanía alimentaria. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT, México, D. F.* ISBN 968-7428-11-2, 193 - 207.
- Martínez-Carrera, D. 2002. Current development of mushroom biotechnology in Latin America. *Micología Aplicada Internacional* 14: 61 - 74.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal, P. Morales, W. Martínez, M. Martínez, Y. Mayett. 2004. *Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana El shiitake*. Colegio de Postgraduados, 8 - 23.
- Martínez-Carrera, D., L. López-Martínez de Alva. 2010. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México II: éxitos y fracasos durante el período 1991-2009. En: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Red Latinoamericana de

Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP. Puebla. ISBN 970-9752-01-4, 513 - 551.

- Mata, G., D. Salmones, G. Guzmán. 1990. Cultivo de shiitake Japonés *Lentinula edodes*, en bolsas con viruta de madera. *Revista Mexicana de Micología*. 6: 241 - 255.
- Miles, P. G., S. T. Chang. 1997. *Mushroom biology, concise basics and current development*. World scientific publ., Singapore, 194.
- Mireles Palomares, C., E. López García. 2005. Evaluación de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en sustratos de aserrín con suplementos. *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Química, UNAM, D.F.
- Ng, M. L., A.T. Yap. 2002. Inhibition of human colon carcinoma development by lentinan from shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*). *J. Altern Complement Med.*, 8(5): 581 - 589.
- Oei, P. 2003. *Mushroom cultivation III with special emphasis on appropriate techniques for developing countries*. Backhuys Publishers, Leiden, The lands 378 - 379.
- Pedreros Mosquera, J. C. 2007. Evaluación del crecimiento y producción de *Lentinula edodes* (shiitake), en residuos Agroindustriales. *Tesis Licenciatura*. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., 3 - 24.
- Przybylowiez, P., J. Donoghue. 1990, *Shiitake Growers Handbook.: The art and science of mushroom cultivation*: Kendally / Hunt Publising Company, 217.

- Ramirez-Carrillo, R., H. Leal Lara. 2002. Culture conditions for increasing yields of *Lentinula edodes* In: *IV International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. Cuernavaca, México, 289 - 294.
- Rovalo Flores, J. 2002. Efecto de incubación sobre la producción de hongo shiitake (*Lentinula edodes*). *Tesis Licenciatura*, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F., 8 - 11.
- Royse, D. J. 1985. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of shiitake. *Mushroom Mycology*, 5: 756 – 762.
- Royse, D. J., C. Schisler. 1986. Cultivation of Shiitake on supplemented sawdust. *Shiitake News*, 3 (1): 1 – 4.
- Royse, D. J. 1997. *Specialty mushrooms: Consumption, production and cultivation*. Department of Plant Pathology, Pennsylvania State University USA, 5 - 7.
- Royse, D., J. Sanchez Vázquez. 2001. Influence of substrate Wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield, *Bio resource Technology*, 76: 229 - 233.
- Royse, D. J., T. W. Rhodes, J. E. Sánchez. 2002. Vacuum soaking of wood chip shiitake (*Lentinula edodes*) logs to reduce soak time and log weight variability and to stimulate mushroom yield. In: *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Cuernavaca, México, 295 - 301.
- Royse, D. J., Q. Shen. 2005. Shiitake bag cultivation in the U.S. In: *Mushroom Growers Handbook 2*. Mush World, Korea. 88 - 90.

- Sánchez Marín, E. G. 2010. Evaluación de diferentes sustratos sobre la producción de *Lentinula edodes*. *Tesis Licenciatura*, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. 10 - 12, 51 - 55.
- Sobal, M., P. Morales, M. Bonilla, W. Martínez, F. Galván, D. Sihuana, F. Quiriz, M. Juárez, D. Martínez-Carrera. 2010. Formulaciones para la producción intensiva de *Lentinula edodes* y *L. boryana* en México. *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP. Puebla, ISBN 970-9752-01-4, 175 – 187.
- Stamets, P., J. Chilton. 1983. *The Mushroom Cultivator: A practical guide to growing mushroom at home*. Agarikon Press, Washington. 158 - 170.

#### Sitios web

- Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Dirección de comunicación Institucional:  
[http://www.comunicacion.buap.mx/reportajes\\_especiales/reportaje\\_especial\\_hongos.html](http://www.comunicacion.buap.mx/reportajes_especiales/reportaje_especial_hongos.html), 23 febrero del 2009
- Cisneros Lagos, C., 2003. Micotec. Clasificación ecofisiológica de los hongos comestibles, [www.mitotec.cl](http://www.mitotec.cl) 22 de septiembre de 2010.

- Kalipedia.com un producto de Grupo Prisacom S.A.- Ribera del Sena, S/N - Edificio Apot Madrid: [http://mx.kalipedia.com/cienciasvida/tema/basidiomicetos.html?x1=20070417klpcnavid\\_54.Kes](http://mx.kalipedia.com/cienciasvida/tema/basidiomicetos.html?x1=20070417klpcnavid_54.Kes). 04 de julio de 2009.
- Universidad de Almaria, Área de Botánica; <http://www.ual.es/GruposInv/myco-ual/clasific.htm>. 29 Noviembre de 2010.
- Hongos Comestibles 2010. <http://shiitake.com.co/>. 15 enero 2011.

## Anexo 1

Tabla 1: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L5** sometida al **tratamiento control**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	289.9	11	26.4	5.6	2	2.66	**
Repetición	537.2	5	107.4	23.0	2.42	3.44	**
Error	214.8	46	4.7				
Total	1174.5	62					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 2: Prueba Duncan para la cepa **L5** sometida al **tratamiento control**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS			Interpretación*
Semana de corte	Grupo		
	1	2	
1	9.6		9.6 ± 4.0 a
2	9.6		9.6 ± 4.0 a
3	10.0		10.0 ± 4.5 a
4	10.0		10.0 ± 4.5 a
5	10.0		10.0 ± 4.5 a
6		15.3	15.3 ± 3.5 b
7		15.3	15.3 ± 3.5 b
8		15.3	15.3 ± 3.5 b
9		15.3	15.3 ± 3.5 b
10		15.3	15.3 ± 3.5 b
11		15.3	15.3 ± 3.5 b
12		15.3	15.3 ± 3.5 b

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 2 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inicia el último grupo, corresponde a la letra b, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la semana 6 de producción.

Tabla 3: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L9** sometida al **tratamiento control**, experimento1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	4657.6	11	423.4	17.6	1.97	2.59	**
Repetición	795.03	5	159.0	6.6	2.38	3.37	**
Error	1319.8	55	24.0				
Total	6772.5	71					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 4: Prueba Duncan para la cepa **L9** sometida al **tratamiento control**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS						Interpretación*
Semana de corte	Grupo					
	1	2	3	4	5	
1	10.7					10.7 ± 5.5 a
2	12.6	12.6				12.6 ± 4.9 ab
3	12.6	12.6				12.6 ± 4.9 ab
4		19.2	19.2			19.2 ± 8.8 bc
5			21.8	21.8		21.8 ± 8.2 cd
6			22.5	22.5		22.5 ± 8.2 cd
7				29.0	29.0	29.0 ± 4.0 de
8				29.0	29.0	29.0 ± 4.0 de
9					30.6	30.6 ± 5.8 e
10					32.4	32.4 ± 4.7 e
11					32.4	32.4 ± 4.7 e
12					32.4	32.4 ± 4.7 e

\* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 5 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra e, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 7ma semana de producción.

Tabla 5: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L15** sometida al **tratamiento control**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	6280.0	11	570.9	13.5	2.01	2.68	**
Repetición	5455.9	4	1364.0	32.3	2.58	3.78	**
Error	1854.0	44	42.1				
Total	13589.9	59					

\*\*Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 6: Prueba Duncan para la cepa **L15** sometida al **tratamiento control**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPPS				Interpretación*
Semana de corte	Grupo			
	1	2	3	
1	24.4			24.4 ± 19.3 a
2	24.4			24.4 ± 19.3 a
3	31.8	31.8		31.8 ± 15.1 ab
4		36.9		36.9 ± 9.1 b
5		39.6		39.56 ± 12.0 b
6			48.0	48.0 ± 9.7 c
7			50.3	50.3 ± 9.8 c
8			50.3	50.3 ± 9.8 c
9			50.3	50.3 ± 9.8 c
10			50.7	50.7 ± 9.3 c
11			51.3	51.3 ± 8.9 c
12			51.9	51.9 ± 9.1 c

\* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 3 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra c, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 6ta semana de producción.

Tabla 7: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 14 semanas de cosecha para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	58036.5	13	4464.3	157.7	1.85	2.37	**
Repetición	2928.8	6	488.1	17.2	2.22	3.04	**
Error	2208.2	78	28.3				
Total	63173.5	97					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8: Prueba Duncan para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS											Interpretación*
Semana de corte	Grupo										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	13.8										13.8 ± 7.7 a
2		26.4									26.4 ± 7.8 b
3		28.2									28.2 ± 8.0 b
4			42.4								42.4 ± 11.2 c
5				52.0							52.0 ± 7.8 d
6					61.5						61.5 ± 12.8 e
7						73.0					73.0 ± 5.0 f
8						75.0	75.0				75.0 ± 5.9 fg
9						76.6	76.6				76.6 ± 6.0 fg
10						77.5	77.5	77.5			77.5 ± 6.6 fgh
11							81.5	81.5	81.5		81.5 ± 6.6 ghi
12								84.2	84.2	84.2	84.2 ± 6.5 hij
13									88.1	88.2	88.2 ± 7.6 ij
14										89.7	89.7 ± 6.5 j

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 10 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra j, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 9: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 14 semanas de cosecha para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	128994.0	13	9922.6	172.9	1.83	2.33	**
Repetición	4113.1	7	587.6	10.2	2.11	2.84	**
Error	5222.8	91	57.4				
Total	138329.9	111					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 10: Prueba Duncan para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS											Interpretación*
Semana de corte	Grupo										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	19.3										19.3 ± 1.9 a
2		41.9									41.9 ± 5.0 b
3			70.9								70.9 ± 7.4 c
4			73.7								73.7 ± 4.0 c
5				86.7							86.7 ± 12.0 d
6					99.6						99.6 ± 7.2 e
7						107.7					107.7 ± 11.8 f
8						109.9					109.9 ± 9.4 f
9							119.0				119.0 ± 13.3 g
10							121.7	121.7			121.7 ± 12.2 gh
11							125.5	125.5	125.5		125.5 ± 11.3 ghi
12								127.9	127.9	127.9	127.9 ± 9.8 hij
13									131.3	131.3	131.3 ± 10.8 ij
14										134.6	134.6 ± 12.0 j

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 10 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inicia el último grupo, corresponde a la letra j, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 11: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 14 semanas de cosecha para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	48459.1	13	3727.6	124.4	1.83	2.33	**
Repetición	3296.3	7	470.9	15.7	2.11	2.84	**
Error	2727.1	91	30.0				
Total	54482.4	111					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 12: Prueba Duncan para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS											Interpretación*
Semana de corte	Grupo										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	17.6										17.6 ± 7.4 a
2		34.8									34.8 ± 7.4 b
3			48.5								48.5 ± 9.3 c
4			53.0								53.0 ± 8.3 c
5				62.5							62.5 ± 6.1 d
6				67.7	67.7						67.7 ± 8.8de
7					72.9	72.9					72.9 ± 6.9 ef
8						74.3	74.3				74.3 ± 7.2 fg
9						77.4	77.4				77.4 ± 8.8 fg
10							79.1	79.1			79.1 ± 7.5 gh
11								83.3	83.3		83.3 ± 6.5 hi
12									86.4	86.4	86.4 ± 8.9 ij
13									88.4	88.4	88.4 ± 7.9 ij
14										90.9	90.9 ± 8.1 j

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 10 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra j, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 13: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	46752.1	11	4250.2	138.3	1.97	2.59	**
Repetición	570.9	5	114.2	3.7	2.38	3.37	**
Error	1690.7	55	30.7				
Total	49013.6	71					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 14: Prueba Duncan para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPPS							Interpretación*
Semana de corte	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	
1	26.7						26.7 ± 8.0 a
2		59.0					59.0 ± 0.8 b
3		62.5					62.5 ± 3.3 b
4			89.1				89.1 ± 0.8 c
5			90.3				90.3 ± 1.5 c
6			92.3				92.3 ± 1.4 c
7			93.0				93.0 ± 1.2 c
8			96.2				96.2 ± 6.1 c
9				105.2			105.2 ± 7.8 d
10				108.6	108.6		108.6 ± 7.8 de
11					112.8		112.8 ± 5.4 e
12						121.0	121.0 ± 13.5 f

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 6 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra f, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 15: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	120783.1	11	10980.3	405.4	1.89	2.43	**
Repetición	15271.5	9	1696.8	62.6	1.98	2.59	**
Error	2681.7	99	27.1				
Total	138736.3	119					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 16: Prueba Duncan para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS									Interpretación*
Semana de corte	Grupo								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	63.3								63.3 ± 15.5 a
2		100.4							100.4 ± 12.7 b
3			117.7						117.7 ± 11.4 c
4				131.3					131.3 ± 12.4 d
5					149.8				149.8 ± 16.3 e
6						156.1			156.1 ± 11.6 f
7						156.9			156.9 ± 11.4 f
8						157.0			157.0 ± 11.4 f
9							164.4		164.4 ± 12.2 g
10							166.6		166.6 ± 12.4 g
11							168.3	168.3	168.3 ± 12.2 gh
12								172.6	172.6 ± 14.3 h

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 8 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra h, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 11va semana de producción.

Tabla 17: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	71552.3	11	6504.8	193.0	1.89	2.43	**
Repetición	12002.8	9	1333.6	39.6	1.98	2.59	**
Error	3336.5	99	33.7				
Total	86891.7	119					

\*\* Diferencia altamente significativa

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 18: Prueba Duncan para la cepa **L15** sometida al choque **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPPS								Interpretación*
Semana de corte	Grupo							
	1	2	3	4	5	6	7	
1	46.3							46.3 ± 7.8 a
2		82.2						82.2 ± 9.8 b
3			89.5					89.5 ± 11.0 c
4				100.3				100.3 ± 11.0 d
5					113.9			113.9 ± 12.7 e
6					118.0			118.0 ± 12.8 e
7					118.6			118.6 ± 12.4 e
8					118.7			118.7 ± 12.4 e
9						125.9		125.9 ± 12.9 f
10						128.1		128.1 ± 12.3 f
11						129.4		129.4 ± 14.4 f
12							135.2	135.2 ± 12.4 g

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 7 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inicia el último grupo, corresponde a la letra g, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 19: Análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para observar el efecto de las variables tratamientos, cepas e interacción (cepas x tratamientos) sobre la eficiencia biológica acumulada al RMS, experimento 1.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Cepas	12715.3	2	6357.6	64.5	3.16	5.00	**
Tratamientos	122707.1	2	61353.5	622.0	3.16	5.00	**
Cepas x tratamiento	6896.3	4	1724.1	17.5	2.53	3.67	**
Error	5622.2	57	98.6				
Total	163460.1	65					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existen diferencias altamente significativas en el análisis de varianza para las variables: tratamientos, cepas y la interacción tratamientos x cepas. Como se encontró diferencia altamente significativa en la interacción de las variables cepas x tratamientos, no se deben interpretar las variables de manera independiente. Por ello se realizó la prueba Duncan para identificar diferencias en la interacción cepas x tratamientos y encontrar el tratamiento de inducción para la fructificación donde cada cepa produjo el mayor rendimiento.

Tabla 20: Prueba Duncan para la interacción cepas x tratamientos de inducción para la fructificación, sobre la eficiencia biológica acumulada al RMS, experimento 1.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS								Interpretación*
Interacción: cepas x tratamientos	Grupo							
	1	2	3	4	5	6	7	
Cepa L5, control sin choque térmico	15.3							15.3 ± 3.54 a
Cepa L9, control sin choque térmico		29.0						29.0 ± 4.01 b
Cepa L15, control sin choque térmico			48.0					48.0 ± 9.7 c
Cepa L5, choque térmico sin inmersión en agua fría				84.2				84.2 ± 6.5 d
Cepa L15, choque térmico sin inmersión en agua fría				88.4				88.4 ± 7.9 d
Cepa L5, choque térmico con inmersión en agua fría					121.0			121.0 ± 13.5 e
Cepa L9, choque térmico sin inmersión en agua fría					127.9	127.9		127.9 ± 9.8 ef
Cepa L15, choque térmico con inmersión en agua fría						135.2		135.2 ± 12.4 f
Cepa L9, choque térmico con inmersión en agua fría							168.3	168.3 ± 12.2 g

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción de las variables cepas x tratamientos.

Como resultado de la prueba Duncan se observa que para las tres cepas L5, L9 y L15 la mayor eficiencia biológica se obtuvo con el tratamiento de choque térmico con inmersión en agua fría.

## Anexo 2

Tabla1: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	22195.2	11	2017.7	34.5	1.97	2.59	**
Repetición	8739.8	5	1748.0	29.9	2.38	3.37	**
Error	3213.2	55	58.4				
Total	34148.1	71					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 2: Prueba Duncan para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente**, experimento 2.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS							Interpretación*
Semana de corte	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	
1	51.3						51.3 ± 27.5 a
2		73.4					73.4 ± 12.5 b
3		79.6	79.6				79.6 ± 12.9 bc
4			86.6				86.6 ± 11.9 c
5			87.9				87.9 ± 12.7 c
6				100.3			100.4 ± 14.0 d
7				101.6	101.6		101.6 ± 12.9 de
8				104.9	104.9	104.9	104.9 ± 11.6 def
9				105.2	105.2	105.2	105.2 ± 11.6 def
10				108.2	108.2	108.2	108.2 ± 11.0 def
11					111.1	111.1	111.1 ± 11.3 ef
12						111.9	111.9 ± 11.4 f

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 6 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra f, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 8va semana de producción.

Tabla3: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	41017.3	11	3728.8	81.8	1.91	2.47	**
Repetición	5899.2	8	737.4	16.2	2.05	2.74	**
Error	3739.2	82	45.6				
Total	53245.7	101					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 4: Prueba Duncan para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente**.

Semana	Clasificación con el paquete estadístico SPSS								Interpretación*
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	20.3								20.3 ± 17.5 a
2		73.0							73.0 ± 13.9 b
3		78.6							78.6 ± 8.2 b
4			85.6						85.6 ± 9.2 c
5				96.9					96.9 ± 9.8 d
6					104.2				104.2 ± 12.1 e
7					106.2				106.2 ± 11.3 e
8					109.8	109.8			109.8 ± 8.9 ef
9					111.1	111.1	111.0		111.1 ± 9.8 efg
10						116.6	116.6	116.6	116.6 ± 9.6 fgh
11							119.0	119.0	119.0 ± 8.4 gh
12								120.3	120.3 ± 9.0 h

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 8 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra h, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 10va semana de producción.

Tabla 5: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	41017.3	11	3728.8	81.8	1.91	2.47	**
Repetición	5899.2	8	737.4	16.2	2.05	2.74	**
Error	3739.2	82	45.6				
Total	53245.7	101					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en los factores semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 6: Prueba Duncan para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de inmersión en agua a temperatura ambiente**.

Semana	Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
	1	2	3	4	
1	60.9				60.9 ± 11.5 a
2	67.1				67.1 ± 11.6 a
3		82.9			82.9 ± 11.6 b
4		85.8			85.8 ± 10.0 b
5		86.3			86.3 ± 9.1 b
6			97.4		97.3 ± 6.9 c
7			97.6		97.6 ± 6.5 c
8			101.7	101.7	101.7 ± 9.5 cd
9			101.7	101.7	101.7 ± 9.5 cd
10			104.1	104.1	104.1 ± 7.7 cd
11				106.5	106.5 ± 6.7 d
12				107.0	107.0 ± 6.1 d

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 4 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inicia el último grupo, corresponde a la letra d, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 8va semana de producción.

Tabla 7: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	46032.0	11	4184.7	76.1	1.90	2.46	**
Repetición	13609.8	8	1701.2	31.0	2.05	2.72	**
Error	4837.3	88	55.0				
Total	64479.1	107					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8: Prueba Duncan para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 2.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS							Interpretación*
Semana de corte	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	
1	84.2						84.1 ± 11.2 a
2	89.8						89.8 ± 12.3 a
3		107.2					107.2 ± 11.3 b
4			124.7				124.7 ± 18.5 c
5				134.7			134.7 ± 15.0 d
6				134.7			134.7 ± 15.0 d
7				136.3			136.3 ± 14.8 d
8				138.1	138.1		138.1 ± 12.9 de
9				139.9	139.9	139.9	139.9 ± 13.0 def
10					144.0	144.0	144.0 ± 13.7 ef
11					144.7	144.7	144.7 ± 13.8 ef
12						147.2	147.2 ± 13.6 f

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 6 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra f, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 9na semana de producción.

Tabla 9: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	30619.1	11	2783.6	67.9	1.90	2.46	**
Repetición	4308.6	8	538.6	13.1	2.05	2.72	**
Error	3609.7	88	41.0				
Total	38537.4	107					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 10: Prueba Duncan para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 2.

Clasificación con el paquete estadístico									Interpretación*
Semana	Grupo								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	74.9								74.9 ± 17.7 a
2		81.5							81.5 ± 4.1 b
3			107.0						107.0 ± 9.0 c
4			108.5						108.5 ± 8.23 c
5			110.8	110.8					110.8 ± 6.39 cd
6			112.6	112.6					112.6 ± 6.68 cd
7				115.2	115.2				115.2 ± 6.5 de
8					119.0	119.0			119.0 ± 8.5 ef
9						122.8	122.8		122.8 ± 7.6 fg
10						125.2	125.2		125.2 ± 8.1 fg
11							127.3		127.3 ± 8.4 g
12								133.8	133.8 ± 10.9 h

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 8 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra h, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 11: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	16814.9	11	1528.6	58.0	1.94	2.53	**
Repetición	8782.7	6	1463.8	55.6	2.24	3.09	**
Error	1738.9	66	26.3				
Total	27336.5	83					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 12: Prueba Duncan para la cepa **L15** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío sin inmersión en agua**, experimento 2.

Clasificación con el paquete estadístico									Interpretación*
Semana	Grupo								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	81.2								81.2 ± 18.2 a
2		87.0							87.0 ± 18.3 b
3			105.4						105.4 ± 10.9 c
4			109.5	109.5					109.5 ± 11.8 cd
5				111.4	111.4				111.4 ± 11.6 de
6				114.6	114.6	114.6			114.6 ± 10.9 def
7					116.1	116.1			116.1 ± 10.0 ef
8					116.1	116.1			116.1 ± 9.98 ef
9						120.2	120.2		120.2 ± 9.91 fg
10							122.7		122.7 ± 8.4 g
11							124.6		124.6 ± 8.6 g
12								131.9	131.9 ± 11.6 h

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 8 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra h, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 12va semana de producción.

Tabla 13: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	17510.5	11	1591.9	56.5	1.90	2.46	**
Repetición	3227.6	8	403.5	14.3	2.05	2.72	**
Error	2480.7	88	28.2				
Total	23218.8	107					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 14: Prueba Duncan para la cepa **L5** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 2.

Semana	Clasificación con el paquete estadístico SPSS								Interpretación*
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1	71.0								71.0 ± 8.5 a
2		78.5							78.5 ± 10.3 b
3			87.3						87.3 ± 4.2 c
4				93.3					93.3 ± 7.4 d
5					98.5				98.5 ± 6.7 e
6					100.0				100.0 ± 5.3 e
7					102.3	102.3			102.3 ± 6.7 ef
8						106.2	106.2		106.2 ± 7.4 fg
9						106.8	106.8	106.8	106.8 ± 7.7 fgh
10							110.2	110.2	110.2 ± 8.8 gh
11								111.8	111.8 ± 8.8 h
12								111.9	111.9 ± 8.8 h

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 8 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra h, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 9na semana de producción.

Tabla 15: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	14220.5	11	1292.7	47.0	1.94	2.53	**
Repetición	4080.6	6	680.1	24.7	2.24	3.09	**
Error	1787.5	65	27.5				
Total	19810.6	82					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 16: Prueba Duncan para la cepa **L9** sometida al **tratamiento de choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 2.

Semana	Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
	1	2	3	4	
1	52.3				52.3 ± 17.5 a
2		67.9			67.9 ± 7.5 b
3			80.5		80.5 ± 9.4 c
4			80.9		80.9 ± 8.9 c
5				91.5	91.5 ± 8.4 d
6				93.3	93.3 ± 8.4 d
7				94.3	94.3 ± 7.5 d
8				94.6	94.6 ± 7.5 d
9				94.6	94.6 ± 7.5 d
10				96.6	96.6 ± 7.8 d
11				96.9	96.9 ± 8.1 d
12				96.9	96.9 ± 8.1 d

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 4 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inicia el último grupo, corresponde a la letra d, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción.

Tabla 17: Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 12 semanas de cosecha para la cepa **L15** sometida al tratamiento de **choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Semana	15225.6	11	1384.1	40.6	1.97	2.59	**
Repetición	6513.7	5	1302.7	38.2	2.38	3.37	**
Error	1873.6	55	34.1				
Total	23612.8	71					

\*\*Diferencia altamente significativa.

Existe diferencia altamente significativa en el análisis de varianza en las variables semana y repetición, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 18: Prueba Duncan para la cepa **L15** sometida al tratamiento de **choque térmico en cuarto frío con inmersión en agua fría**, experimento 2.

Semana	Clasificación con el paquete estadístico SPSS					Interpretación*
	1	2	3	4	5	
1	75.7					75.7 ± 10.7 a
2		84.4				84.4 ± 10.0 b
3			97.0			97.0 ± 10.5 c
4			102.6			102.6 ± 14.1 c
5				111.4		111.4 ± 11.7 d
6				112.4		112.4 ± 11.0 d
7				113.6		113.6 ± 12.0 d
8				114.2		114.2 ± 11.3 d
9				117.3	117.3	117.3 ± 13.6 de
10					121.7	121.7 ± 12.3 e
11					121.7	121.7 ± 12.3 e
12					123.0	123.0 ± 12.0 e

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 5 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo. Para identificar la semana dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inicia el último grupo, corresponde a la letra e, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 9na semana de producción.

Tabla 19: Análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para determinar el **efecto de las variables: tratamientos, cepas e interacción** (cepas x tratamientos) **sobre la eficiencia biológica acumulada**, experimento 2.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Cepas	150.7	2	75.3	0.7	3.15	4.98	NS
Tratamientos	12880.8	2	6440.4	56.2	3.15	4.98	**
Cepas x tratamientos	3333.9	4	833.5	7.3	2.53	3.65	**
Error	6755.4	59	114.5				
Total	23334.6	67					

NS: No hay diferencia significativa, \*\* Diferencia altamente significativa.

Con el análisis de varianza se observó que no existe diferencia significativa para la variable cepas. Sin embargo, para las variables: tratamientos y la interacción cepas x tratamientos existe diferencia altamente significativa, por tanto no se deben interpretar las variables de manera independiente. Por ello se realizó la prueba Duncan para identificar el tratamiento de inducción para la fructificación dónde cada cepa produjo el mayor rendimiento.

Tabla 20: Prueba Duncan para la interacción cepas x tratamientos de inducción para la fructificación, sobre la eficiencia biológica (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS					Interpretación*
Interacción: Cepas x tratamientos	Grupo				
	1	2	3	4	
Cepa L9, choque térmico con inmersión en agua	91.5				91.5 ± 8.4 a
Cepa L15, inmersión en agua a temperatura ambiente	101.7	101.7			101.7 ± 9.5 ab
Cepa L5, inmersión en agua a temperatura ambiente	104.9	104.9			104.9 ± 11.6 ab
Cepa L5, choque térmico con inmersión en agua	106.8	106.8			106.8 ± 7.7 ab
Cepa L9, inmersión en agua a temperatura ambiente		116.6	116.6		116.6 ± 9.6 bc
Cepa L15, choque térmico con inmersión en agua		117.3	117.3		117.3 ± 13.6 bc
Cepa L15, choque térmico sin inmersión en agua			131.9	131.9	131.9 ± 11.6 cd
Cepa L9, choque térmico sin inmersión en agua				133.8	133.8 ± 10.9 d
Cepa L5, choque térmico sin inmersión en agua				139.9	139.9 ± 13.0 d

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción de las variables cepas x tratamientos.

Como resultado de la prueba Duncan se observa que las tres cepas L5, L9 y L15 produjeron la mayor eficiencia biológica con el tratamiento de choque térmico sin inmersión en agua.

**Tabla 21:** Análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para las variables experimentos, cepas, tratamientos y las interacciones: experimentos x cepas, experimentos x tratamientos, cepas x tratamientos y experimentos x cepas x tratamientos sobre las eficiencias biológicas acumuladas al RMS obtenidas en los dos experimentos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas ( $\alpha$ )		Interpretación
					0.05	0.01	
Experimentos	2.2	1	2.2	0.02	3.92	6.86	NS
Cepas	4,874.2	2	2,437.1	22.8	3.07	4.79	**
Tratamientos	103,307.5	3	34,435.8	322.7	2.68	3.96	**
Experimentos x cepas	15,060.4	2	7,530.2	70.6	3.07	4.79	**
Experimentos x tratamientos	30,214.7	1	30,214.7	283.2	3.92	6.86	**
Cepas x tratamientos	9,943.4	6	1,657.2	15.5	2.18	2.96	**
Experimentos x cepas x tratamientos	388.6	2	194.3	1.8	3.07	4.79	NS
Error	12,377.6	116	106.7				
Total	197,419.1	133					

\*\* Diferencia altamente significativa, NS: No hay diferencia significativa.

Como resultado del análisis de varianza para los datos obtenidos en los dos experimentos se observó que no existe diferencia significativa para las variables: experimentos y la interacción triple (experimentos x cepas x tratamientos). Por otro lado para las variables: cepas, tratamientos e interacciones: experimentos x cepas, experimentos x tratamientos y cepas x tratamiento se observó diferencia altamente significativa. El hecho de no observar diferencia significativa entre los experimentos nos indica que los resultados de ambos experimentos se pueden interpretar de manera conjunta. Sin embargo, no deben interpretarse las variables de manera independiente debido a la diferencia significativa observada en las interacciones dobles.

Tabla 22: Pruebas de rango múltiple para la interacción, experimentos x cepa, sobre la eficiencia biológica acumulada al RMS de los dos experimentos.

Interacción: Experimentos x cepas	Grupo		Interpretación*
	1	2	
Experimento 1, cepa L5	74.1		74.1 ± 44.6 a
Experimento 1, cepa L15		99.3	99.3 ± 36.7 b
Experimento 2, cepa L9		115.8	115.8 ± 19.6 b
Experimento 2, cepa L15		117.8	117.8 ± 16.9 b
Experimento 2, cepa L5		118.7	118.7 ± 19.7 b
Experimento 1, cepa L9		119.2	119.2 ± 57.3 b

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción de las variables experimentos x cepas.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 2 grupos y se observa que sólo la cepa L5 produjo menor rendimiento en el primer experimento.

Tabla 23: Pruebas de rango múltiple para la interacción experimentos x tratamientos de inducción para la fructificación., sobre la eficiencia biológica acumulada al RMS,

Interacción: Experimentos x tratamientos	Grupo			Interpretación*
	1	2	3	
Experimento 1, Control	29.8			29.8 ± 14.7 a
Experimento 1, Choque térmico sin inmersión en agua		100.2		100.2 ± 22.3 b
Experimento 2, Choque térmico con inmersión en agua		104.8		104.8 ± 13.9 b
Experimento 2, Inmersión en agua a temperatura ambiente		109.0		109.0 ± 11.8 b
Experimento 2, Choque térmico sin inmersión en agua			135.5	135.5 ± 11.9 c
Experimento 1, Choque térmico con inmersión en agua			144.7	144.7 ± 23.2 c

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción de las variables experimentos x tratamientos.

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reportó 3 grupos, los mayores rendimientos se produjeron en el experimento 1 con choque térmico con inmersión en agua y en el experimento 2 con choque térmico sin inmersión en agua, el menor rendimiento se obtiene en el experimento 1 con el tratamiento control.

Tabla 24: Prueba de rango múltiple para la interacción cepas x tratamientos, sobre la eficiencia biológica acumulada al RMS de las 3 cepas evaluadas en los diferentes tratamientos de inducción para la fructificación evaluados en los 2 experimentos.

Cepas x tratamientos	Grupo						Interpretación*
	1	2	3	4	5	6	
Cepa L5, control	15.3						15.3 ± 3.5 a
Cepa L9, control	29.0	29.0					29.0 ± 4.0 ab
Cepa L15, control		48.0					48.0 ± 9.7 b
Cepa L15, inmersión en agua a temperatura ambiente			101.7				101.7 ± 9.5 c
Cepa L5, inmersión en agua a temperatura ambiente			104.9				104.9 ± 11.6 c
Cepa L15, choque térmico sin inmersión en agua			107.6	107.6			106.0 ± 26.6 cd
Cepa L5, choque térmico con inmersión en agua			112.5	112.5	112.5		112.5 ± 12.3 cde
Cepa L5, choque térmico sin inmersión en agua			115.5	115.5	115.5	115.5	115.5 ± 30.3 cdef
Cepa L9, inmersión en agua a temperatura ambiente			116.6	116.6	116.6	116.6	116.6 ± 9.6 cdef
Cepa L15, choque térmico con inmersión en agua				128.5	128.5	128.5	128.5 ± 15.3 def
Cepa L9, choque térmico sin inmersión en agua					131.0	131.0	131.0 ± 10.5 ef
Cepa L9, choque térmico con inmersión en agua						136.7	136.7 ± 40.4 f

\*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción de las variables cepas x tratamientos.

Como resultado de la prueba Duncan para la cepa L5 la mayor EB se obtuvo con el tratamiento de choque térmico sin inmersión en agua. Para la cepa L9 la mayor EB que obtuvo los tratamientos de choque térmico con inmersión en agua, choque térmico sin inmersión en agua e inmersión en agua a temperatura ambiente. Para la cepa L15 la mayor EB se obtuvo con el tratamiento de choque térmico con inmersión en agua.