

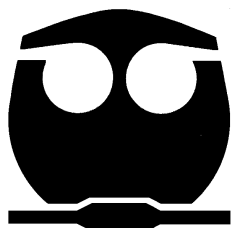


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**Evaluación de la producción del hongo comestible
Lentinula edodes (shiitake) en 2 tiempos de incubación
con cepas almacenadas con y sin resiembras.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A:
PAOLA AYALA PIÑA



MÉXICO, D. F.

2008



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.

Jurado asignado:

Presidente Prof. Olga Velázquez Madrazo
Vocal Prof. Hermilo Leal Lara
Secretario Prof. Rebeca Ramírez Carrillo
1er. Suplente Prof. Aurora Ortega Ávila
2º. Suplente Prof. Luís Orlando Abrajan Villaseñor

SITIO EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio L-324 conjunto "E"
Facultad de Química, Ciudad Universitaria

Asesor del tema:

Sustentante:

M en B Rebeca Ramírez
Carrillo

Paola Ayala Piña.

AGRADECIMIENTOS

A mi hermosísima Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química. Todo un gusto haber cursado mis estudios dentro de ellas.

A todo el personal académico de la Facultad de Química por brindarme la oportunidad de adquirir conocimiento y ampliar mis expectativas.

A la M. en B Rebeca Ramírez Carrillo por guiarme en la elaboración de este proyecto, su paciencia, la transmisión de conocimiento, por el tiempo de su vida que me regalo y lo más importante dejarme conocer a una persona tan maravillosa que disfruta tanto de la vida, gracias por tu amistad.

Al Dr. Hermilo Leal Lara por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, las revisiones a la tesis, sus consejos, preguntas con las cuales muchas veces estuve en aprietos y por ser mi sinodal. ¡MUCHAS GRACIAS!

A la Dr. Olga Velásquez Madrazo por formar parte de mi jurado y sus correcciones a este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio por hacer más divertido el trabajo y darme algunos tips para realizarlo: Vale, Quique, Oscar, Marisol, Beto, Sandra, Paola, Kasha y Natalia.

A todos mis amigos: Nora, Yazmín, Eli, Mario (¡Gracias! por todas las clases de mate), Javier, Héctor, Susana, Ana Laura, Aldo, Celia, a toda la banda perruna, Ivan, Marquito, Olga, Rodrigo, Sebastián, Ernesto, Victor, Toño, Jenny, mis.

Simplemente... ¡Muchas Gracias! Por todo lo que me han brindado.

DEDICATORIAS

A las personas que más me quieren en este mundo: MARCO y MARGARITA:

A ustedes que han estado conmigo en las buenas y en las malas, que no les ha importado la infinidad de errores que he cometido en todo este tiempo; que me permitieron realizar este sueño brindándome siempre el apoyo y la confianza incondicional; por darme las herramientas para poder habitar este mundo tan complicado, por todas estas cosas y todas las que no mencione ¡GRACIAS!...PAPAS.

A mis queridísimos hermanos ISRAEL y NATY con los que tantas veces peleo; porque gracias a ellos mi vida ha sido muy feliz, espero vean en este logro la inspiración para superarse cada día.

A ti que me dedicaste tanto tiempo y me enseñaste que la mejor forma de llevar la vida es la honestidad, por todas esas tardes tan lindas que me hiciste pasar, en donde quiera que estés, te llevo siempre en mi corazón TÍA IRMA.

A mis abuelitas que son tan lindas, tía Laura por estar siempre ahí, me gustaría mencionarlos a todos, gracias por estar al pendiente siempre.

A toda mi familia...somos muchos.

Y... ¡claro! no podía olvidarme de tantos dolores de cabeza que me has causado con ese afán de encontrar el mejor lado de mi persona, por ser parte de mi equipo de trabajo en este camino, porque la estancia en CU fue más fácil, y por estar tan cerca de mi cuando lo he necesitado brindándome mucho cariño, simplemente eres una parte muy importante en mi vida...RANFERI.

ÍNDICE

	Página
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes	4
2.1.- Fisiología.....	6
2.2.- Estructura.....	6
2.2.1.- Estructuras reproductoras y ciclo de vida.....	6
2.3.- Cultivo artificial de <i>Lentinula edodes</i>	8
2.4.- Requerimientos nutricionales.....	12
2.5.- Consumo de hongos en México.....	13
2.6.- Comercialización.....	14
Justificación	16
3.1.- Objetivo	16
3.2.- Hipótesis	16
Materiales y Métodos	17
4.1.- Material biológico.....	17
4.2.- Medio de cultivo de extracto de malta agar.....	17
4.3.- Inóculo de grano.....	17
4.4.- Sustrato.....	18
4.5.- Inoculación e incubación del sustrato.....	18
4.6.- Determinación de la eficiencia biológica.....	18
4.7.- Análisis estadístico.....	19
4.8.- Experimentos realizados.....	19
4.9.- Secuencia experimental.....	20
Experimentos y Resultados	21
5.1.- Influencia del tiempo de incubación sobre la producción del hongo <i>Lentinula edodes</i>	21
5.2.- Evaluación del efecto de las resiembras sucesivas de las cepas sobre la producción del hongo <i>Lentinula</i> <i>edodes</i>	25
Discusión	28
Conclusiones	32
Anexo (análisis estadístico)	33
Fotografías.....	41
Bibliografía.....	47

Evaluación de la producción del hongo comestible *Lentinula edodes* (shiitake) en 2 tiempos de incubación con cepas almacenadas con y sin resiembras.

RESUMEN.

Lentinula edodes es conocido como shiitake u hongo japonés, se cultiva y consume en Japón y otros países asiáticos, no sólo por su sabor, sino también por sus propiedades medicinales como son: su acción antitumoral, hipocolesterolemica y antiviral (Chang, 2002). Este hongo degrada y se alimenta principalmente de la lignina y celulosa presentes en maderas duras. El desarrollo e implementación de nuevas tecnologías utilizando aserrín como sustratos en bolsas esterilizables han permitido que el cultivo de shiitake se realice de manera extensiva y más eficiente (Kalberer, 2000; Kilpatrick, 2000; Royse, 1997). En experimentos previos realizados en nuestro laboratorio hemos observado que los rendimientos de dos cepas de *Lentinula edodes* han presentado disminuciones considerables. En una primera evaluación utilizando un sustrato comercial se obtuvieron eficiencias biológicas (EB) de 144 y 261 g de hongo fresco/100 de sustrato seco, para las cepas L5 y L9 respectivamente (Ramírez & Leal, 2002). En una segunda evaluación nuevamente se utilizó un sustrato comercial para evaluar el efecto del tiempo de incubación y se observó que las EBs más altas se obtuvieron a las 10 semanas de incubación con valores de 77.7 y 122.6 para las cepas L5 y L9 (Rovalo, 2002). Posteriormente se evaluaron los rendimientos de las cepas L5 y L9 de *Lentinula edodes* en 8 sustratos formulados con aserrín de encino y distintos cereales, como resultado en los sustratos donde se obtuvieron los mayores rendimientos se alcanzaron EBs de 35.5 y 77.5 para las mismas cepas (Mireles & López, 2005). En este trabajo se planteó observar si la baja en los rendimientos fue causada por una disminución en el tiempo de incubación o por un deterioro de las cepas utilizadas, ocasionado por las resiembras sucesivas. Para ello se evaluó la EB de las cepas L5 y L9 de *L. edodes*. En un primer experimento se utilizó el sustrato más productivo reportado por Mireles & López (2005), para evaluar dos tiempos de incubación (5 y 10 semanas). Con el análisis de varianza realizado a los valores de EB se observó que existe diferencia altamente significativa entre el tiempo de incubación y no se encontraron diferencias entre las cepas.

Una vez que se encontró el tiempo de incubación óptimo se evaluó si las condiciones de almacenamiento y resiembras sucesivas de las cepas afectan la producción de hongos. Se utilizaron las cepas L5 y L9 almacenadas (obtenidas del cepario sin resiembras sucesivas), también se manejaron las mismas cepas sometidas a resiembras sucesivas. El análisis estadístico de los resultados indicó que existen diferencias significativas entre las cepas y la forma de almacenamiento.

1.- INTRODUCCIÓN.

1.1.- Shiitake.

Shiitake es, por mucho, el hongo comestible más popular e importante sobre todo en Asia (Chen; 2000; Royse, 1997; Stamets, 2000). Se conoce alrededor del mundo con diversos nombres, shiitake se deriva de los japoneses "shii-de maderas duras" y "take-hongo". En China se le conoce como "Xiang gu" que significa hongo aromatizado (Chen, 2005). Su nombre científico es *Lentiula edodes*.

Es el hongo favorito de oriente, no sólo por su delicioso sabor y propiedades nutritivas, si no también porque posee componentes que tienen beneficios medicinales. El lentinan es un polisacárido soluble en agua, al cual se le atribuyen propiedades antioxidantes, antitumorales y anticarcinógenas, este hongo es muy utilizado como medicamento por los japoneses (Ikekawa; 1998; 1999).

Ocupa el segundo lugar en el mundo entre los hongos cultivados, su producción se ha incrementado en los últimos años siendo China y Japón los mayores productores. Tradicionalmente se producía en troncos de maderas duras, con rendimientos relativamente bajos, además de que la producción dependía de factores climáticos, lo que ocasionaba ciclos de producción muy largos (3 a 5 años). Cuando su cultivo es introducido a Estados Unidos y Europa los troncos de maderas duras son sustituidos por sustratos denominados como sintéticos en bolsas esterilizables que contienen aserrín como ingrediente principal en su formulación (Pryzbylowicz & Donoghue 1998). El cultivo bajo estas características requiere de condiciones controladas para la propagación micelial, preparación de sustrato y fructificación. En consecuencia los gastos de producción se incrementan.

La producción en sustratos "sintéticos" tiene dos ventajas frente a la forma tradicional del cultivo de shiitake: tiempo de cultivo y eficiencia biológica (EB); la forma tradicional requeriría de hasta seis años, en cambio, para los sustratos sintéticos se requiere de 4 a 6 meses desde la propagación del micelio hasta el agotamiento del sustrato. Las bajas EBs = 9 a 35% (g de hongos frescos/100 g de sustrato seco) alcanzadas con el método tradicional (Royse & Schisler, 1986, Royse, 1985), propiciaron la producción de shiitake en sustratos sintéticos en los cuales se ha encontrado que se obtienen EBs mayores; que van de 45 a 65% (Delpech & Oliver 1991, Levanon, 1993) y algunos más elevados, de 75 a 125% han sido reportados por Royse.

En experimentos realizados previamente en nuestro laboratorio hemos observado que los rendimientos de dos cepas de *Lentinula edodes* han presentado disminuciones considerables. Así en una primera evaluación utilizando un sustrato comercial de composición desconocida se obtuvieron eficiencias biológicas (EB) de 144 y 261 g de hongo fresco/100 de sustrato seco para las cepas L5 y L9 respectivamente (Ramírez & Leal, 2002).

En una segunda evaluación nuevamente se utilizó un sustrato comercial probablemente diferente al anterior para evaluar el efecto del tiempo de incubación y se observó que las EBs más altas se obtuvieron a las 10 semanas de incubación con valores de 77.7 y 122.6 para las cepas L5 y L9 (Rovalo, 2002). En un experimento posterior se evaluaron los rendimientos de las cepas L5 y L9 de *Lentinula edodes* en 8 sustratos formulados con aserrín de encino y distintos cereales como suplementos, entre ellos: mijo, trigo, sorgo y salvado de trigo; en los sustratos donde se obtuvieron los mayores rendimientos se alcanzaron EBs de 35.5 y 77.5 para las mismas cepas (Mireles & López, 2005).

Considerando lo anterior en este trabajo se planteó evaluar el efecto que ejercen el tiempo de incubación y las resiembras sucesivas sobre el rendimiento de hongos.

2.- ANTECEDENTES.

China es uno de los países más avanzados en la producción de hongos no sólo en cantidad, si no también en calidad; en consecuencia China ha aumentado sus ingresos considerablemente. El cultivo de hongos se convirtió en la nueva industria para la agricultura China. Por tal motivo fue necesario crear una organización que se encargara de la recopilación de información, para que fuera distribuida a las pequeñas regiones, la sociedad China de Micología es el organismo más importante en el ámbito.

La sociedad de Micología juega un papel muy importante en la actividad, expansión y regularización en la producción de hongos. Para los productores es el medio por el cual pueden distribuir su producto en el mercado teniendo en cuenta las normas de cada gobierno (Yingjie, 2005).

El crecimiento en la producción de shiitake y otros hongos denominados exóticos, ha provocado una necesidad en el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo con la finalidad de disminuir costos en la energía y mano de obra.

El uso de maquinaria para la preparación y esterilización de los sustratos ha permitido que disminuyan los problemas de contaminación. Las llenadoras, maquinas de esterilización, el uso de túneles cerrados para pasteurización, han facilitado la preparación de los sustratos. La tecnificación del proceso ha permitido lograr incrementos considerables en los rendimientos, ayudando así a los productores a reducir sus costos de operación. En muchos casos el proveedor no necesita hacer una inversión para la adquisición de equipo, ya que hay empresas que se dedican a la preparación del sustrato, garantizando la inocuidad del mismo, y a su vez el trabajo se disminuye para las plantas productoras de shiitake (Oei, 2005).

La producción y cultivo de hongos comestibles y medicinales se ha incrementado rápidamente; en 1997 se alcanzó una producción de 4.302.327 toneladas. Para el 2002 se obtuvieron 8.209.251 toneladas y para el año 2004 la producción se estimó en 10 millones de toneladas, siendo China, Japón, Corea y Tailandia los países con mayor producción de hongos comestibles (Yanamaka, 2005).

En 1981, Japón fue el mayor productor y consumidor de shiitake con alrededor del 82% de la producción total. En 1991, la producción japonesa había caído al 32%, mientras que la producción china se había incrementado hasta el 57%.

En 1997 (resultados más significativos de producción), China produjo el 89% del suministro mundial de shiitake (1,397,000 tons) mientras que Japón solo produjo 7% del total. Debido a esto, China se ha convertido en el proveedor dominante de shiitake, con cerca de diez millones de cultivadores de tiempo parcial y tiempo completo (Royse, 1997).

En los Estados Unidos, la producción de shiitake es relativamente nueva, ya que empezó hacia finales de los 70's. En el ciclo 2002-2003, Estados Unidos produjo 3,970 tons de shiitake, 3.2% más que en el año anterior. Durante los tres últimos años, la producción de shiitake en este país se ha mantenido sin cambios relativos. En Estados Unidos una planta en promedio produce actualmente 601 kg/semana, lo que es superior a los 432 kg/semana reportadas para el año 1999.

La producción total de hongos comestibles en Japón y China ha dado un giro en los últimos años, se han introducido especies de hongos para su cultivo, a pesar de estas innovaciones en el cultivo de hongos comestibles las especies que más se cultivan siguen siendo *L. edodes* y *P. ostreatus* (Chang, 1999).

El cultivo de hongos en Asia, se ha popularizado debido a la innovación en los sustratos siendo éstos en gran parte preparados con desechos provenientes de las industrias de alimentos, agricultura, forestal y cervecera. El principal componente en estos sustratos es el aserrín acompañado de suplementos como cereales. Otro factor importante en el desarrollo del cultivo de hongos son las variaciones genéticas para obtener variedades de las cepas de hongos comestibles, así como las condiciones ambientales, tales como la iluminación, temperatura y la humedad con la finalidad de mejorar y aumentar la calidad y producción de los hongos (Kitamoto, 1990).

2.1.- Fisiología.

Los hongos son organismos vivos que pueden ser unicelulares (microscópicos) o pluricelulares (macroscópicos). Carecen de clorofila, es decir no fotosintetizan porque no poseen los mecanismos para captar la energía solar y transformarla en hidratos de carbono como los vegetales (autótrofos). Aunque carecen de clorofila, muchos hongos tienen pigmentos que les proporcionan coloraciones diversas (Ulloa-Herrera, 1990).

Los hongos, presentan quitina como componente principal de sus paredes celulares y son heterótrofos, es decir, necesitan de una fuente externa que les proporcione los nutrientes adecuados para su desarrollo; como las plantas, presentan crecimiento vegetativo: raíz, tronco o estípite y sombrero o píleo.

Los hongos son un componente vital en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, ya que desempeñan diversas funciones de tipo ecológico y fisiológico (García, 2006).

2.2.- Estructura.

La mayoría de las especies de los hongos está constituida de filamentos largos o hilos ramificados muy delgados llamados hifas. Tanto las hifas cenocíticas como las septadas pueden ser fértiles o estériles. Las hifas fértiles forman órganos de reproducción, las estériles carecen de estos órganos.

Las hifas de los hongos en la mayoría de los casos se desarrollan en abundancia, se ramifican y entrelazan formando una estructura filamentosa llamada micelio. El micelio es la estructura vegetativa que se cultiva en el laboratorio a manera de colonias con crecimiento radial formando masas discoidales sobre la superficie en donde crecen (Ulloa-Herrera, 1990).

Los hongos se agrupan en macroscópicos y microscópicos dependiendo si presentan o no cuerpos fructíferos visibles a simple vista. Las fructificaciones de los hongos también se conocen como esporóforos o carpóforos (Fig. 2.2.1).

2.2.1.- Estructuras reproductoras y ciclo de vida.

El ciclo de vida de los hongos básicamente consta de las siguientes etapas: espora, germinación, micelio primario, fusión de hifas o micelio secundario, formación de primordios o micelio terciario y culmina con la formación del cuerpo fructífero maduro.

Espora: Una espora, es una unidad diminuta y simple, que se propaga sin un embrión y sirve para la producción de un nuevo individuo de la misma especie. Desde la espora empieza el desarrollo del hongo en forma filamentosa. Las esporas de un hongo, están destinadas a la diseminación, reproducción y conservación de la especie. La primera fase del desarrollo de una espora es la absorción de agua, con el consiguiente aumento y elongación de la misma. Esto da origen a filamentos y cada uno de estos filamentos se denomina hifa (Casselton, 1998).

En un ambiente favorable las basidioesporas producidas a través de reproducción sexual (meiosis) germinan en una hifa monocariótica. Las hifas mononucleadas genéticamente compatibles, se fusionan a través de plasmogamia (fusión hifal) para producir hifas dicarióticas. Con material genético de ambos núcleos, es la hifa dicariótica lo que es capaz de dar lugar al crecimiento del primordio o micelio terciario el cual culmina con la formación del cuerpo fructífero conocido como hongo, la meta principal en el cultivo de hongos comestibles (Fig. 2.2.2). La reproducción de basidioesporas por el hongo maduro completa el ciclo vital (Chen, 2000).

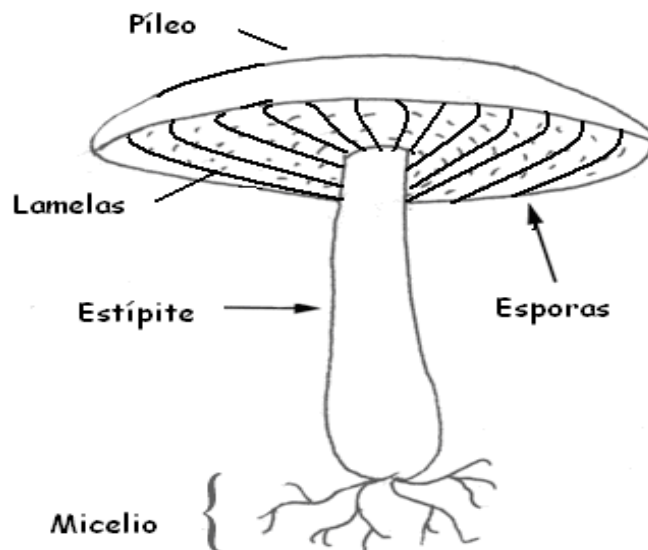
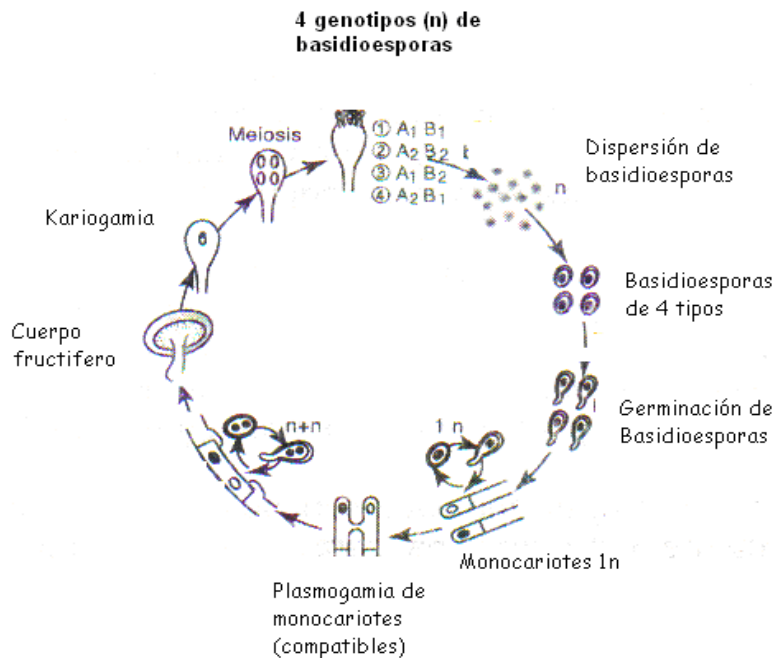


Fig.2.2.1.- Estructura macroscópica de un cuerpo fructífero
(www.mushroomworld.com)



2.3.- Cultivo artificial de *Lentinula edodes*.

En 1313 Wang Cheng escribió técnicas para el cultivo del shiitake en su obra "Libro de Agricultura", posteriormente fueron los granjeros Chinos quienes introdujeron diversos métodos a Japón para cultivar shiitake. Sin embargo los métodos no formaban un sistema completo de cultivo y los resultados eran muy variables. Con el tiempo la investigación de campo fue avanzando al realizar cortes en la corteza de los árboles para su inoculación con esporas de shiitake o una solución de esporas. También utilizaban pedazos de madera de troncos que produjeron buenos hongos para "infectar" nuevos troncos. Fue hasta 1920 que Kitayama desarrolló el inóculo del micelio puro, genéticamente homogéneo y creciendo en un material adecuado. Esto hizo posible el seleccionar y propagar el micelio con mejor vigor y productividad (Pryzbylowicz & Donoghe, 1998).

En 1943 Mori produjo "cuñas" o pedazos de madera invadidos con micelio puro para introducirlos en muescas hechas con hacha en los troncos, con este método, los troncos eran invadidos rápidamente y se incrementó la colonización de los troncos por el micelio.

Al incrementar la productividad, la industria del cultivo de shiitake se desarrolló con rapidez. Posteriormente se desarrolló el uso de "taquetes" de madera colonizados con el micelio que hasta la fecha se utilizan para inocular los troncos. Recientemente se han utilizado piezas de madera cubiertas de micelio en forma de media luna, las

cuales se insertan en aberturas echas con una sierra en los troncos, esto distribuye más homogéneamente el micelio por el tronco y reduce el tiempo necesario para colonizar el tronco y producir hongos (Pryzbylowicz & Donoghe, 1998).

Para China país líder en la producción de *Lentinula edodes* ó Xian Gu se pueden reconocer siete etapas en el desarrollo del "cultivo artificial" (Chang, 2002).

- 1) Cultivo en troncos de madera. Cultivo tradicional de *Lentinula edodes* en troncos de maderas duras, en la antigüedad, los productores abrían con un hacha la corteza de los troncos y esperaban que las esporas entraran al tronco; el micelio lo invadiera y produjera hongos, lo que resultaba en un método muy lento y muy poco predecible (Fig. 2.3.1).
- 2) Inoculación de troncos. Basado en la inoculación de micelio puro, desarrollado por los japoneses en 1928, este método revolucionó el proceso productivo de *Lentinula edodes*, al desarrollar la capacidad de producir micelio puro (Fig.2.3.2).
- 3) Cultivo en bolsas de plástico con aserrín. Denominados como sustratos sintéticos. Este método fue desarrollado en Taiwán a principios de 1970 (Fig.2.3.3).
- 4) Uso de ladrillos o bloques de sustrato comprimidos. Este método fue introducido en Shangai en 1979 para el cultivo a gran escala (Fig. 2.3.4).
- 5) Cultivo en troncos sintéticos. Desarrollado en 1986 en el municipio de Gutin en la provincia de Fujian. Esta innovación expandió la industria de *Lentinula edodes* en China. Con lo que la producción ha crecido más de 20 veces en 15 años y desde 1987 le quitó a Japón la posición de mayor productor de hongos, dominando el mercado mundial desde entonces (Fig.2.3.5).
- 6) Uso de bolsas sintéticas. Desarrollado en el condado de Qinguan, en la provincia de Zhejiang. Las bolsas de fructificación son más cortas que los troncos sintéticos pero mucho más anchas, las bolsas inoculadas se colocan en repisas. La producción en este municipio representa el 10% de toda la producción mundial y una quinta parte de la producción total de China (Fig.2.3.6).

7) El cultivo en invernaderos de plástico. Se deriva del método de la bolsa sintética. Fue adaptado en el condado de Biyang, en la provincia de Henan. Las bolsas son más grandes y se colocan en repisas dentro del invernadero. Durante climas secos y fríos, se produce con este método la mejor calidad de hongos, Donko o flor de Donko, donde la estípita es notablemente más gruesa y el píleo se resquebraja, produciendo grietas en la superficie que simulan una flor (Fig. 2.3.7).

Fig.2.3.1: Cultivo en troncos de madera



(www.mushroomworld.com)

2.3.5: Cultivo en troncos sintéticos.



(www.mushroomworld.com)

Fig.2.3.2: Inoculación de troncos



(www.mushroomworld.com)

Fig.2.3.6 Uso de bolsas sintéticas



(www.mushroomworld.com)

Fig.2.3.3: Cultivo en bolsas de plástico con aserrín



(www.mushroomworld.com)

Figura 2.3.7: El cultivo en invernaderos de plástico



(www.mushroomworld.com)

Fig.2.3.4: Cultivo en sustrato comprimido



(www.mushroomworld.com)

La evolución de los métodos ha ocurrido simultáneamente al gran incremento que se ha observado en la producción de hongos comestibles en el mundo. Shiitake ocupa el segundo lugar de hongos cultivados en el mundo (Chang, 1996; Royse, 1997).

El uso de invernaderos para el cultivo de shiitake ha provocado que la producción sea posible durante todo el año, ya que se proporcionan las condiciones ambientales apropiadas para el crecimiento y desarrollo de shiitake. Además ha permitido incrementos considerables en la calidad y cantidad de hongos cosechados, razón por la cual este método puede suplir los métodos tradicionales de cultivo. Se ha calculado que en un invernadero de 480 m² se pueden utilizar 20 toneladas de sustrato para producir cerca de 30 tons de hongo fresco por año (Yuemei, 2005).

2.4.- Requerimientos nutricionales.

El carbono es el principal alimento que requiere el hongo, y es el responsable de proveer la estructura proteica. El nitrógeno es el responsable de la estructura celular, mientras minerales y los elementos traza estabilizan la presión osmótica celular, favorecen la formación de cuerpos fructíferos y son catalizadores enzimáticos, indispensables para llevar a cabo reacciones metabólicas. Las vitaminas sobre todo las del grupo B son las responsables del crecimiento micelial y la fructificación (Chen, 2005).

Los factores ambientales durante la producción pueden ser controlados y de estos controles dependen el desarrollo micelial e invasión del sustrato, los cuales al ser modificados propician la fructificación; todos estos factores influyen en la producción del hongo. La temperatura varía según la etapa de desarrollo del micelio o formación de cuerpos fructíferos Tabla 1.

Tabla 1. Rangos de temperatura para las diferentes etapas durante el cultivo de shiitake.

Etapa	Rango de temperatura (°C)	Rango óptimo (°C)
Germinación de esporas	15-28	24±2
Crecimiento micelial	5-32	25±2
Fructificación	5-25	15±1

La humedad en el sustrato es un factor importante ya que permite que las funciones metabólicas se realicen de forma adecuada, además de determinar la velocidad con la que se desarrolla el micelio, este factor oscila entre 50 y 65% de humedad siendo el valor óptimo un 60%. Para el período de fructificación es necesario tener una humedad relativa en el ambiente entre 60% y 90%.

Durante la fructificación la humedad relativa del medio ambiente se debe incrementar mediante sistemas de riego aunado a un sistema de ventilación. Estos factores pueden controlarse al preparar los sustratos, determinando previamente la capacidad de retención de agua para cada componente del sustrato, y ajustando humedad al nivel óptimo entre 55 y 60%. La aeración o presencia de oxígeno favorece la generación de ATP (energía para funciones metabólicas). La iluminación favorece la formación de primordios, y la estabilidad en el pH permite que la actividad enzimática se lleva a cabo de forma adecuada (Chen, 2005).

2.5.- Consumo de hongos en México.

Con respecto a la diversidad fúngica, se estima que en la tierra existen 1.5 millones de especies, para México las estimaciones indican la cifra de 200 mil especies, de las cuales se ha registrado sólo el 3.5 % (Guzmán, 1998).

En México el consumo de hongos forma parte del acervo cultural de la población rural, su conocimiento y uso fue muy importante en las culturas prehispánicas, sobre todo en las mesoamericanas; de tal manera que constituyeron parte de una estrategia de subsistencia, basada en el uso múltiple de los recursos naturales, en ciertas regiones del país aún persisten las recolectas realizadas por toda una familia con fines de autoconsumo o comercialización (Villareal & Pérez Moreno, 1989).

Los españoles del siglo XVI, son los primeros en proporcionar informes sobre el uso de los hongos por los pueblos indígenas de México, principalmente en la región meridional. Fray Bernardino de Sahagún en su "Historia general de las Cosas de la Nueva España" informa sobre la existencia del "Hongo Divino" o "Teonanacatl", utilizado en ceremonias religiosas por sus propiedades alucinógenas, pero también hace mención del uso de estos hongos, en la medicina indicando que son utilizados para la calentura con frío y para la gota (Estrada *et al.*, 2001).

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que se ha desarrollado ampliamente en diversas partes del mundo como Estados Unidos, Europa y el Sudeste de Asia. En México dicha actividad se inició en 1933 por el sector privado y en 1989 por el sector social. Esta actividad es cada vez más importante social, económica y ecológicamente ya que en la actualidad sus operaciones superan los 70 millones de dólares y generan alrededor de 15,000 empleos directos e indirectos (Martínez-Carrera *et al.*, 2000).

En los últimos años esta tecnología se ha convertido en una verdadera alternativa para la obtención de alimentos de consumo humano, por la posibilidad de obtener grandes cantidades en pequeñas áreas mediante técnicas sencillas, a bajo costo, en períodos cortos y empleando residuos agrícolas, agroindustriales y forestales como sustrato para su cultivo.

El volumen de hongos producidos asciende a cerca de 28,000 toneladas al año, el 93% corresponde a los champiñones (*Agaricus*), 6.97% a las setas (*Pleurotus*) y 0.03% a shiitake (*Lentinula*), obtenidas a partir de más o menos 280,000 toneladas de diversos subproductos agroindustriales y forestales.

La mayor parte de la producción de champiñón se concentra en los Estados de Jalisco, Hidalgo, México, Morelos, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz (Martínez-Carrera, 2000). México ocupa el 18° lugar a nivel mundial en la producción de hongos comestibles frescos y es el primer productor en Latinoamérica con el 56% del total de hongos frescos (Martínez-Carrera *et al.*, 2000).

2.6.- Comercialización.

El mercado internacional es muy amplio y con altos rendimientos. Esto puede apreciarse en la Tabla 2, en la cual se comparan México y China, el primer productor a nivel mundial, con respecto a la importación y exportación de hongos comestibles (enlatados y secos, durante el período 1995-1997 (www.fao.org)). La mayoría de las exportaciones en México de hongos comestibles se hacen a Estados Unidos aproximadamente en un 78%, mientras que el resto fueron recibidas por Costa Rica, Honduras y Venezuela.

Tabla 2. Comparación de las importaciones y exportaciones de hongos realizadas por China y México.

Año	Exportaciones				Importaciones			
	Secos		Enlatados		Secos		Enlatados	
	China (tons)	México (tons)	China (tons)	México (tons)	China (tons)	México (tons)	China (tons)	México (tons)
1995	26,867	0	201,808	2,018	1,050	9	2,463	2,936
1996	26,223	0	182,719	2,622	455	73	808	386
1997	29,836	2	161,686	2,298	438	9	1,140	2,091

www.fao.org

La balanza comercial de los hongos comestibles en México durante el período 1993-1998 paso de 10 a 48% en cuanto a las exportaciones, y de 90 a 52% respecto a las importaciones, lo cual demostró el creciente incremento de las exportaciones y el decremento en las importaciones. Esto hace evidente que no es capaz de abastecer su propio mercado, lo cual se observó por las importaciones hechas durante 1998 del producto, tanto en fresco, como procesado (Bancomext, 1999).

3.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO.

La tecnología empleada en la preparación de sustratos "sintéticos", ha provocado que el cultivo y producción de shiitake tenga auge debido a que los costos de energía y mano de obra han sido reducidos. Por otro lado la implementación de maquinaria, el uso de subproductos forestales y agroindustriales en la preparación de sustratos han permitido obtener incrementos en los rendimientos.

Existe actualmente un gran esfuerzo en la investigación para determinar los factores que afectan el rendimiento y su variación. Desde un punto de vista comercial es preferible contar con un método que permita predecir los rendimientos.

Existen pocos estudios enfocados a la evaluación de tiempos de incubación y el uso de cepas con resiembras sucesivas. Royse (1985) evaluó 6 y 8 semanas de incubación con 3 diferentes sustratos de aserrín y observó que en los periodos más largos de incubación se obtuvieron valores EB más altos.

Es por eso que en este trabajo se estudió el efecto que ejercen el tiempo de incubación y las resiembras sucesivas de las cepas, sobre la producción de hongos.

3.1.- Objetivo.

Evaluar si el envejecimiento de las cepas de *L. edodes* (L5 y L9), así como el tiempo de incubación (5 y 10 semanas), afectan la eficiencia biológica de shiitake.

3.2.- Hipótesis.

Si el tiempo de incubación es un factor que influye directamente en la producción de shiitake, se espera un incremento en los rendimientos al prolongarlo de 5 a 10 semanas.

Si las resiembras sucesivas de las cepas afectan los rendimientos, debido al envejecimiento del micelio, se espera obtener mayores rendimientos con las cepas que no han sido resembradas.

4.- MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1.- Material biológico (características de las cepas L5 y L9). La cepa L5 proviene de Canadá y L9 de Corea. Ambas se encuentran depositadas en el cepario del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM. Para la segunda parte del experimento se requirió de las mismas cepas almacenadas en el cepario sin resiembras sucesivas y las cepas utilizadas por los compañeros del laboratorio, las cuales fueron sometidas a resiembras sucesivas por 5 años.

Una vez resemebradas las cepas en medio de extracto de malta se observaron al microscopio, para confirmar su carácter dicariótico por medio de la presencia de fíbulas. Esta característica garantiza la obtención de cuerpos fructíferos (hongos) al cultivarla.

4.2.- Medio de cultivo de extracto de malta agar (EMA). Para preparar 500 ml de medio de extracto de malta agar, se pesan 7.5 g de extracto de malta en un matraz Erlenmeyer de 1 l y se adicionan 100 ml de agua destilada, posteriormente se pesan 9 g de agar en el mismo matraz de 1 l y se adicionan 400 ml más de agua destilada gradualmente, procurando hidratar los reactivos. A continuación se tapa el matraz y se deja reposar por 20 min. Se procede a esterilizar en autoclave a 121°C y 15 lb/pulg² durante 45 minutos. El medio estéril se vierte en cajas Petrí de plástico de 9 cm de diámetro. Las cajas Petrí con el medio ya sólido se les elimina el exceso de agua (producida por la condensación de la misma) y se incuban a 24-25°C por 48 horas dentro de bolsas de polietileno para verificar la esterilidad del medio. De esta manera se conservan hasta su uso.

Para la resiembra de las cepas se cortan pequeños trozos del crecimiento del micelio de las cepas originales L5 y L9 y se colocan en cajas Petrí con medio de EMA. Las cajas inoculadas se incuban a 24°C por 7 días para obtener nuevo crecimiento micelial. Este crecimiento micelial se utiliza para inocular la semilla de grano de trigo.

4.3.- Inóculo de grano. Se utiliza grano de trigo para preparar el inóculo, el cual es lavado con agua de la llave para eliminar los residuos orgánicos, el polvo y tierra que pudiera contener. Posteriormente se pone a hervir por 45 minutos, transcurrido este tiempo se drena el agua caliente y se enfría con agua corriente para eliminar los residuos de almidón. El exceso de agua se drena nuevamente para evitar su acumulación en las bolsas. Posteriormente se le añade 0.3% de CaCO₃ y 1.3% de CaSO₄ como suplementos. Con 400g de esta mezcla se llenan bolsas de polipropileno, se cierran doblando las bolsas y se colocan dentro de una segunda bolsa, las bolsas así envueltas se esterilizaron por 2

horas a 121°C y 15 lb/pulg² y se dejan enfriar dentro de una campana de flujo laminar, donde se inoculan con el micelio proveniente de una colonia totalmente desarrollada en caja Petrí con (EMA). Las bolsas inoculadas se empaquetan dentro de otras bolsas y se colocan en el cuarto de incubación, con una temperatura constante de 24°C en condiciones de oscuridad.

4.4.- Sustrato. Para la preparación de sustrato son necesarios aserrín, salvado de trigo, sorgo molido, mijo, carbonato de calcio (grado técnico), sulfato de amonio, ácido cítrico (grado técnico) y benomilo (metil 1-butil carbamilo benzimidazol – 2 il carbamato). Los suplementos y reactivos que se utilizan para el desarrollo experimental de este proyecto se pueden conseguir en México. Para preparar el sustrato se pesan las cantidades necesarias de suplementos y reactivos; el aserrín, el mijo y el trigo se colocan por separado en una palangana y se adiciona agua (24 horas antes) hasta cubrir completamente para hidratar. Se drena el exceso de agua y se mezclan con el resto de los componentes, se pesa la cantidad (1 kg.) necesaria para cada bolsa de sustrato. Se esterilizan las bolsas de sustrato preparado a 121°C y 15 lbs/pulg² de presión durante 2 horas y se dejan enfriar.

4.5.- Inoculación e incubación del sustrato. Cada bolsa se inocula con 5% de semilla de trigo, ya invadida. Las bolsas se incuban en un cuarto oscuro a 24°C por 5 y 10 semanas. Cuando transcurre el tiempo de incubación (5 y 10 semanas) se eliminan las bolsas de polipapel y el sustrato se transfiere al cuarto de fructificación, sin ningún otro tratamiento. Para inducir la fructificación, se mantienen en este cuarto con alta humedad con 4 riegos diarios de 5 minutos y ventilación por 30 minutos.

Se cortan los hongos producidos por 8 semanas, procurando hacerlo antes de que el borde del píleo se abra por completo. Se registra el peso de los hongos cosechados por bolsa.

4.6.- Determinación de la eficiencia biológica. Para determinar la eficiencia biológica fue necesario primero cuantificar la producción diaria obtenida para cada condición (cepa, tiempo de incubación y repetición) durante 8 semanas de corte. Con estos valores se calculó la producción semanal y posteriormente la producción semanal acumulada (g de hongo fresco/bolsa). Con los valores de la humedad del sustrato después de la inoculación y el peso de cada bolsa, se calculó la eficiencia biológica, es decir, los gramos de hongo fresco obtenidos por 100 g de sustrato seco. Estos cálculos se realizaron tanto para la producción semanal, como para la producción semanal acumulada.

4.7.- Análisis estadístico. Con los valores de eficiencia biológica acumulada para cada condición se realizó un análisis de varianza y la prueba de rango múltiple de Duncan, para determinar la semana en donde para cada condición (cepa y tiempo de incubación), se obtuvo el máximo rendimiento significativo (MRS), es decir, el tiempo de cosecha en donde los incrementos posteriores ya no representan un incremento significativo en los rendimientos. Con los valores del MRS de todas las condiciones se realizó un segundo análisis de varianza con el cual se determinaron las condiciones en donde se obtienen los mayores rendimientos.

4.8.- Experimentos realizados. El proceso para el cultivo de shiitake se puede dividir en tres etapas, las cuales se indican en la secuencia experimental, para los dos experimentos realizados se siguen los mismos pasos, con la diferencia de las cepas, en el primer experimento se utilizaron cepas provenientes del cepario de la UNAM, siendo estas cepas originales, es decir, que no fueron sometidas a resiembras sucesivas, mientras que, para la segunda etapa del trabajo se utilizaron cepas sometidas a resiembras sucesivas por un período de 5 años.

4.8.1. Evaluación del efecto del tiempo de incubación. Para evaluar el efecto del tiempo de incubación (5 y 10 semanas) con las cepas L5 y L9 se inocularon 10 bolsas con 1 kg de sustrato para cada cepa. A continuación se incubaron por 5 y 10 semanas a 24°C en total oscuridad. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se pasaron a un cuarto de fructificación para inducir la etapa de fructificación (ver punto 4.5). Finalmente se cosecharon los hongos diariamente durante 8 semanas y con los valores de producción diaria se calculó la producción semanal, eficiencia biológica semanal y acumulada y con estos últimos valores se realizaron los análisis estadísticos descritos en la sección 4.7.

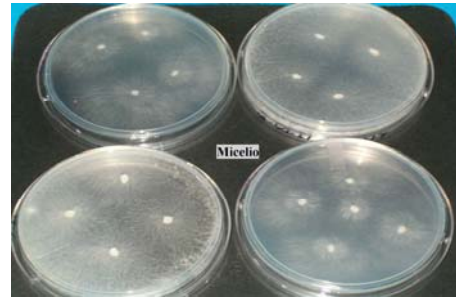
4.8.2 Evaluación del efecto de las resiembras sucesivas de las cepas L5 y L9. Para ello se prepararon 10 bolsas para las cepas obtenidas del cepario (sin resiembras) y 10 bolsas para las cepas sometidas a resiembras sucesivas. En este caso todas las bolsas inoculadas se incubaron por 10 semanas y se sometieron a las mismas condiciones de incubación y fructificación del experimento previo. El registro y análisis estadístico se realizó de igual forma que el experimento previo.

4.9.-Secuencia experimental.

ETAPA I

Obtención de cepas (L5 y L9):

- ◆ Cepario UNAM
- ◆ Con resiembras sucesivas de trabajos previos.
- ◆ Resiembra en medio EMA.



ETAPA II

Preparación del inóculo de grano.

Esterilización
Enfriamiento

Incubación
2-3 semanas.

Inoculación
con cajas
Petrí.



ETAPA III

Preparación de sustrato.

Esterilización
Enfriamiento

Inoculación con
inóculo de grano.

Cosecha:
Peso diario/bolsa

Incubación:
5 y 10 semanas.

Cálculos:
Producción semanal
EB semanal y acumulada
Rendimiento máximo significativo



5.- EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.

5.1.-Influencia del tiempo de incubación sobre la producción del hongo *Lentinula edodes*.

Para observar el efecto que ejerce el tiempo de incubación sobre la producción de hongos frescos, se prepararon bolsas de 1 kg de sustrato húmedo (58%) y se inocularon con las cepas L5 y L9 de *Lentinula edodes* obtenidas del cepario de la UNAM. El sustrato inoculado se incubó por 5 y 10 semanas; transcurrido el tiempo de incubación se colocó en condiciones de fructificación y se cuantificó la producción. El ciclo productivo o período durante el cual se realizó la cosecha de los hongos fue de 10 semanas.

En la **Tabla 1** se presenta la eficiencia biológica semanal (g hongo fresco/100 g de sustrato seco) durante 10 semanas de cosecha para las dos cepas de *Lentinula edodes* y los dos tiempos de incubación (5 y 10 semanas).

Podemos observar que para las cepas incubadas por 5 semanas, no se registró producción en la primera semana de fructificación, lo cual nos indica que probablemente el período de incubación de 5 semanas es muy corto para lograr una completa invasión del sustrato. Además se observa que la cantidad de hongos cosechados fue muy variable a lo largo de las 10 semanas de cosecha, registrándose para algunas semanas rendimientos muy bajos o incluso nulos.

Para la cepa L5 se obtuvieron cantidades considerables de hongos en la 2^a y 4^a semana, mientras que en la 8^a semana es en donde se cosecha la mayor cantidad de hongos. Por otro lado en la 3^a, 5^a y 7^a semana la cosecha de hongos fue nula, lo cual muy probablemente corresponda a los períodos de recuperación en la cepa. Además se observa que la 8^a semana fue la última, en donde se registró producción.

Para la cepa L9 se observa que la mayor eficiencia biológica se obtuvo en la 2^a y 4^a semana. En este caso los períodos de recuperación se presentaron hasta la 5^a y 7^a semana de cosecha. En forma semejante a la cepa L5 la 8^a semana fue la última en donde se registró una insignificante cosecha de hongos.

Para las 10 semanas de incubación, el inicio de la cosecha de hongos se registró desde la primera semana, siendo las dos primeras semanas en donde se cosechó la mayor cantidad de hongos, para las dos cepas evaluadas. Para la cepa L5 se observó un rendimiento del 88%, y para la cepa L9 se registró un rendimiento de 101%. En este caso se observó que las dos cepas necesitaron un período de 2 semanas para volver a producir hongos. Sin embargo, la cantidad de

hongos cosechados a partir de la 5ª semana de producción ya fue muy baja.

Tabla 1. Eficiencia biológica semanal (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco) de 2 cepas de *Lentinula edodes* incubadas por 5 y 10 semanas.

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal de hongos frescos (g hongo fresco/100 g sustrato seco)			
	Cepas			
	L5		L9	
	Tiempo de incubación (semanas)			
	5	10	5	10
1	0.0 ± 0.0	43.78 ± 11.77	0.0 ± 0.0	49.83 ± 31.97
2	26.75 ± 33.49	44.99 ± 25.56	22.71 ± 45.41	51.89 ± 25.90
3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	9.77 ± 19.54	0.0 ± 0.0
4	17.84 ± 22.50	0.0 ± 0.0	22.59 ± 26.09	0.0 ± 0.0
5	0.0 ± 0.0	7.47 ± 16.70	0.0 ± 0.0	13.36 ± 15.25
6	8.47 ± 16.93	0.0 ± 0.0	14.17 ± 18.62	4.04 ± 9.90
7	0.0 ± 0.0	13.71 ± 16.29	0.0 ± 0.0	4.67 ± 11.43
8	34.12 ± 46.40	0.0 ± 0.0	5.08 ± 10.17	3.27 ± 8.00
9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.50 ± 8.58
10	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

En la **Tabla 2** se presentan los valores de eficiencia biológica acumulada (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco) para las dos cepas y los dos tiempos de incubación. Con los datos de cada variable (cepa y tiempo de incubación) se realizó un análisis de varianza y en todos los casos se encontraron diferencias significativas. Por medio de la prueba Duncan se determinó la semana en donde se obtuvo el máximo rendimiento significativo (MRS) para cada caso.

Los resultados del análisis estadístico indicaron que para la cepa L5 incubada por 5 semanas el máximo rendimiento significativo (MRS) se alcanzó en la 6ª semana de corte con un valor de 53.06 g de hongo fresco/100 g de sustrato seco. Para la misma cepa incubada por 10 semanas se observó que el MRS se alcanzó una semana antes, es decir, en la 5ª semana de corte, duplicándose la producción con un valor de 96.24 g de hongos frescos. Por otro lado para la cepa L9 incubada por 5 semanas, se observó que el MRS se obtuvo en la 4ª semana con un valor de 55.06 g de hongos frescos y para las 10 semanas de incubación se obtuvo en la 8ª semana con un valor mayor al doble de la producción 127.06 g de hongos frescos (Ver Anexo I, Tablas 8.2, 8.4, 8.6, 8.8). Cabe señalar que en la segunda semana de corte, los sustratos incubados por 10 semanas habían producido un valor de EB mayor al 100% comparado con los sustratos incubados por 5 semanas (55% de EB) obtenido a la cuarta semana de corte. El valor del MRS nos sirve para identificar la semana en donde se alcanza la mayor producción, lo cual nos indica

que los rendimientos obtenidos posteriormente a esta semana ya no representan incrementos estadísticamente significativos.

Tabla 2. Eficiencia biológica acumulada (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco) de 2 cepas de *Lentinula edodes* incubadas por 5 y 10 semanas.

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal acumulada (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco)			
	Cepas			
	L5		L9	
	Tiempo de incubación (semanas)			
	5	10	5	10
1	0 ± 0	43.78 ± 11.77 a	0.0 ± 0.0	49.83 ± 31.97 a
2	26.75 ± 33.39 a	88.77 ± 23.36 b	22.71 ± 45.41 a	101.72 ± 14.10 b
3	26.75 ± 33.39 a	88.77 ± 23.36 b	32.47 ± 36.59 a	101.72 ± 14.10 b
4	44.59 ± 38.65 a	88.77 ± 23.36 b	55.06 ± 24.02 ab	101.72 ± 14.10 b
5	44.59 ± 38.65 a	96.24 ± 13.68 bc	55.06 ± 24.02 ab	115.08 ± 18.26 bc
6	53.06 ± 42.77 ab	96.24 ± 13.68 bc	69.24 ± 23.65 b	119.13 ± 19.08 c
7	53.06 ± 42.77 ab	109.96 ± 11.52 c	69.24 ± 23.65 b	123.79 ± 21.15 c
8	87.18 ± 10.65 b	109.96 ± 11.52 c	74.32 ± 15.93 b	127.06 ± 18.12 cd
9	87.18 ± 10.65 b	109.96 ± 11.52 c	74.32 ± 15.93 b	140.18 ± 11.77 d
10	87.18 ± 10.65 b	109.96 ± 11.52 c	74.32 ± 15.93 b	140.18 ± 11.77 d
	Indica la semana en la que se alcanzó el MRS Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (Duncan, α= 0.05).			

Con los valores del MRS de cada cepa para los dos tiempos de incubación se realizó un segundo análisis de varianza para observar si tanto las cepas, como el tiempo de incubación tienen un efecto sobre la eficiencia biológica (EB). Los resultados del análisis de varianza indicaron que no existe diferencia significativa entre las cepas, es decir, ambas cepas produjeron la misma cantidad de hongos; mientras que, para los tiempos de incubación se observó una diferencia altamente significativa. Lo cual indica que el período más largo de incubación (10 semanas) produjo mayor cantidad de hongos **Tablas 3 y 4**. Por esta razón es mejor incubar por periodos largos para que la producción de shiitake sea mayor.

Tabla 3. Análisis de varianza realizado a los resultados de eficiencia biológica para conocer el efecto de las cepas y el tiempo de incubación.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F Tablas	Interpretación
Cepas	1639.93	1	1639.93	2.48	4.49-8.53	NS
Tiempo de incubación	15627.90	1	15627.90	23.67	4.49-8.53	**
Error	10565.71	16	660.36			

NS No existe diferencia significativa entre la producción de las cepas.

** Existe diferencia altamente significativa entre los tiempos de incubación.

Tabla 4. Efecto de la cepa de *Lentinula edodes* y el tiempo de incubación sobre el rendimiento máximo significativo (g de hongo fresco / 100 g de sustrato seco).

Cepas	Rendimiento máximo significativo (g de hongos fresco/100 g de sustrato seco)		
	Tiempo de incubación (semanas)		Promedio por cepa
	5	10	
L5	53.06 ± 42.77	96.24 ± 13.68	77.05 ± 36.02 a
L9	55.06 ± 24.02	127.06 ± 18.12	98.26 ± 41.92 a
Promedio por tiempo de incubación	54.06 ± 32.13	113.05 ± 22.31	
	a	b	

Letras diferentes en tiempos de incubación indican que existen diferencias significativas en los rendimientos.

Letras iguales para las cepas indican que no existen diferencias en los rendimientos.

5.2.-Evaluación del efecto de las resiembras sucesivas de las cepas sobre la producción del hongo *Lentinula edodes*.

Para observar el efecto que ejercen las resiembras sucesivas de las cepas sobre la producción de hongos frescos, se prepararon bolsas de 2 kg de sustrato húmedo (60%) y se inocularon con las cepas L5 y L9 de *Lentinula edodes* a partir de cajas que no habían sido sometidas a resiembras sucesivas y también de cajas que habían sido sometidas a constantes resiembras durante los últimos 5 años. El sustrato inoculado se incubó por 10 semanas, trascurrido el tiempo de incubación se colocaron en condiciones de fructificación y se cuantificó la producción. El ciclo productivo fue de 9 semanas.

Para conocer la producción de las cepas se registró el peso de los hongos cosechados durante 9 semanas. En la **Tabla 5** se presenta la eficiencia biológica semanal (g de hongo fresco/ 100 g de sustrato seco) de las cepas L5 y L9 con y sin resiembras sucesivas. En este caso se observa que la cosecha de hongos inicio a partir de la primera semana de corte y se mantiene durante 5 a 7 semanas. Además se observa que la mayor cantidad de hongos se cosecharon hasta la 4^a o 5^a semana de corte y a partir de la 6^a u 8^a semana de corte ya no se registró producción alguna. En la **Tabla 6** se presentan los valores de la eficiencia biológica acumulada (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco) para las dos cepas con y sin resiembras sucesivas. Nuevamente para conocer la semana en la cual se alcanzó el MRS para cada caso (cepas L5 y L9 con y sin resiembras sucesivas) se realizó un análisis de varianza y de nuevo en todos los casos se encontraron diferencias significativas. Por medio de la prueba Duncan fue posible determinar la semana en la cual se alcanzó el MRS para cada condición. El resultado de dicho análisis estadístico reveló que para la cepa L5 con resiembras el MRS se obtuvo en la 4^a semana de corte con un valor de 65.89 g de hongo fresco/100 g sustrato seco. En cambio para la misma cepa sin resiembras sucesivas el MRS se obtuvo en la 5^a semana de corte con un valor de 90.39 g. Para la cepa L9 con resiembras se encontró que el MRS se alcanzó en la 5^a semana con un valor de 97.68 g, mientras que para la misma cepa en este caso sin resiembras sucesivas el MRS se obtuvo en la 6^a semana con un valor de 114.05 g. De igual forma el valor de MRS nos permitió identificar la semana en la cual se obtiene la mayor producción de hongos, y posterior a esta semana los valores obtenidos en las cosechas ya no representan incrementos estadísticamente significativos.

Con los valores del MRS obtenidos para las dos cepas con y sin resiembras sucesivas se realizó un 2º análisis de varianza (Ver anexo II, Tabla 8.11, 8.13, 8.15 y 8.17) para observar si tienen un efecto sobre la EB, tanto las cepas, como la forma de almacenamiento (con y sin resiembras). Los resultados del análisis de varianza indicaron que en este caso si se presentó, una diferencia altamente significativa entre las cepas, siendo la cepa L9 la que produjo mayor cantidad de hongos. También se encontró una diferencia significativa entre la forma de almacenamiento de las cepas (con y sin resiembras sucesivas), es decir se obtuvo una mayor producción de hongos con las cepas que no fueron sometidas a resiembras sucesivas, **Tablas 7 y 8.**

Tabla 5. Eficiencia biológica semanal (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco) de 2 cepas de *Lentinula edodes* incubadas 10 semanas con y sin resiembras sucesivas.

Semanas de corte	Eficiencia biológica semanal de hongos frescos (g de hongo fresco/100 g sustrato seco)			
	Cepas			
	L5		L9	
	Resiembras sucesivas			
	Con	Sin	Con	Sin
1	20.33 ± 17.61	22.55 ± 11.29	23.61 ± 8.73	12.24 ± 3.94
2	17.79 ± 8.41	19.91 ± 7.35	28.46 ± 11.30	21.58 ± 8.23
3	13.40 ± 1.29	19.92 ± 7.63	19.24 ± 6.35	21.08 ± 5.32
4	14.38 ± 8.19	17.08 ± 8.68	16.28 ± 5.19	23.97 ± 2.77
5	13.04 ± 22.58	10.93 ± 7.80	10.09 ± 8.57	22.09 ± 9.69
6	0.0 ± 0.0	6.87 ± 9.79	5.55 ± 8.61	13.10 ± 4.94
7	0.0 ± 0.0	3.32 ± 4.65	3.25 ± 7.96	2.14 ± 4.78
8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Tabla 6. Eficiencia biológica acumulada (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco) de 2 cepas de *Lentinula edodes* incubadas 10 semanas con y sin resiembras sucesivas.

Semanas De corte	Eficiencia biológica acumulada (g de hongo fresco/100 g de sustrato seco)			
	Cepas			
	L5		L9	
	Resiembras sucesivas			
	Con	Sin	Con	Sin
1	20.33 ± 17.61 a	22.55 ± 11.28 a	23.61 ± 8.73 a	12.24 ± 3.94 a
2	38.12 ± 11.21 a	42.46 ± 16.31 b	52.07 ± 18.06b	33.82 ± 5.44 b
3	51.52 ± 12.50 ab	62.38 ± 22.78 c	71.31 ± 16.80 c	54.90 ± 9.65 c
4	65.89 ± 10.43 bc	79.46 ± 18.60 d	87.59 ± 18.64 d	78.86 ± 9.34 d
5	78.93 ± 12.98 c	90.39 ± 17.53 de	97.68 ± 17.98e	100.95 ± 12.05 e
6	78.93 ± 12.98 c	97.26 ± 12.24 e	103.23 ± 12.80e	114.05 ± 11.69 f
7	78.93 ± 12.98 c	100.57 ± 11.74e	106.48 ± 8.69 e	116.19 ± 12.13 f
8	78.93 ± 12.98 c	100.57 ± 11.74e	106.48 ± 8.69 e	116.19 ± 12.13 f
9	78.93 ± 12.98 c	100.57 ± 11.74e	106.48 ± 8.69 e	116.19 ± 12.13 f
	Indica la semana en la que se alcanzó el RMS			
	Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas (Duncan 0.05).			

Tabla 7. Análisis de varianza realizado a los resultados de eficiencia biológica para conocer el efecto de las cepas y las resiembras sucesivas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F Tablas	Interpretación
Cepas	3347.26	1	3347.26	14.54	4.49 8.53	**
Tratamiento (con y sin resiembras sucesivas)	1782.87	1	1782.87	7.74	4.49 8.53	*
Error	3684.02	16	230.25			

** Existe diferencia altamente significativa

* Existe diferencia significativa

Tabla 8. Efecto de las resiembras sucesivas de las cepas de *Lentinula edodes* sobre el rendimiento máximo significativo (g de hongo fresco/ 100 g de sustrato seco).

Cepas	Rendimiento máximo significativo (g de hongo fresco / 100 g de sustrato seco).		
	Resiembras sucesivas		Promedio por cepas
	Con	Sin	
L5	65.89 ± 10.43	90.39 ± 17.53	81.20 ± 19.16 a
L9	97.68 ± 17.98	114.05 ± 11.69	105.12 ± 17.01 b
Promedio por condición de la cepa	87.08 ± 21.95 a	102.22 ± 18.78 b	

Letras diferentes para cepas con y sin resiembras sucesivas y para las cepas L5 y L9 indican que existen diferencias significativas en los rendimientos.

6.- DISCUSIÓN.

Los bajos rendimientos en la producción y los largos periodos de incubación en troncos de madera, forman parte del modo tradicional del cultivo de shiitake, es por ello que se han desarrollado nuevas técnicas de cultivo incluyendo, principalmente la formulación de sustratos, modificación genética de las cepas y la optimización de condiciones ambientales.

Experimento I: Efecto de los tiempos de incubación sobre el rendimiento máximo significativo (g de hongo fresco/100 g sustrato seco).

En experimentos previos realizados en el laboratorio se alcanzaron EBs de 144 y 261 g de hongo fresco/100 g de sustrato seco para las cepas L5 y L9 respectivamente después de 70 días de incubación (Ramírez & Leal, 2002), estos valores son los más altos reportados dentro del laboratorio, cabe mencionar que se utilizó una formulación desconocida, lo cual muy probablemente influyó en los altos rendimientos obtenidos. Además en ese 1^{er} experimento las cepas no habían sido sometidas a resiembras sucesivas lo cual muy probablemente también contribuyó en los altos rendimientos obtenidos.

En este trabajo se obtuvieron EBs de 96.24 y 127.06 g de hongo fresco/100 g de sustrato seco en un período de 10 semanas de incubación para las cepas L5 y L9 respectivamente, utilizando un sustrato probado previamente en nuestro laboratorio; mientras que las EBs bajaron a 53.06 y 55.06 g de hongo fresco/100 g de sustrato seco para el periodo de incubación más corto (5 semanas). Esta disminución en las EBs confirma el efecto adverso que tiene la reducción del tiempo de incubación sobre la producción de hongos. Dicho efecto del tiempo de incubación se corrobora con los resultados encontrados por Rovalo (2002) en donde evalúa 3 tiempos de incubación, los resultados que obtuvo para 6 semanas de incubación fueron de 56.5 para la cepa L5 y 98.3 para la cepa L9, mientras que para las 10 semanas de incubación obtuvo valores de 77.7 y 122.6 g para las cepas L5 y L9.

Por otro lado al comparar nuestros resultados con el comportamiento de estas mismas cepas en experimentos previos se observa que en el último experimento realizado por Mireles & López (2005) los mayores rendimientos de las cepas L5 y L9 obtenidos en 8 sustratos formulados con aserrín de encino y otros cereales alcanzaron un valor EBs de 35.5 y 77.5% respectivamente, para un tiempo de incubación de 10 semanas. Sin embargo, estos valores son los más bajos obtenidos en el laboratorio para las cepas L5 y L9.

Las diferencias en los valores de EBS obtenidas en este experimento en comparación al realizado por Mireles & López (2005) muy probablemente se deba a una mayor humedad del sustrato (50 vs 58%) o también al tamaño de las bolsas ya que ellos utilizaron bolsas con 2 kg de sustrato húmedo y en este caso se utilizaron bolsas con 1 kg de sustrato. Este incremento en los rendimientos nos permite ver la importancia tanto de la humedad del sustrato, como la cantidad del mismo. Además es importante considerar que en el trabajo de Mireles & López se utilizaron las cepas L5 y L9 que habían sido sometidas a resiembras sucesivas durante un período de 5 años. Razón por la cual es probable que se obtuvieran los menores rendimientos. Comparando con los resultados previos, se observó un descenso en EBs, esto puede atribuirse al uso del sustrato, y las condiciones ambientales a las que se sometieron los sustratos en el cuarto de fructificación. Para lograr incrementos considerables en los rendimientos sería conveniente tratar de optimizar la formulación del sustrato.

Comportamiento de las cepas

Con respecto al comportamiento de las cepas en todos los experimentos siempre se ha observado una diferencia considerable entre ellas, siendo la cepa L9 la que ha presentado en todos los casos los mayores rendimientos. Sin embargo en este experimento en particular fue posible incrementar de manera considerable los rendimientos de la cepa L5, siendo las 10 semanas el período óptimo de incubación. Además el incremento en los rendimientos obtenidos para las dos cepas posiblemente pueda ser atribuido a la humedad del sustrato y del medio ambiente, así como a una mayor iluminación (de 12 a 24 horas). Cabe mencionar que el peso de las bolsas con sustrato fue menor para este trabajo (1 kg), y desde el punto de vista de un productor, este es un factor importante, ya que lo que espera es obtener la mayor eficiencia biológica por medio de un aprovechamiento óptimo del sustrato bajo condiciones particulares de cultivo. Para lo anterior resulta importante conocer con detalle los requerimientos de la cepa en particular para desarrollarse en forma óptima en términos de temperatura, humedad, formulación del sustrato y tamaño de las unidades de producción.

Experimento II.

Estudios previos indican que el tiempo de incubación óptimo es de 10 semanas, ya que en este tiempo se obtienen las producciones más altas, la baja en los rendimientos de las cepas, dieron paso a la realización de este trabajo en el que se evaluó si la baja en los rendimientos se debe a las resiembras sucesivas a las que se han sometido las cepas (5 años), a su vez se incremento la cantidad de sustrato (2 kg).

Se utilizó la misma formulación de sustrato que en el experimento anterior, la humedad en este caso resulto de 60%, lo que no representa ninguna modificación a la preparación anterior, el rango que se estableció es de 57-60% de humedad.

Efecto de las resiembras sucesivas sobre el rendimiento máximo significativo (g de hongo fresco/100 g sustrato seco).

En experimentos previos la EBs han disminuido de manera considerable, las cepas que se han utilizado en estos experimentos han sido sometidas a resiembras sucesivas de compañero a compañero. En este trabajo se utilizaron cepas provenientes del cepario que se encuentra en el Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química de la UNAM y cepas sometidas a resiembras sucesivas. Los resultados demostraron que las EBs máximas alcanzadas para cepas con resiembras sucesivas fueron de 65.89 y 97.68 g de hongo fresco/ 100 g de sustrato seco, para las cepas L5 y L9 respectivamente. Para las cepas L5 y L9 sin resiembras sucesivas las EBs fueron de 90.39 y 114.05 g de hongo fresco/100 g de sustrato seco respectivamente.

Estos resultados nos hablan de la importancia del almacenamiento correcto de las cepas y el efecto adverso de las resiembras sucesivas de las cepas, lo cual muy probablemente ocasiona un envejecimiento del micelio que repercute en los rendimientos.

Comparando los resultados con los estudios previos citados con anterioridad en este trabajo encontramos que, para las cepas con resiembras sucesivas los valores de EBs son más altos que los reportados por Mireles & López (2005), y similares a los obtenidos por Rovalo (2002), por lo que se puede observar que las resiembras sucesivas afectaron directamente la producción de hongos.

Por otra parte en el trabajo realizado por Ramírez & Leal (2002), las EBs continúan siendo las máximas alcanzadas en el laboratorio.

Por ello nuevamente nos planteamos la necesidad de realizar experimentos posteriores modificando la composición de sustrato, en términos de incluir cascarilla de algodón en la formulación para verificar si con este sustrato los rendimientos incrementan.

Comparando los resultados de EBs obtenidas en este experimento, en sus dos etapas podemos observar que se alcanzaron producciones semejantes en las etapas I y II para las cepas incubadas por 10 semanas (96.24 y 127.06) en el primer experimento y en el segundo experimento (90.39 y 114.05) para las cepas L5 y L9 respectivamente, lo cual indica que se presentó una gran reproducibilidad en los resultados.

Del mismo modo, se observó que la cepa L9 fue la más eficiente en la producción y la cepa L5 se mantuvo sin ningún cambio en sus rendimientos. Por ello concluimos que las condiciones de cultivo fueron más eficientes para la cepa L5, ya que se logró un incremento significativo en sus rendimientos.

Con respecto al tamaño de la bolsa se puede observar que los valores de producción para el primer experimento (10 semanas de incubación) con 1 kg de sustrato y el segundo experimento (cepas sin resiembras sucesivas) con 2 kg de sustrato fueron muy semejantes, lo que indica que el tamaño de las bolsas no interfiere con los rendimientos.

La diferencia significativa entre los tiempos de incubación y las condiciones de las cepas (con y sin resiembras sucesivas), es el resultado que da respuesta al objetivo de este trabajo, por lo que se puede decir, que si existe un efecto entre el tiempo de incubación y las condiciones de las cepas sobre la eficiencia biológica de *Lentinula edodes*.

7.- Conclusiones.

- Se corroboró que el tiempo de incubación influye directamente sobre el rendimiento de hongos. Por ello es mejor utilizar un período de 10 semanas de incubación, en vez de 5 semanas de incubación.
- Se encontraron diferencias significativas en los rendimientos de las cepas L5 y L9 almacenadas con y sin resiembras sucesivas.
- Se observó que las resiembras sucesivas provocan un envejecimiento del micelio, lo cual repercutió en una baja en los rendimientos de ambas cepas.
- La cepa L9 fue más productiva que la cepa L5 en el segundo experimento.
- El análisis estadístico para determinar el rendimiento máximo significativo para cada condición estudiada permitió conocer el tiempo en el cual es más rentable la cosecha de hongos (5 a 8 semanas de cosecha).
- El RMS es un factor importante, sobre todo para la transferencia de tecnología hacia los productores.
- Los incrementos en los rendimientos de la cepa L5 en los dos experimentos, indican que las condiciones de cultivo fueron optimizadas, al incrementar a 24 horas la iluminación en el cuarto de fructificación y mantener la humedad del sustrato entre 58 y 60%.
- Se observó que la humedad del sustrato es un parámetro importante para obtener mayor producción de hongos.
- Dado que los rendimientos no lograron superar los valores previamente reportados resulta importante considerar una optimización del sustrato.

8.- Anexo I: Análisis estadístico para identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo, para las cepas L5 y L9 incubadas por 5 y 10 semanas.

Tabla 8.1. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 9 semanas se cosecha, para la cepa L5, incubada por 5 semanas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	19606.14	8	2450.77	4.51	2.36-3.36	**
Repeticiones	14648.12	3	4882.71	8.99	2.36-3.36	**
Error	13039.84	24	543.33			

** = No existe diferencia significativa entre las semanas de producción

** = Existe diferencia significativa entre repeticiones.

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.2. Prueba Duncan para la cepa L5 incubada por 5 semanas.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS			Interpretación*
Semanas de cosecha	EBA		
	Grupos		
	I	II	
2	26.75		26.75 ± 33.39 a
3	26.75		26.75 ± 33.39 a
4	44.59		44.59 ± 38.65 a
5	44.59		44.59 ± 38.65 a
6	53.06	53.06	53.06 ± 42.77 ab
7	53.06	53.06	53.06 ± 42.77 ab
8		87.18	87.18 ± 10.65 b
9		87.18	87.18 ± 10.65 b
10		87.18	87.18 ± 10.65 b

*Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 2 grupos. Para la interpretación se considera al primer grupo con la letra "a" y corresponde desde la 2^a hasta la 7^a semana. El segundo grupo inicia a partir de la 6^{ta} semana y termina en la 10^a semana y se le asigna la siguiente letra consecutiva es decir "b". En la columna de la interpretación se dice que letras diferentes indican diferencia significativa entre las medias. Es decir, que de la 2^a hasta la 7^a semana de cosecha la producción de hongos no tuvo incrementos estadísticamente significativos y al considerar el segundo

grupo se determina que de la 6^a a la 10^a semana nuevamente no se presentaron incrementos en la producción estadísticamente significativos. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L5 incubada por 5 semanas se alcanzó en la sexta semana de producción.

Tabla 8.3. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 10 semanas se cosecha, para la cepa L5, incubada por 10 semanas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	18157.21	9	2017.47	16.49	2.15 2.95	**
Repeticiones	6318.40	4	1579.60	12.91	2.63 3.89	**
Error	4404.83	36	122.36			

**Existe diferencia altamente significativa entre semanas y repeticiones

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.4. Prueba Duncan para la cepa L5 incubada por 10 semanas.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
Semanas de cosecha	EBA			
	Grupos			
	I	II	III	
1	43.786			43.78 ± 11.77 a
2		88.77		88.77 ± 23.36 b
3		88.77		88.77 ± 23.36 b
4		88.77		88.77 ± 23.36 b
5		96.24	96.24	96.24 ± 13.68 bc
6		96.24	96.24	96.24 ± 13.68 bc
7			109.96	109.96 ± 11.52 c
8			109.96	109.96 ± 11.52 c
9			109.96	109.96 ± 11.52 c
10			109.96	109.96 ± 11.52 c

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 3 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L5 incubada por 10 semanas se alcanzó en la quinta semana de producción.

Tabla 8.5. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 8 semanas se cosecha, para la cepa L9, incubada por 5 semanas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	6080.09	7	868.58	3.69	2.54-3.77	*
Repeticiones	9713.48	3	3237.83	13.75	3.13-5.01	**
Error	4944.14	21	235.44			

* = Existe diferencia significativa entre semanas

** = Existe diferencia altamente significativa entre repeticiones

Como se encontró diferencia significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.6. Prueba Duncan para la cepa L9 con 5 semanas de incubación.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS			Interpretación*
Semanas de corte	EBA		
	Grupos		
	I	II	
2	22.71		22.71 ± 45.41 a
3	32.47		32.47 ± 36.59 a
4	55.06	55.06	55.06 ± 24.02 ab
5	55.06	55.06	55.06 ± 24.02 ab
6		69.24	69.24 ± 23.65 b
7		69.24	69.24 ± 23.65 b
8		74.32	74.32 ± 15.93 b
9		74.32	74.32 ± 15.93 b
10		74.32	74.32 ± 15.93 b

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 2 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L9 incubada por 5 semanas se alcanzó en la cuarta semana de producción.

Tabla 8.7. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 9 semanas se cosecha, para la cepa L9, incubada por 10 semanas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	26861.93	8	3357.74	24.28	2.20 3.04	**
Repeticiones	10411.73	5	2082.35	15.06	2.47 3.56	**
Error	5116.76	37	138.29			

** = Diferencia altamente significativa entre semanas y repeticiones

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.8 Prueba Duncan para la cepa L9 con 10 semanas de incubación.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS					Interpretación*
Semanas de corte	EBA				
	Grupos				
	I	II	III	IV	
1	49.83				49.83 ± 31.97a
2		101.72			101.72 ± 14.10 b
3		101.72			101.72 ± 14.10 b
4		101.72			101.72 ± 14.10 b
5		115.08	115.08		115.08 ± 18.26 bc
6			119.13		119.13 ± 19.08 c
7			123.79		123.79 ± 21.15 c
8			127.06	127.06	127.06 ± 18.12 cd
9				140.18	140.18 ± 11.77 d
10				140.18	140.18 ± 11.77 d

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 4 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L9 incubada por 10 semanas se alcanzó en la octava semana de producción.

Anexo II: Análisis estadístico para identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo, para las cepas L5 y L9 incubadas por 10 semanas con y sin resiembras.

Tabla.8.9. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 9 semanas se cosecha, para la cepa L5, con resiembras sucesivas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	7989.43	8	998.68	6.88	2.55 3.79	**
Repeticiones	2466.17	17	145.07			
Total	10455.60	25				

** = Diferencia altamente significativa entre semanas de producción

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla8.10. Prueba Duncan para la cepa L5 con resiembras sucesivas.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS				Interpretación*
Semanas de corte	EBA			
	Grupos			
	I	II	II	
1	20.33			20.33 ± 17.61 a
2	38.12			38.12 ± 11.21 a
3	51.52	51.52		51.52 ± 12.50 ab
4		65.90	65.90	65.89 ± 10.43 bc
5			78.93	78.93 ± 12.98 c
6			78.93	78.93 ± 12.98 c
7			78.93	78.93 ± 12.98 c
8			78.93	78.93 ± 12.98 c
9			78.93	78.93 ± 12.98 c

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 3 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L5 con resiembras sucesivas se alcanzó en la cuarta semana de producción.

Tabla 8.11. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 9 semanas se cosecha, para la cepa L5, sin resiembras sucesivas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	33167.38	8	4145.92	42.59	2.24 3.13	**
Repeticiones	5398.90	4	1349.72	13.86	2.67 3.97	**
Error	3115.26	32	97.35			

** = Diferencia altamente significativa entre semanas y repeticiones

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.12. Prueba Duncan para la cepa L5 sin resiembras sucesivas.

Clasificación con el paquete estadístico SPSS						Interpretación*
Semanas de corte	EBA					
	Grupos					
	I	II	III	IV	V	
1	22.548					22.55 ± 11.28 a
2		42.46				42.46 ± 16.31 b
3			62.378			62.38 ± 22.78 c
4				79.458		79.46 ± 18.60 d
5				90.388	90.388	90.39 ± 17.53 de
6					97.256	97.26 ± 12.24 e
7					100.574	100.57 ± 11.74e
8					100.574	100.57 ± 11.74e
9					100.574	100.57 ± 11.74e

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas.

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 5 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L5 sin resiembras sucesivas se alcanzó en la quinta semana de producción.

Tabla 8.13. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 9 semanas se cosecha, para la cepa L9, con resiembras sucesivas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	41485.21	8	5185.65	70.18	2.18 2.99	**
Repeticiones	5775.60	5	1155.12	15.63	2.45 3.51	**
Error	2955.76	40	73.89			

** = Existe diferencia altamente significativa entre las semanas y repeticiones

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.14. Prueba Duncan para la cepa L9 con resiembras sucesivas

Clasificación con el paquete estadístico SPSS						Interpretación*
Semanas de Corte	EBA					
	Grupos					
	I	II	III	IV	V	
1	23.60					23.61 ± 8.73 a
2		52.06				52.07 ± 18.06b
3			71.31			71.31 ± 16.80 c
4				87.59		87.59 ± 18.64 d
5					97.68	97.68 ± 17.98e
6					103.23	103.23 ± 12.80e
7					106.48	106.48 ± 8.69 e
8					106.48	106.48 ± 8.69 e
9					106.48	106.48 ± 8.69 e

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 5 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L9 con resiembras sucesivas se alcanzó en la quinta semana de producción.

Tabla 8.15. Análisis de varianza para identificar diferencias significativas en la eficiencia biológica acumulada durante 9 semanas se cosecha, para la cepa L9, sin resiembras sucesivas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media	F calculada	F tablas	Interpretación
Semanas	64109.00	8	8013.63	200.78	2.24 3.13	**
Repeticiones	2516.49	4	629.12	15.76	2.67 3.97	**
Error	1277.17	32	39.91			

** = Existe diferencia altamente significativa entre las semanas y repeticiones

Como se encontró diferencia altamente significativa en el análisis de varianza se utilizó la prueba Duncan para identificar la semana en la que se alcanza el rendimiento máximo significativo.

Tabla 8.16. Prueba Duncan para la cepa L9 sin resiembras sucesivas.

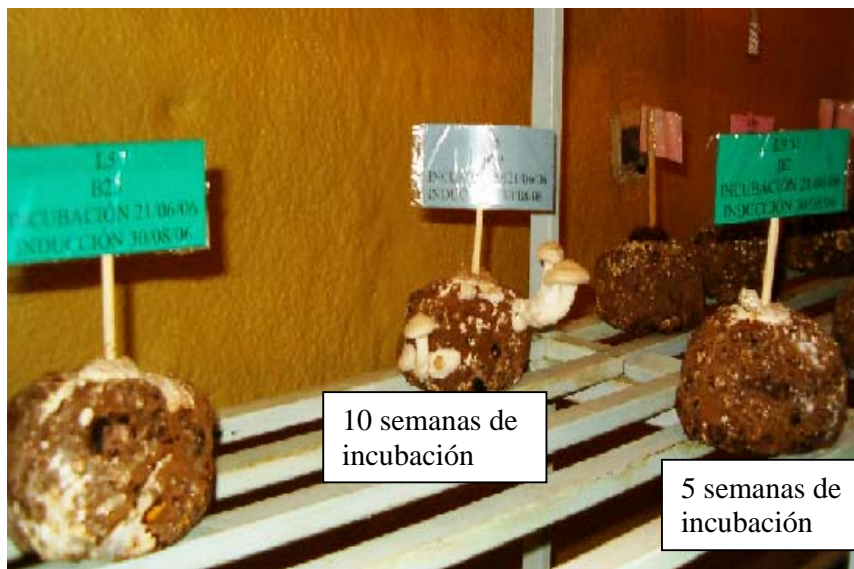
Clasificación con el paquete estadístico SPSS							Interpretación*
Semanas de Corte	EBA						
	Grupos						
	I	II	III	IV	V	VI	
1	12.24						12.24 ± 3.94 a
2		33.82					33.82 ± 5.44 b
3			54.90				54.90 ± 9.65 c
4				78.86			78.86 ± 9.34 d
5					100.95		100.95 ± 12.05 e
6						114.05	114.05 ± 11.69 f
7						116.19	116.19 ± 12.13 f
8						116.19	116.19 ± 12.13 f
9						116.19	116.19 ± 12.13 f

* Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las semanas

Como resultado de la Prueba de Duncan el paquete estadístico reporta 6 grupos. Para la identificar la semana donde se alcanza el rendimiento máximo significativo se considera la primera semana donde inicia el último grupo. Por lo tanto se concluye que el RMS para la cepa L9 sin resiembras sucesivas se alcanzó en la sexta semana de producción.

9.-FOTOGRAFÍAS

Cuarto de fructificación



Características de fructificación de las cepas L5 y L9



Cepa L5
Producción de hongos 5 semanas



Producción de hongos 10 semanas



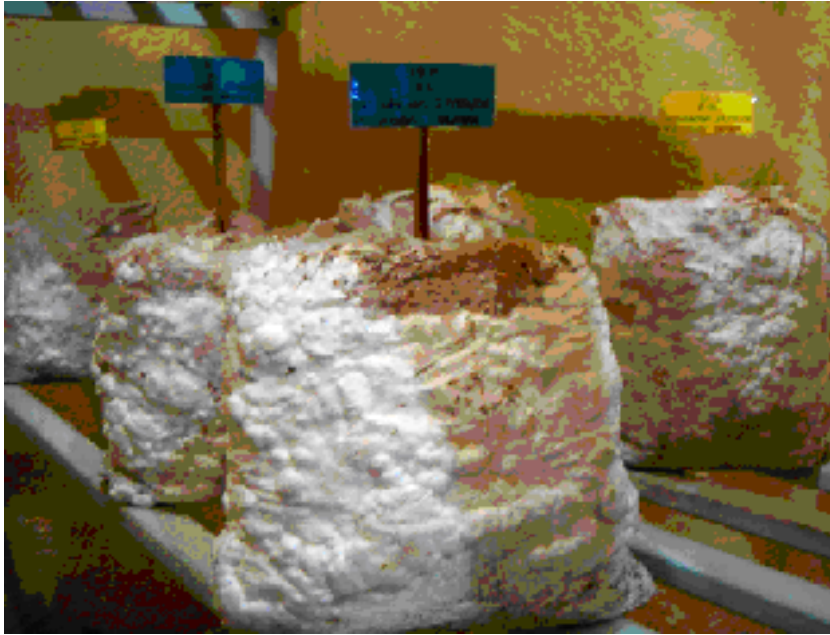
Cepa L9
Producción de hongos 5 semanas



Producción de hongos 10 semanas



Invasión de sustrato de las 10 semanas de incubación



L9 con resiembras sucesivas



L9 sin resiembras sucesivas



10.- BIBLIOGRAFÍA

1. - Casselton L., N. Olesnicky. 1998. Molecular Genetics of Mating Recognition in Basidiomycete Fungi. *Microbial Molecular & Biology*. 62:55-70.
2. - Chang, S.T. 1996. Mushroom Research and Development Equality and Mutual Benefit. *Mushroom Biology Mushroom Products*. 2:1-10.
3. - Chang, S.T. 2002 Past and Present Trends in The Production of *Lentinula Edodes*. *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Sánchez (ed). UAEM.
4. - Chang, S. 1999. World Production of Cultivated Edible and Medicinal Mushrooms in 1997 With Emphasis of *Lentinus edodes* (Berk) Sing. In *China Int. J.Med. Mush*. 1:291-300.
5. - Chen, A.W. 2005. Shiitake Cultivation. *Mushworld*, 1-10, 83-89.
6. - Chen, A.W., N. Arrol, P. Stamets. 2000. Shiitake Cultivation Systems. *In: Science and Cultivation of Edible Fungi*, Van Griensven (ed). Rotterdam, 771-778.
7. - Delpech, P., J.M. Oliver. 1991. Cultivation of Shiitake on Straw Based Pasteurized Substrates *In: Science and Cultivation of Edible Fungi*. Balkema, Rotterdam Maher (ed), 523-528.
- 8.- Estrada, M. E., J.A. Tovar, R. Garivay, A. Montoya-Moreno. 2001. ¿Qué es Etnomicología? *Nanacatl*.1:29-32.
- 9.- García, A.O., 2006. Manual para la Producción y Comercialización de Hongos Comestibles. Universidad de Buenos Aires, 7-15.
- 10.- Guzmán, G. 1998. Análisis Cualitativo y Cuantitativo de Los Hongos en México. *In: La Diversidad Biológica en Iberoamérica*. México Nueva Serie. INECOL Y CYTED, 53-66.
11. - Hiromoto, B.T. 1991. Comparative Analysis of Shiitake Culture System. *In: Science and Cultivation of Edible Fungi*, Maher (ed). Balkema, Rotterdam, 489-496.
12. - Ikekawa, T., M. Nakanishi; N. Uehara. 1998. Anti-Tumor Action of Some Basidiomycetes Especially *Phellinus linteus*. *Grann*. 59:155-157.
13. - Ikekawa, T., T. Yoshioka, M. Emori. 1999. Antitumor Activity of Aqueous Extracts of Edible Mushrooms. *Cancer Res*.29:734-734.

14. - Kalberer, P. 2000. Influence of Urea and Ammonium Chloride on Crop Yield and Fruit Body Size of Shiitake (*Lentinula edodes*). *In: Science and Cultivation of Edible Fungi*, Maher (ed). Balkema, Rotterdam, 361-365.
15. - Kilpatrick, D.J 2000. Influence of Substrate Formulation and Autoclave Treatment on *Lentinula edodes* Production. *In: Science and Cultivation of Edible Fungi*, Maher, (ed). Balkema, Rotterdam, 509-516.
16. - Kitamoto, Y. 1990. Effects of Light on Fruit-Body Development as a Basis of Fungal Cultivation. *In: The IUSM Congress: Bacteriology & Micology*. Osaka, Japan, 269.
17. - Levanon, D., N. Rothschild, O. Danai, S. Masaphy. 1993. Strain Selection for Cultivation of Shiitake Mushrooms (*Lentinula edodes*) on Straw. *Bioresource Technology* 45: 9-12.
- 18.- Martínez-Carrera, D., A. Lague; M. Aliphat, A. Aguilar, M. Bonilla, W. Martínez. 2000. La Biotecnología de Hongos Comestibles en la Seguridad y Soberanía Alimentaria de México. CONACYT, Academia México de Ciencias, 193-207.
- 19.- Martínez-Carrera, D. 2000. Mushroom Biotechnology in Tropical America. *In: The International Journal of Mushroom Sciences*. 3:9-20
20. – Mata Gerardo and Savoie. Shiitake Spawn and Strain. *In: Mushroom Growers Handbook* 2. 1:36-41.
- 22.-.Mireles P., G. López. 2005, Evaluación de la Producción del Hongo Comestible *Lentinula edodes* (*shiitake*) en Sustratos de Aserrín con Suplementos. Tesis licenciatura, UNAM, México, D.F., 64-66.
23. - OEI, P.T., 2005. Exotic Mushroom Production in Europe Needs Innovations. *In: Fifth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom products*. 12:455-474.
24. - Otha, C., K. Yanamaka; K. Namba. 1994. Some Characteristics of Gill-less Mutant in *Lentinus edodes*. *In: 5th International Mycological Congress*, Vancouver, Canada, 248.
25. Przybylowicz, P., J. Donoghue. 1998. Shiitake Growers Handbook: The Art and Science of Mushroom Cultivation. Kendall/ Hunt Publishing Company. Iowa, Usa, 33-55.
26. - Ramírez, R., H. Leal. 2002. Culture Conditions for Increasing Yields of *Lentinula edodes*. *In: 289-293*.

- 27.- Rovalo, J. 2002. Efecto del Tiempo de Incubación Sobre la Producción de Hongos de *Shiitake*. Tesis Licenciatura, UNAM, México, D.F., 21-22.
- 28.- Royse, J. 1997. Specialty Mushrooms: Consumption, Production and Cultivation. *Revista Mexicana. Michoacan*, 13: 1-11.
29. - Royse, J. ., C., Schisler. 1986 Cultivation of Shiitake on Supplemented Sawdust. *Shiitake News*, 3(1): 1-4.
30. - Royse, J. 1985. Effect of Spawn Run Time and Substrate Nutrition on Yield and Size of Shiitake Mushroom. *Mycologia*. 5:756-762.
31. - Stamets, P. 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Ten Speed Press, Berkeley, 32-35.
- 32.- Ulloa, M., T. Herrera. 1990. El Reino de los Hongos. 1^{ra} Edición, Fondo de Cultura Económica; México D.F., 13-22.
- 33.- Villareal, L., J. Pérez-Moreno. 1989. Los Hongos Comestibles Silvestres de México un Enfoque Integral. *In: Micología Integral Aplicada*. 2: 78-86.
34. - Yanamaka, K. 2005. Cultivation of New Mushroom Species in East Asia. *In: Fifth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom products*.12: 343-348.
- 35.- Yingjie, P. 2005. Role of China's Mushroom Societies in the Development of the Mushroom Industry. *In: Fifth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom products*, 485-487.
36. - Yuemei, L. 2005. High Yield Cultivation Techniques for Year-round Production of *Lentinula edodes* in a Solar Greenhouse. *In: Fifth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom products*. 12: 299-305.

www.mushworld.com

www.17ocn.ne.jp

www.agromantar.com

fai.unne.ed.ar/.../micología//2_micoligía.htm

www.fao.org

www.bancomext.com.mx