

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales

Escuela de Ingeniería Agropecuaria

**ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES SUSTRATOS PARA LA
PRODUCCIÓN DE SHITAKE *Lentinus edodes* Sing. (Berg) EN
YAHUARCOCHA, IMBABURA**

Tesis de Ingeniera Agropecuaria

Autora:

CRISTINA ALEXANDRA CASTILLO CASTRO

Director:

Ing. GALO VARELA

Ibarra – Ecuador

2008

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales

Escuela de Ingeniería Agropecuaria

ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SHIITAKE *Lentinus edodes* Sing. (Berg) EN YAHUARCOCHA, IMBABURA

Tesis presentada al Comité Asesor como requisito para optar por el
título de Ingeniera Agropecuaria

Aprobada:

Ing. Galo Varela
DIRECTOR DE TESIS

Ing. Franklin Hernández
ASESOR

Ing. Eduardo Gordillo
ASESOR

Biólogo Galo Pabón
ASESOR

Ibarra – Ecuador
2008

PRESENTACIÓN

La presente tesis contiene datos reales obtenidos durante el desarrollo del trabajo investigativo, por lo que es responsabilidad directa cualquier análisis e interpretación.

Este estudio se lo dedico a Dios, a mi familia y a mi compañero y amigo, quienes son los que me han brindado su constante apoyo y me han dado fortaleza para seguir adelante con este proyecto investigativo que ha durado más de lo planificado.

Cristina

AGRADECIMIENTOS

- Al Ing. Eduardo Tulcanaz, compañero y amigo, quien ha sido un pilar fundamental en el desarrollo de esta investigación, ya que sin sus conocimientos y su constante apoyo hubiera perdido el horizonte de esta investigación.
- A la Universidad Técnica del Norte (UTN) por el apoyo brindado a este proyecto de investigación.
- Al Ing. Galo Varela, Decano de la Facultad de Ingeniería Agropecuaria y Director de este Proyecto de Tesis, por su constante apoyo, dedicación y conocimientos que contribuyeron a la culminación de este trabajo investigativo.
- Al Ing. Franklin Hernández, Ing. Eduardo Gordillo y Biólogo Galo Pabón, asesores del Proyecto, por su colaboración permanente para la culminación exitosa de este ensayo.

ÍNDICE GENERAL

	Carátula y Portada	I
	Hoja de Aprobación	II
	Presentación	III
	Dedicatoria	IV
	Agradecimiento	V
	Índice General	VI
	Índice de Tablas	VII
	Índice de Figuras	VIII
	Índice de Cuadros	IX
	Índice de Anexos	X
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Problema	2
1.2	Justificación	3
1.3	Objetivos: general y específico	3
1.4	Hipótesis	4
2.	LITERATURA	
2.1	Introducción al Cultivo de Shiitake	5
2.2	Biología del Hongo Shiitake	11
2.3	Cultivo de Shiitake en Aserrín	19
2.4	Inoculación e Incubación	30
2.5	Fructificación de Shiitake en Aserrín	40
2.6	Recolección del Hongo	46
2.7	Aspectos Nutricionales y de Salud	46
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1	Materiales	51
3.2	Métodos	54
3.3	Manejo Específico del Experimento	57
3.4	Toma de Datos	72

4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1	Porcentaje de Eficiencia Biológica	75
4.2	Rendimiento de hongos por kg. de materia seca de sustrato	76
4.3	Medición de pH cada 15 días	80
4.4	Días de Incubación en los tres Medios de cultivo	82
4.5	Días de Fructificación con cada sustrato	83
4.6	Costos de Producción para cada uno de los tratamientos	84
5.	CONCLUSIONES	86
6.	RECOMENDACIONES	88
7.	RESUMEN	89
8.	SUMMARY	91
9.	BIBLIOGRAFÍA	93
10.	ANEXOS	100

ÍNDICE DE TABLAS

	Título	pág.
1	Producción mundial de Lentinula edodes peso fresco, expresado en toneladas métricas (TM).	10
2	Sinónimos de Lentinus edodes (Shiitake)	14
3	Producción Enzimática Extracelular de Lentinus edodes	21
4	Composición Lignocelulósica de Maderas	23
5	Análisis comunes de Materiales usados como Suplementos	25
6	Ejemplos de Fórmulas	26
7	Composición nutricional de Shiitake Deshidratado y Fresco	48
8	Compuestos Biológicamente Activos encontrados en el Shiitake	49
9	Utilidades del Hongo shiitake	50
10	Análisis Químico de Materiales	66
11	Formulación de los Tratamientos para el Cultivo de Shiitake	67
12	Formulación para cada uno de los Tratamientos	67
13	Resumen de la Producción de Lentinus edodes en cada uno de los Tratamientos	88
14	Matriz de Leopold	110

ÍNDICE DE CUADROS

	Título	pág.
1	Condiciones del Cultivo por Tratamiento	75
2	Eficiencia Biológica por Tratamiento	75
3	Rendimiento de hongos por Unidad Experimental en cada Tratamiento	76
4	Cuadro de Medias	77
5	Arreglo Factorial	77
6	Análisis de Varianza	77
7	Prueba de Tukey para Tratamientos	78
8	Prueba DMS para Sustratos	78
9	Prueba de Tukey para Técnicas de Pasteurización	79
10	Prueba DMS para Interacción	79
11	Fluctuaciones de pH con cada Tratamiento	80
12	Días de Incubación para uno de los Tratamientos	82
13	Días de fructificación con cada Tratamiento	83
14	Resumen de Costos de Producción por Tratamiento	84

ÍNDICE DE FIGURAS

	Título	pág.
1	Proceso del Cultivo de Shiitake en Troncos	7
2	Cultivo de Shiitake en Aserrín	8
3	Producción de Esporas Sexuales en Basidiomicetes y Ascomicetes	13
4	Conexiones que unen la formación de Basidiomicetes	15
5	Ciclo de vida del Shiitake	17
6	Cierre de Bolsas para Intercambio de Gases	28
7	Obtención de Semilla en Aserrín	34
8	Ciclo de Fructificación de Shiitake en Sustratos a Base de Aserrín	41
9	Diseño de Cabina Aséptica	59
10	Diseño de Incubadora Cáscara	65
11	Porcentaje de Eficiencia Biológica por Tratamiento	73
12	Rendimiento de hongos por kg. de Materia Seca con cada Tratamiento	80
13	Curva de Comparación del pH fluctuante en cada uno de los Tratamientos	81
14	Tiempo de incubación del Micelio en cada uno de los Tratamientos	82
15	Tiempo de Fructificación en cada Tratamiento	83

ÍNDICE DE ANEXOS

	Título	Pág.
I	Proceso de la Fase Investigativa	101
II	Informe de Diagnóstico Ambiental (IDA), y Evaluación de Impactos Ambientales (EIA)	102
III	Elaboración del Micelio Reproductor (Semilla)	113
IV	Tratamiento 1 (Aserrín de laurel + Vapor)	116
V	Tratamiento 2 (Aserrín de laurel + Agua Caliente)	119
VI	Tratamiento 3 (Marlo molido de maíz + Vapor)	122
VII	Tratamiento 4 (Marlo molido de maíz + Agua Caliente)	125
VIII	Tratamiento 5 (Tamo de avena + Vapor)	128
IX	Tratamiento 6 (Tamo de avena + Agua Caliente)	131
X	Obtención de Semilla	134
XI	Fase de Investigación	138
XII	Tratamiento 1 (Aserrín de laurel + Vapor)	142
XIII	Tratamiento 2 (Aserrín de laurel + Agua Caliente)	144
XIV	Tratamiento 3 (Marlo molido de maíz + Vapor)	147
XV	Tratamiento 4 (Marlo molido de maíz + Agua Caliente)	149
XVI	Tratamiento 5 (Tamo de avena + Vapor)	150
XVII	Tratamiento 6 (Tamo de avena + Agua Caliente)	151

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La producción de shiitake, (*Lentinus edodes*), se extiende mundialmente por sus altos valores nutricionales y medicinales, y por el incremento de las eficiencias de producción y demanda. Un factor de gran importancia en el cultivo de macromicetos en bloques sintéticos es la optimización de cada una de sus etapas de producción, lo que conllevará a la reducción de costos y a una mayor competitividad en el mercado (FUNG 2002).

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de tres sustratos y dos técnicas de pasteurización durante el desarrollo del cultivo de shiitake, (*Lentinus edodes*).

Para el efecto, esta investigación muestra la calidad de residuos orgánicos que generan nuestros cultivos, puesto que el champiñón shiitake siendo el más gourmet de los hongos frescos cultivado alrededor del mundo, crece una sola vez al año a campo abierto, durante el otoño en los países que gozan de las cuatro estaciones, siendo uno de los hongos exóticos de mayor interés económico con atractivas oportunidades de mercado.

Finalmente, se puede añadir que el hongo shiitake, puede presentar una interesante alternativa de producción y competitividad con el vecino país de Colombia, que durante los últimos años ha ido incrementando su producción, que espera crecer con los nuevos tratados de libre comercio (TLC) con EE. UU. que igualmente a desarrollado técnicas que le han permitido superar la producción de ciertos países asiáticos como Taiwan (FUNG 2002, ABADÍA 2007).

1.1 PROBLEMA

La Provincia de Imbabura, ha sido por varias décadas una zona netamente agrícola, y por consiguiente generadora de una gran cantidad de residuos orgánicos, que en la mayoría de los casos pasan a formar parte de la contaminación ambiental. Por tal motivo, se los ha considerado materia prima (fuente de lignina y celulosa) en el cultivo de hongos comestibles.

En el Ecuador, la escasa información que existe sobre el cultivo de shiitake, y la falta de conocimiento que la población tiene sobre esta seta comestible, hacen que su producción y consumo sean sumamente limitados; sin embargo, con esta investigación se pretende dar alternativas y soluciones para aliviar los problemas de contaminación en el Medio Ambiente.

Dentro del enfoque actual sobre la agricultura, es necesario que los estudiantes aportemos al desarrollo en el sector agrícola, realizando investigaciones en los campos de la Biotecnología Sustentable, como una alternativa de producción y cómo uno de los desafíos a la situación actual del país.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Con la ejecución de esta investigación se propone generar bienes de consumo alimenticio, utilizando tecnologías tradicionales que faciliten la transformación de los residuos agrícolas y madereros en una excelente fuente de celulosa y hemicelulosa para poner en marcha el cultivo de setas comestibles.

Estos cultivos se podrán desarrollar al aire libre, en locales relativamente pequeños o adaptando bodegas en desuso, para contribuir a la diversificación de la producción y aportar una fuente de alimento y medicina a la dieta de la familia ecuatoriana. Lo que nos permitirá atender un mercado selectivo en las principales ciudades ya que no existe oferta de este producto a nivel nacional.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 GENERAL

Evaluar el efecto de tres sustratos, mediante dos técnicas de pasteurización en la producción de shiitake *Lentinus edodes*.

1.3.2 ESPECÍFICOS

- Determinar cuál de los tres sustratos (aserrín de laurel, marlo molido de maíz y tamo de avena), es el de mejor calidad para el cultivo de shiitake.
- Definir qué técnica de pasteurización (vapor o agua caliente) es la más efectiva para el desarrollo del hongo shiitake en el medio artificial.
- Realizar un análisis económico de presupuesto parcial para el mejor tratamiento.

1.4 HIPÓTESIS

H₀ El rendimiento de hongos shiitake en los tres sustratos es el mismo

H_a Al menos uno de los sustratos difiere en el porcentaje de productividad.

H₀ Las dos técnicas de pasteurización no muestran significancia estadística en el rendimiento.

H_a Una de las técnicas de pasteurización rinde más al momento de la cosecha.

CAPÍTULO II

LITERATURA

2.1 Introducción al Cultivo de Shiitake

2.1.1 Principios del Cultivo de Setas

El cultivo de setas es a la vez una ciencia y un arte; una ciencia porque ha investigado la biología básica de setas determinando cómo los factores ambientales influyen en el mismo y es un arte porque aplica esta información a la actividad de creciente éxito de los cultivos de hongos (SINGER 1961).

El cultivo de Shiitake no debe ser un proceso desordenado (FERNÁNDEZ 2004), puesto que requiere de una atención constante para mantener cierta ventaja competitiva necesaria para el éxito económico, los pasos básicos en el cultivo de Shiitake son: 1) Creación de una base selectiva de nutrientes para el hongo; y 2) Medio ambiente adecuado para favorecer el crecimiento y desarrollo del mismo (SALDARRIAGA 2001).

2.1.1.1 Historia

El primer registro escrito de Shiitake se encontró plasmado en documentos históricos en Japón cuando el emperador Chuai en 199dC elogio a nativos Kyushu por ofrecerle hongos Shiitake recogidos del medio silvestre (SAN ANTONIO 1981).

Históricamente el señor Wu San Kwung fue conocido como el que originó el cultivo del hongo *Lentinula*. Él nació durante la dinastía Sung (960-1127) en Lung-Shyr, una villa de Lung-Chyuan al suroeste de Chekiang; condado

nombrado oficialmente en 1994 como “la ciudad del hongo Lentinula” (CHANG y MILES 1984).

Luego, los científicos chinos S. T. Chang y P. G. Miles (1984) manifiestan que el investigador Wang Cheng registra las conocidas técnicas de crecimiento del hongo shiitake en el año 1313, describiendo cómo seleccionar el lugar adecuado para escoger y cortar apropiadamente los árboles a ser sembrados, con estos métodos básicos del cultivo se estimulaba la producción de hongos.

Entre 1500 y 1600 dC, agricultores chinos introducen estas técnicas de cultivo al Japón, siendo desde entonces los japoneses los líderes en el desarrollo de técnicas para el cultivo de Shiitake en troncos (CHANG 1987)

Después, en 1933 se registra por primera vez un cultivo de Shiitake en bloques de madera sometidos a tratamiento térmico (CHANG y MILES 1984). En 1935, los bloques de aserrín sólo eran medios de prueba de micelio de Shiitake para mejorar sus características genéticas (ITO 1978).

A pesar de la historia, el cultivo comercial de Shiitake en aserrín u otros materiales que contienen celulosa sigue creciendo en el mundo entero, así como las técnicas de cultivo, un claro ejemplo es el método desarrollado por cultivadores holandeses, quienes pasteurizan el sustrato de Shiitake en camas como las setas de botón blanco (*Agaricus*), por esta razón no existe un método ideal de cultivo sino más bien una gran variedad de métodos desarrollados en diferentes limitaciones (LOU 1981).

2.1.2 Técnicas de Cultivo

2.1.2.1 Cultivo sobre Troncos

Tradicionalmente, el hongo Shiitake ha sido cultivado en troncos recién cortados, por lo general de la familia de los robles; los árboles son talados durante el

período de dormancia cuando su contenido de azúcar es alto; seguidamente dentro de uno o dos meses los troncos son inoculados con micelio puro activado, esta siembra consiste en introducir ó clavar pequeños trozos de madera o aserrín invadido el micelio de Shiitake en pequeños orificios que han sido hechos anteriormente con un taladro (ROYSE et al. 1985).

Después de la inoculación los troncos han de ser colocados uno sobre otro, creando así condiciones favorables para la colonización del micelio en madera. Una vez que los troncos están completamente invadidos de micelio, se los induce a fructificación regándolos por aspersion en forma periódica hasta iniciar el período de cosecha (SAN ANTONIO 1981, REGÉS 2008).

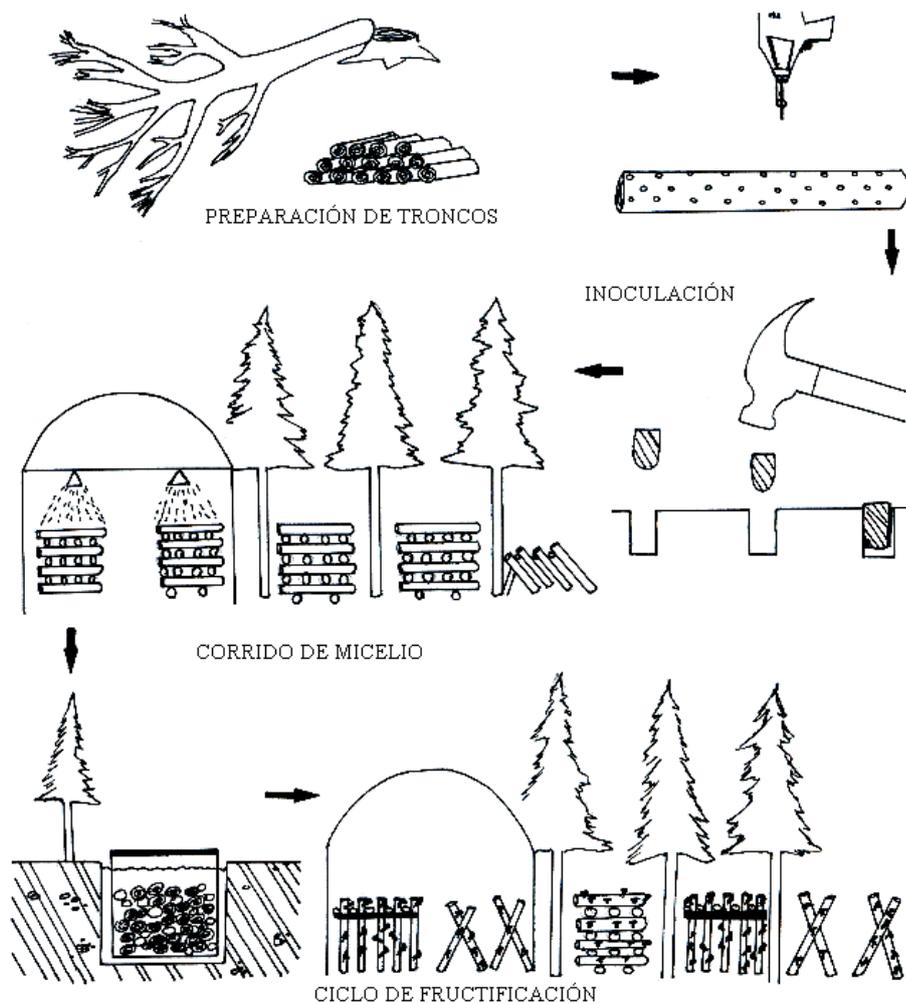


Fig. 1 Proceso del Cultivo de Shiitake en Troncos
Redibujado de S. T. Chang y P. G. Milles (1984) (16)

2.1.2.1 Cultivo en Aserrín

Es una mezcla de materiales que imitan el medio natural de reproducción del Shiitake, estos sustratos están compuestos por aserrín, aditivos suplementarios con contenidos de celulosa como los granos o el salvado de trigo y otras fuentes de hidratos de carbono y nitrógeno (MURATA et al. 1987). La mezcla es esterilizada al calor, en frascos, para eliminar parásitos competidores por nutrientes; una vez fría la mezcla es inoculada con micelio de Shiitake e incubada por 30 a 180 días, cumplida la incubación los bloques han de ser sometidos a un choque térmico trasladando a una nevera, induciéndolos así, al proceso de fructificación (IIZUKA y TAKEUCHI 1978).

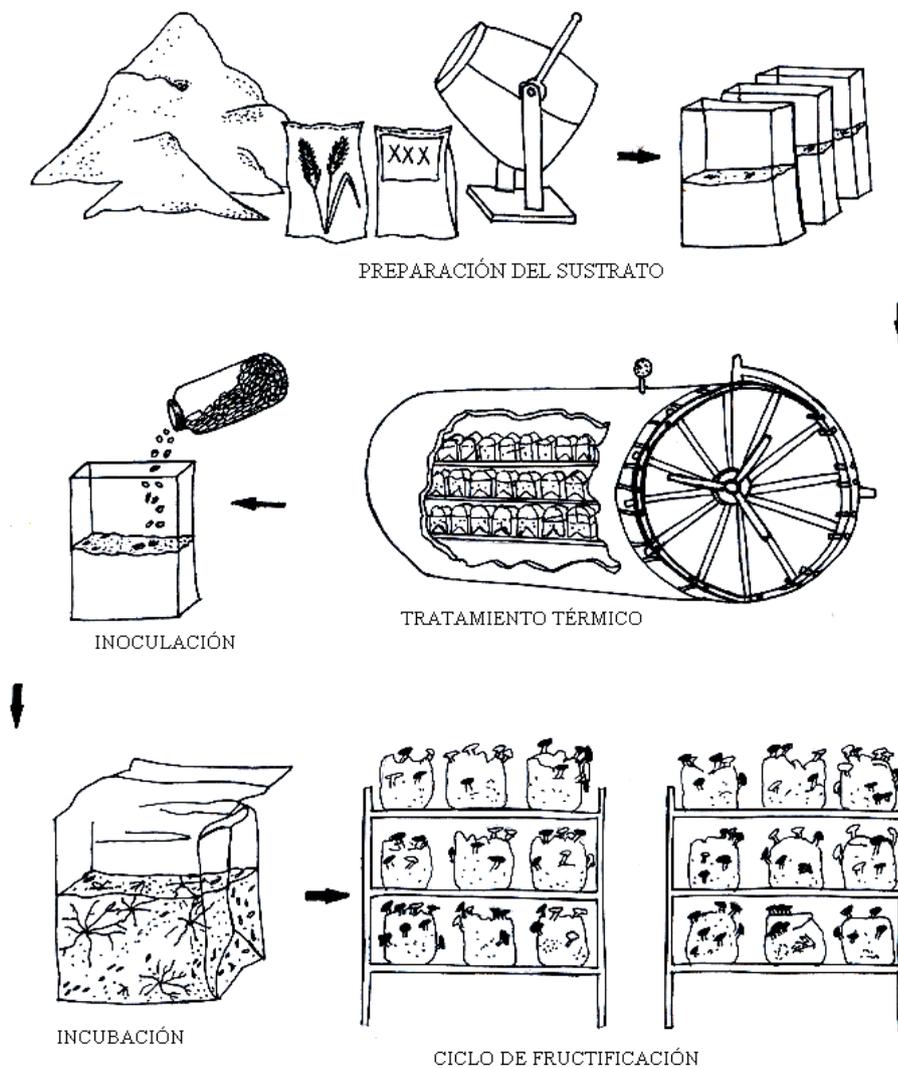


Fig. 2 Cultivo de Shiitake en Aserrín
Redibujado de S. T. Chang y P. G. Milles (1984) (16)

2.1.3 Tendencias de Producción y Consumo de Shiitake

El Shiitake ocupa el segundo lugar después del botón champiñón (*Agaricus*) en el total de la producción mundial de setas. En todo el mundo la producción de Shiitake ha incrementado de menos de 10.000 toneladas métricas en 1946 a más de 300.000 millones de toneladas métricas en 1986; durante este mismo período la producción de *Agaricus* creció de 100.000 toneladas a 1.226.640 toneladas (CHANG 1987, SINGER 1961).

Japón hasta 1983 fue el productor principal de Shiitake con un aporte a la producción mundial del 83%, en 1986 esta aportación decreció al 51%, en 1991 a 32.2%, en 1994 a 21.5% hasta establecerse en 1997 con una contribución del 16.5% con tendencia a seguir decayendo (CHANG y MILES 1984).

Aproximadamente el 80% de la producción mundial se deshidrata, mientras que el 20% restante se vende en fresco; sin embargo la producción de Shiitake fresco para el mercado ha ido aumentando constantemente, por ejemplo: en 1970 cultivadores japoneses producían 38.064 toneladas de Shiitake fresco, lo que duplicó en 1979 a 77.517 toneladas; pero, aunque la producción de Shiitake Japonés incrementaba, el número de agricultores disminuía, lo que se veía reflejado en un cambio drástico en las grandes fincas; en 1970 existían 251.759 productores: el 80% tenía 3.000 troncos o menos, y sólo el 5% contaba con más de 10.000 troncos; para 1979, habían 181.709 agricultores, de los cuales el 66% producían en 3.000 troncos o menos, mientras que el 13% registraba más de 10.000 troncos (CHANG 1987).

La demanda de Shiitake se ha mantenido a la par con el aumento de la producción; por lo que EE. UU. fomenta el rápido crecimiento de la industria de shiitake debido a factores políticos y económicos (CHANG y MILES 1984). A principios de 1970 la importación de hongos enlatados a bajos precios desde Asia causa una abrupta caída de hongos *Agaricus*; gran número de explotaciones sale del mercado, lo que obliga a otros productores a extender sus negocios ofreciendo

nuevas setas a bajos costos, dando así, espacio para que el cultivo artificial del hongo Shiitake crezca; no obstante, para 1972 el Departamento de Agricultura de los EE. UU. prohíbe la importación de cepas de Shiitake desde el Japón, lo que obliga a sus investigadores a trabajar en la mejoración de las cepas disponibles; a raíz de esto, la industria de Shiitake en EE. UU. se desarrolló rápidamente aplicando nuevas técnicas de cultivo en sustratos artificiales a base de aserrín; lo que permitió que para 1986 EE. UU. represente el 0.1% en la producción mundial de Shiitake; desde entonces ha crecido paulatinamente con el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo en sustratos artificiales (LEE 1996).

Sin embargo, la producción que originariamente limitaba a Asia como principal productor ha iniciado en países como EE. UU., Australia, Canadá, Brasil, Perú, Chile, Argentina, Colombia, Holanda, España, Bélgica, Finlandia, Singapur, Tailandia, Filipinas entre otros.

Actualmente, China ha desarrollado nuevas técnicas de cultivo artificial, lo que le ha permitido incrementar su desarrollo en un 350% desde 1962 al 2002, razón por la que el hongo Shiitake ocupa el segundo lugar en la producción mundial de hongos comestibles después del champiñón *Agaricus*, con alrededor de 1.722.645 TM de peso fresco lo que representa un incremento del 70% de la producción total de ese país y el 25.4% de la producción mundial (FUNG 2002).

Tabla 1 Producción mundial de *Lentinula edodes* peso fresco, expresado TM.

País	1994		1998		2000		2003	
	volumen	%	volumen	%	volumen	%	volumen	%
China	35.0	13.9	266.0	57.4	438.2	71.0	573.6	71.1
Japón	159.1	63.3	149.2	32.2	132.5	21.5	125.3	16.5
Corea	16.4	6.5	12.0	2.6	15.4	2.5	1.95	1.7
Taiwán	34.3	13.6	25.8	5.6	19.6	3.3	19.9	2.7
Otros	6.6	2.6	10.2	2.2	11.9	1.9	16.0	2.0
TOTAL	251.4	100.0	463.2	100.0	617.6	100.0	697.7	100.0

FUENTE: Oei, 2003 (61)

2.2 Biología del Hongo Shiitake

El hongo Shiitake degrada la madera y obtiene los nutrientes necesarios para su producción. Dos sistemas interdependientes como: la biología del Shiitake y el proceso de descomposición de la madera regulan la respuesta del hongo a los cambios ambientales, por lo que es importante que el productor conozca estos sistemas básicos a fin de resolver problemas que puedan surgir durante el cultivo (ISHIKAWA 1967).

2.2.1 Clasificación

En la actualidad, los hongos son colocados en un reino de los suyos, el reino Fungi (GRANADOS y ORELLANA 2004). La mayoría de los biólogos reconocen por lo menos cinco reinos:

- **Reino Mónera** (bacterias y virus)
- **Reino Protista** (protozoarios, algas, etc.)
- **Reino Fungi** (hongos)
- **Reino Animalia** (metazoarios, con o sin columna vertebral)
- **Reino Plantae** (Plantas)

El reino Fungi se divide en una jerarquía de grupos relacionados, en orden descendente son: división, clase, orden, familia, género, especie y cepa. Los hongos suelen dirigir su alimento externamente para luego, nutrirse de él por medio de la absorción (HERRERA y ULLOA 1990).

a. Clasificación Taxonómica

El hongo Shiitake taxonómicamente según Pegler (1983), se encuentra clasificado de la siguiente manera:

REINO	Fungi
DIVISIÓN	Basidiomycota
CLASE	Basidiomycetes
SUBCLASE	Agaricomycetidae
ORDEN	Agaricales
FAMILIA	Agaricaceae
GÉNERO	Lentinus
CEPA	Lentinus edodes

b. Ascomicetes y Basidiomicetes

Estudios realizados por Tokimoto (1978) y Pegler (1983) demuestran: que la mayoría de los hongos son de importancia económica, en las dos grandes clases que son agrupadas bajo la dominación de hongos. Estas dos clases de hongos se distinguen por sus esporas sexuales (Ascomicetes producen ascosporas formadas dentro de un saco llamado asca y Basidiomicetes originan basidiosporas en los basidios), forma, color, tamaño y textura de fructificación del cuerpo (Basidiomicetes mayores a una pulgada y Ascomicetes son microscópicos en su mayoría a excepción de las morchelas).

El hongo Shiitake pertenece a un orden de los Basidiomicetes denominado Agaricales (Figura 3), que son los típicos hongos conocidos por su sombrero y un tallo falso o pedicelo (ITO 1978).

2.2.2 Sinónimos de *Lentinula edodes*

Al hongo Shiitake se le ha dado una serie de nombres a través de los años (PEGLER 1983), sin embargo la más aceptada ha sido *Lentinus edodes* dado por R. Singer en 1941 (Tabla 2).

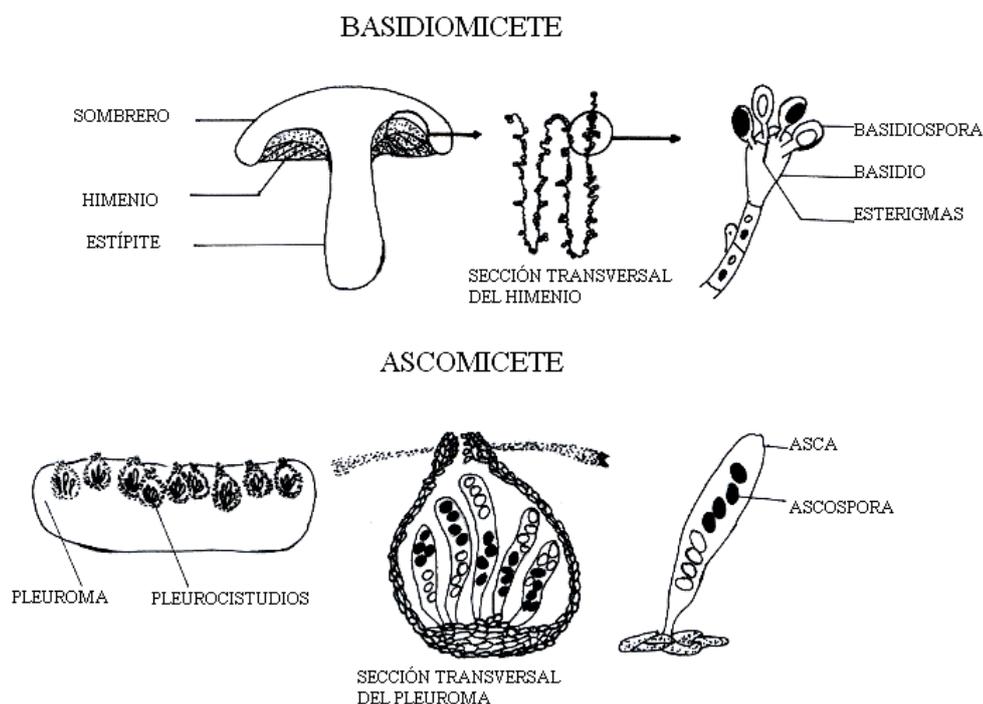


Fig. 3 Producción de Esporas Sexuales en Basidiomicetes y Ascomicetes
Redibujado de T. Ito (1981) (65)

2.2.3 Micelio y Reproducción Asexual

a. Micelio

Los hongos pasan la mayor parte de su vida como micelio vegetativo; su producción es análoga a la producción de un tomate por la planta de tomate; en los hongos la seta es el fruto del micelio, no obstante, sin micelio no hay setas (KOMATSU,1961).

El micelio es muy frágil ya que cualquier perturbación física lo rompe o tritura, ya que está compuesto por muchas líneas de interconexión individual (hifas) que son invisibles, excepto bajo un microscopio (KOMATSU 1963). El crecimiento del micelio es sólo en la punta de cada hifa, puesto que la digestión se produce a lo largo de la longitud de la hifa hasta ocupar por lo general casi todo el sustrato (SINGER 1961).

Tabla 2 Sinónimos de *Lentinus edodes*

Nombre	Año Asignado
<i>Agaricus edodes</i>	1877
<i>Collybia shiitake</i>	1886
<i>Armillaria edodes</i>	1887
<i>Agaricus russaticeps</i>	1888
<i>Lepiota shiitake</i>	1889
<i>Lentinus tonkinensis</i>	1890
<i>Mastaleucomyces edodes</i>	1891
<i>Pleurotus russaticeps</i>	1891
<i>Cortinellus shiitake</i>	1899
<i>Tricholoma shiitake</i>	1918
<i>Cortinellus berkeleyanus</i>	1925
<i>Lentinus shiitake</i>	1936
<i>Cortinellus edodes</i>	1938
<i>Lentinus edodes</i>	1941
<i>Lentinula edodes</i>	1975

FUENTE: KALBERER, P. P. (1987) (38)

b. Micelio Primario y Secundario

Los hongos tienen dos tipos básicos de micelio: primario y secundario, el primero se produce cuando una ascospora o basidiospora germina, teniendo un solo núcleo por célula monocariótica llamado monocarión; mientras que el segundo antes de que un ascomicete o basidiomicete produzca ascosporas o basidiosporas puras, este tiene un par de núcleos en cada célula dicariótica denominado dicarión (KOMATSU 1963).

El Shiitake y la mayoría de otros hongos pueden producir setas sólo con el micelio secundario, en vista de que este se ha formado por la manifestación del micelio primario (KONEMAN 1997). Una característica distintiva del micelio secundario

en muchos basidiomicetes, incluyendo el Shiitake es la presencia de conexiones en forma de abrazadera, que asegura que los nuevos núcleos de células reciban la información del dicarion (KOMATSU 1963, TOKIMOTO 1978 y 1982).

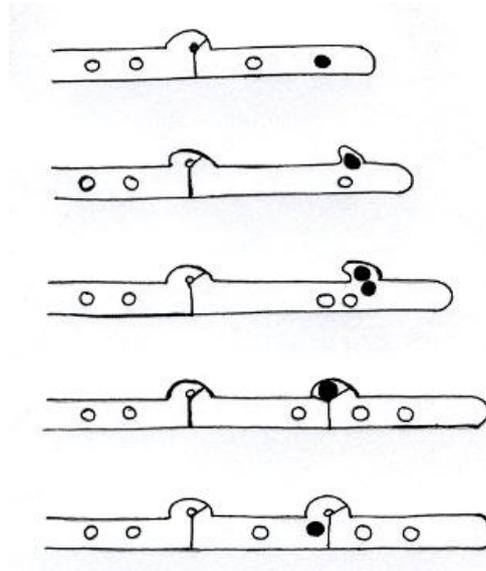


Fig. 4 Conexiones que unen la formación de Basidiomicetes.
Redibujado de M. Komatsu (1961) (43)

c. Reproducción Asexual

Las ascosporas y basidiosporas son el resultado de la recombinación sexual (SOLOMON, 1996); por lo que durante la producción de esporas sexuales, la recombinación genética y la mutación del hongo le permiten adaptarse a las condiciones cambiantes del medio (WAINWRIGHT, 1995).

La mayoría de hongos se reproducen asexualmente sin recombinación sexual, ya sea por fragmentación de la hifa ó por esporas asexuales producidas en estructuras especiales, dando como resultado una estructura similar al micelio reproductor (WAINWRIGHT, 1995).

Estos fragmentos de micelio son ubicados en nuevos sustratos para que siga creciendo hasta establecer una colonia; sin embargo, los Basidiomicetes así como

los Ascomicetes no sobreviven a la fragmentación, por esta razón la cepa de Shiitake es invadida en piezas de materiales sólidos que aseguran la protección del micelio dentro de ellas (WEBSTER 1970, WAINWRIGHT 1995).

2.2.4 Ciclo de Vida del Shiitake

Inicia en el momento de madurez de las setas, cuando las basidiosporas han sido dispersadas por el viento (son microscópicas paredes delgadas que perecen rápidamente a la exposición solar), caen sobre sustratos adecuados para su germinación y crean nuevas colonias para su reproducción (OEI 2003).

En la naturaleza, la principal etapa del micelio es por lo general rápida, no siendo así en un medio artificial donde, el micelio primario de Shiitake no puede producir setas, por lo que para desarrollar el micelio secundario las dos hifas primarias (monocariónicas) que tienen núcleos compatibles, deben crecer juntas para formar un dicarion (81); de tal forma que el micelio secundario resultante de este apareamiento produzca setas, completando así el ciclo de vida del Shiitake (KOMATSU 1963).

Sin embargo, no todos los micelios primarios de Shiitake son compatibles, por lo que a todos estos efectos prácticos, el Shiitake tiene cuatro tipos de apareamiento que son compatibles sólo en determinadas combinaciones, por ejemplo: la capacidad de los monocariones de crecer juntos y cambiar de núcleos es controlada por uno o más genes; este sistema de apareamiento es hetrothalllic, lo que significa que dos esporas genéticamente diferentes sean compatibles y tetrapolares, es decir, que son cuatro genes diferentes los encargados del control de compatibilidad entre ellas. (KONEMAN 1997, PEGLER 1983)

Con estas especificaciones se dice que el Shiitake pasa la mayor parte de su vida como micelio secundario durante la etapa vegetativa, que es cuando este coloniza y degrada la madera, absorbiendo y almacenando nutrientes para la fructificación (KOMATSU, 1963).

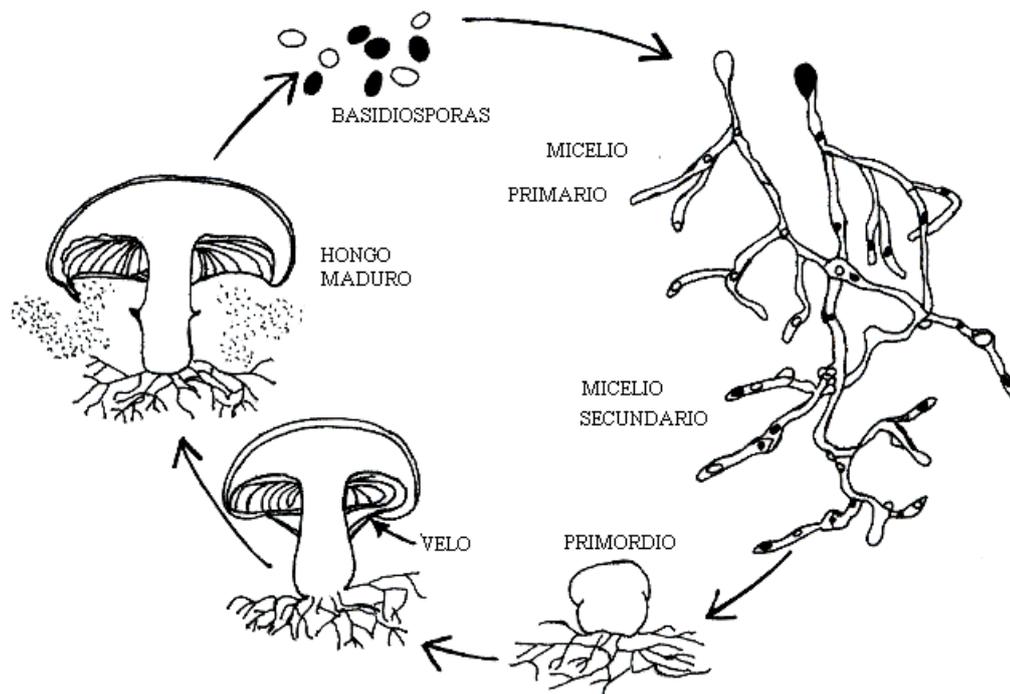


Fig. 5 Ciclo de vida del Shiitake
 Redibujado de MATA G&R PÉREZ (2000) (53)

2.2.5 Proceso de Descomposición de la Madera

El Shiitake obtiene los nutrientes que necesita de la madera en descomposición; las hifas segregan enzimas que descomponen los materiales insolubles como la celulosa y la lignina, convirtiéndolos en azúcares simples para que las hifas fúngicas absorban y conviertan estos componentes en tejido de hongo y dióxido de carbono (MILES G.&S. JONG 1987).

Al desintegrarse la madera, pierde fuerza y peso, aumentando así, su capacidad para absorber humedad (FUNG, 2002); siendo factores como el contenido de nutrientes de la madera, el nivel de humedad, la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y la concentración de compuestos tóxicos o inhibitorios los que influyen positiva o negativamente la tasa de descomposición (BLACHETE, 1978).

➤ **Constituyentes de la Madera**

Sus principales componentes son largas y complejas moléculas de celulosa, hemicelulosa y lignina, las mismas que están constituidas por moléculas de glucosa en el caso de la celulosa, mientras que a la hemicelulosa la componen otros azúcares como la xilosa y la manosa, y la lignina es la unión de diferentes compuestos fenólicos que son difíciles de degradar para muchos hongos (BLACHETE y SHAW 1978, ROYSE y SÁNCHEZ 2000).

La madera obtiene la mayor parte de su fuerza de la celulosa, que está organizada en estructuras similares a paquetes sobre las paredes celulares de las fibras de la madera, y la lignina que es la que da rigidez a la madera y se encuentra incrustada en la hemicelulosa que se ubica alrededor de los paquetes de celulosa, adicionalmente se pueden encontrar pectinas, almidones, minerales y azúcares simples (CAROLINAAGRO-TECH 1986, BUSWELL et al. 1996).

➤ **Humedad de la Madera**

El contenido de humedad en la madera es un elemento importante en la degradación, ya sea por saturación o escasez de agua, ésta inhibe el crecimiento de los organismos que actúan durante este proceso (ROYSE y SÁNCHEZ 2000).

La madera adecuada para la descomposición debe contener la suficiente humedad, de tal manera que en la superficie de las células de la fibra de la madera exista una película libre de agua (MORAIS et al. 2000). Esta lámina de oxígeno únicamente aparece en la madera que tiene un 23% de saturación de la fibra (contenido de humedad) en peso fresco, en caso de sobrepasar este porcentaje la limitación de oxígeno inhibiría la descomposición (LOU 1981, MATA 2000).

La humedad en la madera eventualmente es equilibrada con el contenido de agua de la atmósfera circundante. Incluso si el aire fuera demasiado húmedo, la madera con un contenido de humedad en equilibrio, se situará por debajo del punto de

saturación de la fibra. No obstante, este equilibrio deberá ser controlado durante el cultivo de Shiitake para apoyar el crecimiento de los hongos (MURATA 1987, MORAIS 2000).

➤ **Tipos de Descomposición de la Madera**

La madera descompuesta por basidiomicetes tiene dos tipos de pudrición (BUSWELL et al. 1996):

- 1) Parda, degrada primero la celulosa y después la lignina dándole un color marrón al sustrato en la última etapa de descomposición, y;
- 2) Blanca, esta al contrario de la anterior degrada la celulosa y la lignina al mismo tiempo.

Shiitake es una pudrición blanca, en los troncos degrada a la célula desde parte interior, mientras que en el aserrín es un tanto diferente en vista de que la madera es alterada en su estructura por lo que su superficie esta mayormente expuesta al micelio, lo que dará mayor ventaja al momento de la descomposición, ya que el hongo podrá crecer y degradar el aserrín con mayor rapidez y facilidad (PEGLER 1983, ROYSE y SÁNCHEZ 2000).

2.3 Cultivo de Shiitake en Aserrín

2.3.1 Preparación del Sustrato

El *Lentinus edodes* por ser un organismo que obtiene sus requerimientos de fuentes no vivas, básicamente de elementos lignocelulósicos de las paredes celulares de las plantas. El hongo produce enzimas que son excretadas al ambiente convirtiendo estos compuestos insolubles (lignina y celulosa) en solubles, y así poder ser llevados a través de la pared celular fungal y la membrana celular, al citoplasma donde son metabolizados (MORAIS et al. 2000).

La pared celular vegetal está compuesta básicamente de celulosa, hemicelulosa y lignina, los cuales les brindan rigidez y protección a la planta. La celulosa es un componente fibrilar constituido por un polímero lineal de restos de D-glucosa unidos por enlaces β (1-4) glucosídicos. Cada molécula presenta una rotación de 180° con respecto a las moléculas contiguas, estabilizadas por puentes de hidrógeno intramoleculares entre OH-3'-O-5 y OH-2-OS-6'. La ausencia de cadenas laterales unidas a la estructura lineal de las cadenas β (1-4) glucano, permite la formación de agregados moleculares (microfibrillas) estabilizados por puentes de hidrógeno intermoleculares entre OH6-OS3, confiriéndole una estructura cristalina (AZCON-BIETO y TALON 1993).

Después de la celulosa, el componente presente en mayor proporción es la hemicelulosa, la cual está compuesta de polisacáridos neutros que presentan una cadena lineal relativamente larga con ramificaciones cortas de varias clases de azúcares como pentosas: xilosas y arabinosas; hexosas: manosas, glucosas y galactosas, y ácidos urónicos como: el ácido galacturónico y el ácido glucorónico. (ISHIKAWA 1967)

La composición de la hemicelulosa varía dependiendo de la especie y se ha determinado que pueden unirse mediante puentes de hidrógeno a las cadenas de β (1-4) glucano de la celulosa, formando una red que limita la separación de las microfibrillas y proporciona mayor rigidez a la pared (AZCON-BIETO y TALON 1993).

La lignina es un polímero constituido por restos fenilpropanoides derivados casi exclusivamente de los ácidos p-cumárico, coniferílico y sinapílico, unidos entre sí por enlaces éter (C-O-C) ó C-C. La composición monomérica, así como el tipo de enlace entre ellos y su organización en la macromolécula varía entre las diferentes especies. Su presencia en las paredes celulares secundarias, distribuida en los espacios entre la celulosa y la hemicelulosa, desplaza el agua por su carácter hidrofóbico, aumentando tanto la resistencia química como la física y la rigidez de las mismas (AZCON-BIETO y TALON 1993).

La bioconversión de los materiales de desecho de las plantas forma parte de un alimento de alto contenido proteínico para el hongo. Este al excretar diferentes enzimas específicas (Tabla 3), degrada los polisacáridos de alto peso molecular o monómeros más fáciles de asimilar (TOKIMOTO y KOMATSU 1978, TRITATANA y TANTIKANJAN 1987).

Tabla 3 Producción Enzimática Extracelular de *Lentinus edodes*.

Actividad Enzimática	Función	Compuesto en el Sustrato	Producto de la Actividad enzimática
Lacasa	Biodegradación de la lignina	Fenoles ó lignina	Compuesto aromático de menor peso molecular
Endocelulasa Exocelulasa β-Glucosidasa	Degradación de la celulosa	Celulosa	Azúcares
Xilanasa	Degradación del xilán	Xilán (hemicelulosas)	Azúcares
Proteasa	Degradación de la proteína	Proteínas	Aminoácidos
Fosfatasa	Liberación del ión fosfato	Ésteres de fosfato	Desconocido
Lipasa	Degradación de lípidos		
DNAsa	Degradación de DNA	DNA	Azúcares, base de ácido nucléico, fosfatos
RNAsa	Degradación de RNA	RNA	Azúcares, base de ácido nucléico, fosfatos
Laminarinasa	Degradación del glucán	Glucanos	Azúcares

FUENTE: MILES, P. G&S T. JONG (1987) (56)

Una gran variedad de residuos agrícolas y madereros pueden ser utilizados como sustrato en la producción de Shiitake como por ejemplo: bagazo de caña de azúcar, cascarilla de arroz, heno, tallos de plantas de maíz, tamo de cereales, rastrojos de leguminosas y virutas de diferentes maderas; que pueden suministrarle al hongo los nutrientes necesarios para su crecimiento y fructificación, los cuales bajo condiciones controladas pueden tener altos rendimientos, disminuyendo el porcentaje de contaminación por organismos competidores. (GAITÁN 2000, 2004).

2.3.2 Ingredientes del Sustrato

La mezcla de partículas en la composición de un sustrato pueden ser ajustados por el productor con el fin de incrementar la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento de Shiitake, niveles más altos de nutrientes aceleran la velocidad de crecimiento del micelio y por lo tanto su rendimiento (HARRIS 1986, KALBERER 1987, MILES G&S JONG 1987).

En general el aserrín es el ingrediente principal en los sustratos utilizados para la producción de Shiitake, sin embargo la velocidad de descomposición, nutrición y producción de setas varían de acuerdo a las características físicas de la madera o de cualquier material existente en el medio (FUZISAWA et al. 1978, FUZISAWA et al. 1978, FUZISAWA y HATTORI 1979).

➤ Aserrín

Normalmente, el componente principal de las mezclas es el aserrín de árboles de hoja caduca ó maderas duras (aliso, laurel, nogal, chanúl, sauce, caoba, balsa), que representa del 60 a 90% del peso total del sustrato seco; no siendo así con las maderas blandas o de hoja perenne – coníferas (cedro, pino, ciprés) que por sus altos contenidos de resinas y compuestos fenólicos inhiben el crecimiento de los hongos, por lo que no se recomienda su uso a menos de que estos compuestos

sean degradados o removidos del aserrín antes de este sea empleado en el cultivo de Shiitake (BUSWELL et al. 1996, FUNG 2002, KALBERER 1987).

El aserrín de maderas blandas, también puede ser químicamente alterado con carbonato de sodio para eliminar una parte de estos compuestos (BUSWELL et al. 1996), ó ser envejecido al aire libre por uno o más años haciendo montículos pequeños de aserrín para permitir el intercambio de gases producidos durante el proceso biológico aeróbico; además de la reducción notable de los compuestos inhibitorios, la degradación del material aumenta la accesibilidad del hongo a los componentes de la madera (MORAIS et al. 2000).

Tabla 4 Composición Lignocelulósica de Maderas

ESPECIE	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Cenizas	Extractos	Otros
Madera blanda cedro, pino, ciprés	41	24	27.8	2	0.4	4.8
Madera Dura aliso, laurel, nogal, balsa, caoba, sauce	39	35	19.5	3.1	0.3	3.1

FUENTE: FUNG, Y. (2002) (19)

El tiempo necesario para que el Shiitake degrade el aserrín se relaciona con el tamaño de las partículas, es decir que grandes partículas son degradadas más lentamente que pequeñas partículas a pesar de que si son muy pequeñas el movimiento de los gases se ve restringido, razón por la que se trabaja con partículas de 2 a 3 mm. No obstante, el Shiitake ha sido cultivado en otros materiales (pajas, mazorcas de maíz, etc.) sean estos solos en combinación con aserrín (IIZUKA y TAKEUCHI 1978, CAROLINAAGRO-TECH 1986, BUSWELL et al. 1996).

➤ **Suplementos**

Son agregados al sustrato para acelerar su crecimiento y aumentar el tamaño de las setas, modificando de esta manera las características físicas y químicas de la mezcla (FUZISAWA et al. 1978).

Estos complementos nutricionales elevan los niveles de nitrógeno incrementando así los rendimientos; mientras que los hidratos de carbono aceleran la velocidad de colonización y degradación del medio de cultivo, reduciendo el tiempo del proceso de desarrollo hasta la fructificación (MILES G&S JONG 1987, MURATA et al. 1987).

La cantidad de suplementos a utilizar con éxito dependen del productor de Shiitake; por ejemplo: los granos o materiales similares son comúnmente utilizados por su gran contenido de proteínas, hidratos de carbono y grasas; mientras que otros aditivos que contienen minerales y vitaminas son empleados porque influyen en el crecimiento de los hongos (KASAHARA et al. 1976, LOU 1981, HARRIS 1986). Ver Tabla 5.

➤ **Otros Aditivos**

Estos pueden ser añadidos para cambiar la acidez (pH) ó mejorar la estructura física del medio de cultivo; un claro ejemplo es el uso de la cal o carbonato de calcio, que se encarga de mantener el pH por encima de la media de pH 4, durante las últimas etapas de descomposición cuando el sustrato tiene un pH extremadamente ácido (PELLINEN et al. 1987).

El yeso ó sulfato de calcio, también mejora la estructura física de la mezcla, altera el pH, y actúa como fuente de calcio, pero se lo usa especialmente en las setas de botón como los Agaricus (SINGER 1961, PELLINEN et al. 1987, REGÉS DALMAÚ 2008).

Tabla 5 Análisis comunes de Materiales usados como Suplementos

Material	Materia	Fibra	Porcentaje de Peso Húmedo			
	Seca Total	Detergente Ácida	Minerales Totales	Grasas	Carbohidratos	Nitrógeno
Maíz	89.0	3.0	1.3	3.8	71.3	1.5
Mijo	90.0	15.0	2.6	3.8	57.3	1.9
Avena	89.0	14.0	3.1	4.8	55.3	1.9
Trigo	89.0	7.0	1.7	1.8	64.3	2.3
Salvado de trigo	89.0	14.0	6.1	3.9	49.8	2.4
Salvado de arroz	91.0	16.0	11.6	13.7	37.0	2.0
Harina de semillas de colza	94.0	15.5	6.8	7.0	29.5	5.6
Soja	92.0	9.0	5.1	17.2	21.5	6.3
Extracto de harina de maíz	90.0	3.4	5.8	0.9	30.2	7.9
Levadura, Cervecería	93.0	3.7	6.6	0.8	38.9	7.0

REFERENCIA: US-Canadian Tables of Feed Composition (1982) (81)

2.3.3 Formulación de Sustratos

La formulación del sustrato dependerá principalmente de los materiales disponibles en el medio, que pueden variar de un lugar a otro (Tabla 6); la fórmula estándar comprende el 80% de aserrín de madera dura y el 20% de suplementos en base seca (KALBERER 1987).

Tabla 6 Ejemplos de Fórmulas

País	Formulación
EE. UU.	80% aserrín 10% salvado 10% cereales (trigo o mijo)
TAIWAN	84% aserrín 5% salvado de arroz 5% afrecho de trigo 3% harina de soja 3% cal
SUIZA	75% aserrín de abeto 24% afrecho de trigo 1% cal

FUENTE: KALBERER, P. P. (1987) (38)

Algunos cultivadores utilizan fórmulas con niveles más bajos de suplementos para evitar altos niveles de contaminación, dos ejemplos de este tipo de fórmulas de seguimiento son: 90% aserrín, 10% salvado de arroz con el 0.2% de cal; y 95% aserrín, 5% salvado de arroz más el 0.4% de almidón de maíz (ITO 1978, IIZUKA y TAKEUCHI 1978).

2.3.4 Mezcla

Por lo general, los ingredientes deberán mezclarse homogéneamente (manualmente o con mezclador mecánico) mientras el material está seco, para luego añadirle agua hasta lograr el nivel de humedad adecuado (HARRIS 1986).

➤ Contenido de Humedad

La humedad desempeña un factor importa en el crecimiento del hongo, está determinada por la fórmula del sustrato, el tamaño de las partículas y la cantidad

de agua que pierde durante la incubación; sin embargo, el rango óptimo oscila entre 55 y 70% antes del tratamiento térmico (FUZISAWA et al. 1978, MILES G&S JONG 1987, FULIMOTO 1987).

Por ejemplo: muchos cultivadores estiman que el contenido de humedad adecuado para el sustrato se lo debe medir apretando la mezcla con la mano, es decir que si el sustrato libera una o dos gotas de agua está en perfectas condiciones (FULIMOTO 1987).

2.3.5 Enfundado

a. Contenedores

La mezcla, por lo general es colocada en bolsas plásticas resistentes al calor, antes de proceder con algún tratamiento térmico. Frecuentemente, este tipo de contenedores son los más usados para el cultivo artificial de Shiitake, porque resisten la manipulación, soportan el calor, tienen la capacidad de intercambiar gases con el medio ambiente y pueden ser transparentes (FULIMOTO 1987, FUZISAWA et al. 1978, FUZISAWA y HATTORI 1979).

b. Material de los Contenedores

El polietileno (PE) es uno de los plásticos más comunes, los hay de dos tipos: de baja densidad y de alta densidad. El Shiitake puede ser cultivado en PE de baja densidad ya que permite el intercambio de gases para el crecimiento del micelio.

El polipropileno (PP), es más resistente al calor pero no tiene el suficiente paso de aire como para intercambiar gases (FUZISAWA y HATTORI 1979, OEI 2003).

c. Disposición para el Intercambio de Gases

El método más común es cerrar las bolsas después de llenarlas, con un anillo de plástico replegable y resistente, con el fin de crear una apertura en el cuello de la funda, mismo que deberá ser taponado con algodón permitiendo así el intercambio de gases (IIZUKA y TAKEUCHI 1978, FUZISAWA et al. 1978).

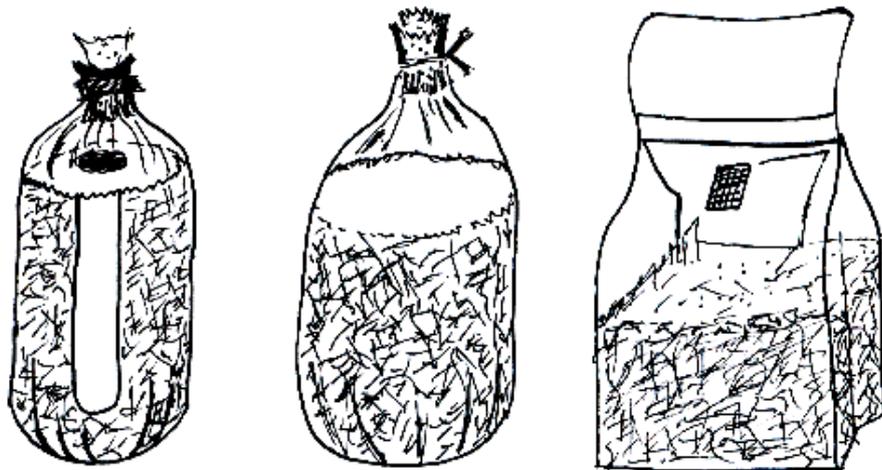


Fig. 6 Cierre de Bolsas para Intercambio de Gases

Redibujado de N. Fuzisawa, A. Maedai y K. Hattori (1978) (21)

d. Llenado

Los contenedores pueden ser llenados a mano o a máquina, de tal manera que la mezcla sea comprimida en la bolsa plástica para incrementar su densidad; una vez llena la bolsa, se presiona en el centro del sustrato un agujero hacia abajo y se inocula el micelio reproductor a fin de garantizar la distribución vertical de la semilla en la bolsa; acelerando de esta forma la colonización de la cepa en el sustrato (IIZUKA y TAKEUCHI 1978, KALBERER 1987).

2.3.6 Tratamientos Térmicos

Después de la mezcla de aserrín, se prepara el tratamiento térmico para eliminar o reducir las poblaciones de organismos competidores que están presentes en el sustrato.

La velocidad a la que se calienta el sustrato depende de una serie de factores cómo: el calor húmedo que se moviliza en el aserrín más rápidamente que a través del aire, la cantidad de calor (vapor) aplicada al sustrato y el total de masa ó volumen de mezcla en las bolsas, que determinan el tiempo necesario para alcanzar la temperatura ideal con la mitad del sustrato (REGÉS DALMAÚ 2008).

A. Esterilización

Es la eliminación o destrucción de todos los organismos vivos utilizando tratamientos de calor, radiación, filtración ó químicos (SAN ANTONIO 1981, TRITATANA y TANTIKANJAN 1987). El tiempo necesario para la esterilización es en función de la temperatura, es decir que a mayor temperatura menor tiempo de esterilización, por ejemplo: esporas bacterianas altamente resistentes al calor mueren después de 5 minutos a 250°F (121°C) aunque ciertas bacterias termófilas pueden sobrevivir 5 horas a 212°F (100°C) pero son muertas después de 25 minutos a 250°F (121°C) (COTTER et al. 1965).

Por lo tanto, el tiempo requerido para esterilizar una mezcla efectivamente es igual al tiempo necesario para la penetración del calor al centro del sustrato, más el tiempo de exposición a la temperatura necesaria para eliminar a los competidores. Lo que significa que 30 minutos a 250°F (121°C) garantizaría la esterilización (MORAIS et al. 2000).

B. Pasteurización

La pasteurización es el proceso que elimina una parte de la población de microorganismos existentes en la mezcla; se produce a temperaturas de 60 a 80°C por lo que es imposible matar a organismos termo tolerantes (MILES G&S JONG 1987, MORAIS et al. 2000).

Este tratamiento térmico es regularmente utilizado en el cultivo de hongos comestibles como el botón blanco (*Agaricus*) y el hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*); a diferencia del cultivo de Shiitake donde es raramente usado, en vista de que los experimentos han demostrado que rendimientos más bajos se obtuvieron con el sustrato pasteurizado (calor a 176°F, 80°C) durante 30 minutos, que con el sustrato esterilizado (ROYSE 1985); esta diferencia tiene dos explicaciones posibles: 1) Los rendimientos bajos se deben a que ciertos organismos se hayan mantenido vivos después de la pasteurización, lo que hizo posible que estos competieran por alimento con el hongo Shiitake, y 2) Las elevadas temperaturas de la esterilización rompieron las cadenas de componentes de la madera, logrando mayor disponibilidad de azúcares para el Shiitake (ROYSE y BAHLER 1986, MILES G&S JONG (1987).

2.4 Inoculación e Incubación del Aserrín

La inoculación es el proceso de introducción del micelio activo de Shiitake en una bolsa o contenedor con sustrato a base de aserrín; una vez vacunado, el sustrato deberá ser colocado en un cálido ambiente de incubación para que el micelio inicie la degradación del material (AKIMAYA et al. 1976, MURATA et al. 1987).

El sustrato que ha sido selecto para cultivar el hongo Shiitake ha de mantenerse durante la inoculación e incubación excluido de cualesquier microorganismo, ya que si estos patógenos se han introducido durante la inoculación o antes de que el

hongo haya colonizado completamente el sustrato, este podría fracasar totalmente (FULIMOTO 1987, ABADÍA 2007, ANÓNIMO 2008).

2.4.1 Selección y Producción de la Cepa

2.4.1.1 Características de la Cepa

No todas las cepas de Shiitake son adecuadas para el cultivo de aserrín; cada cepa posee rasgos específicos que la identifican cómo: forma, color, resistencia a enfermedades, duración del corrido de micelio y la temperatura óptima para desarrollarse y fructificar. Sin embargo, la expresión a estos rasgos se ve influida por las condiciones del sitio de cultivo y la fórmula del sustrato; por lo tanto, un productor exitoso debe coincidir con la cepa y la mezcla adecuada, tomando en cuenta las condiciones ambientales específicas de la granja (PEGLER 1983).

➤ Rango de Temperatura

Durante la etapa vegetativa (corrido de micelio) la mayoría de cepas de Shiitake crecen mejor a temperaturas de 77°F (25°C); aunque algunas cepas pueden tolerar una gama de temperaturas y aún así crecer bien, incluso alcanzar su máxima tasa de crecimiento (TOKIMOTO y KOMATSU 1982).

La temperatura óptima de fructificación de las cepas es distinta; algunas prefieren temperaturas cálidas mientras que otras desarrollan mejor en temperaturas frías entre 55 y 68°F (13 a 20°C), aunque hay ciertas excepciones, en las que no se controla la temperatura y en cuyo caso es necesario que las cepas formen frutos en virtud de la fluctuación de temperaturas extremas (ANDO 1976).

➤ Tiempo de Corrido de Micelio

El tiempo de incubación antes de la fructificación es determinada por la fórmula del sustrato y las características de la cepa. La incubación tiene dos fases:

1) Durante la fase inicial de la colonización, el micelio crece a través del sustrato, acumulando los recursos necesarios para la fructificación, y 2) El tiempo en que la cepa realiza el corrido de micelio, que dependerá únicamente de que la cepa sea un colonizador rápido o lento; en el primer caso puede requerir de un largo período de tiempo para acumular la energía suficiente para realizar un brote, no así en el segundo caso en que la cepa esté lista para fructificar una vez colonizado totalmente el sustrato (COOK y FLEGG 1962).

➤ **Calidad de las Setas**

El tamaño, la forma y la intensidad de sabor de las setas, están relacionados con los rasgos de la cepa, aunque la Humedad Relativa en la sala de fructificación modifica el contenido de humedad de las setas, por lo que diferentes cepas cultivadas en idénticas condiciones pueden producir setas con diferentes contenidos de humedad (SUÁREZ 2008); esta diferencia afecta la vida de las setas en almacenamiento, es decir que mientras más bajo sea el contenido de humedad en las setas, éstas no perecerán tan rápidamente (COTTER et al. 1965).

➤ **Características de la Cosecha**

Las cepas de Shiitake, difieren en sus respuestas a las condiciones ambientales durante la fructificación, ciertas cepas reaccionan a los cambios bruscos de temperatura produciendo setas en un corto período de tiempo, mientras que otras no responden bien a este tipo de inducción, lo que conlleva una baja producción (ROYSE 1985).

2.4.1.2 Tipos de Semilla

Por lo general, la cantidad de semilla a utilizar en la siembra varía entre el 1% y 5% del volumen de aserrín, aunque a mayor cantidad de semilla más rápido es el

proceso de colonización del sustrato. Existen tres tipos de semilla, descritas a continuación, que se usan para la inoculación de sustratos (PEGLER 1983, ABADÍA 2007, MICELIOS FUNGISEM).

a. Semilla en Aserrín

Es una mezcla de aserrín y salvado en proporción 4:1 que ha sido colonizada por micelio de Shiitake; este micelio se aclimata rápidamente al nuevo sustrato en vista de que ha sido adaptado al crecimiento en aserrín. La tasa de siembra es elevada, hasta el 5% (v/v), sin embargo se vuelve difícil de manejarlo porque antes de la siembra se debe romper el micelio (FULIMOTO 1987). Ver Fig. 7.

b. Semilla en Grano

Consta de partículas de grano (generalmente trigo, mijo o centeno), que son colonizados por Shiitake. La semilla en grano se rompe fácilmente, lo que permite hacer la distribución uniforme sobre el sustrato, por lo tanto disminuye el tiempo de colonización y la tasa de siembra, que es inferior al 2% (v/v) debido a que los granos tienen un nivel de proteína más elevado, lo que le permite actuar como suplemento y a la vez lo vuelve propenso a la contaminación en caso de que el tratamiento térmico sea insuficiente (KLEINMAMM-KLAR y SCHWANTES 1980, FULIMOTO 1987).

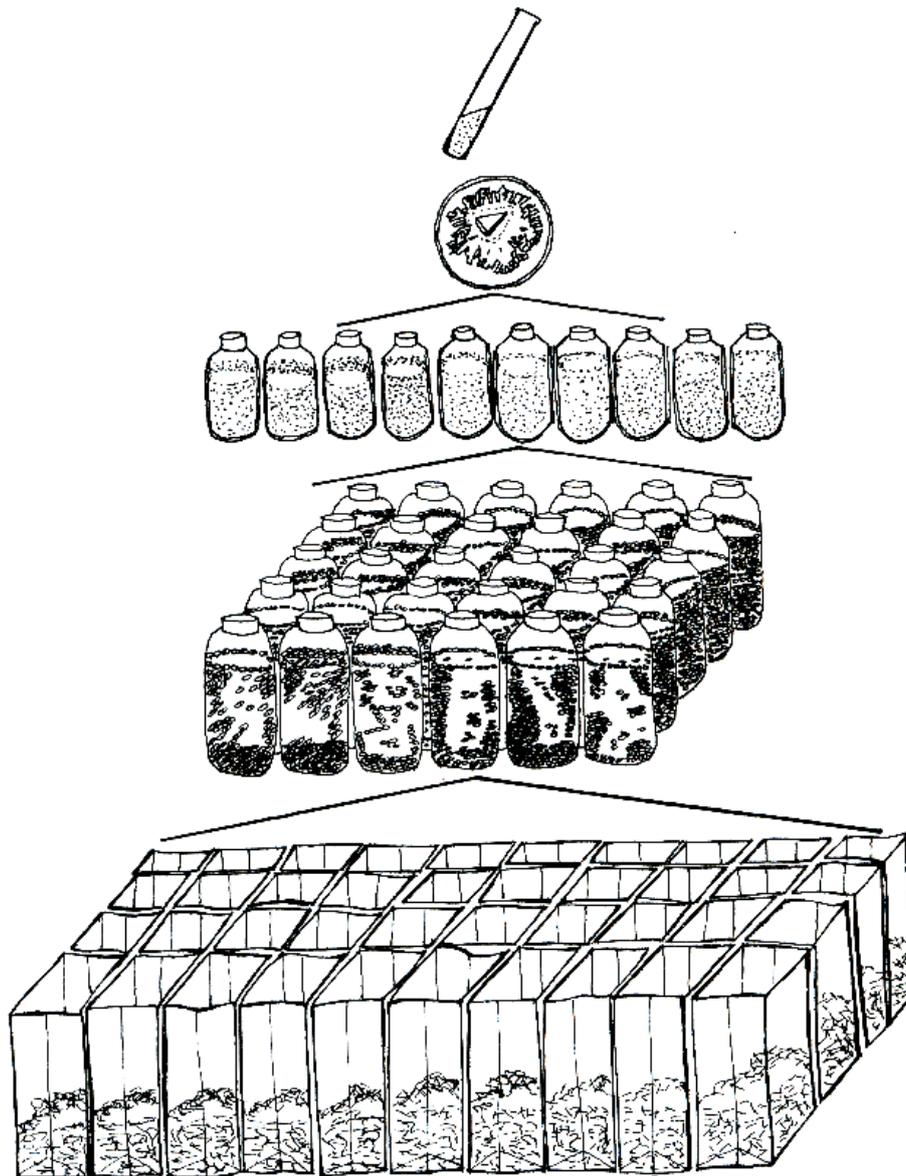


Fig. 7 Obtención de Semilla en Aserrín
Redibujado de The Ohio State University (1968) (77)

c. Semilla Líquida

Son purines de micelio en una solución nutritiva; puede ser producido por la mezcla intacta del micelio o por la fermentación de la cepa líquida; la ventaja del micelio líquido es el gran número de partículas de inóculo que es puesto sobre el sustrato y la facilidad de inoculación sobre este (ROYSE y BAhLER 1986, REGÉS DALMAÚ 2008).

El inóculo líquido es muy diferente del medio en que se inyecta; éste debe recuperarse de la inoculación y girar sobre las enzimas necesarias para colonizar la madera; por lo que el éxito de la inoculación está en adaptar el micelio a extractos de madera antes de que esta se efectúe (ROYSE y BAHLER 1986).

Una vez realizada la siembra, el sustrato de la bolsa es fortificado con azúcares simples que incrementan el crecimiento inicial aunque se aumenta el riesgo de contaminación. (SUÁREZ 2008)

2.4.2 Refrigeración

La temperatura del sustrato antes de la inoculación debe estar en, o por debajo de 86°F (30°C), ya que a mayor temperatura puede morir o debilitarse el micelio de Shiitake (FULIMOTO 1987).

Los sustratos esterilizados son los más susceptibles a la contaminación antes de ser totalmente colonizados por el hongo Shiitake; esto puede ocurrir durante el enfriamiento de la mezcla pero puede reducirse al mínimo mediante la combinación de técnicas e instalaciones, es por eso que después de que las bolsas salen del tratamiento térmico son colocadas en una cámara de flujo de aire estéril o en un túnel especial de enfriamiento para evitar que las esporas se asienten en la superficie de la bolsa y la contaminen, lo que puede retrasar un par de días la inoculación (LOU 1981, HARRIS 1986, LEE 1996).

2.4.3 Inoculación

Durante la inoculación, el micelio activo de Shiitake que contiene la semilla es introducido en la bolsa llena de sustrato, este, es brevemente expuesto al aire (fuente potencial de contaminantes) al abrir el recipiente para colocar la semilla pero son sellados inmediatamente para evitar que microorganismos patogénicos se introduzcan durante el proceso, por esta razón se toman medidas de seguridad

como por ejemplo, desinfectar toda el área de trabajo para evitar la contaminación (COTTER et al. 1965, ITO 1978).

a. Técnicas de Inoculación

La exposición del sustrato a los contaminantes puede ser limitado, ya sea por la apertura de la bolsa antes de colocar el micelio o por el cierre inmediato del contenedor. Sin embargo, los rápidos movimientos a menudo crean corrientes de aire que pueden llevar esporas a la bolsa. En algunas zonas la inoculación rápida y el uso de semilla en aserrín son las únicas precauciones contra la contaminación durante la siembra, razón para que los productores sean capaces de tolerar una mayor tasa de contaminación en vista de que sus costos de producción son bajos (ITO 1978).

➤ **Técnica estéril**

La persona que realiza la inoculación es una de las principales fuentes de contaminación. La técnica estéril combina la fuente potencial de contaminación con el movimiento que minimiza la contaminación, limitando de esta manera las corrientes de aire cerca al sustrato (MURATA et al. 1987, PELLINEN et al. 1987).

Las herramientas necesarias para la inoculación dependerán del tipo de semilla a usar; estos instrumentos deberán ser esterilizados periódicamente (mientras dure el proceso de inoculación) en la llama de una lámpara de alcohol o un mechero Bunsen (PELLINEN et al. 1987).

➤ **Distribución de la Semilla**

Existen dos métodos para hacer la distribución de la semilla: 1) Se coloca la semilla en la parte superior del sustrato, es un método de inoculación rápida pero lento en cuanto a la inundación del sustrato ya que emplea mayor tiempo para su

incubación, y 2) Es práctico y no necesita un largo período de incubación, se realiza un agujero vertical en la mitad de la bolsa con el sustrato y se coloca el micelio activo (NUTALAYA y PATARAGETVIT 1981, OEI 2003).

2.4.4 Incubación

Durante el período de incubación (llamado también corrido de micelio), el micelio vegetativo crece en el medio de cultivo, digiere y almacena azúcares simples para la fructificación (VILLEGAS et al. 2007).

a. Factores Ambientales

La temperatura óptima para el crecimiento vegetativo es de 77°F (25°C), causando problemas las fluctuaciones de temperatura en caso de que la bolsa tenga un cierre imperfecto (ISHIKAWA 1967, ANÓNIMO 2008).

La luz es necesaria para que el bloque de Shiitake cree cuerpos fructíferos, son las longitudes de onda que se encuentran en la gama azul (370 – 420nm) a una intensidad de 180 a 500 lux (AKIMAYA et al. 1976, IIZUKA y TAKEUCHI 1978, KOMATSU 1963), aunque generan la luz de onda e intensidad adecuada las luces fluorescentes blanco frío en el período de incubación.

Un método alternativo es incubar a la oscuridad total y luego someterlo a un tratamiento de luz durante 10 – 20 días (ROYSE y BAHLER 1986). Otro factor importante es el oxígeno, para realizar el incremento de gases puesto que los niveles altos de dióxido de carbono puede raramente limitar el desarrollo del micelio, razón por la que siempre debe existir un mínimo intercambio (ROYSE 1985).

b. Sitio de Incubación

En zonas donde el clima es favorable, las bolsas pueden ser apiladas en hileras en el suelo e incubadas sin calefacción; no siendo así en climas menos favorables donde la temperatura del lugar de incubación debe ser controlado (OEI 2003, REGÉS DALMAÚ 2008).

El sitio de incubación para el cultivo en aserrín es usualmente equipado con un sistema de circulación de aire para mantener la temperatura ideal en la cámara de incubación, en vista de que el calor metabólico que generan las bolsas produce un recalentamiento del lugar (KALBERER 1987).

c. Contaminación

Una gran variedad de hongos, bacterias y ciertas plagas pueden causar problemas durante el período de incubación en aserrín ya que pasan inadvertidamente al interior del contenedor creciendo rápidamente por el sustrato (JABLONSKY 1981, HARRIS 1986).

➤ Mohos

Colonizan rápidamente el sustrato en comparación con el Shiitake, aumentando visiblemente su tamaño de un día a otro; estas conidias crean colonias de color que parecen convertirse en polvo, razón por la que el hongo Shiitake raramente crece en zonas ocupadas por estos hongos patógenos (KALBERER 1987).

Los principales mohos son: 1) *Trichoderma* spp., forma colonias de color blanco, verde claro ó verde oscuro; 2) *Mucor* spp., inicialmente aparece como un fino micelio blanco que crece velozmente sobre la superficie del sustrato y se extiende en el ambiente cambiando de color gris a negro; y 3) *Penicillium* spp., son colonias que varían de color verde a verde amarillento, su esporulación siempre crece al

exterior del sustrato de manera polvorienta (SINGER 1961, SAN ANTONIO 1981).

➤ **Bacterias**

Son más difíciles de detectar que los mohos, con frecuencia hay una mínima o nula incidencia de colonias bacterianas en el período de incubación; éstas, se multiplican dentro de los contenedores por las finas láminas de agua que contiene la mezcla, haciendo que el líquido se vuelva viscoso y genere un olor agrio (SAN ANTONIO 1981).

➤ **Plagas**

Tienen poca incidencia durante la incubación, pero pueden ser visibles cuando existe una infestación en el sustrato ya que son muy pequeñas, traslúcidas y de movimiento lento (REGÉS DALMAÚ 2008)).

La plaga más común son los ácaros, que una vez establecidos son muy difíciles de controlar, estos comen micelio e introducen contaminantes en el sustrato, como por ejemplo: esporas de mohos que llevan impregnados en sus pequeños cuerpos; usualmente aparecen cuando las bolsas han sido cerradas incorrectamente, por lo que es necesario recurrir a productos químicos como los miticidas, para fumigar la sala de incubación y demás superficies de esta, con la finalidad de eliminarlos antes de iniciar el proceso de fructificación (OEI 2003).

➤ **Determinación de Causas**

Cuando las enfermedades se manifiestan durante el período de incubación, el productor deberá buscar la causa ó una pista que revele la forma en que el organismo contaminó el sustrato. Un tratamiento térmico insuficiente es una fuente de contaminación; si el calor no fue suficiente para excluir a estos microorganismos parásitos, los sobrevivientes aparecerán en grandes

proporciones, ya sea dentro o fuera del sustrato; por ejemplo, las colonias de mohos aparecen alrededor de la semilla puesto que tienen un gran contenido de nutrientes disponibles (ROYSE et al. 1985, OEI 2003).

Agujeros o malos cierres en la bolsa, también generan contaminación pero en menor proporción, dado que las colonias de hongos crecen simétricamente y su origen puede ser localizado (JABLONSKY 1981).

La siembra es otra posible causa de contaminación, debido a que al tener el grano gran cantidad de nutrientes y los contaminantes procedentes de otras fuentes a menudo esporuladas se desarrollan en los granos de semilla (ITO 1978).

d. Duración del Corrido de Micelio

Por lo general, requiere de 30 a 120 días antes de que esté listo el bloque para la fructificación (FULIMOTO 1987, MORAIS et al. 2000, NUTALAYA y PATARAGETVIT 1981), este tiempo se ve influenciado por la cepa de Shiitake utilizada, la fórmula del sustrato, la tasa de siembra, la siembra y la distribución de la temperatura durante la incubación (NUTALAYA y PATARAGETVIT 1981).

Después de la colonización, el sustrato totalmente en blanco y las partículas de aserrín ya no son visibles dado que el micelio madura y se torna marrón claro cuando recibe la luz y el oxígeno (ROYSE y BAHLER 1986).

2.5 Fructificación de Shiitake en Aserrín

Después de completar el proceso de incubación, la parte protectora de los contenedores deberá ser retirada para la fructificación (ANDO 1976, JABLONSKY 1981).

2.5.1 Ciclo de Fructificación

Durante la incubación en la bolsa, el micelio de Shiitake se une a las partículas de aserrín, esta masa de sustrato y micelio denominada bloque hace que los nutrientes sean más disponibles a los hongos, reduciendo así el tiempo de incubación necesario para que el Shiitake acumule recursos para la fructificación inicial y también acorta el período de descanso antes de los siguientes rubores. (ANDO 1976, KLEINMAMM-KLAR y SCHWANTES 1980)

El ciclo de Fructificación del Shiitake se detalla a continuación:

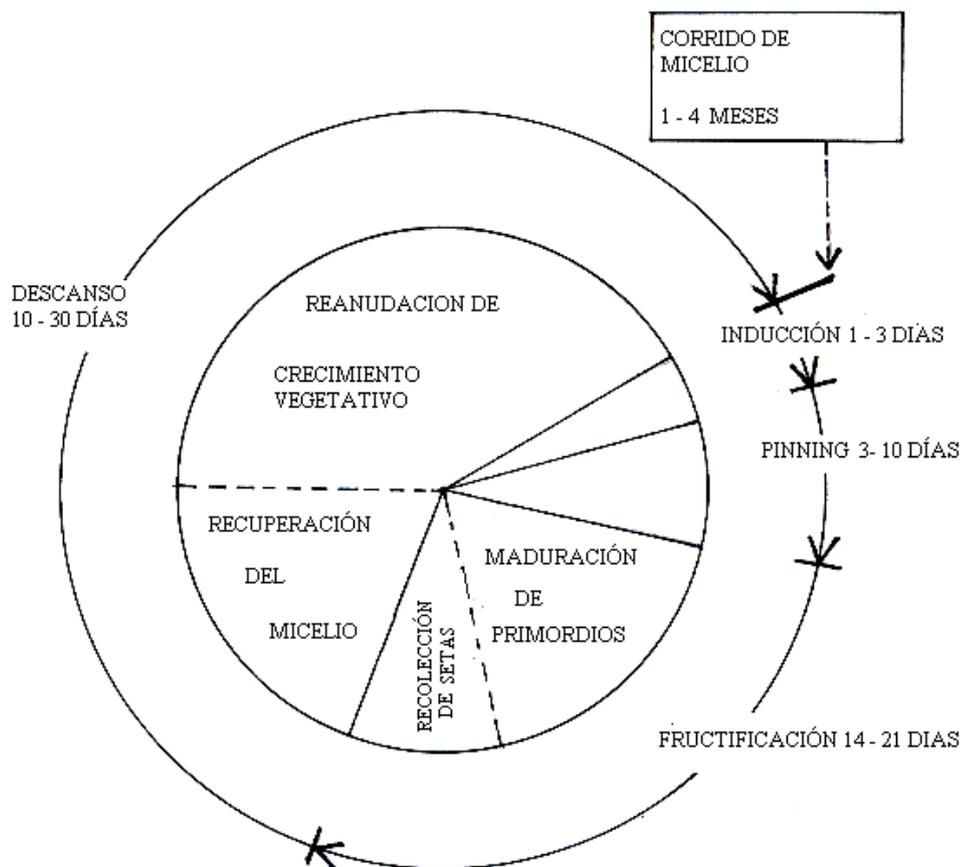


Fig. 8 Ciclo de Fructificación de Shiitake en Sustratos a Base de Aserrín Redibujado de D. J. Royse (1985) (67)

a. Inducción

El Shiitake debe agotar los hidratos de carbono fácilmente disponibles en el sustrato a fin de iniciar el ciclo de fructificación; este requiere luz antes de la inducción, por lo tanto, el sustrato que ha sido incubado en la oscuridad podrá requerir de 10 a 18 días de luz para satisfacer esta necesidad (KLEINMAMM-KLAR y SCHWANTES 1980, REGÉS DALMAÚ 2008,).

La inducción puede iniciarse por la transformación de cálidas temperaturas de incubación (25°C) a temperaturas más frías (16°C), ciertas cepas responden bien a estos cambios de temperatura, mientras que otras producen mayor cantidad de setas en respuesta a un choque térmico (TOKIMOTO y KOMATSU 1982), que puede ser proporcionado a los bloques mediante la refrigeración a temperaturas de 41 a 46°F (5 – 8°C) por 5 a 12 días (JABLONSKY 1981, MURATA et al. 1987).

Sin embargo, el riego (SAN ANTONIO 1981, ROYSE 1985) ó remojo de los bloques (KOMATSU 1961, ROYSE 1985) también induce rubores adicionales. Una vez que el bloque sale de refrigeración es aconsejable rociarlo con agua para disminuir su temperatura, ya sea por evaporación o rehidratación del sustrato (SAN ANTONIO 1981).

b. Pinning o Choque Térmico

Los altos niveles de dióxido de carbono inhiben el choque térmico, por lo tanto, para promover el Pinning, la totalidad o parte de la superficie del sustrato deberá ser expuesta al medio ambiente con el fin de que el bloque desarrolle una piel marrón que forme un microambiente favorable para la formación de primordios y proteja al bloque de microorganismos patógenos y deshidratación (TRITATANA y TANTIKANJAN 1987, KLEINMAMM-KLAR y SCHWANTES 1980).

Por otra parte, la humedad relativa óptima estará comprendida entre 85 y 95% para evitar que los bloques se sequen demasiado rápido y puedan provocar abortos (REGÉS DALMAÚ 2008).

c. Fructificación

La maduración de las setas requiere de condiciones ambientales específicas como temperaturas de 55 a 68°F (13 – 20°C), humedad relativa de 75 a 95%, luz, aire fresco, suficientes nutrientes y agua de la reserva del bloque (ROYSE y SÁNCHEZ 2000).

La temperatura, afecta la velocidad de madurez y la densidad del sombrero de las setas; mientras que la luz es necesaria para desarrollar el color de las setas, esta necesidad aumenta a medida que sube la temperatura; así como los niveles de dióxido de carbono que deberán mantenerse por debajo de los 1200 ppm (TOKIMOTO y KOMATSU 1982, LEATHAM 1983), en vista de que sobre este nivel de CO₂ se consiguen sombreros pequeños, no carnosos y talos alargados; por esta razón, no es raro que la primera cosecha de hongos tenga un alto porcentaje de setas abortadas y deformes (ANDO 1976, KAWAMURA y GOTO 1980, ALBERTÓ 2006).

d. Descanso o Período de Latencia

Una vez que se ha producido la primera oleada de hongos, se reanuda el crecimiento vegetativo y el micelio acumula nuevas reservas para otra descarga.

La duración del período de descanso podrá durar entre 10 y 30 días en una amplia gama de condiciones, aunque cuando hay excesos de humedad los bloques han de ser colonizados por mohos debido a que el micelio de Shiitake se ha visto debilitado por la fructificación de este; por ejemplo: a) Los bloques podrían permanecer bajo condiciones de fructificación, sin embargo, se recuperarían más

rápido si la temperatura es de 25°C; y b) Se puede combinar este período con el descanso de secado, donde se detiene el proceso de fructificación y se permite una cosecha más sincronizada (ROYSE et al. 1985, MORAIS et al. 2000, SUÁREZ 2008).

2.5.2 Ciclo del Cultivo

El cultivo de bloques en aserrín puede durar de 3 a 6 meses ó en ciertos casos demora un poco más, esto dependerá únicamente de los factores ambientales y el descanso durante la fructificación, la fórmula del sustrato y el tamaño del bloque. Se ha reportado que para el cultivo de Shiitake sobre sustrato con aserrín, la eficiencia biológica es del 40 a más del 100% (FUZISAWA et al. 1978, IIZUKA y TAKEUCHI 1978, PEGLER 1983, KALBERER 1987), en vista de que la disponibilidad de nutrientes es mayor y la competencia con otros hongos es reducida (REGÉS DALMAÚ 2008).

2.5.3 Manejo del Cultivo

Es el proceso que tiene por objetivo equilibrar el rendimiento, la calidad de las setas, el tiempo y los costos de producción con el potencial de ingresos. El hongo Shiitake puede producirse en bloques de aserrín bajo un sin número de situaciones diferentes, desde la más simple a la más compleja (LOU 1981).

Dos estrategias de gestión diferentes se indican a continuación: la primera se basa en la aplicación de un bajo nivel de suplementos, lo que quiere decir que disminuyen los posibles problemas por contaminación en el sustrato, pero en el período de fructificación se obtienen rendimientos bajos de entre el 40 y 50% de la eficiencia biológica y aproximadamente duraría de 4 a 6 meses; no así en el segundo caso, que se utiliza un sustrato más rico en suplementos pero, contrariamente a la anterior estrategia se requieren condiciones controladas para estabilizar los altos niveles de contaminación, no obstante, el rendimiento por unidad por período de tiempo es más elevado, siendo del 50 al 80% de la

eficiencia biológica en un período de fructificación de 3 a 6 meses (SINGER 1961, MURATA et al. 19875, SAN ANTONIO 1981).

2.5.3.1 Plagas y Enfermedades durante la Fructificación

Es limitado el ataque de plagas y enfermedades durante la fructificación de Shiitake en los bloques de aserrín, afortunadamente, pueden ser controladas con métodos culturales (PELLINEN et al. 1987).

➤ Moho

Aparecen durante la fructificación, incluyen especies de géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Doratomyces* (IIZUKA y TAKEUCHI 1978); con excepción de los *Doratomyces* estos hongos han sido descritos anteriormente.

Los *Doratomyces* son comúnmente conocidos como moho negro ó bigote gris; y aparecen como masas de esporas de aspecto húmedo o mojado, este hongo patógeno a menudo indica altos niveles de carbohidratos disponibles (ROYSE, et al. 1985).

La aparición de contaminación durante la fructificación puede ser causada por el uso de bloques no colonizados completamente, ó condiciones que hacen hincapié en el micelio de bloques totalmente colonizados. Esta clase de moho puede aparecer después de uno o más rubores, tanto en los bloques como en la sala de fructificación (IIZUKA y TAKEUCHI 1978, ROYSE, et al. 985)

Otro potencial contaminante es la presencia de altos niveles de suplementos en la mezcla, que puede aparecer antes del primer brote ó inmediatamente después. Este problema puede solucionarse reduciendo la cantidad de proteína en la mezcla, eliminando los focos de infección ó secando el bloque para que el hongo muera (NUTALAYA y PATARAGETVIT 1981).

➤ **Plagas**

Los ácaros son las principales plagas encontradas en los sitios de fructificación, además de la disminución de la calidad del hongo, estas propagan bacterias y esporas de moho que llevan en sus diminutos cuerpecillos (SAN ANTONIO 1981, OYARCÉ et al. 2006).

Estas plagas pueden ser controladas con lámparas (tubos delgados de 18 pulgadas montados entre dos tiras de papel) de luz negra de 15 vatios, que son ubicadas en el sector donde se encuentran las setas; las moscas son atraídas a la luz quedando atrapadas, esta clase de trampas son eficaces como medida de control porque muchas de las moscas ya han establecido sus huevos antes de quedar atrapadas (AKIMAYA et al. 1976, SAN ANTONIO 1981).

Esta plaga es un problema importante en el cultivo de Shiitake ya que la utilización de productos químicos como los organofosforados, las piretrinas sintéticas ó los reguladores de crecimiento no están registrados para el uso en este cultivo (ABADÍA 2007, ANÓNIMO 2008, SUÁREZ 2008).

2.6 Recolección del Hongo Shiitake

La recolección es en forma manual, puede ser con una cuchilla, tijera, ó simplemente agarrando el sombrero suavemente para girar la base del tallo falso y desprenderlo de la superficie del sustrato del hongo (KASAHARA et al. 1976, HARRIS 1986).

2.7 Aspectos Nutricionales y de Salud

El Shiitake ha sido protagonista de innumerables acontecimientos, desde hace 2500 años ha sido utilizado como un verdadero TÓNICO capaz de incrementar la energía corporal, promover la LONGEVIDAD, realzar la VITALIDAD y la VIRILIDAD (HAJI y MOHAMMED 2000).

La antigua tradición terapéutica China lo considera junto a los demás hongos medicinales como un “remedio espiritual”, ya que le atribuyen la capacidad de nutrir el Shen o “espíritu” (MÁRMOL, FUNG2002).

Conocido en los países del sol naciente como el "ELIXIR DE LA VIDA" u "hongo que crece naturalmente" nombre tomado del idioma japonés, donde shii es un tipo de árbol de crecimiento silvestre (encino negro) y take que significa hongo (HAJI y MOHAMMED 2000, MÁRMOL).

2.7.1 Contenido Nutricional

En muchas culturas orientales los hongos son una comida aparte, con conocidas propiedades medicinales; en estas culturas el Shiitake forma parte integral de la dieta diaria. En las culturas occidentales los hongos son valorados por su sabor y se usan mayormente como condimento, además se ha demostrado que el Shiitake contiene un número de nutrientes importantes (Tabla 7), ya sea deshidratado o en fresco (PEGLER 1983, REGÉS DALMAÚ 2008).

2.7.2 Beneficios para la Salud

Los compuestos biológicamente activos han sido aislados y purificados del Shiitake (TABLA 8). Algunos de estos compuestos tienen más de un efecto. Además hay efectos sinérgicos entre estos compuestos y entre ellos y otros compuestos "inactivos" en el hongo. Por lo tanto se considera que el consumo de los frutos de los hongos, ya sea frescos o secos pueden dar el máximo de potencial a las propiedades benéficas para la salud (KAWAMURA y GOTO 1980).

Tabla 7 Composición nutricional de Shiitake Deshidratado y Fresco

Compuesto	Shiitake Deshidratado		Shiitake Fresco	
	Sombrero	Talo	Sombrero	Talo
Cobre (ug/g)	15.4	9.1	-	-
Hierro (ug/g)	88.3	46.5	-	-
Zinc (ug/g)	-	83.0	-	-
Manganeso (mg/g)	37.2	60.9	-	-
Nitrógeno (mg/g)	37.5	14.3	-	-
Fósforo (mg/g)	10.7	13.9	-	-
Potasio (mg/g)	33.9	27.3	-	-
Sodio (mg/g)	0.2	0.5	-	-
Calcio (mg/g)	0.2	0.6	-	-
Magnesio (mg/g)	1.9	3.8	-	-
Ceniza (%)	-	-	0.9	0.9
Grasa Cruda (%)	-	-	0.2	0.1
Fibra Cruda (%)	-	-	1.9	1.7
Sacárido (%)	-	-	5.9	10.9
Vitamina D (UI/100)	73		969	
Cont. Polisacáridos (%)	38.3 – 39.5	48.7 – 51.6	-	-
Arginina (g/100g)	7.0		0.648	
Histidina (g/100g)	1.8		0.159	
Leucina (g/100g)	7.0		0.679	
Isoleucina (g/100g)	4.4		0.405	
Lisina (g/100g)	3.5		0.343	
Tirosina (g/100g)	3.5		0.323	
Treonina (g/100g)	5.2		0.497	
Metionina (g/100g)	1.8		0.179	
Fenilalanina (g/100g)	5.3		0.486	
Valina (g/100g)	5.2		0.486	
Proteína (%)	17.5		-	
Ac. Grasos Monoinsaturados	0.307	-	-	-
Ac. Grasos Poliinsaturados	0.140	-	-	-
Ac. Grasos Saturados	0.247	-	-	-

FUENTE: REGÉS DALMAU. R. (Revisado 4 de mayo de 2008). (66)

Tabla 8 Compuestos Biológicamente Activos encontrados en el Shiitake.

Compuesto	Efecto (s)	Tipo de Compuesto	Actividad
Eritadenina	Inmunoactivo Antiviral Hipolipidémico	Derivado de la Adenina	Acelera metabolismo y excreción del Colesterol
Ac2P	Antiviral	Polisacárido	Inhibe la replicación viral
Virus (al igual que las partículas)	Antiviral Antitumoral	RNA de doble hebra	Induce producción de interferón
KS-2	Antitumoral Antiviral	Polisacárido	Induce producción de interferón
KS-2-B	Antibacterial Inmunoactivo	Péptido	Induce actividad macrofágica
C-1-2	Inmunoactivo Antitumoral	Polisacárido Polisacárido	Estimula producción de Linfocitos-T
Lentinan	Antitumoral	Polisacárido	Inmuniza Sistema Modulador (Suprimió cáncer de hígado)
LAP1			Eliminador de nitritos
TCA (Thioprolina)		Aminoácido	Inhibe la infección viral en plantas
FBP	Antiviral	Proteína	Disminuye colesterol y viscosidad en la sangre
Chitín		Fibra	Antibiótico de amplio espectro
Cortinelli	Antibacterial G(+) y G (-) Reduce coagulación sanguínea	Aminoácido	Previene formación de azúcar en la sangre
Lisina			Estimula producción en el organismo del interferon
EP3	Antiviral Inmunoactivo	Lignina	Inhiben la agregación de ácidos nucleicos
Poli Ribonucleótidos	Antitumoral Inmunoactivo	Proteína	Reconocen células y proteínas
Lectina	Inmunoactivo	Proteína	

FUENTE. HAJI M. MOHAMMED I. (2000) (30)

2.7.3 Usos del Shiitake en la Medicina Tradicional

El hongo Shiitake es un hongo muy versátil que puede consumirse tanto en comida como en bebidas, ya sea este en estado fresco combinado con legumbres o deshidratado en forma de té. Algunos ejemplos:

Tabla 9 Utilidades del hongo Shiitake.



FUENTE: MÁRMOL J. (disponible en www.novopharma.com.ar) (49, 50)

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Caracterización del Área de Estudio

Provincia	Imbabura
Cantón	Ibarra
Parroquia	El Sagrario
Lugar	San Miguel de Yahuarcocha
Altitud	2 225 msnm
Zona de Vida	Bosque Seco Montano Bajo
Temperatura	12 – 16 °C
Precipitación anual	500 – 1000
Provincia de Humedad	Subhúmedo
Relación Evapotranspiración	0.70 – 1.88

3.1.2 Materiales y Equipos de Laboratorio

A. Insumos

Los insumos utilizados durante la fase de desarrollo del micelio reproductor fueron los siguientes:

- Agar
- Extracto de malta
- Levadura
- Harina de trigo
- Pellets de conejo (Balanceado)

- Pellets de aserrín
- Agua
- Esporas en aceite
- Cartulina negra
- Peróxido de hidrógeno
- Aserrín
- Marlo de molido de maíz
- Afrecho de cebada
- Carbonato de calcio
- Cerveza
- Hipoclorito de Sodio

B. Materiales y Equipo

Los materiales y equipo con que se trabajo durante la reproducción del micelio se mencionan a continuación:

- Cabina Aséptica
- Mechero de alcohol
- Incubadora cacera
- Manta (1.50*1)m
- Perforadora
- Asa de siembra
- Escalpelo
- Cajas de Petri
- Frascos de vidrio de boca ancha
- Olla de presión con medidor
- Tanque de gas
- Fosforera
- Rejilla de madera

- Rociador
- Papel aluminio
- Cinta adhesiva
- Balanza gramera

3.1.3 Materias Primas del Ensayo

a. Insumos

- Aserrín de laurel
- Marlo molido de maíz
- Tamo de avena
- Afrecho de cebada
- Carbonato de calcio
- Peróxido de hidrógeno
- Hipoclorito de Sodio
- Formol

b. Materiales y Equipos

- Malla plástica y Fundas plásticas 18 *35 cm
- Cinta de amarre
- Asa de siembra
- Medidor de presión
- Tanque de gas
- Fosforera
- Rociador
- Romana
- Guantes de goma
- Balanza gramera

- Quemador industrial
- Rejilla de madera
- Mesa
- Tanque y Canasto metálico
- Termómetro
- Polea

3.2 Métodos

3.2.1 Factores en Estudio

Se estudiaron los siguientes factores:

A. Sustratos

- s1 Aserrín de laurel
- s2 Marlo molido de maíz
- s3 Tamo de avena

B. Técnicas de Pasteurización

- t1 Pasteurización con Vapor
- t2 Pasteurización con Agua Caliente

3.2.2 Tratamientos

Los tratamientos resultantes de la combinación de los dos factores fueron los siguientes:

Tratamiento	Simbología	Descripción	
		Sustrato	Pasteurización
T1	s1 t1	Aserrín de laurel	Vapor
T2	s1 t2	Aserrín de laurel	Agua Caliente
T3	s2 t1	Marlo molido de maíz	Vapor
T4	s2 t2	Marlo molido de maíz	Agua Caliente
T5	s3 t3	Tamo de avena	Vapor
T6	s3 t2	Tamo de avena	Agua Caliente

3.2.3 Diseño Experimental

Se utilizó el Diseño Completamente al Azar en arreglo factorial A x B con DIEZ repeticiones, donde A corresponde a los sustratos y B a las técnicas de pasteurización.

3.2.4 Características del Experimento

Tratamientos	6
Repeticiones	10
Unidades Experimentales	60

Descripción: Cada bloque o unidad experimental es una mezcla de sustrato con un peso seco de 1.5 kilogramos, una vez pasteurizado ya sea con vapor o agua caliente el peso seco incrementa en un 50% a 75% lo que conlleva a que el bloque tenga un peso húmedo aproximado a 3 kilogramos.

3.2.4.1 Esquema del Análisis Estadístico

El esquema del ADEVA fue el siguiente:

Fuente de Variación	Grados de Libertad
TOTAL	59
Tratamientos	5
<i>Sustratos (S)</i>	2
<i>Técnicas de Pasteurización (T)</i>	1
<i>S X T</i>	2
Error Experimental	54

En el análisis funcional se empleó:

- Tukey al 5% para Tratamientos
- DMS al 5% para Sustratos
- Tukey al 5% para las Técnicas de Pasteurización
- DMS al 5% para la Interacción Sustratos vs. Técnicas de Pasteurización

3.2.4.2 Variables Evaluadas

Las variables evaluadas fueron las siguientes:

- Porcentaje de Eficiencia Biológica
- Rendimiento de hongos por kg. de materia seca de sustrato
- Medición de pH cada 15 días
- Días de incubación en los tres medios de cultivo
- Días de Fructificación con cada sustrato
- Costos de producción para cada uno de los Tratamientos

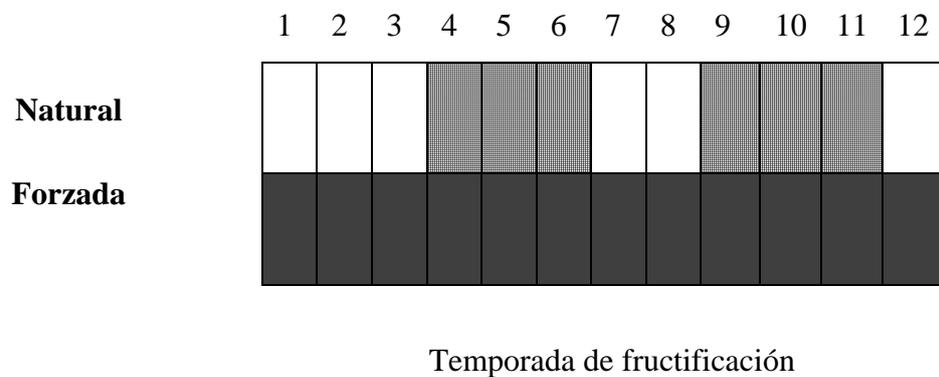
3.3 Manejo Específico del Experimento

Una vez instalado el ensayo, los problemas estuvieron presentes constantemente siendo una de las causas fundamentales la adaptación de la semilla importada al medio en el cual se desarrollo la fase experimental, este inconveniente tuvo grandes precedentes dentro de la investigación, por lo que realizó el proceso de obtención de semilla ó micelio reproductor, a partir de una cepa pura importada de los EE. UU., de esta manera se obtuvieron resultados positivos frente al primer fracaso en la fase de prueba y adaptación del micelio.

3.3.1 Elaboración del Micelio Reproductor

a. Selección de la Cepa

Las características de la variedad de la cepa escogida:



Casa comercial: Produced by Northwest Mycological Consultants, Inc. 702 NW 4th St., Corvallis, Oregon, 97330, USA.

Cepa: Wide –Range Strain CS – 41

<u>Descripción:</u>	Produce en una amplia gama de temperaturas, y es de rápida fructificación.
<u>Hongos:</u>	El espesor del sombrero es de medio a grueso y en un mínimo margen es blanco.
<u>Corrido de Micelio:</u>	Agresivo, coloniza rápidamente y dura entre 6 a 12 meses.
<u>Inducción:</u>	Temperatura óptima es de 60° a 68°F (16° - 20°C); rango entre 54° y 75°F (12°-24°C). Si es bloque es secado antes del remojo o riego es más eficaz.
<u>Pinning:</u>	Temperatura óptima 60° a 77°F (6° - 25°C), rango entre 50° a 82°F (10 – 28°C).
<u>Fructificación:</u>	Temperatura óptima de 50° a 64°F (10-18°C), y máxima de 77°F (25°C). Humedad relativa baja entre 60% y 75%.
<u>Ciclo de cultivo:</u>	A lo largo del año puede fructificar 4 veces con un período de descanso entre 20 y 40 días, lo que conlleva a una intensa producción durante tres años.

b. Producción de la Semilla

La obtención del micelio reproductor se realizó con la técnica de inoculación líquida en discos de cartulina negra empapados de solución nutritiva de cerveza al 10%.

Insumos y Materiales:

- Cabina Aséptica

- Perforadora
- Dos láminas de cartulina negra
- Frasco de boca ancha
- Tubo de ensayo
- 1 vaso de cerveza al 10%
- Cepa CS-41

Proceso:

- Con la perforadora se hacen pequeños discos de cartulina negra, y colocándolos en un frasco;
- Se pasteuriza el frasco que contiene los discos de cartulina negra por media hora, en la olla de presión junto con el tubo de ensayo;
- Después, en la cabina aséptica se introduce: el frasco pasteurizado con los discos de cartulina, el tubo de ensayo, el vaso con cerveza, la cepa CS-41 cubierta con la lámina de cartulina negra, algodón, alcohol;

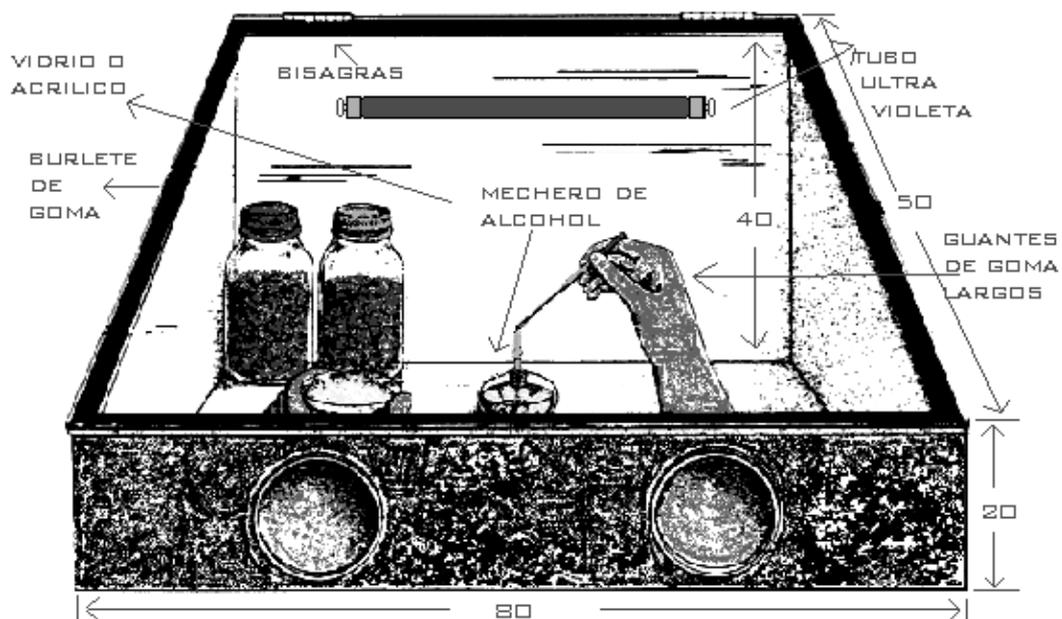


Fig. 9 Diseño de Cabina Aséptica
FUENTE: REGÉS DALMAÚ, (2008)

- Cerrada la caja, se la cubre con una manta,
- Se ilumina la lámpara de luz ultravioleta por 12 horas, para la desinfección de la caja y los materiales a utilizar;
- Transcurrido este tiempo, apagamos la luz e introducimos las manos en los guantes de goma;
- Los discos de cartulina son empapados con la solución de cerveza al 10% por unos minutos;
- Posteriormente, se escurre el exceso de solución en los discos de cartulina para colocarlos en el tubo de ensayo;
- Luego, se deja caer 0.5ml de la cepa CS-41 en el tubo que contiene los discos de cartulina; y se limpian los bordes del tubo de ensayo con algodón empapado de alcohol;
- El tubo es sellado con algodón y cubierto con papel aluminio para incubarlo por unos días, hasta que observar los discos de cartulina totalmente blancos por la invasión del micelio.

c. Obtención del Medio MYA (Malta, levadura y agar)

Materia Prima:

- 12g de agar
- 12g de extracto de malta liviano
- 1g de polvo de levadura nutritiva
- 0.5g de harina de trigo
- 0.5g de alimento para conejo (pellet)
- 4.5g de pellets de madera
- 1lt de agua corriente

Método:

- Se colocaron los ingredientes en un frasco que tenga dos veces el volumen del material a usar, para evitar que el agar hirviendo se derrame al cocinar;

- En una olla de presión se introdujo el frasco con el medio a esterilizar (dando 10 minutos iniciales de vapor para fundir el agar antes de colocar el regulador de presión de 15 psi) por 5 horas, y luego se esterilizaron 50 placas de Petri plásticas por 15 minutos.
- Se retiró del fuego la olla para bajar disminuir la presión con el fin de retirar el frasco con el medio de cultivo;
- En una mesa desinfectada con hipoclorito de sodio al 2% y a temperatura ambiente, es colocado el frasco que contiene el medio
- Una vez que el medio se ha enfriado en un 90%, se lo coloca en una olla con agua templada y se agrega con una pipeta peróxido de hidrógeno al 0.018% (6ml de solución al 3% por litro de agua); teniendo cuidado de no hacer muchas burbujas, se mezcla el peróxido y el medio con un movimiento circular e invirtiendo las direcciones un par de veces
- Se vierte este medio en las cajas de Petri, se los tapa y durante unos días se los deja solidificar en una bandeja ligeramente cubierta a temperatura ambiente.

d. Fructificación de Esporas en Discos de Cartulina

Dentro de la cabina aséptica son colocados los elementos a usar, estos son:

- Mechero de alcohol
- Encendedor, para prender el mechero
- Asa de Siembra
- Disco de cartulina invadidos por el micelio
- Una Hoja de cartulina negra, para evitar la incidencia directa de la luz ultra violeta sobre las esporas
- Cajas de Petri llenas hasta la mitad, con el medio MYA (todo esterilizado).
- Plástico Termoencogible

Procedimiento:

- Introducidos los materiales de trabajo, se cubre el tubo de ensayo que contiene las esporas invadidas por el micelio con la cartulina negra;
- Sobre la caja aséptica es colocada la manta oscura para encender la luz ultra violeta por 12 horas, esto con la finalidad de eliminar todo microorganismo patogénico de la caja;
- Una vez esterilizada la caja y apagamos la luz, se introduce las manos en los guantes de la caja;
- Se aviva el mechero de alcohol, e inmediatamente es destapado el tubo de ensayo que contiene los discos invadidos de micelio, y la primera placa de Petri a sembrar;
- La punta del asa de siembra es flameada en la llama del mechero de alcohol, e introducida en el tubo para agarrar un par de los discos invadidos que contiene;
- Luego, los discos son colocados en el centro del medio de cultivo de la placa de Petri;
- Rápidamente, la caja de Petri es tapada y cubierta con plástico Termoencogible para evitar que una futura contaminación;
- El mismo proceso es repetido con todas las placas a sembrar;
- Concluida la siembra, se flamea la boca del tubo en el mechero para sellarla, evitando de esta manera la contaminación.
- Finalizado el trabajo, la cabina es destapada, para retirar de ella todos los materiales utilizados.
- Las placas sembradas son ubicadas sobre una repisa desinfectada con hipoclorito de sodio al 2% (cubriéndolas ligeramente) al ambiente, hasta que el micelio se propague en el medio MYA.

e. Propagación del Micelio

Una vez que el micelio se ha propagado por el medio de cultivo colocado en las cajas de Petri, está listo para ser traspasado a los frascos con el grano esterilizado.

f. Preparación del Sustrato

Para el buen desarrollo del Shiitake, es necesario un sustrato enriquecido de proteínas y carbohidratos, con la finalidad de facilitar el rápido desarrollo del hongo, por tal motivo se eligió los siguientes materiales:

- 48% de aserrín grueso
- 30% de marlo de maíz molido
- 20% de afrecho de cebada
- 3% de carbonato de calcio

Estos materiales fueron mezclados y pasteurizados en una olla de presión cacerera por cuatro horas, antes de ser colocados en los frascos de vidrio, para realizar el traspaso del micelio de las cajas de Petri hacia el nuevo sustrato.

Posterior a la primera esterilización de los materiales que componen el sustrato, se lo dejó enfriar antes de ponerlo en los frascos de vidrio; colocado el material en los frascos de vidrio se añaden 80ml de agua por cada uno de ellos y se los somete nuevamente a una esterilización en la olla de presión (colocando una base ó rejilla de madera en el fondo) por un lapso de tiempo de 5 horas.

g. Multiplicación del Micelio

Una vez listos los frascos para el traspaso del micelio de las cajas de Petri, se procedió de la siguiente manera:

- La cabina aséptica es destapada y desinfectada con hipoclorito de sodio al 2% antes de introducir los elementos necesarios para la siembra en los frascos, estos son:
 1. Mechero de alcohol
 2. Fósforos o encendedor

3. Escalpelo
 4. Asa de siembra
 5. Frascos con el sustrato esterilizado
 6. Cajas de Petri con el Micelio Desarrollado
 7. Hoja de cartulina negra
 8. Algodón
 9. Cinta adhesiva
- Luego, se rocía la caja aséptica con el Hipoclorito de sodio y formol al 2%; se cubre con la cartulina negra el tubo de ensayo que contiene los discos invadidos de micelio, con la manta se recubre la cabina aséptica y la luz ultravioleta se mantiene encendida por 6 horas;
 - La luz es apagada, y se introducen las manos en los guantes de goma;
 - El mechero de alcohol es avivado, se destapa la caja de Petri que contiene el micelio desarrollado y con el escalpelo, una vez flameado por el mechero se corta el micelio desarrollado de la caja de Petri en tantos trozos como frascos se quiera sembrar en este caso se dividió en 5 pedazos, y se colocaron 2 partes por cada frasco, para acelerar el corrido de micelio;
 - Se abren los frascos con el sustrato esterilizado (uno por uno), y con el asa de siembra en la mano, se la flamea en el mechero, con ella se toman dos trozos de micelio de la caja de Petri, dejándolos caer dentro del frasco con el sustrato esterilizado;
 - Una vez colocados los dos fragmentos de micelio, el borde de la boca del frasco es limpiado con alcohol antes de colocar el tapón de algodón en la boca del frasco y sujetarlo con cinta adhesiva;
 - La rutina es repetida con todos los frascos que se desee sembrar (125 frascos).

h. Incubación del Micelio en el Sustrato

Esta etapa del proceso de elaboración del micelio reproductor, se la llevó a cabo en una incubadora cadera desinfectada previamente con hipoclorito de sodio al

2%. Una vez realizada la siembra en los frascos con el sustrato esterilizado, se los cubrió con papel aluminio para proporcionarles oscuridad y ubicarlos en la incubadora con el fin de mantenerlos a una temperatura de más menos 23 °C por un período de tiempo de 15 a 21 días.

Descripción del diseño casero:

La incubadora casera, es una caja de cartón de (40*30*30) cm. forrada con espuma flex en su interior, y con unas pequeñas ventanas a los lados de (20*5)cm y (7*5)cm respectivamente, para dar ventilación de tal manera que el calor no se concentre sino que se mantenga y un foco para mantener la temperatura interna de los frascos.

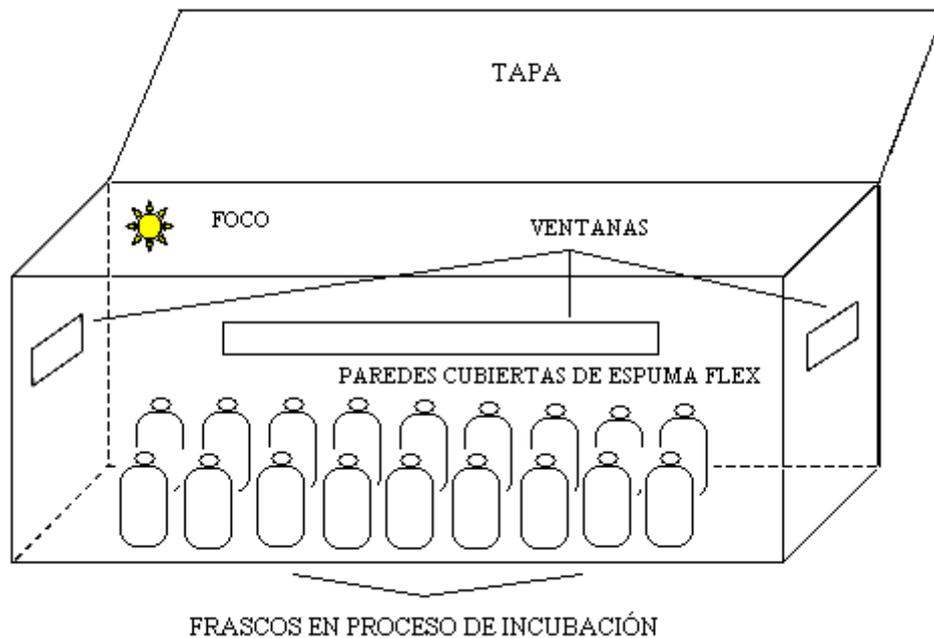


Fig. 10 Diseño de Incubadora Casera
FUENTE: Diseño de la Tesista

Nota: Para la preservación y uso posterior de la semilla, deberá permanecer en un ambiente de 4-6°C para que el micelio disminuya al mínimo su desarrollo.

3.3.2 Fase de Investigación

Una vez realizada la semilla ó micelio reproductor, se continuó con la fase investigativa que se propone en este Proyecto de Tesis.

1) Evaluación del Material

Los materiales evaluados en este proyecto fueron tres residuos agroindustriales, los cuales fueron adquiridos directamente del campo. Los residuos analizados fueron aserrín de laurel, marlo de maíz y tamo de avena.

Tabla 10 Análisis Químico de Materiales

Análisis Químico (%)	Residuos agrícolas y madereros			Proteína
	Aserrín de laurel	Marlo de maíz	Tamo de avena	Salvado de trigo
Materia Seca	84	86	92	89
Ceniza	0.5	1.6	6.9	8.2
Fibra Cruda	62.4	8.3	37.0	10.4
Grasa	0.6	3.2	2.1	3.9
Extracto no Nitrogenado	20.2	65.0	42.5	53.4
Proteína Cruda	0.3	7.8	4.0	15.2
Macro minerales importantes (%)				
Calcio	0.18	0.07	0.23	0.11
Fósforo	0.01	0.23	0.06	1.26
Magnesio	0.03	0.2	0.17	0.52
Azufre	-	0.19	0.21	0.22

FUENTE: FAO, 2008

2) Formulación de la Mezcla

Se realizó la mezcla de los componentes necesarios para los tratamientos bajo la formulación Suiza de la Tabla 2.6. en iguales proporciones para cada uno de los residuos agroindustriales.

Tabla 11 Formulación de los Tratamientos para el Cultivo de Shiitake

Materiales	Porcentaje de los Componentes en Peso Seco
Residuo Agroindustrial (Fuente de Carbono)	75 %
Salvado de Trigo (Fuente de Nitrógeno)	24 %
Carbonato de Calcio (CaCO ₃) (Buffer)	1 %
Agua	La necesaria para mantener una humedad de 65 a 75%

FUENTE: KALBERER, P. P. (1987) (37)

De acuerdo a la Tabla 3.2. se ajustó la formulación para todos los tratamientos realizados, modificándose así la formulación de la composición, la cual se explica en el siguiente Cuadro.

Tabla 12 Formulación para cada uno de los Tratamientos

Tratamiento	Simbología	Residuo Agroindustrial	Pasteurización	Salvado de Trigo	CaCO₃
1	S1 T1	78% Aserrín	Vapor	20%	2%
2	S1 T2		Agua Caliente		
3	S2 T1	78% Marlo de maíz	Vapor		
4	S2 T2		Agua Caliente		
5	S3 T1	78% Tamo de avena	Vapor		
6	S3 T2		Agua Caliente		

3) Pesaje de Materiales

Una vez determinada la mezcla del material se procedió al pesaje de los mismos, de acuerdo a las proporciones anteriormente mencionadas, quedando la formulación del sustrato **residuo agroindustrial : salvado de trigo : carbonato de calcio** así **1,17:0,3:0,03** kg. de manera que el peso seco de la mezcla resultante sea de 1,5 kg para cada una de las unidades experimentales.

4) Tratamiento Térmico

Una vez pesados los materiales se procedió a mezclarlos y colocarlos en sus respectivos contenedores en fundas para el tratamiento con agua caliente y mallas plásticas para el tratamiento con vapor, cada tratamiento comprende 10 muestras, resultando un total de 60 bloques con residuo orgánico.

A. Pasteurización con Vapor

Se pasteurizaron independientemente 10 unidades experimentales de aserrín, 10 de marlo molido de maíz y 10 de tamo de avena, con un peso seco por bloque de 1,5 kg., este material se colocó en mallas plásticas de tal manera que quedase totalmente expuesto al vapor;

Técnica:

- Se colocó en mallas plásticas el material experimental (1,5 kg), y se los ubicó en el canasto metálico,
- Seguidamente, se sumergió con fuerza el canasto metálico en un tanque con agua e inmediatamente se lo escurrió, con la finalidad de lavar el material; este proceso se lo repitió 10 veces, tomando la precaución de cambiar de agua a cada sumergida del material;
- En otro tanque metálico se colocó una rejilla de madera y un poco de agua de tal manera que esta no sobrepase la rejilla;

- Se encendió el quemador a llama alta y una vez que el agua empezó a hervir se colocaron las fundas sobre la rejilla y se tapó el tanque herméticamente para que el vapor no se fugue;
- Una vez sellado el tanque, se observó el medidor de temperatura ubicado en la parte superior de la tapa del tanque, para monitorear que el vapor no pase los 60°C, esta temperatura la mantenemos por 5 horas;
- Transcurridas las 5 horas, esperamos a que el tanque se enfríe un poco para sacar el material experimental;
- Con agua tibia en una regadera se lava el material suavemente para eliminar residuos de tierra sobrantes o algún otro foco de infección;
- Esta misma técnica es repetida para cada uno de los tratamientos.

B. Pasteurización con Agua Caliente

Al igual que en la pasteurización con vapor, este tratamiento térmico constó de 30 unidades experimentales: 10 con aserrín, 10 con marlo molido de maíz y 10 con tamo de avena con un peso de 1,5kg. de peso seco por cada bloque.

Procedimiento:

- Una vez pesados los 1.17kg. de residuo maderero (aserrín) y agrícola (marlo molido de maíz, tamo de avena) se lo apiló individualmente en el piso para saturarlo de agua constantemente durante dos días;
- Una vez eliminadas las resinas del sustrato se procedió a mezclar con el afrecho y el buffer;
- Seguidamente se colocó el material en fundas plásticas y en parte superior de la funda se introdujo un aro de tubo PVC y se lo corchó con algodón;
- Luego, en un tanque metálico se puso una rejilla de madera y se asentaron sobre esta las fundas con el material experimental;
- Se lleno el tanque con agua, de tal manera que esta llegue hasta las $\frac{3}{4}$ partes de la funda, se prendió el quemador y una vez que el agua empezó a hervir fue monitoreada con el termómetro constantemente;

- Una vez que el agua adquirió 90°C (10°C menos que el punto de ebullición), se sometió al material a un tiempo de cocción de 8 horas, para luego dejarlo enfriar y proceder con la inoculación del micelio;
- Es sumamente importante mantener el agua a esta temperatura y, sobre las $\frac{3}{4}$ partes de la funda;
- El mismo procedimiento se realizó con cada uno de los tratamientos, de tal manera que el tiempo de cocción del material en esta fase no influya en el proceso de incubación y su posterior fructificación.

5) Enfriamiento de la Mezcla

Una vez pasteurizado el material, se lo deja en reposo sobre una mesa limpia, desinfectada con hipoclorito de sodio (Producto químico al 15%) y formol al 2% (Producto químico al 56%).

Nota: Todos los utensillos se desinfectaron con cloro y formol después de cada proceso individual.

6) Inoculación del Micelio en el Sustrato

Procedimiento:

- Una vez frío el material se retira el algodón y el aro de tubo PVC cuidadosamente;
- Se abre la funda y con el asa de siembra se realiza un orificio en la mitad del sustrato, que llegue hasta la base de la funda y que tenga un diámetro entre 1.5 a 2cm.;
- Seguidamente, se toma el asa de siembra con una mano para flamearla por el mechero de alcohol; mientras tanto, con la otra mano se coge el frasco de semilla, se lo destapa y una vez flameada el asa, es introducida en el frasco para sacar la semilla y colocarla en el agujero realizado en el sustrato;
- Una vez lleno de micelio el agujero del sustrato, la funda es cerrada rápidamente, evitando que microorganismo del ambiente ingresen hacia el interior de la funda;

- Se inserta nuevamente el aro de tubo PVC (1/2") de 2cm de largo, que ha sido previamente desinfectado con vapor a una temperatura de 40 – 50°C por 20 minutos y con una solución de hipoclorito de sodio al 2%;
- Luego, el aro es tapado con algodón, empapado en una solución de peróxido de hidrógeno al 0.15%, de tal manera que exista un intercambio de gases entre el dióxido de carbono producido por el micelio y el oxígeno del ambiente exterior.
- Este proceso fue realizado en cada una de las fundas, para acelerar el tiempo de incubación del micelio sobre el sustrato.

7) Incubación

Una vez realizada la siembra, se envolvió la funda en papel aluminio para darle oscuridad, después fueron puestas sobre una mesa limpia, desinfectada previamente con hipoclorito de sodio al 2%

8) Inducción ó Choque Térmico

Una vez que los bloques estuvieron totalmente invadidos por el micelio (blancos o amarillentos) se procedió a sacar primeramente el papel aluminio, luego se realizó pequeños agujeros por toda la funda para que el agua invada el sustrato colonizado y, una vez sumergidos en agua fría a 12°C por 36 horas se retiraron los bloques del agua y la funda que los cubría con el objetivo de incentivar así la formación de cuerpos fructíferos.

9) Formación de Cuerpos Fructíferos

Concluido el tiempo de inducción, los bloques fueron sacados del agua y ubicados en un lugar sombreado, bien ventilado con una temperatura entre 16 y 21°C, con una humedad relativa fluctuante entre 30 y 50%, este proceso duró 10 días con el único sustrato que fructificó..

10) Fructificación

Una vez madurado el micelio en la fase de formación de cuerpos fructíferos o primordios, el hongo estuvo listo para brotar y desarrollarse en un tiempo máximo de tres días.

11) Cosecha

Transcurrido el período de fructificación, la cosecha se la realizó con una cuchilla cortando el talo (tallo falso) en la base.

3.4 Toma de Datos

3.4.1 Porcentaje de Eficiencia Biológica

Una vez concluida la cosecha se pesaron inmediatamente los hongos para evitar pesas irreales por el proceso de deshidratación, y más los datos de la Materia Seca, se procedió a calcular el porcentaje de Eficiencia Biológica, con ayuda de la siguiente fórmula:

$$EF = \frac{P.H.F.(kg)}{P.S.S.(kg)} \times 100$$

Donde: E.F. = Eficiencia Biológica
 P.H.F. = Peso de Hongos Frescos
 P.S.S. = Peso de Sustrato Seco

3.4.2 Rendimiento de Hongos por kg. de Materia Seca de Sustrato

Culminado el proceso de formación de primordios (10 días después del choque térmico), se realizó la cosecha individualmente para cada uno de los bloques

fructificados en cada tratamiento, posterior a la cosecha se peso cada lote de hongos frescos para la obtención de datos.

3.4.3 pH cada 15 días

La primera medición de pH se llevo a cabo el día de la siembra, y luego fueron constantes cada 15 días, cabe señalar que se tomaron 10 mediciones en cada uno de los tratamientos, para observar el incremento de pH en cada uno de ellos.

3.4.4 Días de Incubación en los tres Medios de Cultivo

El proceso de incubación con cada uno de los sustratos fue monitoreado y contabilizado desde el primer día de siembra hasta el momento en que los bloques estuvieron compactos y de un color blanquecino por la inundación del micelio.

3.4.5 Días de fructificación con cada Sustrato

Fueron contabilizados desde que se observó cambios de color en el sustrato, es decir que prontamente en la parte donde ha de salir el brote, el sustrato se hace torna de un color marrón oscuro, lo que significa que la formación de primordios o cuerpos fructíferos ha finalizado, dando inicio al proceso de fructificación del hongo.

3.4.6 Costos de Producción para los Tratamientos

Los costos de producción (llamados también costos de operación) se ven representados por la valoración monetaria de los gastos incurridos durante el ciclo de experimentación, que incluye el costo de materiales y mano de obra. Esta investigación analizó la importancia de cada uno de los aspectos en el proceso investigativo, que directa ó indirectamente determinaron la estructura de los costos de producción.

Después de un año de experimentación puedo manifestar, que los gastos necesarios para hacer funcionar el proyecto se consideraron hace cinco meses atrás, cuando la solución al inconveniente de adaptación se corrigió y los costos innecesarios se eliminaron como consecuencia a un desbalance financiero.

La estimación de los costos operativos de esta investigación muestra, en primer lugar la funcionalidad del proyecto y los costos de mayor influencia sobre la rentabilidad, y en segundo lugar elige el tratamiento más ventajoso entre las tres alternativas como elemento de juicio a eventuales variaciones en los precios.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Porcentaje de Eficiencia Biológica

Cuadro 1 Condiciones del Cultivo por Tratamiento

Tratamiento	Simbología	Estado del Cultivo
1	s1 t1	100% contaminado
2	s1 t2	30% activo
3	s2 t1	100% contaminado
4	s2 t2	100% contaminado
5	s3 t1	100% contaminado
6	s3 t2	100% contaminado

Cuadro 2 Eficiencia Biológica por tratamiento

Tratamiento	Simbología	χ (kg)	EB
1	s1 t1	0	0
2	s1 t2	0,87	58,00
3	s2 t1	0	0
4	s2 t2	0	0
5	s3 t1	0	0
6	s3 t2	0	0

De los Cuadros 1 y 2 podemos concluir, que el único tratamiento que ha respondido positivamente al proceso de desarrollo y fructificación del hongo shiitake ha sido el tratamiento s1t2 (78% aserrín de laurel + pasteurización con agua caliente), del cual resulta una eficiencia biológica del 58%, lo que quiere decir que por cada bloque experimental de 1,5kg de peso seco se cosecharon en promedio 0.87kg de hongos frescos; sin embargo, cabe recalcar que únicamente el

Cuadro 4 Cuadro de Medias

Tratamiento	Simbología	Σ (kg)	χ (kg)
1	s1 t1	0	0
2	s1 t2	2,6	0,87
3	s2 t1	0	0
4	s2 t2	0	0
5	s3 t1	0	0
6	s3 t2	0	0

Cuadro 5 Arreglo Factorial

Sustratos	Tratamientos		Σ	χ
	t1	t2		
s1	0	2,60	2,60	0,13
s2	0	0	0	0
s3	0	0	0	0
Σ	0	2,60	2,60	
χ	0	0,09		

Cuadro 6 Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F cal	Ftab	
					5%	1%
Total	59	2,162				
Tratamientos	5	0,563	0,113	3,80 **	2,29	3,17
Sustratos (S)	2	0,225	0,113	3,80 *	3,07	4,79
Técnicas (T)	1	0,113	0,113	3,82 ns	3,92	6,85
S x T	2	0,225	0,113	3,80 *	3,07	4,79
Error Exp.	54	1,599	0,030			

** = *significativo* al 1%

* = *significativo* al 5%

ns = *no significativo*

CV = 0,173

El análisis de varianza (Cuadro 6) detecta significancia al 1% entre tratamientos, además existe significancia el 5% para sustratos e interacción y ninguna significancia para las técnicas de pasteurización.

El coeficiente de variación fue de 0.173.

Cuadro 7 Prueba de Tukey para Tratamientos

Tratamientos	Media de Rendimiento	Rangos
T2	0,87	A
T1	0	B
T3	0	B
T4	0	B
T5	0	B
T6	0	B

La prueba de Tukey al 5% (Cuadro 7), muestra la presencia de dos rangos, el primer lugar le pertenece al tratamiento dos con una media en rendimiento de 0.87kg de hongos frescos por cada bloque de 1,5kg. de mezcla, este resultado ratifica una vez más las condiciones del cultivo (Cuadro 1) en ambientes no controlados.

Cuadro 8 Prueba DMS para Sustratos

Sustratos	Media de Rendimiento	Rangos
Aserrín de laurel	0,13	A
Tamo de avena	0	B
Marlo molido de maíz	0	B

La prueba DMS al 5% (Cuadro 8), determina la presencia de dos rangos, siendo el aserrín de laurel el sustrato que ocupa el primer rango; con este argumento se corrobora el análisis de la Medición de pH (Figura 11), lo que significa que las

enzimas degradativas alcanzaron un pH óptimo únicamente con el aserrín de laurel, que fue el material experimental que prosperó hasta final del proceso (fructificación) durante el desarrollo de este proyecto experimental.

Cuadro 9 Prueba de Tukey para Técnicas de Pasteurización

Pasteurización	Media de Rendimiento	Rangos
Agua Caliente	0,09	A
Vapor	0	B

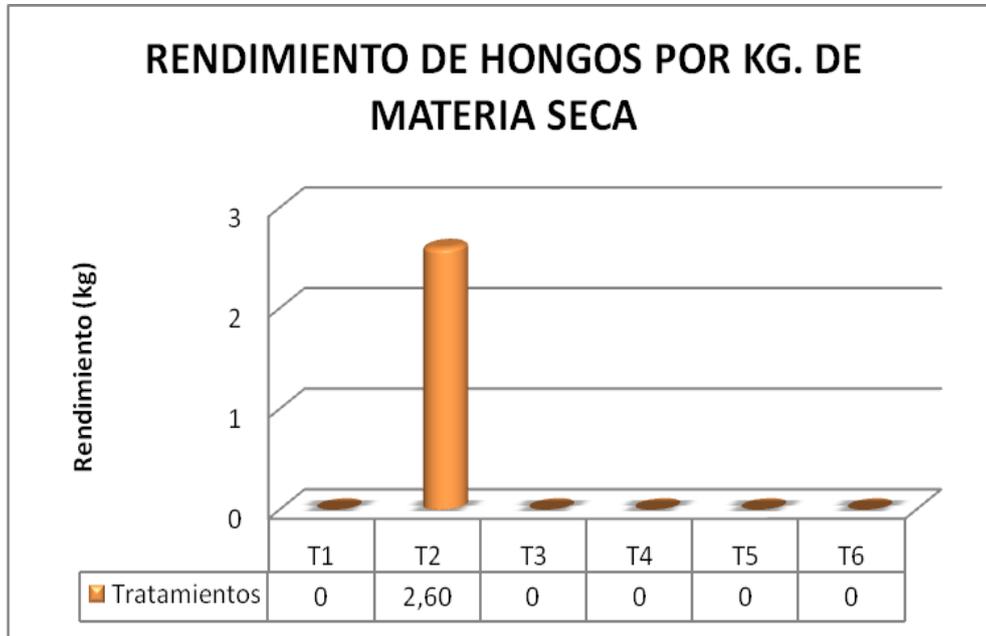
La prueba de Tukey al 5% (Cuadro 9), define dos rangos que señalan como mejor técnica de pasteurización al agua caliente.

Cuadro 10 Prueba DMS para Interacción

<i>Tratamiento</i>	Simbología	Rangos
T2	s1 t2	A
T1	s1 t1	B
T3	s2 t1	B
T4	s2 t2	B
T5	s3 t1	B
T6	s3 t2	B

La prueba DMS al 5% (Cuadro 10), indica dos rangos que confirman los análisis anteriormente realizados en los Cuadros 7, 8 y 9, en los cuales se define como mejor tratamiento al número dos, compuesto por el sustrato a base de aserrín de laurel y pasteurizado con la técnica de agua caliente.

Fig. 12 Rendimiento de Hongos por kg. de Materia Seca con cada Tratamiento

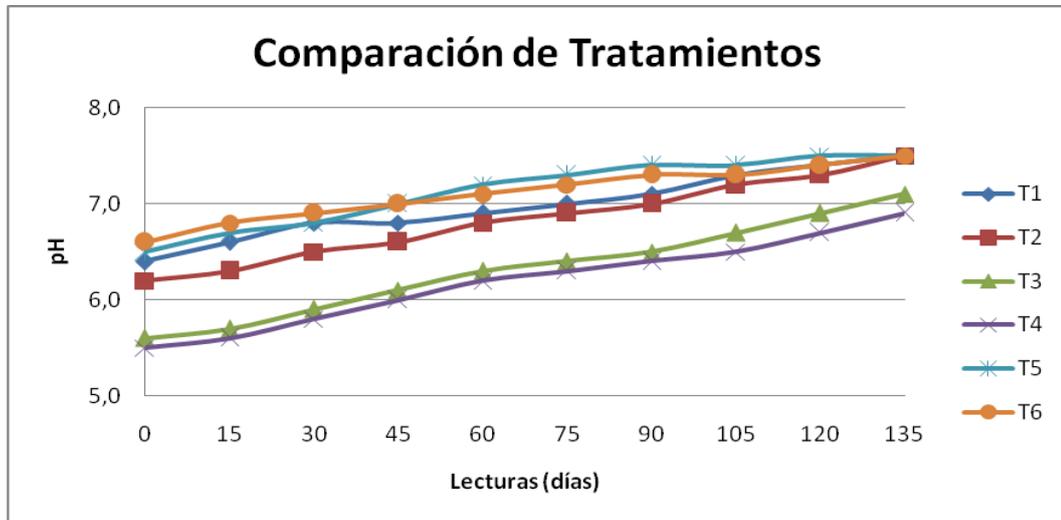


4.3 Medición de pH cada 15 días

Cuadro 11 Fluctuaciones de pH con cada Tratamiento

Trat.	Simbología	Lecturas de pH en el tiempo (días)									
		0	15	30	45	60	75	90	105	120	135
T1	s1 t1	6,4	6,6	6,8	6,8	6,9	7,0	7,1	7,3	7,4	7,5
T2	s1 t2	6,2	6,3	6,5	6,6	6,8	6,9	7,0	7,2	7,3	7,5
T3	s2 t1	5,6	5,7	5,9	6,1	6,3	6,4	6,5	6,7	6,9	7,1
T4	s2 t2	5,5	5,6	5,8	6,0	6,2	6,3	6,4	6,5	6,7	6,9
T5	s3 t1	6,5	6,7	6,8	7,0	7,2	7,3	7,4	7,4	7,5	7,5
T6	s3 t2	6,6	6,8	6,9	7,0	7,1	7,2	7,3	7,3	7,4	7,5

Fig. 13 Curva de Comparación del pH fluctuante en cada uno de los Tratamientos



Analizando el Cuadro 11, observamos que el pH va cambiando de acuerdo al crecimiento de los hongos, que se ve influenciado directamente por la reacción entre las enzimas degradativas y la madera (MORAIS et al. 2000); lo que quiere decir que cada enzima tiene un pH óptimo, que cuando está sobre o por debajo de este, la enzima trabaja con mayor lentitud hasta inhibirse por completo (BUSWELL et al. 1996).

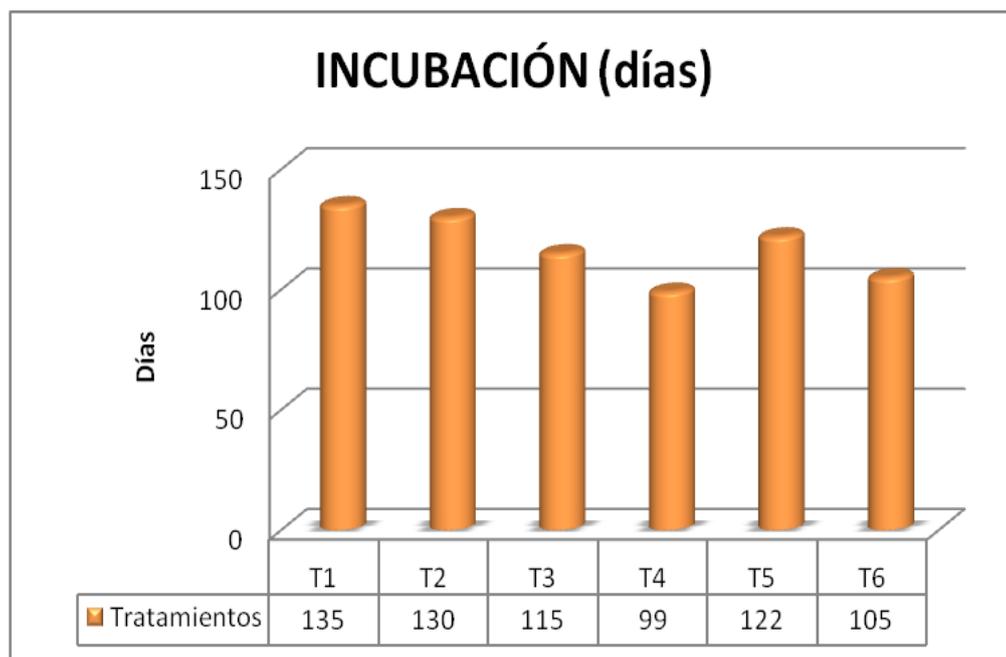
Por tal motivo, la Curva de Comparación (Figura 12) muestra que el pH asciende paulatinamente de parcialmente ácido a neutro en cada uno de los tratamientos, lo que significa que el crecimiento del micelio de shiitake en el sustrato artificial fue el adecuado, ya sea porque las enzimas degradativas trabajaron bajo un pH óptimo, ó por la solubilidad de los compuestos que determinó su disponibilidad en el sustrato para el desarrollo del micelio del hongo cultivado durante el proceso de degradación (ITO 1978, JABLONSKY 1981).

4.4 Días de Incubación en los tres Medios de Cultivo

Cuadro 12 Días de incubación para cada uno de los Tratamientos

Tratamiento	Simbología	Tiempo de incubación (días)
1	S1 T1	135
2	S1 T2	130
3	S2 T1	115
4	S2 T2	99
5	S3 T1	122
6	S3 T2	105

Fig. 14 Tiempo de Incubación del Micelio en cada uno de los Tratamientos



Como podemos observar en la Figura 14, el tiempo de incubación para cada uno de los sustratos es diferente, por cuanto hay ciertos factores que determinan cuán rápido o lento puede ser este proceso, esto significa que la composición química de los materiales experimentales como se los puede apreciar claramente en el análisis químico de la Tabla 10 influye determinadamente durante la incubación;

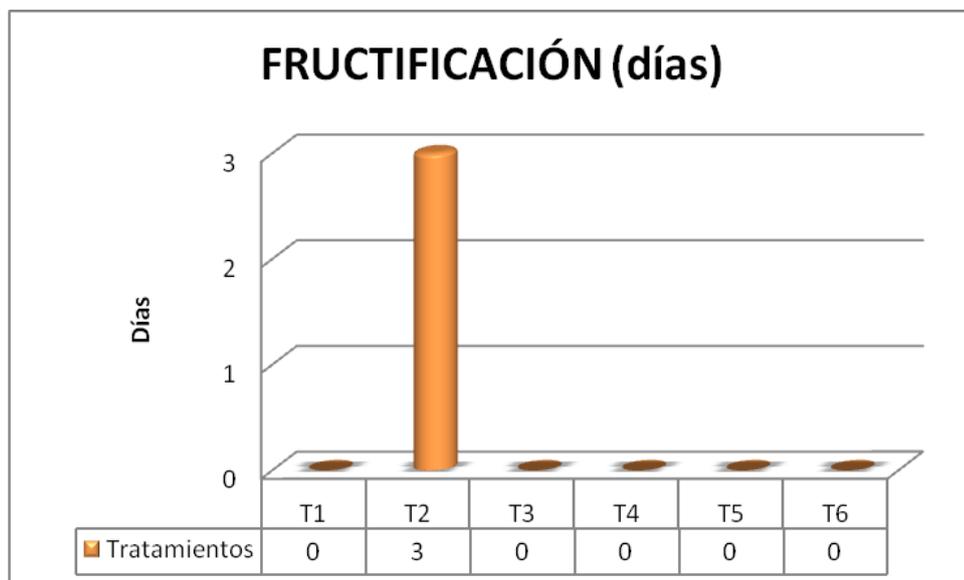
así como la influencia de ciertos rasgos específicos que poseen las cepas (forma, color, resistencia a enfermedades, duración del corrido de micelio, temperatura óptima a desarrollarse y fructificar), las condiciones del sitio de cultivo y la formulación del sustrato (PEGLER 1983).

4.5 Días de Fructificación con cada sustrato

Cuadro 13 Días de Fructificación con cada Tratamiento

Tratamiento	Simbología	Días de Fructificación
1	s1 t1	0
2	s1 t2	3
3	s2 t1	0
4	s2 t2	0
5	s3 t1	0
6	s3 t2	0

Fig. 15 Tiempo de Fructificación en cada Tratamiento



En el Cuadro 13, se distingue que el único tratamiento en el que los primordios o cuerpos fructíferos se desarrollaron con éxito, fue el tratamiento dos (78% aserrín

de laurel en la mezcla y pasterización con agua caliente), este dato una vez más comprueba los resultados obtenidos y analizados en las variables de Eficiencia Biológica y Rendimiento.

4.6 Costos de Producción para cada uno de los Tratamientos

Las diferencias que se observaron con cada uno de los tratamientos con respecto a las Técnicas de Pasterización y los Sustratos fueron:

- El *Tratamiento 1* (ANEXO IV) fue más costoso que el *Tratamiento 2* (ANEXO V), por cuanto el costo de la Pasterización con Vapor resultó ser más elevado que el del Agua Caliente.
- La misma circunstancia se observa con el *Tratamiento 3* (ANEXO VI) y el *Tratamiento 4* (ANEXO VII), donde el valor económico del primero, respectivamente hablando es más elevado que el del segundo.
- Mientras que en el *Tratamiento 5* (ANEXO VIII) y el *Tratamiento 6* (ANEXO IX), no varían las situaciones con respecto al costo del proceso de pasterización, concluyéndose de esta manera que la técnica más costosa resulto ser la pasterización con vapor, en vista de que se utilizaron mayor cantidad de materiales para su ejecución.
- En el *Tratamiento 1* (ANEXO IV); *Tratamiento 3* (ANEXO VI) y *Tratamiento 5* (ANEXO VIII), no se comprueba diferencia alguna en el costo de pasterización, ya que en los tres tratamientos se realizó la técnica de pasterización con vapor; lo mismo sucede con el *Tratamiento 2* (ANEXO V), *Tratamiento 4* (ANEXO VII) y *Tratamiento 6* (ANEXO IX), que fueron tratados con agua caliente; sin embargo, en ambos casos el costo del material experimental varía considerablemente, resultando ser el más económico el sustrato de los Tratamientos 1 y 2, seguidos por los Tratamientos 4 y 5; no así con los Tratamientos 5 y 6 que fueron los más onerosos en comparación al resto de tratamientos.

Cuadro 14 Resumen de Costos de Producción por Tratamiento

Tratamiento	Simbología	Costo Unit.
Aserrín de laurel + Vapor	S1 T1	200,22
Aserrín de laurel + Agua Caliente	S1 T2	197,36
Marlo de maíz + Vapor	S2 T1	207,30
Marlo de maíz + Agua Caliente	S2 T2	204,44
Tamo de Avena + Vapor	S3 T1	212,96
Tamo de avena + Agua Caliente	S3 T2	210,11
	TOTAL	1232,39

El Cuadro 14, nos muestra que el tratamiento más económico es el de aserrín de laurel + agua caliente (S1 T2); comprobando de esta manera que el sustrato más adecuado para el desarrollo del hongo shiitake es el aserrín y la técnica de pasteurización más conveniente es el agua caliente.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de la presente investigación se puede concluir que:

1. Se llegó a determinar que el tratamiento con mayor eficiencia biológica es el s1t2 (aserrín de laurel y pasteurización con agua caliente), con un total de 58%, concluyéndose de esta manera que el sustrato más adecuado fue el aserrín por su alto contenido de fibra cruda (ver Tabla 10), mientras que el tratamiento térmico ideal para eliminar microorganismos patogénicos del sustrato fue la pasteurización con agua caliente que tuvo una duración de 8 horas.
2. Según los rendimientos, igualmente el mejor tratamiento es el s1t2 (aserrín de laurel y pasteurización con agua caliente), los resultados demuestran que únicamente el 30% de este tratamiento estuvo activo al momento de la cosecha, es decir que sólo tres bloques experimentales completaron el ciclo hasta la fructificación, mientras que los siete restantes (70%) de este, y la totalidad de los otros cinco tratamientos no completaron el ciclo por la presencia de agentes contaminantes (hongos competidores) en cada bloque.
3. Las fluctuaciones de pH en el bloque tienden a tener un crecimiento, conforme las enzimas degradativas del sustrato van descomponiendo el material.
4. El tiempo de incubación a pesar de ser un proceso muy importante en el cultivo de este hongo, no es un factor relevante para la fructificación ya que esto no garantiza que el bloque experimental culmine el ciclo.
5. De todos los tratamientos experimentales únicamente el s1t2 (aserrín de laurel y pasteurización con agua caliente) llegó a formar primordios o cuerpos

fructíferos que maduraron a los tres días, teniendo en cuenta que todos los tratamientos tuvieron las mismas condiciones climáticas.

6. Después de la medición económica de cada uno de los tratamientos se determinó que el s1t2 (aserrín de laurel y pasteurización con agua caliente) fue el más económico y de fácil adquisición, con un costo de producción de 194,67 dólares.

RECOMENDACIONES

1. Debido a que en el país no existen empresas especializadas que elaboren micelios reproductivos, no sólo en el caso de Shiitake, sino de las diferentes setas comestibles, es fundamental que se apliquen técnicas que permitan producir uno mismo los diferentes micelios reproductivos, recomendando de esta manera la producción de semillas, las mismas que tendrán un costo marginal en función de la inversión tomando en cuenta que la inversión de la semilla importada es muy elevada.
2. Pese a las altas tasas de seguridad en el aseo se observó la presencia de contaminantes en los contenedores, razón por la cual se recomienda mantener total asepsia desde el principio hasta el final del cultivo.
3. Es sumamente importante evitar abrir las fundas durante la fase de incubación, en vista de que este hongo es muy susceptible a la contaminación.
4. Se puede aliviar la contaminación ambiental urbana, utilizando los desechos agrícolas y madereros de la zona para la producción de esta seta exótica comestible y medicinal.
5. El porcentaje de suplemento nutritivo que se aplica en la mezcla del sustrato, influye directamente en el tiempo de incubación del sustrato y duración de la fructificación en el proceso de cultivo del Shiitake.

RESUMEN

Lentinus edodes, comúnmente conocido como shiitake ó elixir de la vida, es un hongo comestible originario de Asia; se produce principalmente en China, Japón, Corea y Taiwan. Son apreciados por su exquisito sabor, valor nutricional y por sus beneficios sobre la salud, especialmente en el Centro de Investigaciones contra el Cáncer, en Tokio, donde se ha probado que tiene efectos antivirales, antitumorales y baja el nivel de colesterol en la sangre.

Al igual que otros hongos de pudrición blanca, Shiitake se puede cultivar sobre residuos agrícolas, forestales y agroindustriales; aunque durante el desarrollo de este proyecto se presentaron problemas de disponibilidad de semilla (micelio activado) y la adaptación de tecnología de producción.

El presente trabajo se evaluó en bloques sintéticos, con el fin de aprovechar y hacer buen uso de los diferentes residuos agrícolas y madereros de la zona, que hasta el momento no se habían experimentado para este tipo de cultivo, y que representan un problema ambiental en ciertos sectores de la provincia.

Se realizaron seis tratamientos de diez repeticiones cada uno; con tres diferentes sustratos (marlo molido de maíz, tamo de avena y aserrín de laurel), una fuente de nitrógeno (salvado de trigo), un controlador de pH o buffer (CaCO_3) y tratadas con dos técnicas de pasteurización (vapor y agua caliente).

Tabla 13 Resumen de la Producción de *Lentinus edodes* en cada uno de los Tratamientos

Variables evaluadas	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3	Trat. 4	Trat. 5	Trat. 6
Eficiencia Biológica (%)	0	58	0	0	0	0
Rendimiento de hongos por kg. de Materia Seca de sustrato	0	0.87	0	0	0	0
Tiempo de Incubación	135	130	115	99	122	105
Días de Fructificación	0	3	0	0	0	0
Costos de Producción	199.29	194.67	197.48	204.09	210.92	218.23

De acuerdo al resumen de producción con cada uno de los tratamientos, se determinó, como sustrato de mejor calidad al aserrín de laurel, mientras que el tratamiento térmico más adecuado para eliminar o reducir poblaciones de microorganismos patogénicos competidores de la mezcla, fue la pasteurización

con agua caliente; estos dos factores, pertenecientes al tratamiento dos (s1t2), proporcionaron al hongo las mejores condiciones para la formación de cuerpos fructíferos y posterior desarrollo y crecimiento en la etapa de fructificación. Así mismo, el tratamiento más económico ha sido el número dos (s1t2), en vista de que el sustrato es de fácil adquisición y la pasteurización de fácil manejo.

Sin duda alguna, como lo muestra la Tabla 13, dependiendo del tratamiento evaluado, se han obtenido eficiencias biológicas de 0% y 58%, rendimiento de hongos frescos de 0 y 0.87 kg. para la primera cosecha, días de fructificación de 0 y 3 días, colonización de sustratos entre 99 y 135 días y un costo de producción por tratamiento entre \$ 194.67 y \$ 218.23 dólares.

SUMMARY

Lentinus edodes is known commonly as shiitake or “elixir of life”, it is an eatable mushroom, it is from Asiatic country, it is produced in China, Japan, Korea and Taiwan mainly. This product is very appreciate by its nutritional and healing properties, besides its flavor is excellent, so, in Tokyo, in the Investigation Centre against cancer has demonstrated that it has antiviral and antitumor effects and it lows cholesterol levels in the blood.

In the same way, other mushrooms of white rottenness, shiitake can be improved over farm, forestall and agro industrial scraps although during the development of this project there were some disposability problems of the spawn (active mycelium) and the adaptation of the production technology.

This job was evaluated in synthetic blocks in order to make good use of the different agricultural and timber scraps from the zone, which until this moment had not tried this type of cultivation so, it represents an environmental problem in some sectors in the province.

It was done six treatments, each one was made ten times with three different kinds of raw materials to know: the marl ground of corn, the oat fluff and the sawdust from the laurel it must add a source of nitrogen (Wheat bran), a counter of pH or buffer (CaCO_3) all them were treated with two techniques of pasteurization (steam and hot water).

Table 13 Summary of the production of Lentinus edodes in each one of the treatments.

Variables evaluated	Trat. 1	Trat. 2	Trat. 3	Trat. 4	Trat. 5	Trat. 6
Biological efficiency (%)	0	58	0	0	0	0
Produce rent of mushrooms per Kg. of dry matter of substrate.	0	0.87	0	0	0	0
Incubation Time.	135	130	115	99	122	105
Days of Fructification	0	3	0	0	0	0
Prices of Production.	199.29	194.67	197.48	204.09	210.92	218.23

According with the summary of production with each one of the treatments, it was determinate to the sawdust from the laurel as the better quality substrate, while the most adequate thermal treatment to kill or reduce populations of pathogenic microorganism opponent of the mixture was the pasteurization with hot water, both factors are included in the treatment two (slt2), which proportionate to the mushroom the better conditions for the formation of fructiferous substances and later evolution and growing in the fructification period. In the same way, the cheapest treatment had been number two (slt2), considering that the substrate is easy to obtain and the pasteurization is easy to handling.

Without a doubt, as the Table 13 shows, depending of the treatment evaluated, it has obtained biological efficiencies of 0% and 58%, produce rent of fresh mushrooms of 0 and 0.87kg. for the first crop, the days of fructification go from 0 and 3 days, the colonization of substrates among 99 and 135 days and the price of production by treatment among \$194.67 and \$218.23 dollars.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABADÍA, G. A. (2007) “Técnicas de Cultivo del hongo shiitake (*Lentinus edodes*)”; Bogotá – Colombia; Comunicación Personal.
2. AGROTROPICAL (2004) “Acción Medicinal del Hongo Shiitake”; disponible en: www.agrotropical.andes.com.
3. ALBERTÓ E. (2006) Laboratorio de Micología Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales disponible en www.iib.unsam.edu.ar
4. ANÓNIMO (2008) “Biosetas Andinas”, Bogotá D. C, Comunicación Personal.
5. AKIMAYA, H., AKIMAYA, R., AKIMAYA, I., KOTO, A. y NAKASAWA, K. (1976) “The new cultivation as shii-ta-ke in a short period”; *Mushrooms Science*, 9(1): 423-433.
6. ANDO, M. (1976) “Fruit-body formation of *Lentinus edodes* on artificial media”; *Mushroom Science*, 9(1):415-422.
7. AZCON-BIETO, J. y TALON, M. (1993) “Fisiología y Bioquímica Vegetal”; Primera Edición, McGraw-Hill Interamericana, Madrid-España.
8. BARBADO, J. L. (2003) “HONGOS Comestibles” (Micro emprendimiento); Editorial Albatros; Buenos Aires.
9. BLACHETE, R. A. y SHAW, C. G. (1978) “Associations among bacteria, Yeats and Basidiomycetes during Wood decay”; *Phytopatologia* 68(1): 631-637.
10. BUSWELL, J. A., CAI, Y. y CHANG, S. T. (1996) “Ligninolytic enzyme production and secretion in edible mushroom fungi”; *Mushroom Biology and Mushroom Products*, ISBN10 9622016103. Royse (Ed.), 113 – 122.
11. CAROLINAAGRO-TECH (1986) “Mushrooming your forest management profits with shiitake”; Carolina Agro-Tech; Warren Wilson College.

12. COOK, D. y FLEGG, P. B. (1962) "The relation between yield of the cultivated mushroom and stage of maturity at picking"; Horticulture Science 37:167-174.
13. COTTER, V. T., FLYNN, T., VILGALYS, R. y HANKINGS, A. (1965) "Shiitake farming in Virginia"; Virginia Coop. exten. Ser. Publ. # 438-012.
14. CURVETTO, N. (2004) "*Biotechnología en Hongos Superiores*"; Parte 1; Revista AgroUNS N°2, Año 1: 12-15.
15. CHANG, S. T. (1987) "Producción mundial de setas comestibles cultivadas en 1986"; Instituto de Micología del Trópico, 7(4): 117-120.
16. CHANG, S. T. y MILES, P. G. (1984) "Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China"; Mushroom j. Tropics. 7(1): 31-37.
17. DEACON, J. W. (1984) "Introducción a la Micología Moderna"; Ed. Blackwell Scientific Publications; Oxford.
18. FERNÁNDEZ, F. (2004) "Guía Práctica de producción de Setas"; Fungitec Asesorías, Guadalajara, Jalisco – México.
19. FULIMOTO, T. (1987) "Method of inoculating mushroom basidiospores seed basidiospore bed for inoculation, culture container for seed basidiospore bed, and boring apparatus for host wood for inoculation"; US, Patent # 4.646.465.
20. FUNG, Y. (2002) "Evaluación del crecimiento y producción de *Lentinula edodes*. Berk Pegler (SHIITAKE) sobre diferentes sustratos a base de residuos agroindustriales"; Microbiólogo Industrial; Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología, Bogotá D. C. – Colombia.
21. FUZISAWA, N., MAEDAI, A. y HATTORI, K. (1978) "*Method for cultivation of Lentinula edodes*"; U. S. Patent N° 4.038.144.
22. FUZISAWA, N., MAEDAI, A. y HATTORI, K. (1978) "*Method for vessel cultivation of Lentinula edodes*"; U. S. Patent N° 4.038.145.
23. FUZISAWA, N. y HATTORI, K. (1979) "*Method for vessel cultivation of Lentinula edodes*"; U. S. Patent N° 4.161.083.

24. FRANCE, A. y CORTÉS, M. (2005) “El Hongo Shiitake”.
25. GAITÁN H. R.(2004) “Condiciones de Crecimiento y Fructificación del Shiitake Japonés” disponible en www.ecología.edu.mx
26. GAITÁN, R. (2000) “Obtención de Carpóforos de Lentinula y Pleurotus en residuos de la madera de pino y bagazo de caña de azúcar”; Instituto de Ecología, México.
27. GARCÍA, M. (2003) “Cultivo de Setas y Trufas”; Ediciones Mundi-Prensa; Madrid – España.
28. GARCÍA, M. y ROLLAN, m. (1991) “Cultivo de Setas y Trufas”; Editorial Mundi-Prensa; Madrid – España.
29. GRANADOS, S. C. y ORELLANA, S. (2004) “Manual cultivo de setas comestibles tropicales”; Armenia – Colombia.
30. HAJI M. y MOHAMMED I. (2000) “Uses of Mushrooms”; disponible en www.world-of-fungi.org
31. HARRIS, R. (1986) “Growing Shiitake Commercially”; Science Technology Publ. Madison.
32. HERRERA, T. y ULLOA, M. (1990) “Micología básica y aplicada, el Reino de los Hongos”; UNAN y FCE; 552p.
33. IBAR, Leandro (1980) “cómo.. buscar, conocer SETAS”; Editorial Aedos; Barcelona.
34. IIZUKA, C. y TAKEUCHI, M. (1978) “*Method of artificially growing edible fungi*”; U: S: Patent N° 4.071.973.
35. ISHIKAWA, H. (1967) “Physiological and ecological studies on Lentinus edodes (Berk) Sing.”; Agr. Lab 8: 1-57.
36. ITO, T. (1978) “Cultivation of Lentinus edodes in The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms”; edites by Chang, S. T. and Hayes, W. A. Academic Press. New York; p. 461-473.

37. JABLONSKY, I. (1981) "The influence of environmental factors on yield and fruitbody development of *Lentinus edodes*"; Zeitsch. Mykol. 47(2): 291-300.
38. KALBERER, P. P. (1987) "Experiments on the cultivation of shiitake (*Lentinus edodes*) on sawdust"; Mushroom Science, 12 in press.
39. KASAHARA, N., SHIOTA, A. y KITAGUCHI, I. (1976) "***Process for the growth and production of mushroom tissue***"; U. S. Patent N° 3.940.883.
40. KAWAMURA, N. y GOTO, M. (1980) "Biochemical characteristics of the isolates of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*)"; Rept. Tottori Mycology Institute 18:217-224.
41. KLEINMAMM-KLAR, D. y SCHWANTES, H. O. (1980) "Lentinus edodes culture and fruit body formation"; Zeitsch Mycol, 46(1): 31-34.
42. KONEMAN, E. (1997) "Micología práctica"; Medica Panamericana, Buenos Aires – Argentina.
43. KOMATSU, M. (1961) "Morphological characters of the hyphae of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. grown under fluctuated temperatures and those during fruiting"; Rept. Tottori Myc. Inst. 1: 45-49.
44. KOMATSU, M. (1963) "Morphogenesis of gill and sporulation in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. with special reference to those influenced by light and temperature conditions"; Rept. Tottori Myc. Inst. 3: 6-17.
45. LEATHAM, G. F. (1983) "A chemically defined medium for the fruiting of *Lentinus edodes*"; Mycologia 75(5): 905-908.
46. LEE, E. (1996) "Shiitake and Maitake Mushroom in Connecticut"; Mushrooms News, Feb: 6-11
47. LOU, L. (1981) "Production of Black Mushroom (*Lentinus edodes*)"; Beijing Agricultural University; Popular Science Publishing House; Beijing – China.
48. MÁRMOL J. "Qué es el *Lentinula edodes* (Shiitake)" disponible en www.novopharma.com.ar
49. MÁRMOL J. "Uso del Shiitake en la Medicina Tradicional Oriental" disponible en www.novopharma.com.ar

50. MÁRMOL J. “Propiedades Nutricionales (Shiitake)” disponible en www.novopharma.com.ar
51. MARTÍNEZ, D. (1991) “Historia del Cultivo Comercial de Hongos Comestibles en México”; México DF.
52. MARTÍNEZ, M. A. “Proyecto para producir Hongos Shiitake”; Reportaje Especial, Artículo del 21 de mayo de 2007, Instituto de Ciencias de la BUAP, disponible en www.comunicacion.buap.mx
53. MATA, G&R PÉREZ (2000) “Inducción de la producción de cepas del hongo comestible Lentinula edodes”; Instituto de Ecología, México.
54. MEDINA R. y CISTERNA C. “Hongos Medicinales y su cultivo”; publicado el 19/12-2004, última revisión 18/08-2006; disponible en www.micotec.cl
55. MICELIOS FUNGISEM S. A. “Variedades Lentinus edodes SHIITAKE”; disponible en www.miceliosfungisem.com
56. MILES, P. G&S T. JONG (1987) Commercial cultivation and shiitake in sawdust-fill bags”; Pages 421-426.
57. MORAIS, M. H., RAMOS, A. C., MATOS, N. y SANTOS O. E. J. (2000) “Production of Shiitake Mushroom (Lentinula edodes) on Lignocellulosic Residues”; Food science and technology international, ISSN 1082-0132, 6(2), 123 – 128.
58. MOTEALERGRE, Jaime “Micología General” (2003); disponible en www.agronomia.uchile.cl
59. MURATA, H., YAMAUCHI, M. y TANAKA, H. (1987) “*Process of shiitake (Lentinus edodes) cultivation*”; U. S. Patent N° 4.674.228.
60. NUTALAYA, S. y PATARAGETVIT, S. (1981) “Shiitake mushroom cultivation in Thailand”; Mushroom Science 11: 723-737.
61. OEI, P. (2003) “Mushroom Cultivation”; Backhuys Publishers; Leiden - Holanda.
62. ORTÍZ A. Juan “**Algunos Ensayos del Cultivo de Shiitake mediante la Desinfección de un Sustrato No Convencional por Inmersión en Tambos con Agua Caliente en la Granja Setas Cultivadas Xalatlaco**”; Boletín

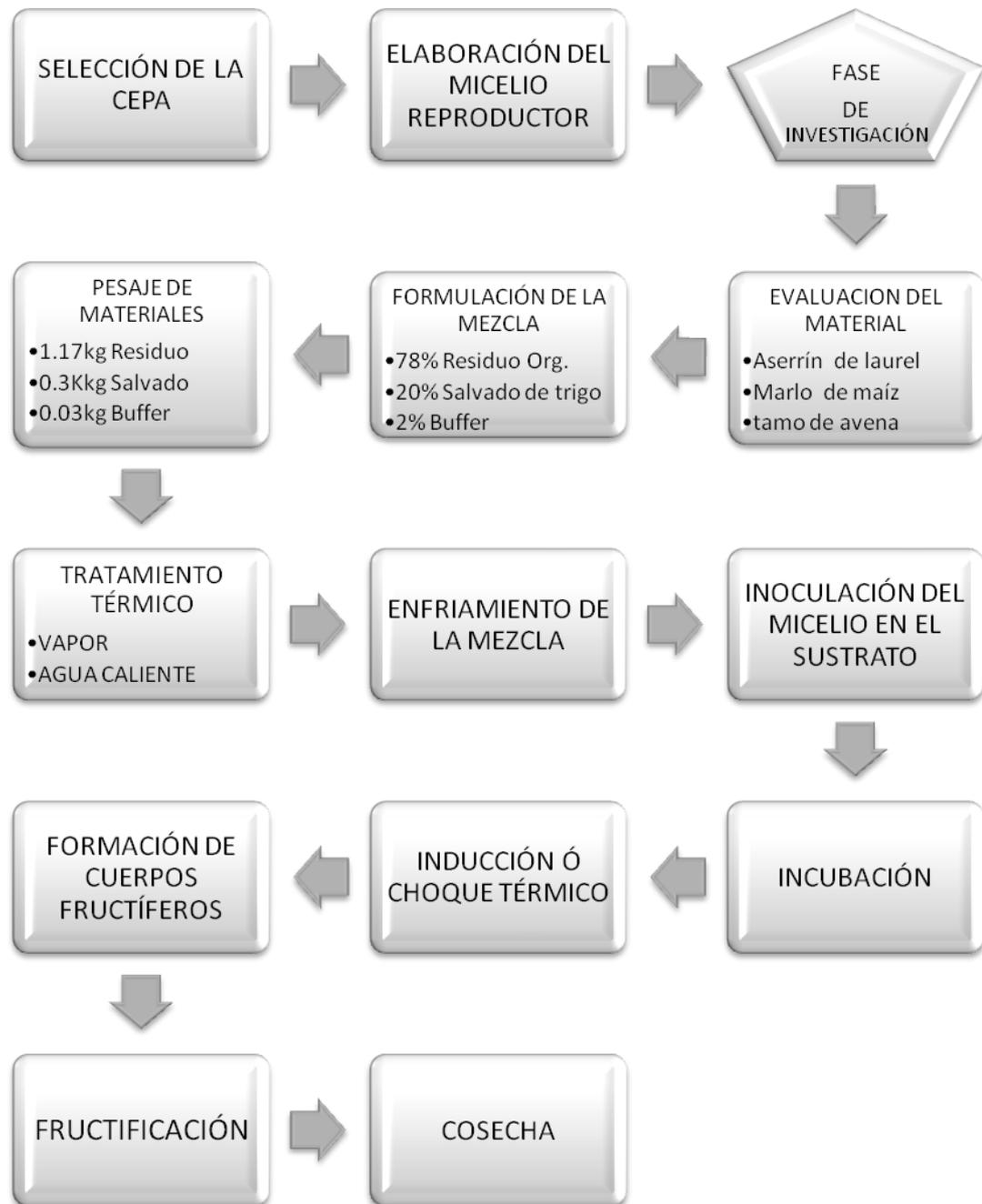
TIPS, Artículo del mes de Agosto de 2004, disponible en www.setascultivadas.com

63. OYARCÉ N., PAILLAN L., CISTERNAS L. (2006) Cultivo de Shiitake (*Lentinula edodes*, Berk), disponible en: dspace.utalca.cl/handle/1950
64. PEGLER, D. N. (1983) “The genus *Lentinula*” (Tricholomataceae tribe Collybieae); *Sydowia* 36: 227 – 239.
65. PELLINEN, M., MÄLKKI, Y. y NISKANEN, A. (1987) “Method of growing edible mushrooms”; U. S. Patent N° 4.637.163.
66. REGÉS DALMAÚ, R. “Shiitake” (Revisado 4 de mayo de 2008) – “Curso General para el cultivo de Hongos”, 6° parte (1999). Copyright C. D. E. E. A., San Andrés.
67. ROYSE, D. J. (1985) “Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom”; *Mycologia* 77(5): 756-762.
68. ROYSE, C. y BAHLER, C. (1986) “Effects of genotype, spawn run time and substrate formulation on biological efficiency of Shiitake”; *Applied and Environmental Microbiology* 52(6):1425-1427.
69. ROYSE, D. J. y SÁNCHEZ, V. J. (2000) La Influencia del Tamaño de las Partículas de Astillas de la Madera en el Rendimiento del Sustrato en Shiitake (*Lentinula edodes*); *Bioresource Technology*, ISSN 0960-8524, 76, 229-233.
70. ROYSE, D. J, SCHISLER, L. C. y DIEHLE, D. A. (1985) “Shiitake mushrooms, consumption, production and cultivation”; *Interdisc. Science Review* 10(4): 329-335.
71. SALDARRIAGA, Y. (2001) “Manual de micología aplicada”; Universidad de Antioquia; Colombia.
72. SAN ANTONIO, J. P. (1981) “Cultivation of the shiitake mushroom, *Lentinus edodes*”; *Horticulture Science* 16(2): 151-156.
73. SINGER, R. (1961) “ Mushrooms and Truffles: Botany, Cultivation and Utilization; Interscience Publishers; New York – EE. UU.
74. SANZ Pedro LA RIOJA. Cultivo de Hongos Exóticos (2002) disponible en www.agroinformacion.com

75. SOLOMON, E. P., BER, L. R., MARTIN, D. W. y VILLE, C. (1996) “Biología de Ville”; Interamericana McRraw-Hill; México D. F.
76. SUÁREZ, C. (2008) “Asistente de Producción, Biosetas Andinas”; [Comunicación Personal].
77. THE OHIO STATE UNIVERSITY (1986) “Shiitake Mushrooms Production”; disponible en www.ohioline.osu.edu
78. TOKIMOTO, K. y KOMATSU, M. (1978) “Biological nature of *Lentinus edodes*. in *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*”; edited by Chang, S. T. and Hayes, W. A.; Academic Press. New York p. 445-459.
79. TOKIMOTO, K. y KOMATSU, M. (1982) “Influence of temperature on mycelia growth and primordium formation in *Lentinus edodes*”; *Trans. Mycologi Society Japan.* 23: 385-390.
80. TRITATANA, S. y TANTIKANJAN, T. (1987) “Effects of some environmental factors on the morphology and yield of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.”; *Mushroom Science* 12: in press.
81. UNITED STATES - CANADIAN TABLES OF FEED COMPOSITION (1982); Thrid revision; National Research Council, National Academy Press, Washington, D. C.
82. VELÁSQUEZ, C. (2005) “**Producción de Hongos comestibles en pañales desechables**”; *Boletín Informativo CDEE / Febrero de 2005.*
83. VILLEGAS, V., PÉREZ, A. y ARREDONDO, C. (2007) “*Evaluación del Crecimiento del hongo *Lentinula edodes pegler* en medios de cultivo sólidos para la Producción de Micelio*”; *Revista Colombia de Biotecnología*, ISSN 0123 – 3475, 9(2).
84. WAINWRIGHT, M. (1995) “Introducción a la biotecnología de los hongos”; Editorial Acribia S. A.; Zaragoza – España.
85. WEBSTER, J. (1970) “Introducción al Reino Fungi”, Universidad de Cambridge; New York – EE. UU.

ANEXOS

ANEXO I PROCESO DE LA FASE INVESTIGATIVA



ANEXO II Informe de Diagnóstico Ambiental (IDA), y Evaluación de Impactos Ambientales (EIA)

Introducción

A través del tiempo, el ambiente ofreció lo que necesitaba el ser humano para satisfacer sus necesidades de alimento, por tal motivo existía un equilibrio biológico entre el ser humano y el Medio Ambiente; sin embargo las necesidades sociales tornan frágil este equilibrio, lo que convierte al ser humano, en el principal responsable del deterioro ambiental por su desmedido afán de uso y abuso de los recursos naturales que degradan el ambiente.

Los aspectos más críticos del problema ambiental en el Ecuador se ven relacionados con el deterioro del suelo, el agua, la cubierta vegetal y el clima. Por consiguiente, es una medida indispensable identificar, describir y evaluar los impactos ambientales que puede ocasionar un proyecto de desarrollo agropecuario a fin de determinar los efectos que causarán las posibles acciones sobre los parámetros ambientales, y de esta manera poder sugerir las medidas de mitigación o correctivas convenientes para el proyecto y el medio ambiente.

Caracterización del Proyecto

De acuerdo a la Quinta Disposición Final del Art. 29, Capítulo V del Libro VI del TULAS, se debe contar con el máximo de información para eliminar incertidumbres, por tal motivo el modelo de ficha ambiental para identificar la ocurrencia de probabilidades es el siguiente:

Identificación del Proyecto

Nombre del Proyecto:

Estudio Comparativo de Tres Sustratos para la Producción de Shiitake *Lentinus edodes* Sing. (Berg) en Yahuarcocha, Imbabura.

Localización del Proyecto:

Provincia: Imbabura

Cantón: Ibarra

Parroquia: El Sagrario

Barrio: San Miguel de
Yahuarcocha

Auspiciado por:

- Ministerio de Agricultura
- Gobierno Provincial de Imbabura
- Ilustre Municipio de Ibarra
- Otros: Inversión personal

Tipo del Proyecto:

- Abastecimiento de agua
- Agricultura y ganadería
- Amparo y bienestar social
- Protección áreas naturales
- Educación
- Electrificación
- Hidrocarburos
- Industria y comercio
- Minería
- Pesca
- Saneamiento Ambiental
- Vialidad y transporte
- Turismo

Descripción resumida del proyecto: Utilización de residuos agrícolas y residuos de madera para aliviar los problemas por depósito o quema de los mismos.

Nivel de los estudios Técnicos del proyecto:

- Idea o prefactibilidad
- Factibilidad
- Definitivo

Categoría del proyecto:

- Constructivo
- Rehabilitación
- Amplificación o mejoramiento
- Mantenimiento
- Equipamiento
- Capacitación
- Apoyo
- Otro: Reutilización de desechos agrícolas y madereros

Caracterización del Área de Influencia

Caracterización del Medio Físico

a) Localización

Región geográfica:

- Costa
- Sierra
- Oriente
- Insular

Coordenadas:

- Geográficas
- UTM

Altitud:

- A nivel de mar
- Entre 0 y 500 msnm
- Entre 501 y 2300 msnm
- Entre 2301 y 3000 msnm
- Entre 3001 y 4000 msnm
- Más de 4000 msnm

b) Clima

Temperatura:

- Cálido-seco
- Cálido-húmedo
- Subtropical
- Templado
- Frío
- Glacial

c) Geología

Ocupación actual del Área de influencia:

- Asentamientos humanos
- Áreas agrícolas o ganaderas
- Áreas ecológicas protegidas
- Bosques naturales o artificiales
- Fuentes hidrológicas o cauces naturales
- Manglares
- Zonas arqueológicas
- Zonas con riqueza hidrocarburífera
- Zonas con riquezas minerales
- Zonas de potencial turístico
- Zonas de valor histórico, cultural o religioso
- Zonas escénicas únicas
- Zonas inestables con riesgo sísmico
- Zonas reservadas por seguridad nacional
- Otra: Caballerizas

Caracterización del Medio Cultural

d) Demografía

Nivel de consolidación del área de influencia:

- Urbana
- Periférica
- Rural

Tamaño de la población:

- Entre 0 y 1.000 habitantes
- Entre 1.001 y 10.000 habitantes
- Entre 10.001 y 100.000 habitantes
- Más de 100.000 habitantes

Características étnicas de la Población:

- Mestizos
- Indígena
- Negros
- Otros

e) Infraestructura Social

Abastecimiento de agua:

- Agua potable
- Conexión domiciliaria
- Agua de lluvia
- Grifo público
- Servicio permanente
- Racionado
- Tanquero
- Acarreo manual
- Ninguno

Evacuación de aguas servidas

- Alcantarillado sanitario

- | | |
|-----------------------------|--|
| | <input type="checkbox"/> Alcantarillado pluvial |
| | <input type="checkbox"/> Fosas sépticas |
| | <input type="checkbox"/> Letrinas |
| | <input type="checkbox"/> Ninguno |
| Evacuación de aguas lluvias | <input type="checkbox"/> Alcantarillado Pluvial |
| | <input checked="" type="checkbox"/> Drenaje superficial |
| | <input type="checkbox"/> Ninguno |
| Desechos sólidos | <input checked="" type="checkbox"/> Barrido y recolección de desechos inorgánicos |
| | <input type="checkbox"/> Botadero a cielo abierto |
| | <input type="checkbox"/> Relleno sanitario |
| | <input checked="" type="checkbox"/> Otro: Incorporación de material vegetal al suelo |
| Electrificación | <input checked="" type="checkbox"/> Red energía eléctrica |
| | <input type="checkbox"/> Plantas eléctricas |
| | <input type="checkbox"/> Ninguno |
| Transporte público | <input checked="" type="checkbox"/> Servicio urbano |
| | <input type="checkbox"/> Servicio intercantonal |
| | <input type="checkbox"/> Rancheras |
| | <input type="checkbox"/> Canoa |
| | <input type="checkbox"/> Otro: |
| Vialidad y accesos | <input checked="" type="checkbox"/> Vías principales |
| | <input checked="" type="checkbox"/> Vías secundarias |
| | <input type="checkbox"/> Caminos vecinales |
| | <input checked="" type="checkbox"/> Vías urbanas |
| | <input type="checkbox"/> Otros: |

Telefonía

- Red domiciliaria
- Cabina pública
- Ninguno

f) Actividades socio-económicas

Aprovechamiento y uso de la tierra

- Residencial
- Comercial
- Recreacional
- Productivo
- Baldío
- Otro:

Tenencia de la tierra:

- Terrenos privados
- Terrenos comunales
- Terrenos municipales
- Terrenos estatales

g) Organización Social

- Primer grado
- Segundo grado
- Tercer grado

h) Aspectos Culturales

Lengua

- Castellano
- Nativa
- Otro: Quechua

Religión

- Católicos

- Evangélicos
- Otros:

Tradiciones

- ✓ Ancestrales
- ✓ Religiosas
- Populares
- Otros:

i) Medio Perceptual

Paisaje y Turismo

- ✓ Zonas con Valor Paisajístico
- Atractivo Turístico
- Recreacional
- Otro:

j) Riesgos Naturales e Inducidos

Peligro de Deslizamientos

- Inminente
- Latente
- ✓ Nulo

Peligro de Inundaciones

- Inminente
- Latente
- ✓ Nulo

Peligro de Terremotos

- Inminente
- Latente
- ✓ Nulo

Evaluación de los Impactos Ambientales

Objetivos de la E. I. A.

Los objetivos de esta Evaluación de Impacto Ambiental (EIA), se los resume de la siguiente manera:

- a. Establecer e identificar los impactos positivos y negativos del Proyecto, que repercuten en el ambiente físico y social.
- b. Emplear correctamente los parámetros de seguridad y bioseguridad para que en caso de existir impactos negativos, se los pueda mitigar sugiriendo clases de manejo de los desechos ambientales.

Para este propósito se utilizó la Matriz de Leopold (Ver TABLA 4-1) con 12 Acciones del Proyecto de Micología y 12 Elementos Ambientales agrupados en 6 componentes. Esta matriz arroja resultados cuali-cuantitativos, ya que es un método de identificación y valoración que se basa en la relación causa – efecto.

Las interacciones entre las acciones del Proyecto y el Medio Ambiente donde se implanta, constan en la cuadrícula con la diagonal, el número ubicado en la parte superior constituye la Magnitud del cambio que tiene asignado su signo, positivo si se van a verificar beneficios al ambiente, y negativo si se registran detrimentos. Estos valores son fijados considerando la incidencia de la acción propuesta al componente analizado, independientemente de su relación con el proyecto. En la parte inferior se ubica la Importancia de la acción propuesta frente al proyecto.

De acuerdo a la Agregación de Impactos se puede observar que este Proyecto es Ambientalmente Beneficioso puesto que, al no generar impactos negativos los componentes ambientales de la Matriz de Leopold (Tabla 14) determinan que es ambiental y económicamente positivo.

Tabla 14 MATRIZ DE LEOPOLD

COMPONENTES AMBIENTALES			ACCIONES DEL PROYECTO	FASE EXPERIMENTAL										AFECTACIONES POSITIVAS	AFECTACIONES NEGATIVAS	AGREGACIÓN DE IMPACTOS	
				Adaptación del Micelio	Evaluación del Material	Formulación de la Mezcla	Pesaje de Materiales	Tratamiento Térmico (A - B)	Elaboración de la Mezcla	Enfundado de Material	Inoculación de Micelio	Inducción ó Choque Térmico	Formaión Cuerpos Fructíferos				Fructificación
CAT.	COMP.	ELEMENTOS															
FÍSICO - QUÍMICO	TIERRA	Capa Orgánica					7	2								1	14
		Morfología															
		Erosión					7	1								1	7
	AGUA	Calidad															
		Caudal															
BOLÓGICOS	FLORA	Vegetación Terrestre					7	1								1	7
	FAUNA	Terrestre					4	1								1	4
		Avifauna															
SOCIO - ECONÓMICO	ACTORES	Pobladores Rurales															
		Empresarios															
	ESPACIOS	Agrícola		7												1	7
		Social		1													
AFECTACIONES POSITIVAS				1			4										39
AFECTACIONES NEGATIVAS																	39
AGREGACIÓN DE IMPACTOS				7			32									39	39

CONCLUSIÓN

Una vez identificado el proyecto y realizada la matriz de Leopold se concluye que el proyecto de tesis: ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES SUSTRATOS PARA LA PRODUCCIÓN DE SHIITAKE *Lentinus edodes* Sing. (Berg) EN YAHUARCOCHA, IMBABURA, no requiere de un Estudio de Impacto Ambiental puesto que según el Art. 23 de la Ley de Gestión Ambiental no se estiman los probables efectos sobre la población y el medio ambiente y no se identifican de las posibles alteraciones en las condiciones de tranquilidad pública, así como no se detectan las incidencias que la actividad o proyecto pueden acarrear sobre los elementos del patrimonio cultural, histórico o escénico de Yahuarcocha.

B. COSTOS FIJOS			74,84	
Renta de Instalaciones				10,00
Administración 5%				7,03
Asist. Técnica (\$10.0 por visita total 3)				4,30
Depreciación				31,02
Interés del Capital 6%				8,44
Reserva 10%				14,06
TOTAL			215,45	
COSTO POR FRASCO SEMILLA			1,72	

DEPRECIACIÓN					
<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Cabina aséptica	1	150,00	150,00	48	3,13
Perforadora	1	3,00	3,00	12	0,25
Olla de presión con medidor	2	55,00	110,00	24	4,58
Balanza gramera	1	10,50	10,50	12	0,88
Mesa	2	30,00	60,00	5	12,00
Manta (1,50*1,00)m	1	3,00	3,00	6	0,50
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Fosforera	1	0,35	0,35	2	0,18
Asa de siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Rejilla de madera	1	2,00	2,00	2	1,00
Escalpo	3	3,50	10,50	5	2,10
Incubadora cacera	5	5,00	25,00	5	5,00
				TOTAL	31,02

ANEXO IV TRATAMIENTO 1 (Aserrín de laurel + Vapor)

CONCEPTO	MANO DE OBRA			INSUMOS Y MATERIALES				EQUIPOS Y MAQUINARIA				TOTAL				
	# Jornal	C. Unit.	Subtotal	Producto	Cant.	Unid.	C. Unit.	Subtotal	Nombre	Cant.	C. Unit.		Subtotal			
A. COSTOS VARIABLES													135,96			
1. Evaluación del Material	1	7,00	7,00										7,00			
2. Formulación de la Mezcla	1	7,00	7,00										7,00			
3. Pesaje de Materiales	1	7,00	7,00	Aserrín	23,4	kg.	0,05	1,17	Romana				11,37			
				Salvado trigo	6	kg.	0,50	3,00	Guantes de goma							
				CaCO ₃	1,34	lb	0,15	0,20	Balanza granera							
4. Tratamiento térmico	1	7,00	7,00	Malla plástica	5	m	0,50	2,50	Canasto metálico				9,55			
				Cinta de amarre	1	m	0,05	0,05	Tanque metálico							
									Guantes de goma							
A. Pasteurización con Vapor	1	7,00	7,00	Se colocó en los contenedores (malla plástica) 1,5kg de la mezcla con 78% de aserrín, en total se pasteurizaron 20 unidades experimentales por un tiempo de 5 horas				Caldero + tapa					9,25			
				Quemador indust.						Depreciación						
				Regilla de madera												
				Termómetro												
				Regadera												
										Tanque de gas	1	2,25		2,25		
										Mesa						
										Rociador						
5. Enfriamiento de la Mezcla	1	7,00	7,00	Hipoclorito de Na	29	g	0,01	0,29	Mesa				7,37			
				Formol	10	ml	0,01	0,1	Rociador							
				Agua	1	lt	0,08	0,08								
6. Inoculación del Mucelito en el Sustrato	1	7,00	7,00	Aros tubo PVC	20	aros	0,02	0,40	Asa de Siembra				46,59			
				Cinta de amarre	1	m	0,05	0,05	Mechero de alcohol							
				Algodón	2	funda	1,00	2,00	Olla							
				H ₂ O ₂	2	ml	0,01	0,02	Termómetro							
				Agua	0,5	lt	0,08	0,04	Tanque de gas	1/8	2,25	0,28				
						Mucelito reproductor	20	bot	1,84	36,80						

DEPRECIACIÓN

<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Romana	1	2,50	2,50	3	0,83
Guantes de goma	1	0,90	0,90	2	0,45
Balanza granera	1	10,50	10,50	12	0,88
Canasto metálico	1	25,00	25,00	24	1,04
Tanque metálico	1	10,00	10,00	24	0,42
Caldero + tapa	1	50,00	50,00	48	1,04
Quemador industrial	1	25,00	25,00	48	0,52
Regilla de madera	1	2,50	2,50	2	1,25
Termómetro	1	12,00	12,00	2	6,00
Regadera	1	2,00	2,00	2	1,00
Mesa	1	30,00	30,00	5	6,00
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Asa de Siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Olla	1	2,00	2,00	24	0,08
Cuchilla	1	1,00	1,00	2	0,50
				TOTAL	21,42

ANEXO V

TRATAMIENTO 2 (Aserrín de laurel +Agua Caliente)

CONCEPTO	MANO DE OBRA			INSUMOS Y MATERIALES				EQUIPOS Y MAQUINARIA				TOTAL	
	# Jornal	C. Unit.	Subtotal	Producto	Cant.	Unid.	C. Unit.	Subtotal	Nombre	Cant.	C. Unit.		Subtotal
A. COSTOS VARIABLES													136,01
1. Evaluación del Material	1	7,00	7,00										7,00
2. Formulación de la Mezcla	1	7,00	7,00										7,00
3. Pasaje de Materiales	1	7,00	7,00	Aserrín	23,4	kg.	0,05	1,17	Romana				11,37
				Salvado trigo	6	kg.	0,50	3,00	Guantes de goma		Depreciación		
				CaCO ₃	1,34	lb	0,15	0,20	Balanza gramera		Depreciación		
				Fundas (25*50)cm	20	Unid.	0,01	0,20	Guantes de goma		Depreciación		
4. Tratamiento térmico				Aros tubo PVC	20	aros	0,02	0,40				9,60	
				Algodón	2	Unid.	1,00	2,00					
B. Pasterización con Agua Caliente	1	7,00	7,00	Remojado el mazo de mazo por 2 días se lo mezcló con los suplementos, se enfundó en contenedores plásticos y se metió en base de la funda un aro de tubo PVC tapándolo con algodón. En total se pasterizaron 20 bloques por 8 horas				Quemador indust.		Depreciación		9,25	
				Tanque metálico									
				Termómetro									
				Regadera									
				Tanque de gas	1	2,25	2,25						
				Mesa									
				Rociador									
5. Enfriamiento de la Mezcla	1	7,00	7,00	Hipoclorito de Na	29	g	0,01	0,29	Mesa		Depreciación	7,37	
				Fornol	10	ml	0,01	0,1					
				Agua	1	lt	0,08	0,08					
6. Inoculación del Micelio en el Sustrato	1	7,00	7,00	Aros tubo PVC	20	aros	0,02	0,40	Asa de Siembra		Depreciación	46,59	
				Cinta de amarre	1	m	0,05	0,05	Mechero de alcohol				
				Algodón	2	funda	1,00	2,00	Olla				
				H ₂ O ₂	2	ml	0,01	0,02	Termómetro				
				Agua	0,5	lt	0,08	0,04	Tanque de gas	1/8			2,25
Micelio reproductor	20	bot	1,84	36,80									

DEPRECIACIÓN

<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Romana	1	2,50	2,50	3	0,83
Guantes de goma	1	0,90	0,90	2	0,45
Balanza gramera	1	10,50	10,50	12	0,88
Quemador industrial	1	25,00	25,00	48	0,52
Tanque metálico	2	10,00	20,00	24	0,83
Termómetro	1	12,00	12,00	2	6,00
Regadera	1	2,00	2,00	2	1,00
Mesa	1	30,00	30,00	5	6,00
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Asa de siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Olla	1	2,00	2,00	24	0,08
Cuchilla	1	1,00	1,00	2	0,50
				TOTAL	18,50

ANEXO VI TRATAMIENTO 3 (Marlo molido de maíz + Vapor)

CONCEPTO	MANO DE OBRA			INSUMOS Y MATERIALES					EQUIPOS Y MAQUINARIA			TOTAL											
	# Jornal	C. Unit.	Subtotal	Producto	Cant.	Unid.	C. Unit.	Subtotal	Nombre	Cant.	C. Unit.		Subtotal										
A. COSTOS VARIABLES													141,81										
1. Evaluación del Material	1	7,00	7,00										7,00										
2. Formulación de la Mezcla	1	7,00	7,00										7,00										
3. Pesaje de Materiales	1	7,00	7,00	Marlo de maíz	23,4	kg.	0,30	7,02	Romana				17,22										
				Salvado trigo	6	kg.	0,50	3,00	Guantes de goma														
				CaCO ₃	1,34	lb	0,15	0,20	Balanza gramera														
4. Tratamiento térmico	1	7,00	7,00	Malla plástica	5	m	0,50	2,50	Canasto metálico				9,55										
				Cinta de amarre	1	m	0,05	0,05	Tanque metálico														
A. Pasteurización con Vapor	1	7,00	7,00	Se colocó en los contenedores (malla plástica) 1,5kg de la mezcla con 78% de asenín, en total se pasteurizaron 20 unidades experimentales por un tiempo de 5 horas					Caldero + tapa					9,25									
									Quemador indust.														
									Regilla de madera						Depreciación								
									Termómetro														
									Regadera														
									Tanque de gas	1	2,25	2,25											
									Mesa						Depreciación								
									Rodador														
									5. Enfriamiento de la Mezcla	1	7,00	7,00	Hipoclororito de Na		29	g	0,01	0,29	Mesa				7,37
													Fornol		10	ml	0,01	0,1	Rodador				
Agua	1	lt	0,08	0,08																			
Aros tubo PVC	20	aros	0,02	0,40	Asa de Siembra																		
6. Inoculación del Micelio en el Sustrato	1	7,00	7,00	Cinta de amarre	1	m	0,05	0,05	Mechero de alcohol				46,59										
				Algodón	2	funda	1,00	2,00	Olla														
				H ₂ O ₂	2	ml	0,01	0,02	Termómetro														
				Agua	0,5	lt	0,08	0,04	Tanque de gas	1/8	2,25	0,28											
				Micelio reproductor	20	bot	1,84	36,80															

7. Incubación	1	7,00	7,00	Papel aluminio	2	rollo	3,50	7,00	Mesa	Depreciación	14,33		
				Hipoclororito de Na	29	ml	0,01	0,29					
				Agua	0,5	lt	0,08	0,04					
8. Inducción ó Choque Técnico	1	7,00	7,00						Tanque metálico	Depreciación	7,00		
9. Fructificación	1	7,00	7,00								7,00		
10. Cosecha	1	7,00	7,00	Bandeja	1	Unid.	1,5	1,5	Cuchilla	1	1,00	1,00	9,50

B. COSTOS FIJOS					65,49		
Renta de Instalaciones						10,00	
Administración 5%						7,09	
Asist. Técnica (\$10.0 por visita total 3)						4,29	
Depreciación						21,42	
Interés del Capital 6%						8,51	
Reserva 10%						14,18	
TOTAL					207,30		

DEPRECIACIÓN

<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Romana	1	2,50	2,50	3	0,83
Guañtes de goma	1	0,90	0,90	2	0,45
Balanza gramera	1	10,50	10,50	12	0,88
Canasto metálico	1	25,00	25,00	24	1,04
Tanque metálico	1	10,00	10,00	24	0,42
Caldero + tapa	1	50,00	50,00	48	1,04
Quemador industrial	1	25,00	25,00	48	0,52
Regilla de madera	1	2,50	2,50	2	1,25
Termómetro	1	12,00	12,00	2	6,00
Regadera	1	2,00	2,00	2	1,00
Mesa	1	30,00	30,00	5	6,00
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Asa de Siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Olla	1	2,00	2,00	24	0,08
Cuchilla	1	1,00	1,00	2	0,50
				TOTAL	21,42

ANEXO VII

TRATAMIENTO 4 (Marlo molido de maíz + Agua Caliente)

CONCEPTO	MANO DE OBRA			INSUMOS Y MATERIALES			EQUIPOS Y MAQUINARIA			TOTAL				
	# Jornal	C. Unit.	Subtotal	Producto	Cant.	Unid.	C. Unit.	Subtotal	Nombre		Cant.	C. Unit.	Subtotal	
A. COSTOS VARIABLES														
1. Evaluación del Material	1	7,00	7,00									7,00		
2. Formulación de la Mezcla	1	7,00	7,00									7,00		
3. Pesaje de Materiales	1	7,00	7,00	Maíz de maíz	23,4	kg.	0,30	7,02	Romana					
				Salvado trigo	6	kg.	0,50	3,00	Guantes de goma					
				CaCO ₃	1,34	lb	0,15	0,20	Balanza granera					
4. Tratamiento térmico	1	7,00	7,00	Fundas (25*50)cm	20	Unid.	0,01	0,20	Guantes de goma					
				Aros tubo PVC	20	aros	0,02	0,40						
				Algodón	2	Unid.	1,00	2,00						
B. Pasterización con Agua Caliente	1	7,00	7,00	Remojado el marlo de maíz por 2 días se lo mezcló con los suplementos, se enfundó en contenedores plásticos y se metió en base de la funda un aro de tubo PVC tapándolo con algodón. En total se pasterizaron 20 bloques por 8 horas				Quemador indust.						
				Tanque metálico										
				Termómetro										
				Regadera										
				Tanque de gas	1	2,25	2,25							
5. Enfriamiento de la Mezcla	1	7,00	7,00	Hipoclorito de Na	29	g	0,01	0,29	Mesa					
				Formól	10	ml	0,01	0,1	Rociador					
				Agua	1	lt	0,08	0,08						
6. Inoculación del Micelio en el Sustrato	1	7,00	7,00	Aros tubo PVC	20	aros	0,02	0,40	Asa de Siembra					
				Cinta de amarre	1	m	0,05	0,05	Mechero de alcohol					
				Algodón	2	funda	1,00	2,00	Olla					
				H ₂ O ₂	2	ml	0,01	0,02	Termómetro					
				Agua	0,5	lt	0,08	0,04	Tanque de gas	1/8	2,25	0,28		
				Micelio reproductor	20	bot	1,84	36,80						

DEPRECIACIÓN

<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Romana	1	2,50	2,50	3	0,83
Guantes de goma	1	0,90	0,90	2	0,45
Balanza gramera	1	10,50	10,50	12	0,88
Quemador industrial	1	25,00	25,00	48	0,52
Tanque metálico	2	10,00	20,00	24	0,83
Ternómetro	1	12,00	12,00	2	6,00
Regadera	1	2,00	2,00	2	1,00
Mesa	1	30,00	30,00	5	6,00
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Asa de siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Olla	1	2,00	2,00	24	0,08
Cuchilla	1	1,00	1,00	2	0,50
				TOTAL	18,50

7. Incubación	1	7,00	7,00	Papel aluminio	2	rollo	3,50	7,00	Mesa	Depreciación	14,33		
				Hipoclorito de Na	29	ml	0,01	0,29					
				-Agua	0,5	lt	0,08	0,04					
8. Inducción ó Choque Térmico	1	7,00	7,00						Tanque metálico	Depreciación	7,00		
9. Fructificación	1	7,00	7,00								7,00		
10. Cosecha	1	7,00	7,00	Bandeja	1	Unid.	1,5	1,5	Cuchilla	1	1,00	1,00	9,50

B. COSTOS FIJOS						66,47		
Renta de Instalaciones							10,00	
Administración 5%							7,32	
Asist. Técnica (\$10.0 por visita total 3)							4,29	
Depreciación							21,42	
Interés del Capital 6%							8,79	
Reserva 10%							14,65	
TOTAL						212,96		

DEPRECIACIÓN

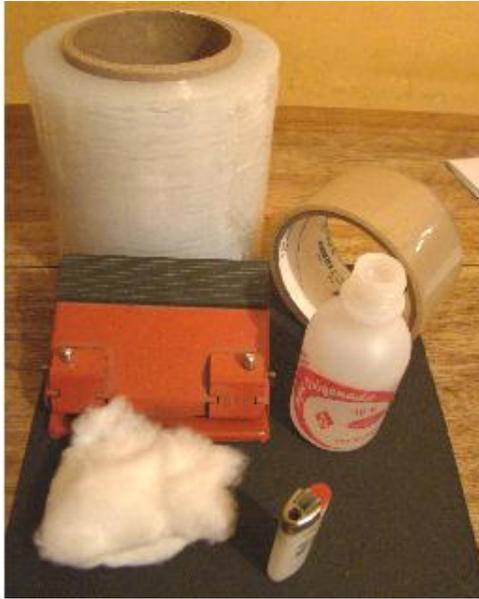
<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Romana	1	2,50	2,50	3	0,83
Guantes de goma	1	0,90	0,90	2	0,45
Balanza gramera	1	10,50	10,50	12	0,88
Canasto metálico	1	25,00	25,00	24	1,04
Tanque metálico	1	10,00	10,00	24	0,42
Caldero + tapa	1	50,00	50,00	48	1,04
Quemador industrial	1	25,00	25,00	48	0,52
Regilla de madera	1	2,50	2,50	2	1,25
Termómetro	1	12,00	12,00	2	6,00
Regadera	1	2,00	2,00	2	1,00
Mesa	1	30,00	30,00	5	6,00
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Asa de Siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Olla	1	2,00	2,00	24	0,08
Cuchilla	1	1,00	1,00	2	0,50
				TOTAL	21,42

DEPRECIACIÓN

<i>Equipo</i>	<i>Cantidad</i>	<i>C. Unit.</i>	<i>C. Total</i>	<i>Ciclo equipo</i>	<i>Depre. Mensual</i>
Romana	1	2,50	2,50	3	0,83
Guañtes de goma	1	0,90	0,90	2	0,45
Balanza gramera	1	10,50	10,50	12	0,88
Quemador industrial	1	25,00	25,00	48	0,52
Tanque metálico	2	10,00	20,00	24	0,83
Termómetro	1	12,00	12,00	2	6,00
Regadera	1	2,00	2,00	2	1,00
Mesa	1	30,00	30,00	5	6,00
Rociador	1	1,20	1,20	2	0,60
Asa de siembra	1	3,00	3,00	5	0,60
Mechero de alcohol	1	5,00	5,00	24	0,21
Olla	1	2,00	2,00	24	0,08
Cuchilla	1	1,00	1,00	2	0,50
				TOTAL	18,50

ANEXO X

Elaboración Del Micelio Reproductor

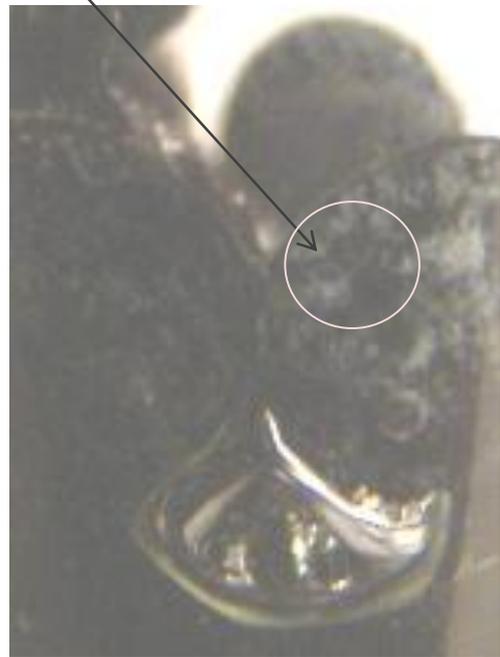
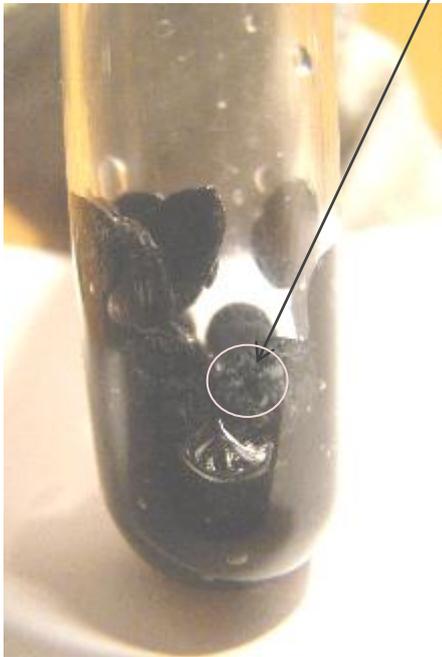


Materiales utilizados

Incubación de Discos en cartulina en Tubo de Ensayo



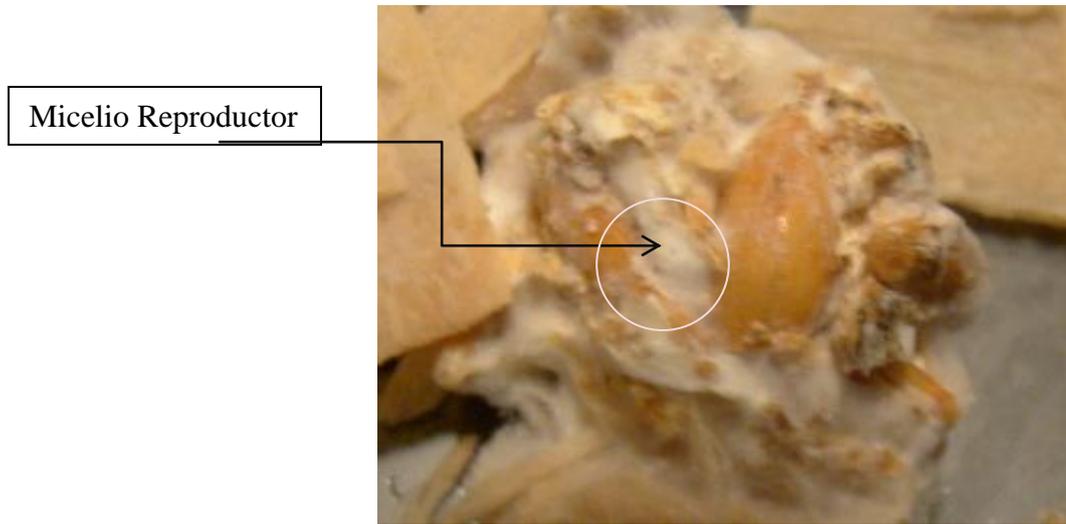
Fructificación de Esporas en Discos de Cartulina



Propagación del
Micelio en Cajas de
Petri



Acercamiento de Micelio Reproductor Invadiendo Caja de Petri



Multiplicación e Incubación del Micelio en Sustrato a Base de Aserrín

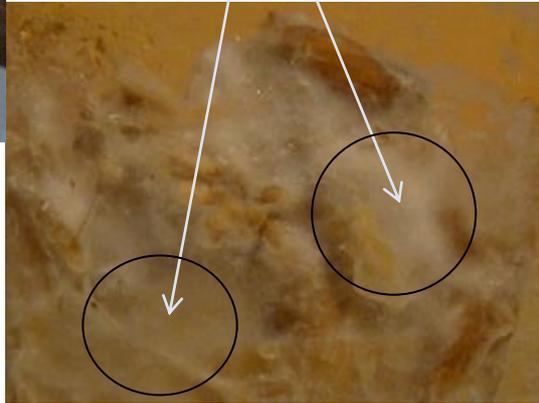
Multiplicación e Incubación del Micelio en Sustrato a Base de Granos





Spawn run en Sustrato a base de Granos

Degradación de Madera en el Sustrato a base de Aserrín



Culminación del Proceso de Elaboración de Semilla ó Micelio Reprodutor



Semilla en Grano

Semilla en Aserrín



ANEXO XI FASE DE INVESTIGACIÓN

Material Experimental



Aserrín de Laurel

Marlo molido de maíz



Tamo de avena molido

Afrecho de Cebada
(Fuente de nitrógeno)



Insumos y Equipo de Trabajo



Siembra de Bloques Experimentales

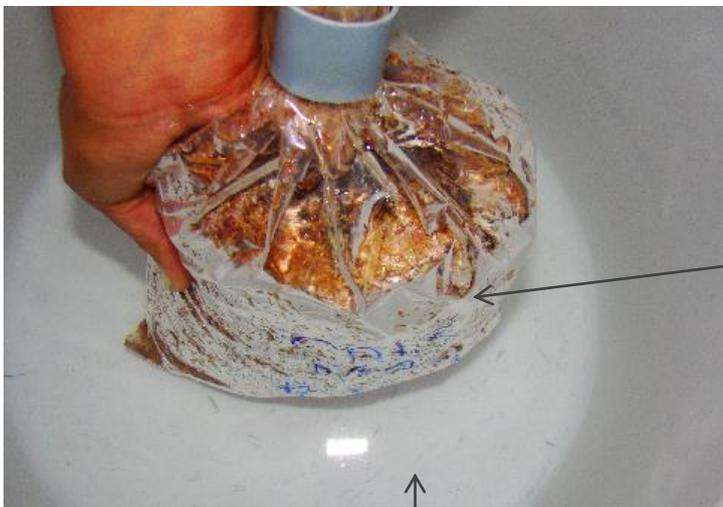


Incubación del Bloque experimental

Colonización
del Micelio por
el Sustrato



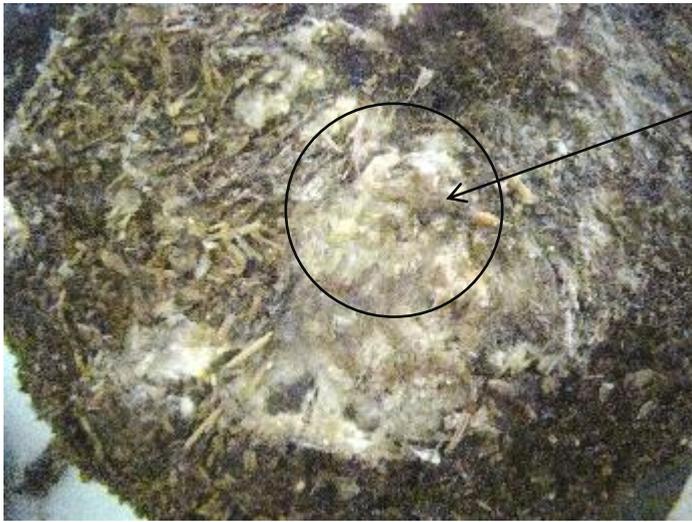
Inducción ó Choque Térmico



Bloque invadido
completamente
por micelio del
hongo shiitake

Agua a 12 °C

Formación de Cuerpos fructíferos



Cuerpo Fructífero
en formación

Fructificación



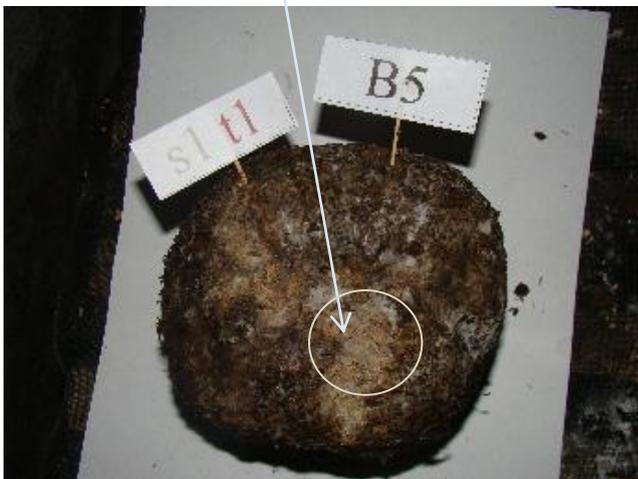
Cuerpo fructífero
en desarrollo

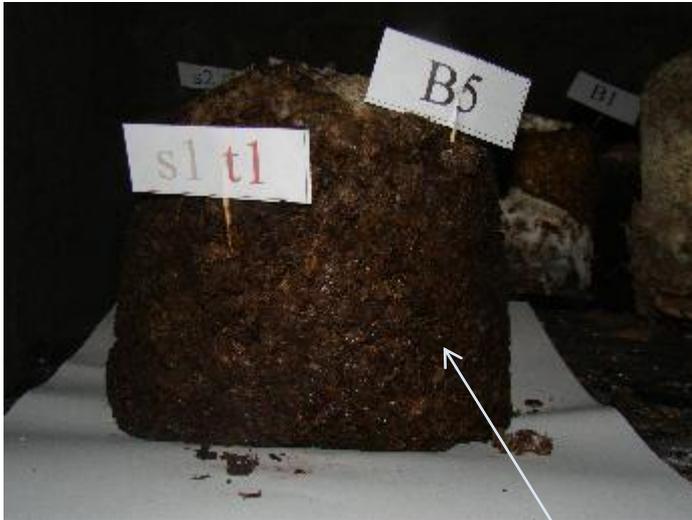
ANEXO XII **TRATAMIENTO 1** (Aserrín de laurel + Vapor)



Formación de
Cuerpos Fructíferos

Presencia de hongos
competidores (Agentes
contaminantes inhibiendo
formación de cuerpos
fructíferos





Bloques 100% contaminados



ANEXO XIII **TRATAMIENTO 2 (Aserrín de laurel + Agua Caliente)**



Tercer día después de Choque Térmico



Material Lignocelulósico del aserrín de laurel degradado

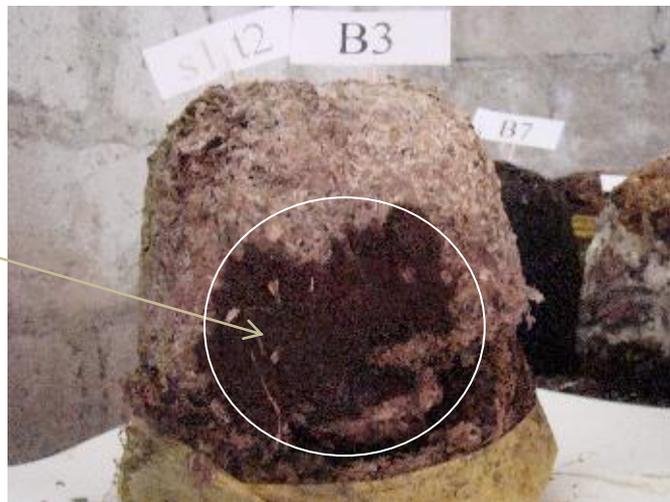


Quinto día, formando cuerpos fructíferos



Segundo día de formación de cuerpos fructíferos, presencia de doratomyces

Tercer día en proceso formación de cuerpos fructíferos, el hongo competidor ha colonizado el sustrato matando el micelio del hongo shiitake

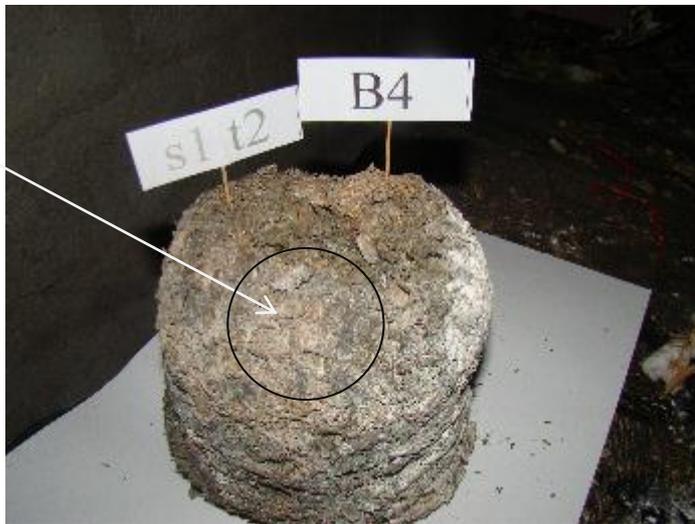


Especie de doratomyces en fase de esporulación al medio ambiente



Bloque incubado y en formación de cuerpos fructíferos

Bloque contaminado en un 40% al tercer día de formación de cuerpos fructíferos



Bloque 100% contaminado al cuarto día después de la inducción

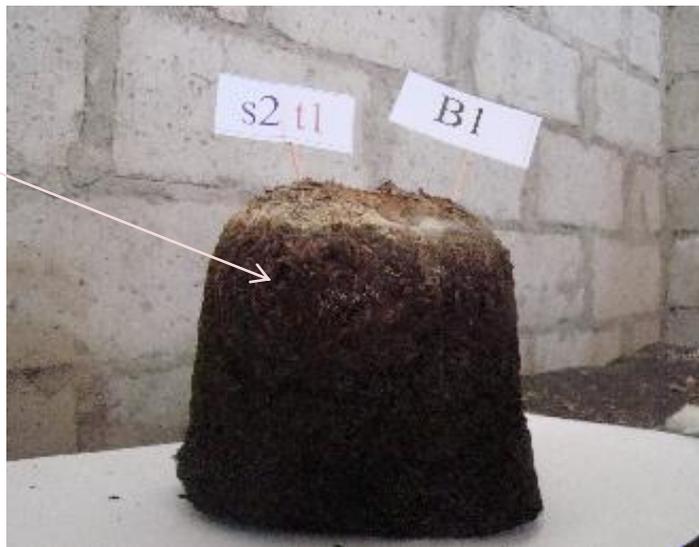
ANEXO XIV TRATAMIENTO 3 (Marlo Molido de maíz + Vapor)



Segundo día de formación de cuerpos fructíferos

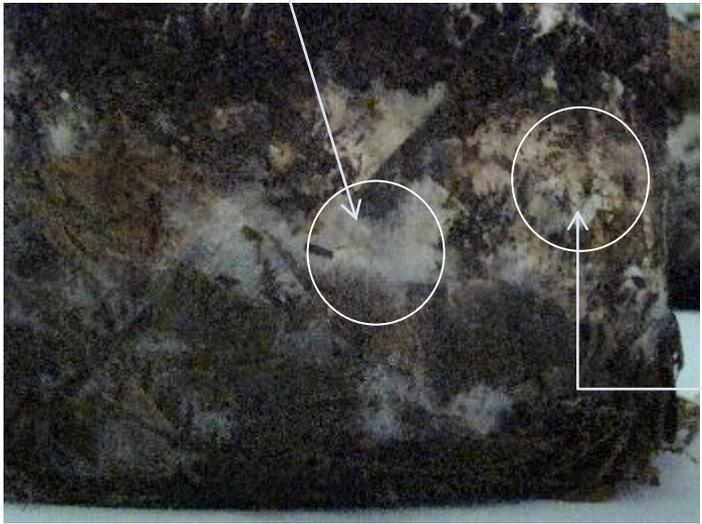
Área contaminada por Penicillium y ácaros

Bloque totalmente inundado de agentes contaminantes



Contaminación inhibe la formación de cuerpos fructíferos en el bloque (Tercer día)

Bloque formando
cuerpos fructíferos



Presencia de Agentes
contaminantes



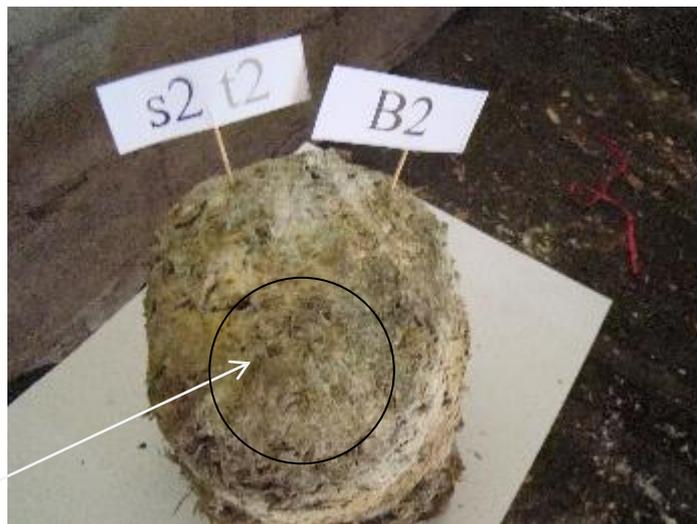
Bloque inactivado
por microorganismos
patogénicos

ANEXO XV

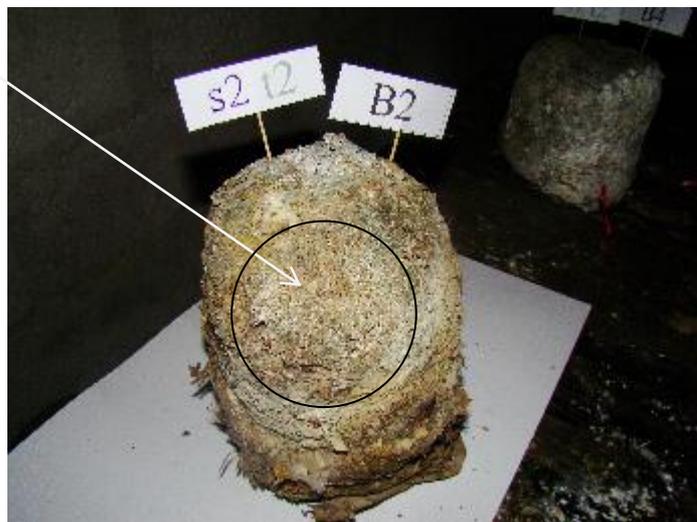
TRATAMIENTO 4 (Marlo de maíz + Agua Caliente)



Quinto día,
contaminación al
85% del bloque



Sexto día, bloque
inhibido por
contaminantes al
100%



ANEXO XVI TRATAMIENTO 5 (Tamo de avena + Vapor)



Contaminación superficial al primer día después de la inducción



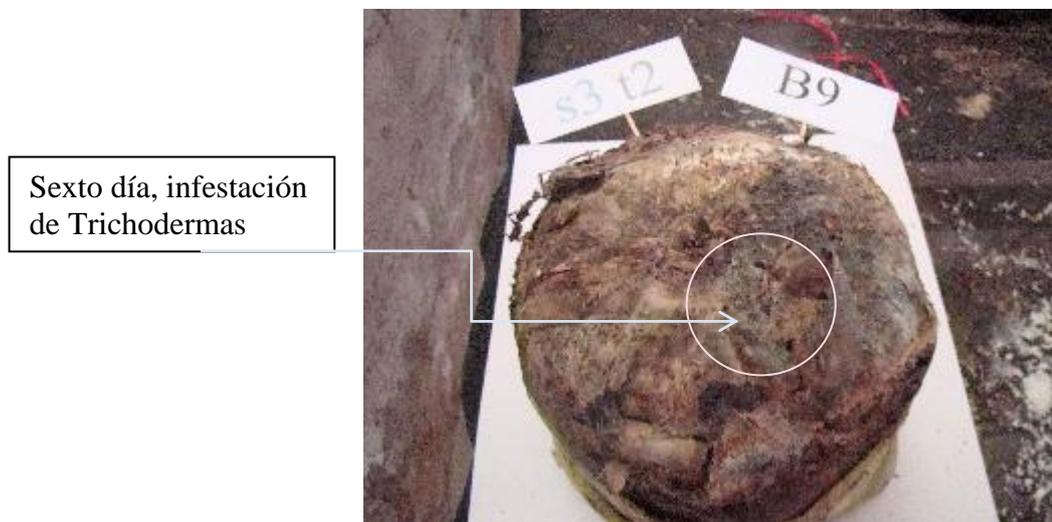
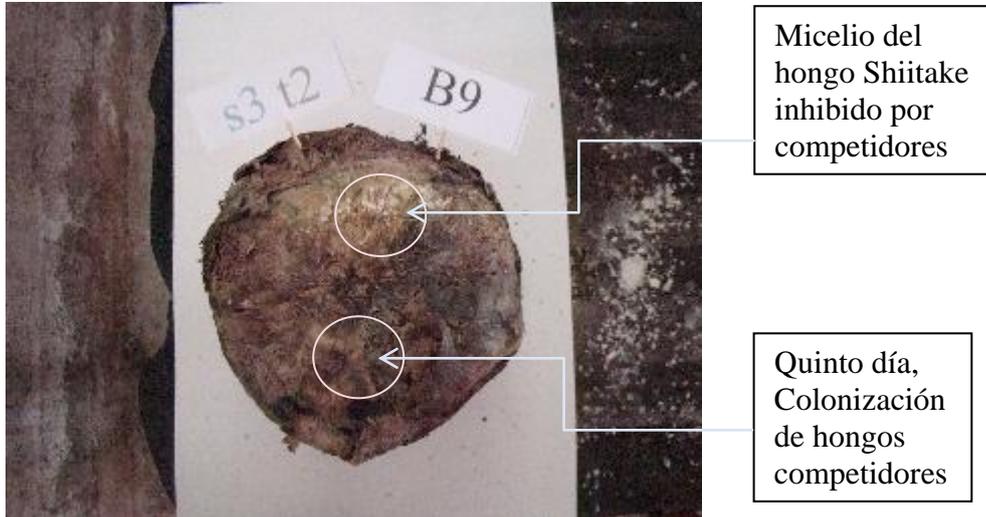
Bloque formando cuerpos fructíferos en presencia de hongos competidores

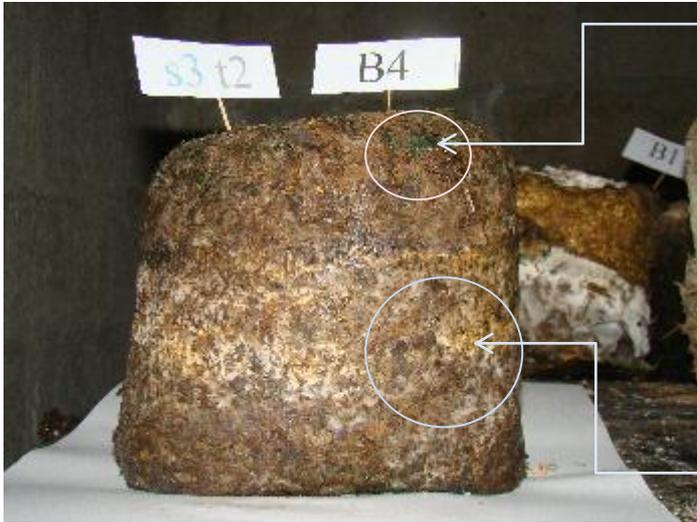
Cuerpo fructífero

Hongos competidores



ANEXO XVII **TRATAMIENTO 6** (Tamo de avena + Agua Caliente)





Contaminación
activada por
Trichodermas

Cuerpo Fructífero
muerto por muerte de
micelio reproductor



Infestación de
Trichodermas en
el bloque