



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFEECTO DEL TIEMPO DE
INCUBACIÓN SOBRE LA PRODUCCIÓN
DE 3 CEPAS DE *LENTINULA EDODES*
(SHIITAKE)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A:
LYDIA PRISCILA CURIEL PÉREZ



México, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Le doy las gracias a esta hermosa Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme acogido durante todos estos años, por formar en mi, valores y pasiones que llevaré en mi corazón toda la vida.

A mi hermosa y tan amada Facultad de Química porque no solo me llenó la cabeza de conocimientos, también me dio la oportunidad de conocer gente maravillosa que me hizo mejorar en muchos sentidos.

A mi querida Doctora Rebeca Ramírez, muchas gracias por todo el apoyo que me brindó para poder culminar este proyecto, por ser tan paciente y enseñarme tanto, por todos los consejos y pláticas que compartió en todo este tiempo. Agradezco infinitamente su amistad.

Al Dr. Hermilo Leal, por todas las enseñanzas brindadas y las valiosas mejoras que me hizo en este trabajo, y por tomarse siempre el tiempo para escucharme o ayudarme cuando necesitaba su consejo.

Al Dr. Raúl Genaro por sus valiosas aportaciones para poder mejorar este trabajo y formar parte de mi jurado.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado especialmente a mis padres Arturo y Maru, que siempre me han demostrado todo su amor, me apoyaron y me dieron todo lo necesario para que este sueño se cumpliera, que han estado en todo momento a mi lado recordándome que siempre podre alcanzar mis metas, no solo es mi victoria es la de los tres, gracias por ser los mejores padres y amigos que pudiera merecer, agradezco a Dios por tenerlos conmigo.

A mis hermanos Arturo y Valeria, que retan mi paciencia, provocan tantos dolores de cabeza pero al mismo tiempo son los mejores cómplices, aliados y amigos que se puede encontrar, hacen que mi vida sea genial, gracias por alentarme y animarme siempre.

A mis otros hermanos Alberto y Anayancin, que siempre están apoyando, cuidándome y haciendo tan agradables los momentos difíciles.

A mis abuelitos que han sido un gran ejemplo de fortaleza y porque sin ellos nada de nada sería posible, y porque son los seres que simplemente se dedican a amarme y consentirme sin importar todo lo que haga.

A mis tíos y mis primos porque siempre han estado pendientes de mi, se preocupan y me hacen sentir su cariño y apoyo.

A mi muy muy querida Ingrid Paulina, por ser la mejor amiga del mundo, porque has estado en todo momento, has sido comprensiva, tolerante y llenas mi vida de diversión.

A mis queridos amigos, Ricardo, Fermin, Mali, Claudia, Yoshi, Lizette, Diana, Alejandro, Citlali, Mariel, Moises, Cecilia, Erika, Isaac. Gracias por tantas experiencias lindas, por desvelarse, reír, llorar y crecer juntos, son los mejores.

A ti Yunuen, que te toco estar en la parte crítica de esta etapa, y que siempre estuviste alentándome, que tu paciencia es del tamaño del mundo y en ti encuentro los retos y desafíos para mejorar en todo, inyectas a mi vida un montón de alegrías, agradezco todas las porras y esa forma en que haces crecer mi confianza en las cosas que hago. Gracias por siempre estar aquí y hacerme sonreír tanto.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	6
2. INTRODUCCIÓN.....	8
3. ANTECEDENTES	11
3.1 Taxonomía	13
3.2 Morfología.....	14
3.3 Requerimientos nutricionales.....	15
3.4 Propiedades medicinales de los principales compuestos aislados de shiitake.	17
Lentinan:	17
3.5 Formas de cultivo.....	18
4. JUSTIFICACIÓN	21
5. OBJETIVOS	22
5.1 Objetivo general.....	22
5.2 Objetivos particulares	22
6. HIPOTESIS	22
7. DIAGRAMA GENERAL DE SECUENCIA EXPERIMENTAL.....	23
8. METODOLOGÍA.....	24
8.1 Material biológico.....	24
8.2 Preparación del medio extracto malta agar (EMA).	24
8.3 Propagación vegetativa del micelio.....	24
8.4 Inóculo de grano.	25
8.4 Inóculo de grano.	25
8.5 Preparación del sustrato y fructificación.....	25
8.6 Cosecha de hongos	26
8.7 Análisis estadístico.....	27
9. RESULTADOS	28
9.1 Primer experimento.....	28
9.2 Segundo experimento.....	32
10. DISCUSIÓN.....	39
11. CONCLUSIONES	42
12. ANEXO 1	43
13. ANEXO 2	54
14. IMAGENES.....	64
15. BIBLIOGRAFÍA.....	68

1. RESUMEN

Lentinula edodes (shiitake) es un hongo comestible muy apreciado tanto por sus características organolépticas, como por sus propiedades funcionales (acción antitumoral e hipocolesterolémica). Estudios recientes han confirmado su potencial antimicrobiano y antioxidante (Martínez., 2007). A nivel internacional es el segundo hongo comestible que se cultiva a escala comercial y en nuestro país su cultivo se realiza a muy baja escala. Por ello hacen falta estudios para hacer más atractivo su cultivo tanto para los productores, como para los consumidores.

En este trabajo se evaluó el efecto del tiempo de incubación sobre la eficiencia biológica (EB) de tres cepas de shiitake. En un primer experimento se evaluaron 6, 8 y 10 semanas de incubación, mientras que en el segundo experimento se evaluaron 7, 9 y 10 semanas de incubación utilizando las cepas L5, L9 y L15 de *Lentinula edodes* en ambos experimentos.

El sustrato utilizado se formuló con aserrín de salam, cascarilla de algodón, sorgo, mijo, sulfato de amonio, ácido cítrico y benlate. Para cada cepa y tiempo de incubación se preparó un total de 10 replicas. Una vez concluido el tiempo de incubación se indujo la fructificación disminuyendo la temperatura hasta 15°C, aumentando la humedad relativa con 3 riegos de 20 minutos cada 8 horas e incrementando el intercambio gaseoso, inyectando de aire fresco 15 minutos después de cada riego por 2 horas.

Una vez que se formaron los cuerpos fructíferos éstos se cosecharon para cada bolsa de sustrato durante 10 semanas, registrándose su cantidad y peso. Con estos valores se calculó la producción semanal, producción semanal acumulada, así como la eficiencia biológica semanal (EBS) y la eficiencia biológica semanal acumulada (EBSA). Con los valores de la EBSA obtenidos para cada cepa en cada tiempo de incubación se realizó un análisis de varianza para determinar la semana donde se obtuvo el rendimiento máximo significativo (RMS). Con todos los valores del RMS se realizó un segundo análisis de varianza para observar diferencias significativas entre los tiempos de incubación, cepas y la interacción cepas x tiempo de incubación. Cuando el análisis de varianza indicó diferencias significativas se utilizó la prueba Duncan para identificar él o los tiempos de incubación más productivos en cada

experimento y para cada cepa. Así los mayores rendimientos se obtuvieron con la cepa L9 en el primer experimento cuando se incubó por 6 semanas (EB = 89.7%) y en el segundo experimento cuando se incubó por 7 semanas (EB = 178%).

2. INTRODUCCIÓN

Existen dos formas de cultivar *Lentinula edodes* (shiitake), una es la forma tradicional de cultivo que se realiza en troncos y usualmente toma de 2 a 5 años para completar el ciclo de producción con eficiencias biológicas relativamente bajas (EB =33%). Además de que la producción depende de factores climáticos (Chang, 2002).

La otra forma de cultivarlo comenzó a principios de 1970 en Estados Unidos y Europa, donde estos troncos fueron sustituidos por sustratos de maderas duras en bolsas esterilizables, conocidas como “troncos sintéticos”. Esta forma de cultivo se realiza en condiciones controladas durante todo el ciclo de cultivo, desde el crecimiento micelial hasta la fructificación. Esto incrementa los gastos de producción, pero al mismo tiempo tiene como ventajas: tiempos más cortos para completar el ciclo de cultivo y eficiencias biológicas más altas y constantes de 45 a 65% (Delpech y Oliver, 1991).

El trabajo de Ramírez y Leal (2002) realizado previamente en nuestro laboratorio, reportó eficiencias biológicas (EB) superiores al 100% para las cepas L5, L9 y L15, al utilizar un sustrato comercial de composición desconocida. Posteriormente Rovalo (2002) también utilizó un sustrato comercial de aserrín para evaluar el efecto del tiempo de incubación 6, 8 y 10 semanas y observó que a las 10 semanas de incubación se obtenían mayores valores de EB (L5 = 78, L9 = 123 y L15 = 100%).

Por otro lado Mireles y López (2005), evaluaron 8 diferentes formulaciones de sustratos, obteniendo como el sustrato más productivo el formulado con 50% de aserrín, 30% de mijo y 15% de salvado de trigo, la mayor eficiencia biológica se obtuvo con la cepa L9 (77%).

Utilizando el sustrato más productivo reportado por Mireles y López, Ayala (2008) evaluó posteriormente el efecto del tiempo de incubación (5 y 10 semanas) y de las resiembras sucesivas de las cepas L5 y L9 de *L. edodes* sobre la EB. Como resultado obtuvo mayores EB al incubar por 10 semanas (L5 = 90.4 y L9 = 114.05%) cuando las cepas no habían sido sometidas a resiembras sucesivas.

Finalmente Sánchez (2010) evaluó 9 diferentes formulaciones de sustratos identificando el formulado con cascarilla de algodón (36%), aserrín (50%), mijo (6%), salvado de trigo (6%) y como suplementos benlate (1%), ácido cítrico y sulfato de

amonio (0.5%) y el sustrato formulado con cascarilla de algodón (40%), aserrín (40%), salvado de trigo (16%), como los más productivos; L5 = 79.4, L9 =101.3%, y L5= 70.3, L9=88.9% respectivamente.

Tomando en consideración los resultados de los reportes previos, donde la formulación del sustrato ya ha sido optimizada (Tabla 1), en este estudio se evaluó nuevamente el efecto del tiempo de incubación (6, 7, 8, 9 y 10 semanas) sobre la producción de tres cepas de *L. edodes* (L5, L9 y L15), para su posterior aplicación a escala comercial.

Tabla 1. Estudios previos realizados en el Departamento de Alimentos y Biotecnología relacionados con el cultivo de las cepas L5, L9 y L15 de *L. edodes*.

Cepas	Eficiencia biológica (g hongo fresco/100 g sustrato seco)	Condiciones de cultivo	Referencia
L5 L9 L15	144 261 170	Sustrato comercial, incubado por 10 semanas	Ramírez & Leal, 2002
L5 L9 L15	78 123 100	Sustrato comercial, incubado por 6, 8 y 10 semanas. Las mayores EB se obtuvieron incubando el sustrato 10 semanas	Rovalo, 2002
L5 L9	36 78	De 8 formulaciones evaluadas, el sustrato más productivo fue elaborado con: aserrín (50%), mijo (30%) y salvado de trigo (15%).	Mireles & López, 2005
L5 L9	90 114	Utiliza el sustrato más productivo reportado por Mireles y López (2005) y evalúa tanto el efecto del tiempo de incubación (5 y 10 semanas,) como de las resiembras sucesivas de las cepas. La máxima producción la obtuvo al incubar por 10 semanas con las cepas que no fueron sometidas a resiembras sucesivas	Ayala, 2008
L5 L9	79 101	Evaluó 9 formulaciones de sustratos y el sustrato más productivo fue elaborado con: cascarilla de algodón (36%), aserrín (50%), mijo y salvado de trigo (6%).	Sánchez, 2010

3. ANTECEDENTES

Lentinula edodes, también conocido en China como “xiang gu”, o “shiitake” en Japón, es un hongo que pertenece a una variedad regional de Asia oriental (Fung, 2002). Es principalmente cultivado y consumido en Japón, China, Corea y el sureste de Asia. Es uno de los hongos más apreciados en Oriente, usado en platillos tipo gourmet por su delicioso sabor y propiedades nutricionales, ya que es rico en vitaminas, minerales, aminoácidos esenciales, alto contenido de fibra y bajo en grasas (Lin, 2000). Shiitake también es importante por las propiedades medicinales que posee, como son su acción antitumoral, hipocolesterolémica y antiviral, debidos al Lentinan (β -1,3 D-glucano con ramificaciones β -1,6 D-glicopiranosidas) un polisacárido soluble en agua producido y extraído de shiitake (Chen, 2005).

Datos epidemiológicos obtenidos en Japón indican que el consumo de hongos comestibles está asociado a tasas inferiores de muerte por cáncer. El consumo diario de tan sólo 90 gramos de shiitake fresco durante siete días reduce los niveles de colesterol en sangre hasta un 12% (Martínez, 2007).

El cultivo de shiitake tiene sus orígenes en las regiones montañosas de China 1000 años atrás, en las provincias que se conocen ahora como Llung-Chyan, Ching-Yuan y Jung-Ning (Quimio, 1990), con un método que era dependiente de la suerte y carecía de un sistema de control, después de 60 años el Dr. Mori de Kiryu de Japón, desarrollo el método en donde el micelio crece en un sustrato de madera como semillas, para después ser inoculado en troncos, en la actualidad, existen dos formas de cultivar *Lentinula edodes* (shiitake), una es la forma tradicional de cultivo que se realiza en troncos perforados que se inoculan con esporas o granos de cereales previamente invadidos con el micelio de *L. edodes*. Este método presenta desventajas, ya que al igual que en la antigüedad, los troncos inoculados se dejan crecer al aire libre, sin tener control sobre las condiciones medio ambientales, lo cual provoca que los ciclos de producción sean muy largos generalmente de 3 a 5 años, con eficiencias biológicas relativamente bajas de 33% (Chang, 2002).

La otra forma de cultivarlo comenzó a principios de 1970, se les conoce como troncos sintéticos y utiliza como sustrato aserrines de maderas duras (encino, cedro, eucalipto y roble), en bolsas resistentes a la temperatura, que se someten a un tratamiento térmico de esterilización en autoclave, a continuación se inoculan con

grano de trigo en donde el micelio de *L. edodes* ha crecido previamente. Estas bolsas ya inoculadas, se llevan a un cuarto de incubación donde se mantienen a temperaturas de 20°C; una vez que el micelio ha cubierto la totalidad del sustrato se cambian a un cuarto de fructificación, donde las condiciones de humedad, iluminación y temperatura están controladas para inducir la presencia de primordios en el sustrato. Las ventajas que este método ofrece son: ciclos de cosecha más cortos y mayor producción de hongos.

En 2002 la producción a nivel mundial fue estimada en 12,250.00 toneladas (Chang, 2006). El aumento total de la producción de hongo a tenido un aumento del 12.5% por año entre 1981 y el 2002

Datos recientes indican que en el mercado el valor de los hongos esta valuado en 32 mil millones, mientras que los derivados de hongos tales como suplementos dietéticos en alrededor de 11 mil millones. Sin embargo en términos de porcentaje la producción mundial de los hongos *Agaricus*, ha tenido una disminución de 71.6 % de 1981 a 1997, a pesar de que el aumento en la producción de setas aumento 900 mil toneladas, este es el resultado de la introducción al mercado de un hongo que poco a poco se ha vuelto más popular y es *Lentinula edodes*, que tuvo un incremento en su producción de 14.3% hasta un 25.2% entre 1981 y 1997.

En México el aprovechamiento y cultivo de hongos comestibles se ha desarrollado por más de 70 años (desde 1993) en pequeña y gran escala. Actualmente la producción comercial de hongos comestibles se ha estimado en 47,468 toneladas anuales, donde los principales hongos cultivados son: champiñón (*Agaricus*: 95.3%), setas (*Pleurotus*: 4.6%) y shiitake (*Lentinula*: 0.1%), teniendo de esta manera un valor económico superior a los 20 millones de dólares anuales, generando empleos directos e indirectos (Martínez, 2010).

Tabla 2. Producción mundial de *Lentinula edodes* en varios años (Chang, 2002).

País	1983		1985		1991		1992		1993	
	Vol.	%	Vol.	%	Vol.	%	Vol.	%	Vol.	%
China	19.5	9.4	50	13.9	380.0	60.5	450.0	63.9	550.0	68.9
Japón	171.2	88.2	227.3	63.3	179.7	28.6	177.1	25.2	170.4	21.3
Taiwán	7.5	3.6	49.0	13.7	36.8	5.9	39.4	5.6	36.4	4.6
Corea	4.9	2.4	23.4	6.5	17.2	2.7	22.5	3.2	25.8	3.2
Otros	3.6	1.8	9.4	2.6	14.5	2.3	15.0	2.1	16.0	2.0
Total	206.7	100	359.1	100	628.2	100	704.0	100	798.6	100

País	1994		1995		1996		1997	
	Vol.	%	Vol.	%	Vol.	%	Vol.	%
China	626.0	73.6	580.0	72.5	670.6	76.3	1125.	85.1
Japón	157.4	18.5	155.2	19.4	144.0	16.4	132.6	10.0
Taiwá	28.0	3.3	26.9	3.4	27.0	3.1	27.0	2.1
Corea	22.0	2.6	19.0	2.4	18.7	2.1	17.0	1.3
Otros	17.0	2.0	18.0	2.3	19.0	2.1	20.0	1.5
Total	850.4	100	799.1	100	879.3	100	1321.	100

Peso fresco en toneladas x 1000

El mercado global es manejado por Japón, Taiwán y China principalmente; sin embargo, la explotación industrial y comercial del hongo shiitake se ha extendido ampliamente en Europa y América por las excelentes características nutricionales y medicinales, ocupando uno de los primeros lugares en la escala de producción mundial de hongos comestibles y medicinales (Campbell y Racjan, 1999).

3.1 Taxonomía

Los microbiólogos emplean el término hongo (del latín *fungus*, seta) para incluir organismos eucariotas, portadores de esporas con nutrición por absorción, carentes de clorofila, que se producen de forma asexual y sexual.

De acuerdo con el árbol filogenético universal los hongos son miembros del dominio *Eucarya* (Prescott y Harley, 1999).

Los hongos tienen la propiedad de transformar materiales como celulosa, lignina y hemilcelulosa, lo que los convierte en importantes agentes transformadores de

desechos orgánicos agroindustriales, ya que la degradación natural de otros residuos se dificulta y genera problemas de tipo ambiental (Miles y Chang, 1987). Además los hongos son capaces de adaptarse a zonas templadas, tropicales y subtropicales, demostrándose así su presencia en los diferentes niveles tróficos de los ecosistemas (Pauli, 2000).

3.2 Morfología

Los hongos se agrupan en microscópicos y macroscópicos dependiendo de si presentan o no cuerpos fructíferos visibles a simple vista a los que se les denomina vulgarmente, de manera errónea, como “hongos”. Las fructificaciones de los hongos, cuyo nombre correcto es esporóforos o carpóforos constituyen los cuerpos reproductores o fructíferos, donde el hongo produce sus esporas y representa la semilla de dispersión del mismo.

Los hongos producen millones o billones de esporas que se dispersan, estas son de origen sexual, pero un hongo también puede formar esporas asexuales o incluso estructuras asexuadas micro o macroscópicas (Guzmán *et al.*, 1993).

Las principales partes que componen a un hongo macromiceto son (Solomon *et al.*, 1996):

- ☞ **Cutícula.** Membrana exterior que recubre el sombrero y el pie, necesaria para determinar la especie, tanto por su estructura como por su color.
- ☞ **Píleo.** Parte más ancha, está situado encima del pie, puede presentar una amplia gama de colores, tiene la forma de un paraguas; aunque con diferentes diseños.
- ☞ **Himenóforo.** Parte inferior del sombrero, sostiene el himenio, donde se encuentran las esporas de origen sexual.
- ☞ **Pie o estípite.** Éste sostiene al píleo, puede ser recto o curvado y comúnmente cilíndrico.
- ☞ **Anillo.** Parte residual procedente del velo y situado bajo el sombrero cuando éste se expande, tiene como misión proteger el himenio y facilitar la maduración de esporas.
- ☞ **Volva.** Parte subterránea y membranosa que rodea la base del pie de algunas especies en formas de círculos, cónicas o libres, de pie esférico.

Lentinula edodes se caracteriza por crecer en troncos, por su consistencia subcarnosa y no tener anillo, ni volva; los esporóforos de forma silvestre son de color café claro u oscuro con tonos rojizos levemente convexo a plano-convexo en la madurez. En ocasiones el píleo mide de 5 a 12 cm de diámetro, la superficie se encuentra cubierta por escamas blanquecinas especialmente a su alrededor (Solomon *et al.*, 1996).

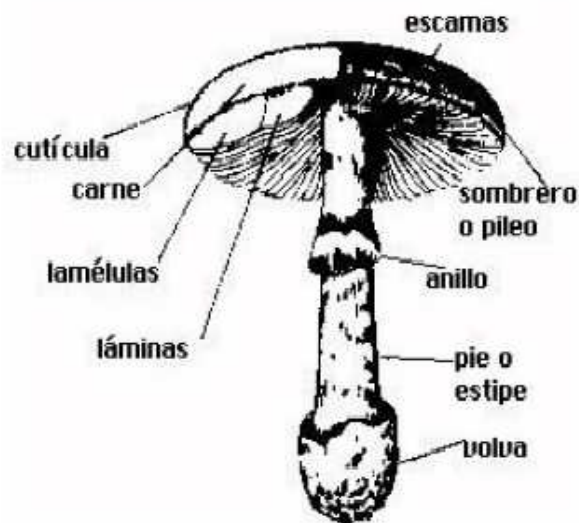


Fig. 1: Morfología de un hongo macromiceto (Solomon *et al.*, 1996).

3.3 Requerimientos nutricionales

Los requerimientos nutricionales del micelio son relativamente simples y por ser un organismo heterótrofo necesita de una fuente externa de carbono orgánico. Tanto la presión del oxígeno, como el pH ejercen efectos sobre procesos metabólicos y, por ende, sobre la capacidad de emplear ciertas sustancias para sus necesidades nutricionales (Miles y Chang, 1997).

Los compuestos vegetales constituyen el principal componente del sustrato para los hongos en la naturaleza, por su contenido de celulosas, hemicelulosa y lignina. Las enzimas extracelulares excretadas por las hifas degradan estos polisacáridos insolubles hasta unidades solubles, que son llevados a las células y utilizados en las diferentes vías metabólicas de glicólisis, ciclo de Krebs y vía de las pentosas, con el fin de obtener energía y sintetizar las estructuras fúngicas. El suministro de nitrógeno

puede provenir de sales como el nitrato y el ión amonio o de compuestos orgánicos, como los aminoácidos. Los compuestos nitrogenados son necesarios para la síntesis de: proteínas, purinas, pirimidinas y quitina (componentes de su pared celular). El crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos se ven afectados no sólo por los factores nutricionales, sino también por los factores ambientales. *Lentinula edodes* crece dentro de un rango de pH de 3 a 6, con un óptimo de 4.5 a 5.5 en la fase vegetativa, y de 3.5 a 4.5, para la formación de los primeros primordios en la fase reproductiva (Ishikawa, 1967). La temperatura es uno de los factores más estudiados, está relacionado con la actividad enzimática, la cual generalmente aumenta a medida que lo hace la temperatura. Pero este aumento cesa cuando se llega a un valor máximo, debido a que las proteínas se pueden desnaturalizar interrumpiendo así, el crecimiento del hongo. La temperatura óptima del crecimiento vegetativo de *Lentinula edodes* es de 25°C. Por debajo de 5°C o por encima de 35°C el crecimiento del micelio se detiene, y bajo temperaturas más elevadas como 45°C en medio líquido, el micelio muere después de 40 minutos (Chang y Hayes, 1978).

Humedad

Los niveles óptimos de humedad se deben controlar, debido a que es un factor importante en las diferentes etapas del desarrollo del hongo. Por lo general se maneja una humedad relativa del ambiente de 50 - 75% en la fase vegetativa de *Lentinula edodes* y de 80-95% en la etapa de fructificación (Chang y Hayes, 1978). Estos valores permiten un desarrollo favorable en las diferentes etapas de crecimiento.

Iluminación

Debido a que *Lentinula edodes* es fototrófico, la luz es otra condición necesaria, en especial en la fase reproductiva de su ciclo vital, siendo requerida para la formación del cuerpo fructífero. El nivel óptimo de luz es de 50-100 unidades lux, durante la etapa de fructificación (Chen, 2005).

Aireación

Shiitake es un organismo aeróbico, y durante sus diferentes etapas de crecimiento necesita diferentes concentraciones de oxígeno, requiriéndose mayores niveles de oxígeno durante la fase reproductiva que durante la fase vegetativa. Una buena ventilación con aire fresco es necesaria en la etapa de fructificación para dispersar las altas concentraciones de dióxido de carbono acumuladas durante la etapa de crecimiento micelial (Chen, 2005).

3.4 Propiedades medicinales de los principales compuestos aislados de shiitake.

Lentinan:

Es un polisacárido altamente purificado de alto peso molecular, libre de nitrógeno, fósforo, azufre y cualquier otro elemento que no sea carbono, oxígeno e hidrógeno. Es soluble en agua, estable al calor, estable en medio ácido e inestable en medio básico (Aoki, 1998a).

Es un compuesto de la pared celular, extraído de los cuerpos fructíferos y el micelio de *Lentinula edodes*. Contiene propiedades anti-cancerígenas, probó ser exitoso en el tratamiento de pacientes infectados con VIH que presentaban bajos niveles de células T, ya que se probó que activaba estas células y se ha probado que tiene actividad anti-bacterial (Hyunjong y Hobbs, 2005).

Extracto micelial de *Lentinula edodes*

Este extracto contiene proteína, azúcares (pentosas como xilosa y arabinosa, además de glucosa y pequeñas cantidades de galactosa, manosa y fructosa); derivados de ácidos nucleicos; vitaminas del complejo B (B₁ o tiamina y B₂ o riboflavina); ergosterol, eritadenina y lignina hidrosoluble (Hahafusa, 1990).

Este extracto ha demostrado que potencia el efecto de AZT (medicamento utilizado en el tratamiento de VIH) para evitar la replicación de virus *in vitro*. Así mismo un estudio clínico realizado por el Dr. Amagase (1987), reporta que al administrar 6 g/día de LEM en forma oral durante 4 meses a 40 pacientes con hepatitis crónica, los síntomas de la hepatitis B fueron aliviados, y el virus fue inactivado.

KS-2:

Es un polisacárido con uniones α -manosa y una pequeña cantidad de péptidos. Se han realizado estudios con ratones a los que se les administró una dosis de 1-100 mg/kg de peso corporal, por vía oral e intraperitoneal demostraron que este polisacárido inhibe el crecimiento de tumores (Hyunjong y Hobbs, 2005).

JLS:

Compuesto derivado del micelio que contiene lignina, polisacáridos y proteínas. Presentado la habilidad de bloquear la liberación del virus infeccioso *Herpes simplex* tipo I en animales (Hahafusa, 1990).

Eritadenina

Es un derivado del ácido nucleico y se cree que es el responsable de que shiitake tenga la habilidad de reducir el colesterol y los lípidos en sangre (Yamamura y Cochran, 1974).

EPS y EPS4:

Son compuestos con ligninas hidrosolubles, que presentan actividad inmunológica contra *Herpes simplex*, encefalitis, virus de la polio, sarampión, paperas y VIH (Susuki, 1989; Sorimachi, 1990).

3.5 Formas de cultivo.

La forma tradicional de cultivo de *Lentinula edodes*, ha sido la siembra de micelio (semilla de grano) en troncos de árboles de hoja ancha, tales como encino, hayas, abedul, álamos, sauces. La semilla o inóculo, pueden obtenerse sobre diferentes sustratos o granos de cereales como: trigo, cebada, mijo o sorgo y algunas virutas de aserrín de diferentes maderas. Todos los materiales para preparar el inóculo de grano deben esterilizarse antes de la inoculación con el hongo.

Para su cultivo en troncos se cortan los troncos sanos, de un metro de largo y 12-15 cm de diámetro, preferiblemente en invierno o a principios de la primavera, por dos razones principales, el micelio de shiitake requiere carbohidratos para su crecimiento; y los carbohidratos en la madera se encuentran en mayor concentración en los árboles que aun no entran en el período de germinación.

Al tronco se le realizan perforaciones de 1 cm de diámetro x 2.5 cm de profundidad, cada 20 cm a lo largo. A cada tronco se le hacen entre 4 y 8 hileras de

perforaciones, dependiendo de su grosor. En cada perforación se insertan las semillas del inoculo de grano, posteriormente los agujeros son cubiertos con cera, de esta forma se evita la deshidratación y muerte del micelio del hongo (Quimio, 1990).

Los troncos son incubados a la sombra en mallas o bosques y en lugares relativamente húmedos, si es posible éstos son cubiertos con paja o plástico, para propiciar una humedad relativa de 60 a 75% y una temperatura óptima de 25°C. En tales condiciones los troncos se incuban de 6 a 18 meses, dependiendo del tipo de madera, temperatura de incubación y condiciones ambientales (Quimio, 1990).

El desarrollo de técnicas comerciales para la producción de shiitake en bolsas, en especial a base de viruta de aserrín, fue desarrollada hace más de 30 años en Japón, Taiwán y China, en donde las mezclas para las formulaciones dependían de la disponibilidad de los materiales en las diversas regiones.

Una alternativa para el cultivo, conocida como cultivo en sustratos sintéticos, utiliza virutas y aserrín de maderas duras, adicionando suplementos como: salvado de trigo, arroz, avena, cebada (en grano entero). En ocasiones también se utilizan residuos agroindustriales, tales como tallos de plantas de maíz, cáscaras de café, residuos de oleaginosas, melaza, etc. (Mata y Pérez, 2000). Los componentes son mezclados, humedecidos a un 65% y empacados en forma compacta en bolsas tolerantes al calor (polipropileno). A continuación los sustratos son esterilizados en autoclave a 121°C por una hora (Miles y Chang, 1997). Una vez frío, el sustrato se inocula con la semilla de *L. edodes*, la cual proviene de granos de cereales inoculados con el hongo.

Las bolsas son cerradas y agitadas para dispersar la semilla y posteriormente se incuban dentro de un cuarto o cámara a 24°C en oscuridad. La superficie ya colonizada empieza a pigmentarse de un color café oscuro, con la presencia de ciertas aglomeraciones del micelio, que posteriormente son las que darán origen a los primeros primordios.

Dependiendo de la cantidad de inoculo y el tamaño de las bolsas con sustratos utilizadas, la incubación puede demorar de 1 a 4 meses, posteriormente se produce una capa gruesa de micelio en la superficie, acompañado de primordios o pequeñas elevaciones de micelio compacto que pueden terminar en fructificación. En la etapa de fructificación se debe mantener la humedad del medio ambiente entre 80 y 90%,

por medio de riegos frecuentes (cada 6 horas) seguidos por periodos de ventilación (1 a 2 horas) además de iluminación constante.

El número de cosechas depende del sustrato utilizado, y el rendimiento del sustrato se evalúa por medio de la eficiencia biológica:

$$\% \text{ Eficiencia biológica} = \frac{\text{peso fresco de hongo}}{\text{peso seco del sustrato}} \times 100$$

En México se han adaptado técnicas para reducir los ciclos de producción, modificándose y mejorándose para bajar costos y aumentar las producciones, utilizando materiales antes no considerados, así como varios subproductos agrícolas. En los diversos procesos controlados de aprovechamiento de desechos agrícolas y forestales del mundo, ninguno es comparable al del cultivo de hongos comestibles.

4. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de shiitake ha tenido un crecimiento considerable en todo el mundo, sin embargo, en México su cultivo a escala comercial tiene poco tiempo de haber comenzado y se realiza en forma limitada.

Este tipo de cultivo representa una alternativa viable para el tratamiento de residuos agroindustriales, además de ofrecer ventajas sociales como la generación de empleos y beneficios económicos a los productores de dicho hongo.

Existen diversos estudios sobre *Lentinula edodes*, que en conjunto brindan información de gran utilidad para la optimización de su cultivo y producción. Entre las variables más estudiadas se encuentran las diversas formulaciones del sustrato, evaluación del efecto del choque térmico sobre el rendimiento de los sustratos y el uso de diferentes tipos de aserrín para los sustratos. Sin embargo para el tiempo de incubación hay muy pocos reportes, a pesar de ser uno de los factores más importantes que se deberían considerar para lograr mayores rendimientos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes tiempos de incubación (6, 7, 8, y 9 semanas) con 3 cepas de *Lentinula edodes* (L5, L9 y L15), sobre la eficiencia biológica para ser comparados con el tiempo de incubación de 10 semanas sugerido en la literatura como el tiempo óptimo de incubación.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- ✧ Determinar el tiempo óptimo de incubación de tres cepas de *L. edodes* para obtener mayor producción de hongos.

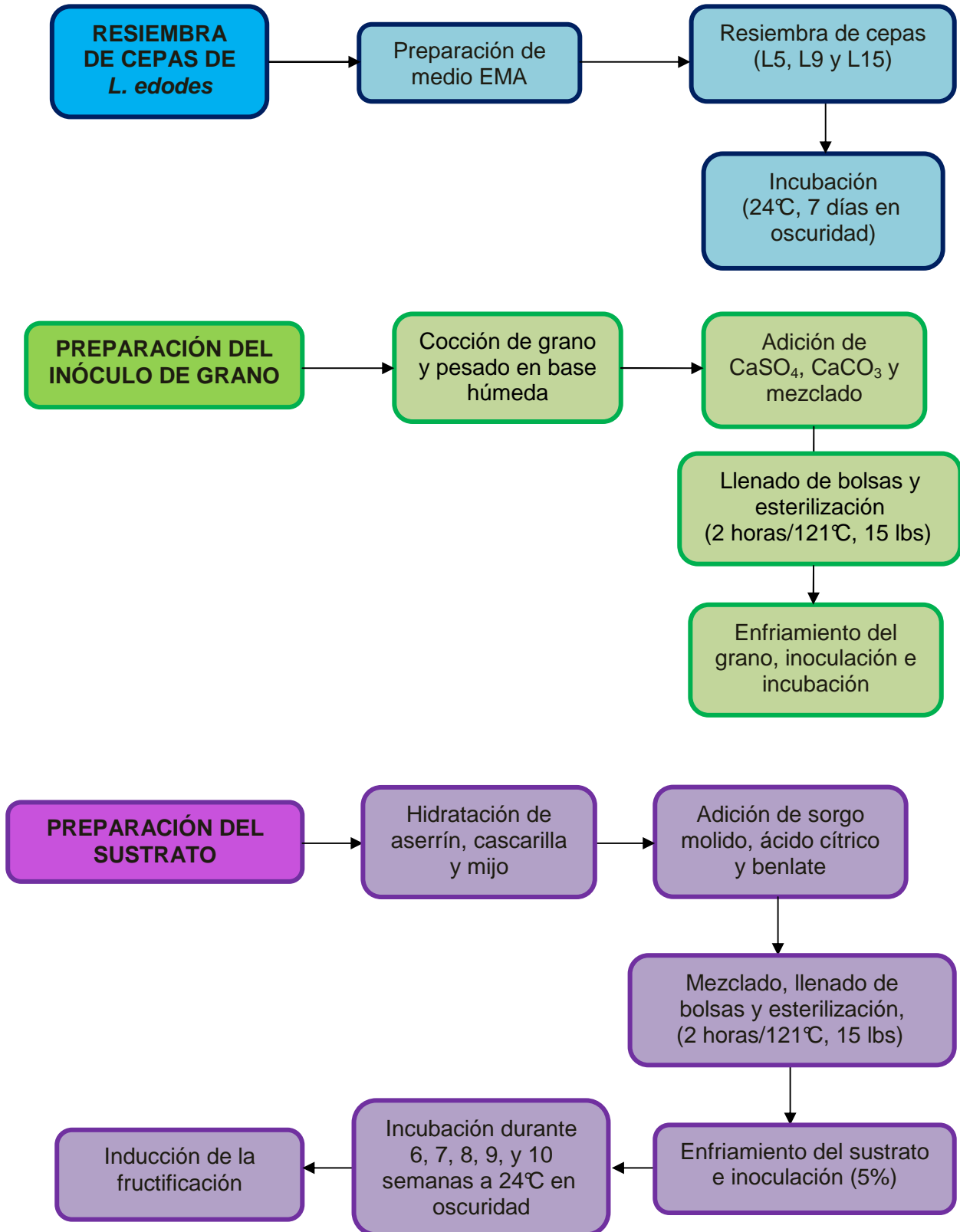
5.2 Objetivos particulares

- ✧ Evaluar si existen diferencias significativas en la eficiencia biológica de tres cepas de *L. edodes* debidas al efecto del tiempo de incubación (6, 7, 8 y 9 semanas), con respecto al tiempo de 10 semanas considerado como el óptimo de incubación para su cultivo.
- ✧ Determinar si existe un mismo tiempo de incubación óptimo para las tres cepas de *L. edodes* evaluadas.

6. HIPOTESIS

Si el tiempo de incubación es un factor que influye directamente sobre la producción de hongos, se espera que al reducir el tiempo de incubación al tiempo de invasión total del sustrato los rendimientos obtenidos sean semejantes a los obtenidos en mayores tiempos de incubación.

7. DIAGRAMA GENERAL DE SECUENCIA EXPERIMENTAL



8. METODOLOGÍA

8.1 Material biológico.

Las cepas de *Lentinula edodes* utilizadas fueron obtenidas de varias fuentes, cepa L5 donada por el Dr. Ian Reid del “Consejo de Investigación Nacional de Canadá” y las cepas L9 y L15 fueron donadas por el Dr. Tai-Soo Lee del “Instituto de Investigación Forestal de Corea”. Las cepas se mantuvieron en refrigeración en un medio de agar extracto de malta en el cepario del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM.

La cepa L5 se distingue de la L9, por producir hongos más grandes, pero en menor cantidad, mientras que la cepa L9 ofrece altos rendimientos pero el tamaño de sus hongos es pequeño.

8.2 Preparación del medio extracto malta agar (EMA).

Para preparar 500 mL del medio, se pesaron 7.5 g de extracto de malta en un matraz Erlenmeyer de 1 litro y se disolvieron en 100 mL de agua destilada, se agitó hasta disolverse. Posteriormente se pesaron 9 g de agar bacteriológico, se agitó nuevamente para conseguir una mezcla homogénea y se agregaron 400 mL de agua destilada. Se tapó el matraz y esterilizó en autoclave a 121°C y 15 libras de presión por 50 minutos. Del medio estéril se vaciaron 12 mL en cajas Petri estériles con la ayuda de una jeringa de llenado continuo. Una vez que el medio solidificó se guardaron las cajas en bolsas de polietileno e incubaron a 24°C por 24 horas para verificar su esterilidad.

8.3 Propagación vegetativa del micelio.

Después de verificar la esterilidad del medio, las cajas se sembraron con pequeños cuadros cortados de las cepas mantenidas en refrigeración (L5, L9 y L15). Las cajas inoculadas se incubaron a 24°C hasta que el micelio invadió completamente el medio de la caja Petri, este crecimiento micelial se utilizó para inocular la semilla de trigo.

8.4 Inóculo de grano.

El inóculo de grano fue el medio donde el hongo se propagó para ser usado en la inoculación de los sustratos, generalmente se utilizan granos de trigo, mijo o sorgo, en este caso se utilizaron granos de trigo, los cuales se pesaron, lavaron y sometieron a un proceso de cocción de aproximadamente 50 minutos, después, se enjuagaron con agua fría para detener la cocción, se drenó el exceso de agua y se volvió a pesar el grano frío. Con base en el peso húmedo se añadió CaSO_4 y CaCO_3 al 1.3 y 0.3% respectivamente. De la mezcla anterior se colocaron 300 g de grano en bolsas de polipapel y se esterilizaron en autoclave por 2 horas a 121°C y 15 libras presión. El grano estéril se dejó enfriar para inocularse con el micelio que previamente se desarrolló en placas con EMA. Las cajas con el crecimiento micelial de cada cepa se cortaron en cuadros de 1 cm^2 aproximadamente, con una aguja micológica estéril y cada caja se transfirió a cada bolsa con el grano de trigo estéril. A continuación las bolsas se agitaron en forma manual para dispersar el micelio, se cerraron con cinta adhesiva e incubaron a 24°C en total oscuridad hasta que los granos fueron completamente invadidos por el micelio.

8.5 Preparación del sustrato y fructificación.

El sustrato se preparó de acuerdo a la formulación establecida en la tabla 3 y sólo se debe cuidar que la humedad final sea del 60%. Para determinar el contenido de humedad del sustrato se tomó el peso húmedo inicial de la muestra y se sometió a un secado a 60°C hasta llegar a peso constante. El contenido de humedad se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

Peso inicial: Peso de la muestra húmeda.

Peso final: Peso de la muestra seca.

Para cada variable (cepa y tiempo de incubación) se prepararon 10 bolsas con 1.5 kg de sustrato. Así en cada experimento se preparó un total de 90 bolsas de sustrato que se dividieron en 3 lotes de 30 bolsas cada uno. El sustrato ya empacado en bolsas de polipapel se esterilizó en autoclave durante 2 horas a 121°C . Una vez que

los sustratos se enfriaron se inocularon con el grano de trigo en una proporción del 5%, y se dejaron incubar los tiempos establecidos en cada experimento. Una vez completado el tiempo de incubación se retiraron las bolsas que cubrían los sustratos y cada sustrato fue rotulado con una etiqueta que indicaba: cepa, tiempo de incubación, número de repetición, fecha de incubación y de transferencia al cuarto de fructificación.

Una vez que los sustratos fueron colocados en el área de fructificación, en donde se mantenían condiciones para inducir la fructificación, temperatura entre 16 y 20°C, alta humedad relativa (4 riegos por día de 20 minutos cada uno), y ventilación (2 horas de ventilación, 1 hora después de cada riego) con iluminación artificial continua.

Tabla 3. Composición del sustrato empleado para la evaluación

Componentes del sustrato	Composición (g/100 g mezcla)
Aserrín	50
Cascarilla de algodón	36
Mijo	6
Sorgo molido	6
Sulfato de amonio	0.5
Acido cítrico	0.5
Benlate	1

8.6 Cosecha de hongos

Después de 2 semanas de haber pasado los sustratos al cuarto de fructificación inició la formación de primordios. El momento óptimo para su cosecha fue cuando los bordes del sombrero no se habían expandido por completo. Los hongos cosechados fueron pesados de manera individual para cada bolsa de sustrato (tiempo de incubación y cepa) durante 10 semanas de cosecha. Con esta información se calculó la producción diaria, producción semanal y producción

semanal acumulada. Posteriormente con los valores del peso seco del sustrato se calculó la eficiencia biológica semanal (EBS) y semanal acumulada (EBSA).

La eficiencia biológica se calculó con la siguiente fórmula:

$$EB (\%) = \frac{g \text{ de hongo fresco}}{g \text{ de sustrato seco}} * 100$$

Se determinó la humedad del sustrato después de la esterilización para calcular el peso seco en cada bolsa a partir de los pesos de cada bolsa de sustrato después de la inoculación.

$$\text{Cantidad de sustrato seco por bolsa (g)} = \left(\frac{g \text{ de sustrato fresco} * (100 - \text{Humedad} (\%))}{100} \right)$$

8.7 Análisis estadístico.

Con los valores de eficiencia biológica acumulada obtenidos para cada cepa en cada uno de los tiempo de incubación de cada experimento se realizó un análisis de varianza y por medio de la prueba de rango múltiple de Duncan se identificó la semana donde se obtuvo su rendimiento máximo significativo (RMS) es decir la semana donde los incrementos posteriores en la eficiencia biológica ya no fueron estadísticamente significativos. Con los valores del RMS de las tres cepas en los tres tratamientos de incubación evaluados en cada experimento se realizó un segundo análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para las variables: cepas, tiempo de incubación y la interacción cepas x tiempo de incubación y con la prueba de Duncan se identificó el tiempo óptimo de incubación para cada cepa.

9. RESULTADOS

En este trabajo se realizaron dos experimentos para evaluar el efecto del tiempo de incubación sobre la eficiencia biológica de 3 cepas de *L. edodes*. En el primer experimento se evaluaron los tiempos de incubación de 6, 8 y 10 semanas; y en el segundo experimento los tiempos de incubación de 7, 9 y 10 semanas. Una vez que se cumplió con el tiempo de incubación, los sustratos fueron transferidos al cuarto de fructificación. Cuando aparecieron los primeros hongos, se cuantificó la producción diaria de hongos durante 10 semanas de cosecha para cada bolsa de sustrato sometida a los diferentes tiempos de incubación. Con los valores de producción diaria se calculó la eficiencia biológica semanal y la eficiencia biológica semanal acumulada ($EB = \text{g hongo fresco} / 100 \text{ g de sustrato seco}$).

Con los valores de EBA (eficiencia biológica acumulada) obtenidos en los dos experimentos para el tiempo de incubación de 10 semanas se realizó un análisis de varianza (Anexo 1: Tabla 10) para observar si no existía diferencia estadísticamente significativa en los resultados obtenidos en los dos experimentos. Sin embargo, el análisis estadístico indicó diferencias altamente significativas entre ambos experimentos, razón por la cual se interpretó cada experimento en forma independiente.

9.1 Primer experimento

En las tablas 4 y 5 se presentan los resultados de eficiencia biológica semanal (EBS) y eficiencia biológica semanal acumulada (EBSA) obtenidos para las tres cepas de *Lentinula edodes* incubadas por 6, 8 y 10 semanas.

Tabla 4. Eficiencia biológica semanal (g de hongos frescos/ 100 g de sustrato seco) de 3 cepas de *Lentinula edodes*, incubadas por 6, 8 y 10 semanas.

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal (g de hongo fresco/ 100 g de sustrato seco)								
	Cepa L5			Cepa L9			Cepa L15		
	Tiempo de incubación (semanas)								
	6	8	10	6	8	10	6	8	10
1	6.4±4.7	7.4±14.9	12.7±19.5	62.0±11.8	12.2±10.9	36.2±24.3	33.8±19.0	10.3±14.2	63.2±6.9
2	9.7±10.6	15.1±20.3	46.2±29.6	4.4±5.2	30.5±19.8	1.3±1.5	10.4±14.9	22.1±19.3	1.8±2.5
3	13.7±12.2	27.2±27.00	14.2±13.2	12.3±10.9	9.1±11.4	0.56±1.1	15.3±13.2	6.9±9.6	14.6±7.6
4	18.8±9.2	14.9±7.7	0.08±0.07	10.9±13.1	0.1±0.11	0.08±0.06	5.3±12.0	29.4±8.9	0±0
5	2.3±3.8	15.2±9.6	0.02±0.03	0.9±1.8	0.0±0.01	0±0	8.8±13.1	0±0	0.0±0.01
6	0±0	0.1±0.06	0.01±0.01	0.03±0.06	0±0	0±0	0.02±0.02	0.03±0.04	0±0
7	0.02 ±0.04	0.0± 0.02	0.03±0.05	0.10 ±0.12	0.02 ±0.03	0±0	0±0	0.0 ±0.01	0±0
8	0.03 ±0.06	0±0	0.04 ±0.08	0±0	0.05 ±0.11	0±0	0±0	0.03 ±0.04	0.02 ±0.05
9	0±0	0±0	0±0	0±0	0.01± 0.02	0±0	0.04± 0.07	0.05 ±0.07	0.02± 0.04
10	0.04 ±0.07	0.0 0.06	0±0	0.10± 0.12	0.01 ±0.02	0±0	0.03± 0.08	0±0	0±0

Tabla 5. Eficiencia biológica semanal acumulada (g de hongos fresco/ 100 g de sustrato seco) de 3 cepas de *Lentinula edodes*, incubadas por 6, 8 y 10 semanas.

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal acumulada (g de hongos frescos/100 g de sustrato seco)								
	Cepa L5			Cepa L9			Cepa L15		
	Tiempo de incubación (semanas)								
	6	8	10	6	8	10	6	8	10
1	6.4±4.7	7.4±14.8	12.7±19.5	62.0±11.8	12.2±10.8	36.2±24.3	33.8±19.0	10.3±14.2	63.2±6.9
2	16.1±6.0	22.5±26.0	59.0±18.6	66.5±14.9	42.7±9.4	37.5±25.4	44.3±14.5	32.4±18.6	65.0±8.2
3	29.8±7.7	49.7±3.0	73.3±16.5	78.7±21.8	51.8±5.0	38.1±25.6	59.7±12.7	39.3±11.3	79.6±5.4
4	48.7±5.8	64.6±6.7	73.4±16.5	89.7±9.5	51.8±5.0	38.2±25.7	65.1±6.0	68.7±16.0	79.6±5.4
5	51.1±8.5	79.6±14.1	73.4±16.5	90.6±8.8	51.9±4.9	38.2±25.7	74.0±7.4	68.8±16.0	79.6±5.4
6	51.1±8.5	79.6±14.1	73.4±16.5	90.6±8.8	51.9±4.9	38.2±25.7	74.0±7.4	68.8±16.0	79.6±5.4
7	51.1±8.5	79.7±14.0	73.4±16.5	90.7±8.8	51.9±4.9	38.2±25.7	74.0±7.4	68.8±16.0	79.7±5.4
8	51.1±8.5	79.7±14.0	73.5±16.5	90.7±8.8	51.9±4.9	38.2±25.7	74.0±7.4	68.8±16.0	79.7±5.4
9	51.1±8.5	79.7±14.0	73.5±16.5	90.7±8.8	51.9±4.9	38.2±25.7	74.0±7.4	68.8±16.0	79.7±5.4
10	51.2±8.5	79.8±14.0	73.5±16.5	90.8±8.8	51.9±4.9	38.2±25.7	74.0±7.4	68.8±16.0	79.7±5.4
	Semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS)								

Con los resultados de EBSA obtenidos durante 10 semanas de cosecha para cada cepa y tiempo de incubación se realizó un análisis de varianza. El análisis de varianza indicó diferencias significativas o altamente significativas entre las EBSA obtenidas durante las 10 semanas de cosecha, se realizó entonces la prueba de rango múltiple de Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS) que representa el tiempo óptimo de cosecha, es decir después de esta semana las cantidades de hongos cosechados ya no representan incrementos estadísticamente significativos en la producción de hongos (Anexo 1: Tablas 11 a la 28). El RMS para las 3 cepas evaluadas con 6, 8 y 10 semanas de incubación se obtuvo a partir de la 2da y hasta 5ta semanas de cosecha, con valores de EBA entre 37.5 y 89.7%.

Posteriormente con todos los valores de la EBA obtenidos al RMS para cada cepa y tiempo de incubación se realizó un segundo análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para las variables: cepas, tiempos de incubación y la interacción cepas x tiempos de incubación.

Este análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas para la variable tiempos de incubación y para la interacción cepas x tiempos de incubación, mientras que la variable cepas no presentó diferencia significativa. Como la interacción cepas x tiempos de incubación presentó un efecto altamente significativo se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan (Anexo 1: Tabla 30), para las 9 condiciones de la interacción (3 cepas y 3 tiempos de incubación) obteniéndose una clasificación de las 9 condiciones en 4 grupos estadísticamente diferentes.

En la tabla 6 se observa que para la cepa L5 los tiempos óptimos de incubación fueron 8 y 10 semanas con EBA de 79.6 y 73.3% respectivamente. Sin embargo, el tiempo de incubación de 8 semanas es el más recomendable ya que su EB es semejante a la obtenida con 10 semanas de incubación, pero nos permite reducir el tiempo de incubación 2 semanas sin afectar los rendimientos. Para la cepa L9 el tiempo óptimo de incubación fue de 6 semanas con una EB de 89.7%, y se observó una disminución en la EB cuando el tiempo de incubación se incrementó a 8 y 10 semanas (42.7 y 37.5% respectivamente). Finalmente para la cepa L15 el tiempo óptimo de incubación fue de 10 semanas con una EB de 79.6%, valor estadísticamente semejante al obtenido con la cepa L5 incubada por 8 y 10 semanas.

Los resultados del análisis estadístico nos permitieron determinar el tiempo óptimo de incubación de cada cepa. Así para las cepas L5 y L9 el tiempo de incubación se puede reducir a 8 y 6 semanas respectivamente sin afectar su eficiencia biológica, lo cual representa una reducción significativa en el ciclo de cultivo para los productores.

Tabla 6. Clasificación de la interacción cepas x tiempos de incubación según la Prueba de Duncan al considerar la eficiencia biológica acumulada al RMS.

Cepas	Tiempos de incubación (semanas)		
	6	8	10
L5	48.7±5.8 ab	79.6±14.1 cd	73.3±16.5 cd
L9	89.7±9.5 d	42.7 ± 9.4 a	37.5 ± 25.4 a
L15	65.1±6.0 bc	68.7 ± 16.0 c	79.6 ± 5.4 cd

*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la interacción cepas x tiempos de incubación

9.2 Segundo experimento.

En las tablas 7 y 8 se presentan los resultados de eficiencia biológica semanal (EBS) y eficiencia biológica semanal acumulada (EBSA) obtenidos para las tres cepas de *Lentinula edodes* incubadas por 7, 9 y 10 semanas.

Tabla 7. Eficiencia biológica semanal (g de hongos frescos/ 100 g de sustrato seco) de 3 cepas de *Lentinula edodes*, incubadas por 7, 9 y 10 semanas

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal (g de hongos frescos/100 g de sustrato seco)								
	Cepa L5			Cepa L9			Cepa L15		
	Tiempo de incubación (semanas)								
	7	9	10	7	9	10	7	9	10
1	40.4±24.4	26.0±44.9	16.0±13.0	53.0±24.6	66.4±19.9	15.7±10.5	71.1±25.8	45.7±23.7	8.5±7.4
2	16.4±10.5	5.1±8.9	5.5±4.7	18.3±10.7	12.7±11.5	12.0±8.7	25.2±20.7	27.8±17.2	16.6±12.7
3	12.7±12.2	2.2±3.8	3.8±5.2	10.6±10.2	19.7±23.0	2.7±2.8	6.1±4.3	3.3±6.7	7.2±3.4
4	35.8±20.7	1.00±1.7	1.6±2.6	44.8±20.4	4.3±6.6	1.7±3.1	15.7±17.1	23.6±29.2	1.8±3.8
5	24.3±23.0	22.2±31.6	5.9±3.4	19.5±8.1	7.8±12.4	3.8±4.1	24.5±20.0	7.1±7.7	3.8±3.7
6	14.3±10.0	18.3±14.5	1.4±2.2	15.2±11.7	4.3±6.8	1.3±2.4	12.9±13.8	4.9±4.9	3.4±4.6
7	7.8±4.8	14.4±5.9	1.1±1.8	17.0±11.4	3.6±3.8	1.3±2.1	10.3±10.4	2.5±4.4	1.9±2.3
8	16.0±13.8	8.9±3.1	0±0	11.9±8.3	2.1±3.4	0.5±0.5	10.9±8.1	0.4±0.6	0.5±0.9
9	6.0±6.7	7.4±3.1	0.1±0.4	4.2±2.7	2.7±3.7	0.0	5.47±7.0	2.1±3.6	1.3±1.8
10	2.1±4.7	0.0	0.7±1.4	2.7±3.3	0.0	0.7±1.3	0.0	0.0	0.6±0.9

Tabla 8. Eficiencia biológica semanal acumulada (g de hongo fresco/ 100 g de sustrato seco) de 3 cepas de *Lentinula edodes*, incubadas por 7, 9 y 10 semanas.

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal acumulada (g de hongos frescos/100 g de sustrato seco)								
	Cepa L5			Cepa L9			Cepa L15		
	Tiempo de incubación (semanas)								
	7	9	10	7	9	10	7	9	10
1	40.4±24.4	26.0±45.0	16.0±21.6	53.0±24.6	66.4±19.9	15.7±10.6	71.1±25.8	45.7±23.7	8.5±7.4
2	56.8±32.2	31.2±53.9	21.6±9.9	71.3±25.7	79.2±17.7	27.8±7.0	96.4±21.4	73.5±33.6	25.1±7.1
3	69.6±20.8	33.4±57.8	25.5±7.9	82.0±33.9	98.8±11.9	30.5±6.8	102.6±25.4	76.8±34.8	32.3±5.3
4	105.4±37.3	34.3±59.5	27.1±7.9	126.0±41.7	103.1±16.6	32.3±5.9	118.4±21.9	100.4±10.3	34.1±5.5
5	129.7±25.3	56.5±52.2	33.0±8.4	145.6±45.4	111.0±15.8	36.1±8.1	142.9±16.5	107.5±10.6	37.9±7.6
6	144.1±17.0	74.8±25.2	34.5±7.8	160.8±37.9	115.3±10.6	37.5±7.3	155.9±6.4	112.5±12.2	41.3±7.2
7	152.0±18.1	89.2±12.2	35.6±7.8	177.8±31.0	118.9±10.5	38.8±6.4	166.2±12.7	115.0±10.2	43.2±6.8
8	168.1±18.0	98.2±7.0	35.6±7.8	189.8±24.6	121.0±12.0	39.4±6.7	177.1±13.1	115.3±9.8	43.7±6.8
9	174.2±18.0	105.5±11.2	35.8±7.6	194.0±22.2	123.6±12.3	39.4±6.7	182.6±18.8	117.4±9.6	45.0±6.8
10	176.3±19.3	105.5±11.2	36.5±7.3	196.8±19.0	123.6±12.3	40.2±7.7	182.6±18.8	117.4±9.6	45.6±6.7
	Semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS)								

De manera semejante al primer experimento con los resultados de EBSA de cada cepa y tiempo de incubación, por medio de un análisis de varianza y la prueba de Duncan se determinó la semana dónde se obtuvo el RMS. Como resultado se observó que el RMS para las 3 cepas evaluadas durante 7, 9 y 10 semanas de incubación se obtuvo a partir de la 5ta y hasta la 8va semanas de cosecha, con valores de EBSA entre 33 y 178%.

Posteriormente con todos los valores del RMS de cada cepa y tiempo de incubación se realizó un segundo análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para las variables: cepas, tiempos de incubación y la interacción cepas x tiempos de incubación. El análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas para la variable tiempos de incubación y para la interacción cepas x tiempos de incubación, mientras que la variable cepas no presentó diferencia significativa. Como la interacción cepas x tiempos de incubación presentó un efecto altamente significativo, se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan (Anexo 2, Tabla 50), para las 9 condiciones de la interacción (3 cepas y 3 tiempos de incubación). Los resultados de la prueba de Duncan clasificaron a las 9 condiciones en 5 grupos estadísticamente diferentes.

En la tabla 9 se presenta la EBA al RMS de las tres cepas evaluadas durante 7, 9 y 10 semanas de incubación. Para las tres cepas se observa que el tiempo óptimo de incubación fue de 7 semanas, con eficiencias biológicas de 168.1 para la cepa L5, 177.8% para la cepa L9 y 155.9% para la cepa L15, siendo las cepas L5 y L9 las más productivas en este experimento.

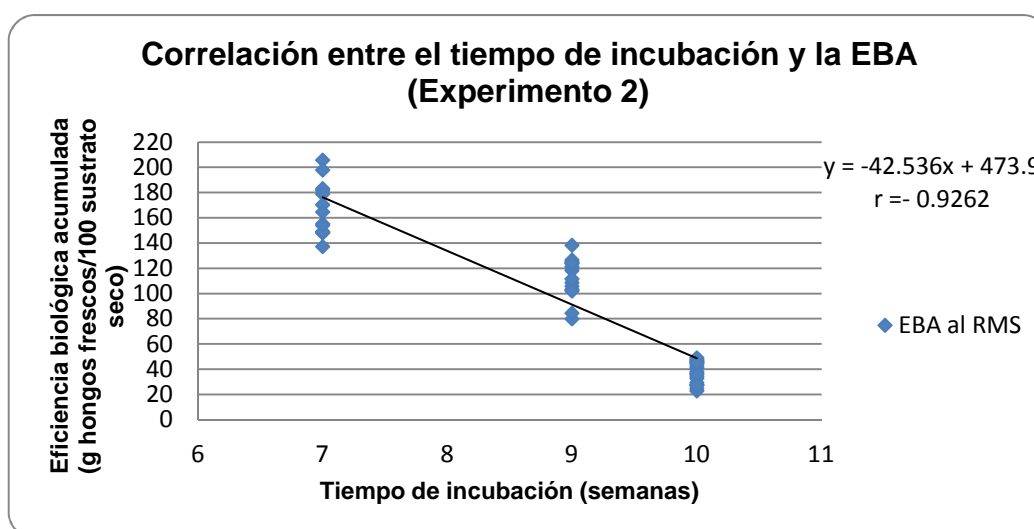
Tabla 9. Clasificación de la interacción cepas x tiempos de incubación según la prueba de Duncan al considerar la eficiencia biológica acumulada al RMS

Cepas	Tiempos de incubación (semanas)		
	7	9	10
L5	168.1±18.0 de	56.5±52.2 b	33.0±8.4 a
L9	177.8±31.0 e	111.0±15.8 c	36.1±8.1 a
L15	155.9±6.4 d	107.5±10.6 c	41.3±7.2 a

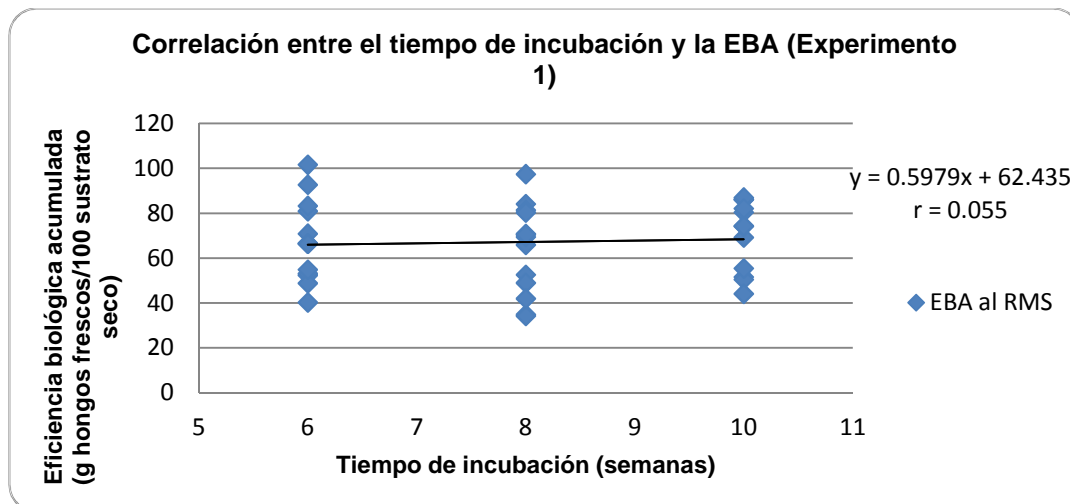
*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la interacción cepas x tiempos de incubación

En este experimento se observó adicionalmente una correlación inversa entre el tiempo de incubación y la EBA de cada cepa, ya que a medida que el tiempo de incubación se incrementó se observó una disminución en las EBA. En la grafica 1 se observa la correlación inversa que existe entre el tiempo de incubación y las eficiencias biológicas del segundo experimento ($r = 0.9262$), y se compara con la grafica 2 que corresponde al experimento 1 donde no se observó ningún tipo de correlación entre los tiempos de incubación y las eficiencias biológicas.

Grafica 1. Correlación entre el tiempo de incubación y la EBA (experimento 2)



Grafica 2. Correlación entre el tiempo de incubación y la EBA (experimento 1)



Con los resultados obtenidos en ambos experimentos a continuación se describe el tiempo óptimo de incubación para cada cepa en cada experimento:

Cepa L5

En el primer experimento produjo la mayor EBA cuando fue incubada por 8 y 10 semanas (79.6 y 73.3% respectivamente), mientras que en el segundo experimento la mayor EBA se obtuvo al incubar por 7 semanas (168%).

Cepa L9

Para esta cepa la mayor EBA se obtuvo en el primer experimento cuando se incubó por 6 semanas (89.7%), mientras que en el segundo experimento la mayor EBA se obtuvo al incubar por 7 semanas (177.8%)

Cepa L15

En el primer experimento la mayor EBA se obtuvo al incubar por 10 semanas (79.6%) y en el segundo experimento la mayor EBA se obtuvo al incubar por 7 semanas (155.9%).

Comportamiento de la producción de las tres cepas evaluadas en ambos experimentos.

En el primer experimento para la cepa L5 se observó un incremento significativo en la EBA al pasar de 6 a 8 semanas y al prolongar el tiempo de incubación a 10 semanas ya no se observó un incremento significativo en la EBA. Para la cepa L15 también se observó un incremento significativo, pero en este caso fue al pasar de 8 a 10 semanas de incubación. Estos incrementos en los rendimientos muy probablemente se debieron a que en el primer experimento los sustratos fueron sometidos a un período de choque térmico en agua fría (24 horas) después de las 6 semanas de cosecha. Este tratamiento se recomienda en la literatura para incrementar el contenido de humedad en los sustratos y así reactivar la producción de hongos. Sin embargo, para la cepa L9 es probable que el período de inmersión en agua fría haya sido muy corto, ya que a las 6 semanas de cosecha la producción de hongos fue mucho mayor (89%), que para las cepas L5 y L15 (49 y 65% respectivamente), lo cual ocasionó una mayor pérdida de humedad en el sustrato para esta cepa y por ello no fue posible recuperar la humedad del sustrato para reactivar nuevamente la producción de hongos.

En el segundo experimento como ya se mencionó previamente para las tres cepas se obtuvo la mayor EBA a las 7 semanas de incubación y en este caso como no se dio el tratamiento de choque térmico a los sustratos se observó un decremento significativo en la producción de hongos a medida que el tiempo de incubación se incrementó. Razón por la cual los rendimientos obtenidos en ambos experimentos a las 10 semanas de incubación fueron totalmente diferentes, siendo mayores en el primer experimento para las cepas L5 y L15 cuando se dio el tratamiento de choque térmico.

10. DISCUSIÓN

Los trabajos realizados previamente en el laboratorio para el cultivo de shiitake iniciaron en el 2002 y en primer lugar se evaluaron las eficiencias biológicas de tres cepas de *L. edodes* (L5, L9 y L15) en un sustrato comercial. Como resultado Ramírez Carrillo y Leal Lara (2002) obtuvieron altas eficiencias biológicas (144, 261 y 170%). Posteriormente Rovalo, (2002) también utilizó un sustrato comercial de aserrín para evaluar el efecto del tiempo de incubación (6, 8 y 10 semanas) y observó que con periodos largos de incubación (10 semanas) se obtenían mayores valores de EB (L5: 78, L9: 123 y L15: 100%). Sin embargo, estos valores fueron muy inferiores a los obtenidos previamente. Con el objeto de contar con un sustrato de composición conocida Mireles y López (2005), evaluaron 8 diferentes formulaciones de sustratos, obteniendo como el sustrato más productivo el formulado con 50% de aserrín, 30% de mijo y 15% de salvado de trigo. Este sustrato produjo eficiencias biológicas del 36 y 77% para las cepas L5 y L9; valores de nuevo muy inferiores a los obtenidos en el primer experimento (Ramírez y Leal, 2002). Posteriormente Ayala (2008) evalúa el efecto de 2 tiempos de incubación uno corto y uno largo (5 y 10 semanas) y de las resiembras sucesivas de las cepas L5 y L9 de *L. edodes* sobre la EB, utilizando el sustrato más productivo reportado por Mireles y López. Como resultado reportó EB de 90 y 114% para las cepas L5 y L9 cuando el sustrato fue incubado por 10 semanas y las cepas no habían sido sometidas al efecto de resiembras sucesivas. Estos valores nuevamente siguen siendo inferiores a los obtenidos en el primer reporte, sin embargo ya son superiores a los reportados por Mireles y López (2005).

Con el fin de observar si la composición del sustrato todavía podía ser optimizada Sánchez (2010) evaluó 9 diferentes formulaciones de sustratos e identificó dos sustratos con altos rendimientos. El sustrato 1 formulado con cascarilla de algodón (36%), aserrín (50%), mijo(6%), salvado de trigo (6%) y como suplementos benlate (1%), ácido cítrico y sulfato de amonio (0.5%) produjo 79 y 101% de EB para las cepas L5 y L9. El sustrato 2 formulado con cascarilla de algodón (40%), aserrín (40%), salvado de trigo (16%), produjo 70 y 89% de EB para las cepas L5 y L9.

Considerando que los valores de EB obtenidos hasta el momento fueron cercanos al 100% de EB se inició con la evaluación en este trabajo del efecto del tiempo de

incubación, pero en este caso utilizando la composición del sustrato 1 reportado por Sánchez (2010). En este trabajo se observó que en el primer experimento nuevamente las EB de las tres cepas evaluadas no superaron el 100% de eficiencia biológica al ser incubado el sustrato por 6, 8 y 10 semanas. Sin embargo, en el segundo experimento ya fue posible obtener un incremento muy importante en las eficiencias biológicas de las tres cepas de *L. edodes* evaluadas cuando el sustrato fue incubado por 7 semanas (L5: 168; L9: 178 y L15: 156% de EB). Estos valores de EB ya fueron semejantes a los reportados en el primer trabajo para las cepas L5 y L15 (144 y 170% respectivamente) y sólo para la cepa L9 no fue posible alcanzar el valor de EB previamente obtenido (261%). Además es importante considerar que el reporte de Ramírez Carrillo y Leal Lara (2002) reportó la EBA al tercer brote para las cepas L5, L9 y L15 (144, 261 y 170% respectivamente) y en este caso los valores de EBA se reportan al rendimiento máximo significativo, razón por la cual son ligeramente inferiores. Sin embargo, si en este estudio se consideran los valores de EBA obtenidos a las 10 semanas de cosecha (aproximadamente 3 brotes) corresponden a 176, 196 y 182% para las cepas L5, L9 y L15 respectivamente. Los cuales son superiores para las cepas L5 y L15 y sólo fueron inferiores para la cepa L9, con la ventaja adicional que en este estudio ya se utilizó un sustrato de composición conocida.

En la literatura los reportes sobre el cultivo de shiitake están tratando de abarcar otro tipo de variables involucradas en su proceso de cultivo. Como ejemplo esta el artículo de Quin *et al.* (2008), donde evalúan la producción de shiitake en bolsas de polipropileno con diferentes porosidades. Las eficiencias biológicas obtenidas son muy satisfactorias para ellos Sin embargo, están muy por debajo de las eficiencias biológicas obtenidas en nuestro laboratorio, lo que indica que hasta este punto ya fue posible lograr en una etapa previa la optimización de la composición del sustrato y con este estudio fue posible conjugarlo con la optimización del tiempo de incubación del sustrato.

Finalmente otro parámetro que fue evaluado recientemente en nuestro grupo de trabajo con respecto al cultivo de shiitake fue el efecto del choque térmico para inducir la fructificación (Morales, 2011). Como resultado de dicho trabajo se observaron incrementos significativos en las EBA al comparar su tratamiento control sin choque térmico (L5 = 15%, L9 = 29% y L15 = 48%) con respecto al

choque térmico por inmersión en agua fría durante 48 horas (L5 = 121%, L9 =168% y L15 = 135%). Estos valores al ser comparados con nuestros resultados obtenidos en el segundo experimento a las 7 semanas de incubación, son mayores para las cepas L5 y L15 (168 y 155% respectivamente), mientras que para la cepa L9 su EBA es muy semejante (177%). Como resultado de esta comparación es posible que en nuestro caso se logre un incremento significativo en las EBA para las 9 y 10 semanas de incubación siempre y cuando el sustrato sea sometido a un tratamiento de choque térmico para inducir la fructificación después de las 7 semanas de cosecha. Lo cual se confirma al observar el comportamiento de las cepas en nuestro primer experimento donde si se realizó un tratamiento de choque térmico, pero en este caso de tan sólo 24 horas.

Cada día los hongos van teniendo mayor importancia en la alimentación ya que ofrecen grandes beneficios medicinales y alternativas ricas en nutrientes para todas aquellas personas que tienen un consumo restringido, debido a alguna condición de salud. Por otro lado el mercado de hongos comestibles cultivados está teniendo grandes ganancias y actualmente la producción mundial supera los 7 millones de toneladas por año, valor que representa ingresos superiores a los 30 billones de dólares.

Desafortunadamente en México el consumo de hongos comestibles cultivados es relativamente bajo, pero trabajos como este pueden ayudar a que se difundan los beneficios que tienen estos productos y la población incremente el consumo de hongos, como un producto de alta calidad nutricional, con características nutraceuticas y accesible.

11. CONCLUSIONES

- ☞ En el primer experimento el tiempo óptimo de incubación para cada cepa fue diferente (L5 = 8 y 10 semanas; L9 = 6 semanas y L15 = 10 semanas).
- ☞ En el primer experimento las máximas EBA obtenidas fueron de 79% (cepas L5 y L15) y 89% (cepa L9).
- ☞ En el primer experimento las cepas L5 y L15 presentaron un incremento significativo en su EBA al aumentar el tiempo de incubación (L5 de 48.7 a 79.6% de la 6ta a la 8va semanas de incubación y L15 de 65.1 a 79.6% de la 6ta a la 10ma semana de incubación).

- ☞ En el segundo experimento se observó que el tiempo óptimo de incubación para las tres cepas evaluadas fue de 7 semanas (L5 = 168, L9 = 177 y L15 = 155%).
- ☞ En el segundo experimento también se observó una correlación inversa ($r = -0.9262$) entre el tiempo de incubación y la EBA, es decir a medida que se incrementó el tiempo de incubación se observó una disminución en la EBA. Esta disminución probablemente fue ocasionada por la falta de un tratamiento de choque térmico.
- ☞ Las cepas más productivas fueron L5 y L9 incubadas por 7 semanas (168 y 177% respectivamente).
- ☞ Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el tiempo de incubación de 10 semanas recomendado en la literatura, probablemente pueda producir mayores rendimientos, si el sustrato es sometido a un tratamiento de choque térmico.

12. ANEXO 1

Tabla 10. Análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para el experimento 1 y el experimento 2

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Experimentos	6011.04	1	6011.04	21.77	4.16	7.53	**
Error	8556.58	31	276.01				
Total	14567.63	32					

**Diferencia altamente significativa.

El análisis de varianza indicó que existe diferencia altamente significativa para la variable experimentos. Razón por la cual no fue posible interpretar los resultados obtenidos en los dos experimentos de manera conjunta.

Tabla 11. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha de la cepa L5, incubada por 6 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	10436.73	9	1159.63	45.59	2.25	3.15	**
Repeticiones	1087.72	3	362.57	14.25	2.96	4.60	**
Error	686.70	27	25.43				
Total	12211.16	39					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, 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 L5 incubada por 6 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPPS					Interpretación*
Semana de corte	Grupo				
	1	2	3	4	
1	6.4				6.4± 4.7 a
2		16.1			16.1 ± 6.0 b
3			29.8		29.8 ± 7.7 c
4				48.7	48.7 ± 5.8 d
5				51.1	51.1 ± 8.5 d
6				51.1	51.1 ± 8.5 d
7				51.1	51.1 ± 8.5 d
8				51.1	51.1 ± 8.5 d
9				51.1	51.1 ± 8.5 d
10				51.2	51.2 ± 8.5 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 inició el último grupo que corresponde a las letras “d”, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 4ta semana de producción.

Tabla 13. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L9, incubada por 6 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	4470.19	9	496.68	22.72	2.25	3.15	**
Repeticiones	3595.35	3	1198.45	54.83	2.96	4.60	**
Error	590.05	27	21.85				
Total	8655.60	39					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, 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 L9 incubada por 6 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
Semana de corte	Grupo			
	1	2	3	
1	62.0			62.0 ± 11.8 a
2	66.5			66.5 ± 14.9 a
3		78.7		78.7 ± 21.8 b
4			89.7	89.7 ± 9.5 c
5			90.6	90.6 ± 8.8 c
6			90.6	90.6 ± 8.8 c
7			90.7	90.7 ± 8.8 c
8			90.7	90.7 ± 8.8 c
9			90.7	90.7 ± 8.8 c
10			90.8	90.8 ± 8.8 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a la letra "c", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 4ta semana de producción.

Tabla 15. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L15 incubada por 6 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	9560.67	9	1062.29	13.25	2.15	2.95	**
Repeticiones	1548.46	4	387.11	4.83	2.63	3.89	**
Error	2885.12	36	80.14				
Total	13994.26	49					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, 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 L15 incubada por 6 semanas (experimento 1)

Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
Semana de corte	Grupo			
	1	2	3	
1	33.8			33.8 ± 19.0 a
2	44.3			44.3 ± 14.5 a
3		59.7		59.0 ± 12.7 b
4		65.1	65.1	65.1 ± 6.0 bc
5			74.0	74.0 ± 7.4 c
6			74.0	74.0 ± 7.4 c
7			74.0	74.0 ± 7.4 c
8			74.0	74.0 ± 7.4 c
9			74.0	74.0 ± 7.4 c
10			74.1	74.0 ± 7.4 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a las letra "c", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 4ta semana de producción.

Tabla 17. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L5 incubada por 8 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	26262.71	9	2918.07	49.63	2.25	3.15	**
Repeticiones	4845.32	3	1615.10	27.46	2.96	4.60	**
Error	1587.74	27	58.80				
Total	32695.77	39					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, 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 L5 incubada por 8 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS						Interpretación*
Semana de corte	Grupo					
	1	2	3	4	5	
1	7.4					7.4 ± 14.8 a
2		22.5				22.5 ± 26.0 b
3			49.7			49.7 ± 3.0 c
4				64.6		64.6 ± 6.7 d
5					79.6	79.6 ± 14.1 e
6					79.6	79.6 ± 14.1 e
7					79.7	79.7 ± 14.0 e
8					79.7	79.7 ± 14.0 e
9					79.7	79.7 ± 14.0 e
10					79.8	79.8 ± 14.0 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a la letra “e”, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción.

Tabla 19. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L9, incubada por 8 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	5597.22	9	699.65	20.75	2.30	3.26	**
Repeticiones	325.30	3	108.43	3.21	3.01	4.72	*
Error	808.95	24	33.70				
Total	6731.47	35					

** Diferencia altamente significativa

* Diferencia significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para la variable semanas, mientras que para la variable repeticiones la diferencia fue significativa, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 20. Prueba Duncan para la cepa L9 incubada por 8 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS			Interpretación*
Semana de corte	Grupo		
	1	2	
1	12.2		12.2 ± 10.8 a
2		42.7	42.7 ± 9.4 b
3		51.8	51.8 ± 5.0 b
4		51.8	51.8 ± 5.0 b
5		51.9	51.9 ± 4.9 b
6		51.9	51.9 ± 4.9 b
7		51.9	51.9 ± 4.9 b
8		51.9	51.9 ± 4.9 b
9		51.9	51.9 ± 4.9 b
10		51.9	51.9 ± 4.9 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 dónde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana dónde inició el último grupo que corresponde a la letra "b", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 2da semana de producción

Tabla 21. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L15, incubada por 8 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	20332.73	9	2259.19	51.48	2.15	2.95	**
Repeticiones	8253.24	4	2063.31	47.02	2.63	3.89	**
Error	1579.63	36	43.87				
Total	30165.60	49					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para la variable semanas y para la variable repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 22. Prueba Duncan para la cepa L15 incubada por 8 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
Semana de corte	Grupo			
	1	2	3	
1	10.3			10.3 ± 14.2 a
2		32.4		32.4 ± 18.6 b
3		39.3		39.3 ± 11.3 b
4			68.7	68.7 ± 16.0 c
5			68.8	68.8 ± 16.0 c
6			68.8	68.8 ± 16.0 c
7			68.8	68.8 ± 16.0 c
8			68.8	68.8 ± 16.0 c
9			68.8	68.8 ± 16.0 c
10			68.8	68.8 ± 16.0 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 inició el último grupo que corresponde a la letra "c", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 4a semana de producción.

Tabla 23. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L5, incubada por 10 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	13302.34	9	1478.03	27.05	2.25	3.15	**
Repeticiones	7246.30	3	2415.43	44.21	2.96	4.60	**
Error	1475.07	27	54.63				
Total	22023.71	39					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 24. Prueba Duncan para la cepa L5 incubada por 10 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
Semana de corte	Grupo			
	1	2	3	
1	12.7			12.7 ± 19.5 a
2		59.0		59.0 ± 18.6 b
3			73.3	73.3 ± 16.5 c
4			73.4	73.4 ± 16.5 c
5			73.4	73.4 ± 16.5 c
6			73.4	73.4 ± 16.5 c
7			73.4	73.4 ± 16.5 c
8			73.4	73.4 ± 16.5 c
9			73.4	73.4 ± 16.5 c
10			73.4	73.4 ± 16.5 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a la letra "c", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 3a semana de producción.

Tabla 25. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L9, incubada por 10 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	14.06	9	1.56	4.98	2.25	3.15	**
Repeticiones	19553.40	3	6517.80	20809.48	2.96	4.60	**
Error	8.45	27	0.31				
Total	19575.91	39					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 26. Prueba Duncan para la cepa L9 incubada por 10 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS			Interpretación*
Semana de corte	Grupo		
	1	2	
1	36.2		36.2 ± 24.3 a
2		37.5	37.5 ± 25.4 b
3		38.1	38.1 ± 25.6 b
4		38.2	38.2 ± 25.7 b
5		38.2	38.2 ± 25.7 b
6		38.2	38.2 ± 25.7 b
7		38.2	38.2 ± 25.7 b
8		38.2	38.2 ± 25.7 b
9		38.2	38.2 ± 25.7 b
10		38.2	38.2 ± 25.7 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 inició el último grupo que corresponde a la letra "b", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 2da semana de producción.

Tabla 27. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L15, incubada por 10 semanas (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	1936.95	9	215.21	27.95	2.15	2.95	**
Repeticiones	1136.50	4	284.12	36.90	2.63	3.89	**
Error	277.17	36	7.69				
Total	3350.63	49					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 28. Prueba Duncan para la cepa L15 incubada por 10 semanas (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS			Interpretación*
Semana de corte	Grupo		
	1	2	
1	63.2		63.2 ± 6.9 a
2	65.0		65.0 ± 8.2 a
3		79.6	79.6 ± 5.4 b
4		79.6	79.6 ± 5.4 b
5		79.6	79.6 ± 5.4 b
6		79.6	79.6 ± 5.4 b
7		79.7	79.7 ± 5.4 b
8		79.7	79.7 ± 5.4 b
9		79.7	79.7 ± 5.4 b
10		79.7	79.7 ± 5.4 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 inició el último grupo que corresponde a la letra "b", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 3ra semana de producción.

Tabla 29. Análisis de varianza de tipo factorial aleatorio, para las variables cepas, tiempos de incubación e interacción cepas x tiempos de incubación (experimento 1).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Cepas	1459.95	2	729.98	4.14	3.32	5.39	*
T. incubación	153.61	2	79.80	0.43	3.32	5.39	NS
Cepas x tiempos de incubación	9212.66	4	2303.17	13.08	2.69	4.02	**
Error	5280.59	30	176.02				
Total	16044.95	38					

** Diferencia altamente significativa.

* Diferencia significativa.

NS No existe diferencia significativa

El análisis de varianza indicó que existe diferencia significativa para la variable cepas, mientras que existe una diferencia altamente significativa en la interacción cepas x tiempo de incubación y el tiempo de incubación no presentó diferencia significativa. Como la interacción cepas x tiempos de incubación presentó diferencia altamente significativa no se deben interpretar las variables de manera independiente. Por ello se realizó la prueba Duncan para identificar el tiempo óptimo de incubación para cada cepa.

Tabla 30. Prueba Duncan para la interacción cepas x tiempos de incubación (experimento 1).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS					Interpretación*
Interacción cepas x tiempos de incubación	Grupo				
	1	2	3	4	
L9, 10 semanas	37.5				37.5 ± 25.4 a
L9, 8 semanas	42.7				42.7 ± 9.4 a
L5, 6 semanas	48.7	48.7			48.7 ± 5.8 ab
L15, 6 semanas		65.1	65.1		65.1 ± 6.0 bc
L15, 8 semanas			68.7		68.7 ± 16.0 c
L5, 10 semanas			73.3	73.3	73.3 ± 16.5 cd
L5, 8 semanas			79.6	79.6	79.6 ± 14.1 cd
L15, 10 semanas			79.6	79.6	79.6 ± 5.4 cd
L9, 6 semanas				89.7	89.7 ± 9.5 d

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

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reporta 4 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo, para identificar la interacción cepa x tiempo de incubación donde se obtuvo el mayor rendimiento, se considero la interacción cepa x tiempo de incubación donde inicia el último grupo, corresponde a la letra "d" y es conformado por la cepa L5 incubada por 8 y 10 semanas, la cepa L15 incubada por 10 semanas y la cepa L9 incubada por 6 semanas.

13. ANEXO 2

Tabla 31. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L5, incubada por 7 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	115872.61	9	740062.64	65.88	2.15	2.95	**
Repeticiones	16008.73	4	12874.73	2047	2.63	3.89	**
Error	7035.38	36	4002.18				
Total	138916.73	49					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 32. Prueba Duncan para la cepa L5 incubada por 7 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS								Interpretación*
Semanas de corte	Grupo							
	1	2	3	4	5	6	7	
1	40.4							40.4 ± 24.4 a
2	56.8	56.8						56.8 ± 32.2 ab
3		69.6						69.57 ± 20.8 b
4			105.4					105.42 ± 37.3 c
5				129.7				129.74 ± 25.3 d
6				144.1	144.1			144.11 ± 17.0 de
7					152.0	152.0		152.00 ± 18.1 ef
8						168.1	168.1	168.1 ± 18.0 fg
9							174.2	174.2 ± 18.0 g
10							176.3	176.3 ± 19.3 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a la letra "g", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 8va semana de producción.

Tabla 33. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L9, incubada por 7 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	105473.55	9	11719.26	71.88	2.25	3.15	**
Repeticiones	25886.89	3	8628.96	52.97	2.96	4.60	**
Error	4401.97	27	163.03				
Total	135762.23	39					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 34. Prueba Duncan para la cepa L9 incubada por 7 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS							Interpretación*
Semanas de corte	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	
1	53.0						53.0 ± 24.6 a
2	71.3	71.3					71.3 ± 25.7 ab
3		82.0					82.0 ± 33.9 b
4			126.0				126.0 ± 41.7 c
5				145.6			145.6 ± 45.4 d
6				160.8	160.8		160.8 ± 37.9 de
7					177.8	177.8	177.8 ± 31.0 ef
8						189.8	189.8 ± 24.6 f
9						194.0	194.0 ± 22.2 f
10						196.8	196.8 ± 19.0 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a la letra "f", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 7ma semana de producción.

Tabla 35. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L15, incubada por 7 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	57791.12	9	6421.23	18.15	2.25	3.15	**
Repeticiones	1281.53	3	427.17	1.20	2.96	4.60	NS
Error	9550.15	27	353.71				
Total	68622.82	39					

** Diferencia altamente significativa

NS = No existe diferencia significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para la variable semanas por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo, mientras que para la variable repeticiones no presentó diferencia significativa.

Tabla 36. Prueba Duncan para la cepa L15 incubada por 7 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS						
Semanas de corte	Grupo					Interpretación*
	1	2	3	4	5	
1	71.1					71.1 ± 25.8 a
2	96.4	96.4				96.4 ± 21.4 ab
3		102.6				102.6 ± 25.4 b
4		118.4	118.4			118.4 ± 21.9 bc
5			142.9	142.9		142.9 ± 16.5 cd
6				155.9	155.9	155.9 ± 6.4 de
7				166.2	166.2	166.2 ± 12.7 de
8					177.1	177.1 ± 13.1 e
9					182.6	182.6 ± 18.8 e
10					182.6	182.6 ± 18.8 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a la letra “e”, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 6ta semana de producción.

Tabla 37. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L5, incubada por 9 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
Semanas	29249.62	9	3249.95	4.45	2.46	3.60	**
Repeticiones	18145.90	2	9072.95	12.42	3.55	6.01	**
Error	13141.29	18	730.07				
Total	60536.82	29					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 38. Prueba Duncan para la cepa L5 incubada por 9 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPPS			Interpretación*
Semanas de corte	Grupo		
	1	2	
1	26.0		26.0 ± 45.0 a
2	31.2		31.2 ± 53.9 a
3	33.4		33.4 ± 57.8 a
4	34.3		34.3 ± 59.5 a
5	56.5	56.5	56.5 ± 52.2 ab
6	74.8	74.8	74.8 ± 25.2 ab
7		89.2	89.2 ± 12.2 b
8		98.2	98.2 ± 7.0 b
9		105.5	105.5 ± 11.2 b
10		105.5	105.5 ± 11.2 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 inició el último grupo que corresponde a la letra "b", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción.

Tabla 39. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L9, incubada por 9 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
Semanas	20818.98	9	2313.22	14.78	2.10	2.83	**
Repeticiones	3183.07	5	636.61	4.06	2.42	3.45	**
Error	7042.83	45	156.50				
Total	31044.89	59					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 40. Prueba Duncan para la cepa L9 incubada por 9 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPPS					Interpretación*
Semanas de corte	Grupo				
	1	2	3	4	
1	66.4				66.4 ± 19.9 a
2	79.2				79.2 ± 17.7 a
3		98.8			98.8 ± 11.9 b
4		103.1	103.1		103.1 ± 16.6 bc
5		111.0	111.0	111.0	111.0 ± 15.8 bcd
6			115.3	115.3	115.3 ± 10.6 cd
7			118.9	118.9	118.9 ± 10.5 cd
8				121.0	121.0 ± 12.0 d
9				123.6	123.6 ± 12.3 d
10				123.6	123.6 ± 12.3 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 inició el último grupo que corresponde a la letra "d", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción.

Tabla 41. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L15, incubada por 9 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	38015.85	9	4223.98	22.57	2.06	2.76	**
Repeticiones	11825.86	6	1970.97	10.53	2.27	3.16	**
Error	10105.81	54	187.14				
Total	59947.53	69					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 42. Prueba Duncan para la cepa L15 incubada por 9 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS					Interpretación*
Semanas de corte	Grupo				
	1	2	3	4	
1	45.7				45.7 ± 23.7 a
2		73.5			73.5 ± 33.6 b
3		76.8			76.8 ± 34.8 b
4			100.4		100.4 ± 10.3 c
5			107.5	107.5	107.5 ± 10.6 cd
6			112.5	112.5	112.5 ± 12.2 cd
7			115.0	115.0	115.0 ± 10.2 cd
8			115.3	115.3	115.3 ± 9.8 cd
9				117.4	117.4 ± 9.6 d
10				117.4	117.4 ± 9.6 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 inició el último grupo que corresponde a las letras “d”, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción.

Tabla 43. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L5, incubada por 10 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	2782.10	9	309.12	29.82	2.10	2.83	**
Repeticiones	3336.42	5	667.28	64.37	2.42	3.45	**
Error	466.45	45	10.36				
Total	6584.98	59					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 44. Prueba Duncan para la cepa L5 incubada por 10 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPPS					Interpretación*
Semanas de corte	Grupo				
	1	2	3	4	
1	16.0				16.0 ± 21.6 a
2		21.6			21.6 ± 9.9 b
3			25.5		25.5 ± 7.9 c
4			27.1		27.1 ± 7.9 c
5				33.0	33.0 ± 8.4 d
6				34.5	34.5 ± 7.8 d
7				35.6	35.6 ± 7.8 d
8				35.6	35.6 ± 7.8 d
9				35.8	35.8 ± 7.6 d
10				36.5	36.5 ± 7.3 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 inició el último grupo que corresponde a las letras "d", así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción.

Tabla 45. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L9, incubada por 10 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	3664.54	9	407.17	37.23	2.09	2.76	**
Repetición	2724.70	6	454.11	41.53	2.27	3.16	**
Error	590.43	54	10.93				
Total	6979.69	69					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo.

Tabla 46. Prueba Duncan para la cepa L9 incubada por 10 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS					Interpretación*
Semana de corte	Grupo				
	1	2	3	4	
1	15.7				15.7 ± 10.6 a
2		27.8			27.8 ± 7.0 b
3		30.5	30.5		30.5 ± 6.8 bc
4			32.3		32.3 ± 5.9 c
5				36.1	36.1 ± 8.1 d
6				37.5	37.5 ± 7.3 d
7				38.8	38.8 ± 6.4 d
8				39.4	39.4 ± 6.7 d
9				39.4	39.4 ± 6.7 d
10				40.2	40.2 ± 7.7 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 inició el último grupo que corresponde a las letras “d”, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 5ta semana de producción

Tabla 47. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas de cosecha para la cepa L15, incubada por 10 semanas (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Semanas	8605.53	9	956.17	56.80	2.06	2.76	**
Repeticiones	1819.60	6	303.26	18.01	2.27	3.16	**
Error	908.88	54	16.83				
Total	11334.02	69					

** Diferencia altamente significativa

El análisis de varianza indica que existe diferencia altamente significativa para las variables semanas y repeticiones, por lo que se realizó la prueba Duncan para identificar la semana donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo

Tabla 48. Prueba Duncan para la cepa L15 incubada por 10 semanas (experimento 2).

Clasificación con el paquete estadístico SPSS							Interpretación*
Semanas de corte	Grupo						
	1	2	3	4	5	6	
1	8.5						8.5 ± 7.4 a
2		25.1					25.1 ± 7.1 b
3			32.3				32.3 ± 5.3 c
4			34.1	34.1			34.1 ± 5.5 cd
5				37.9	37.9		37.9 ± 7.6 de
6					41.3	41.3	41.3 ± 7.2 ef
7						43.2	43.2 ± 6.8 f
8						43.7	43.7 ± 6.8 f
9						45.0	45.0 ± 6.8 f
10						45.6	45.6 ± 6.7 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 donde se alcanzó el rendimiento máximo significativo (RMS), se consideró la semana donde inició el último grupo que corresponde a las letras “f”, así se concluyó que el RMS se alcanzó a la 6ta semana de producción

Tabla 49. Análisis de varianza de tipo factorial aleatorio para las variables cepas, tiempos de incubación e interacción cepas x tiempos de incubación (experimento 2).

Fuente de variación	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F calculada	F tablas (α)		Interpretación
					0.05	0.01	
Cepas	1596.77	2	798.38	4.56	3.23	5.18	*
T. incubación	136853.63	2	68426.81	4.55	3.23	5.18	**
Cepas x tiempos de incubación	2288.44	4	572.11	2.96	2.61	3.83	*
Error	7000.20	40	175.00				
Total	150285.45	48					

* Diferencia significativa.

** Diferencia altamente significativa.

El análisis de varianza indicó que existe diferencia significativa para la variable cepas y la interacción cepas x tiempos de incubación, mientras que los tiempos de incubación presentaron diferencia altamente significativa. Como la interacción cepas x tiempos de incubación presentó diferencia significativa no se deben interpretar las variables de manera independiente. Por ello se realizó la prueba Duncan para identificar el tiempo óptimo de incubación para cada cepa.

Tabla 50. Prueba Duncan para la interacción cepas x tiempos de incubación (experimento 2)

Clasificación con el paquete estadístico SPSS						Interpretación*
Interacción cepas x tiempos de incubación	Grupo					
	1	2	3	4	5	
L5, 10 semanas de incubación	33.0					33.0 ± 8.4 a
L9, 10 semanas de incubación	36.1					36.1 ± 59.5 a
L15, 10 semanas de incubación	41.3					41.3 ± 7.2 a
L5, 9 semanas de incubación		56.5				56.5 ± 52.2 b
L15, 9 semanas de incubación			107.5			107.9 ± 10.6 c
L9, 9 semanas de incubación			111.0			111.0 ± 15.8 c
L15, 7 semanas de incubación				155.9		155.9 ± 6.4 d
L5, 7 semanas de incubación				168.1	168.1	168.1 ± 18.0 de
L9, 7 semanas de incubación					177.8	177.8 ± 31.0 e

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas para la interacción de las variables tiempos de incubación x cepas

Como resultado de la prueba Duncan el paquete estadístico reporta 5 grupos. Para su interpretación, se asignó una letra diferente a cada grupo, para identificar la interacción cepas x tiempos de incubación donde se obtuvo el mayor rendimiento, se considero la interacción cepas x tiempo de incubación que conformo el último grupo, el cual corresponde a la letra "e". En este análisis se puede observar que aunque la cepa L15 está entre los rendimientos más altos como ocurrió en el experimento 1, en este caso se considera estadísticamente diferente ya que la prueba Duncan la ordena en un grupo indicado como menos productivo. Así mismo los rendimientos máximos los proporcionaron las cepas L5 y L9 incubadas por 7 semanas.

14. IMAGENES

Inóculo de grano



Crecimiento micelial de cepas L5, L9 y L15, en granos de trigo

Preparación de sustrato



Hidratación de aserrín y cascarilla de algodón



Esterilización de sustratos

Etapa de incubación



Invasión del sustrato en las primeras semanas de incubación

Invasión del sustrato



Invasión del sustrato a la sexta y séptima semana de incubación



Sustratos en cuarto de incubación

Fructificación



Primera semana de los sustratos en el cuarto de fructificación



Producción de cuerpos fructíferos en el cuarto de inducción



Cuerpos fructíferos listos para cosecharse

Diferentes tamaños y características de las tres cepas de *L. edodes* evaluadas



Cepa L15



Cepa L5



Cepa L9

15. BIBLIOGRAFÍA

- ☞ Aoki, T. 1998a. Antibodies to HTL VI and HTL VII in sera from two Japanese patients, one with possible pre-AIDS. *Lancet*, 20: 936-937.
- ☞ Ayala, P. 2008. Tiempos de incubación con cepas almacenadas con y sin resiembras. Tesis licenciatura, UNAM 28-31
- ☞ Campbell, A.C., M. Racjan. 1999. The commercial exploitation of the white rot fungus *Lentinula edodes* (shiitake). *International Biodeterioration & Biodegradation* 43 (3): 101-107.
- ☞ Chang, S.T. 2002. Past and present trends in the production of *Lentinula edodes* in Asia. In: Sanchez *et. al.* (Eds) "Mushroom Biology and Mushroom Products. UAEM, Cuernavaca Morelos. 1-8.
- ☞ Chang, S.T., W.A, H. 1978. The biology and cultivation of edible mushroom. Academic Press. New York, London
- ☞ Chang, S.T. 2006. Development of the culinary-medicinal mushrooms industry in china, past present and future, *Int. J.Medicinal Mushrooms*, 8, 1-17
- ☞ Chen, A. W. 2005. What is shiitake?. In: *Shiitake cultivation mushroom handbook 2. Korea*
- ☞ Delpech, P., J.M. Oliver. 1991. Cultivation of Shiitake on straw based pasteurized substrates In: *Science and cultivation of edible fungi. Maher (ed). Balkema, Rotterdam, 523-5*
- ☞ Fung, T., M. Franco. (2005). Evaluation of different Colombian agroindustrial wastes as substrates for the growth and production of *Lentinula edodes*. In: *Fifth international conference on mushroom biology and mushroom products. Tan et al. (eds), 285-290.*
- ☞ González, T.B. 2006. Cultivo experimental del hongo shiitake, *Lentinula edodes*, sobre dos subproductos agrícolas en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Micología* 23: 63-68.
- ☞ Guzmán, G., G. Mata., D. Salmones., C. Soto-Velazco., L. Guzmán-Dávalos. 1993. El cultivo de los hongos comestibles. IPN. 1ª Edición. México D.F.
- ☞ Hahafusa, T. 1990. Intestinal absorption and tissue distribution of immunoactive and antiviral water-soluble [¹⁴C] lignins in rats. *Yakubutsu Dotai* 5: 661-574.

- ☞ Hyunjong, K., C, Hobbs. 2005. Nutritional and medicinal values of shiitake. In: Mush World. Mushroom Growers' Handbook 2 Shiitake cultivation Seoul, 12-21
- ☞ Ishikawa, H. 1967. Physiological and ecological *Lentinus edodes* (Berk.) Lab. 8: 1-57
- ☞ Izuka, C. 1990. Antiviral composition extracts from basidiomycetes. European Patent Application *EP 464,311* , CA, 116: 76531z.
- ☞ Kilpatrick, M., D.J. Murray, F. Ward., 2000. Influence of substrate formulation and autoclave treatment on *Lentinula edodes* production. In: Science and Cultivation of Edible Fungi, Van Griensven (Ed). Balkema, Rotterdam, 803-809.
- ☞ Lin, F.C. 2000. Cultivation of the black oak mushroom *Lentinula edodes* in China. In: Science and Cultivation of Edible Fungi, Van Griensven (Ed). Balkema, Rotterdam, 955-958
- ☞ Martínez, G. 2007. Proyecto para producir hongos shiitake, Instituto de ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla ICUAP. Disponible en La siguiente dirección:
http://www.comunicacion.buap.mx/reportajes_especiales/reportaje_especial_hongos.html, consultado en agosto del 2008.
- ☞ Martínez, D. 2010. El consumo de los hongos comestibles y su relevancia en la seguridad alimentaria de México, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, México, Tesis licenciatura, 283-328.
- ☞ Mata. G., R. Pérez. 2000. Inducción de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes*. Instituto de Ecología, México
- ☞ Miles, P., S.T. Chang. 1997. Mushroom biology, Concience Basics and current development. Primera edición. Ed. Word scientific. Singapore
- ☞ Miles, P.G., S.T. Chang. 1987, Mushroom cultivation in a rural community in Hebei province. Mushroom Journal for the tropics, 107-112
- ☞ Miles, P.G., S.C. Jong. 1987, Commercial cultivation and shiitake in sawdust-fill bags, Falta revista 421-428
- ☞ Mireles, P.C., E. López. 2005. Evaluación de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en sustratos de aserrín con suplementos. Tesis licenciatura, UNAM 12-18.

- ☞ OEI, P. 2003. Mushroom cultivation. Tercera edición. Backhuys Publishers. Leiden Holanda.
- ☞ Pauli, G. 2000. Diversificación en el Trópico, Instituto Zeri para Latinoamérica, Santafé de Bogotá D.C. 201.
- ☞ Philippoussis, A. 2002. Monitoring of micelial growth and fructification of *Lentinula edodes* on several agricultural residues. In: Sanchez *et al.* (Eds) "Mushroom Biology and Mushroom Products. UAEM, Cuernavaca Morelos. 279-286.
- ☞ Pedreros, M. J. 2007. Evaluación del crecimiento y producción de *Lentinula edodes* (shiitake), en residuos agroindustriales. Tesis licenciatura, Pontificia Universidad Javeriana Bogotá, D.C 23-27
- ☞ Prescott, L., P. Harley. 1999. Microbiología. Mc. Graw Hill. 4ta Edición (Traducción). España. Pp 10.
- ☞ Quimio, T. H. S.T. Chang, and Royse,1990. Technical guidelines for mushroom growing in tropics. FAO.Vía delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy 106: 131-134
- ☞ Ramírez, R., H. Leal. 2002. Culture conditions for increasing yields of *Lentinula edodes*. In 289-283
- ☞ Rovalo, J. 2002. Efecto del tiempo de incubación sobre la producción de hongos de shiitake. Tesis licenciatura, UNAM, 21-23
- ☞ Royse, D.J. 1985. Effect of spaw run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushrooms. Mycologia: 77 (5), 756-762
- ☞ Royse, D.J. 1997. Specialty mushrooms: consumption, production and cultivation. Rev. Mex. Mic. 13: 1-11
- ☞ Solomon, E.P. Berg, L.R. Martin, D.W. Vilee, C. 1996. Biología de Vilee. Tercera edición. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México D.F.
- ☞ Sorimachi, K. 1990. Antiviral activity of water-solubilized lignin derivates in vitro . Agricultural and Biological Chemistry, 54: 1337-1339.
- ☞ Susuki, H. 1989. Inhibition of the infectivity and cytopathic of human immunodeficiency virus by water-soluble lignin in a extract of the culture medium of *Lentinus edodes* micelia (LEM). Biochemical and Biophysical Reserch Communications, 160: 367-373.

- ☞ Toshikura, T. 1987. Suppression of human immunodeficiency virus replication by 3-azido-3-deoxythymidine in various human hematopoietic cell lines in vitro: argumentation by the effect of lentinan. *Japan Journal of Cancer Research. Gann*, 78: 583.
- ☞ Yamamura, Y., K.W. Cochran. 1974. Chronic hypcholesterolemic effect of *Lentinus edodes* in mice and absence of effect on scrapie. *Mushroom Science IX (part I)*, 489-483.