

Evaluación de la producción del hongo *Lentinula edodes* Pegler en bloques sintéticos a base de residuos agroindustriales¹

Production evaluation of *Lentinula edodes* Pegler fungi in
synthetic logs based on agricultural wastes

Valeska Villegas Escobar², Ana Milena Pérez³ y Clara Arredondo⁴

Recepción: 07–may–2007/Modificación: 01–oct–2007/Aceptación: 06–nov–2007
Se aceptan comentarios y/o discusiones al artículo

Resumen

El cultivo de *Lentinula edodes*, hongo comestible, medicinal y comúnmente llamado shiitake, se evaluó en bloques sintéticos con el fin de aprovechar diferentes residuos agroindustriales no estudiados hasta el momento cuantitativamente, y que representan un problema ambiental para algunas empresas. Se realizaron 55 diferentes combinaciones de sustratos utilizando dos residuos agroindustriales (cascarilla de cacao y motosa de algodón), un suplemento maderable (viruta de roble), una fuente de nitrógeno (salvado de trigo), un controlador de pH (CaCO_3) y un estimulador de crecimiento (CaSO_4). Se encontró que la formulación del sustrato tiene un gran efecto sobre el tiempo

¹ GIPAB: Grupo de Investigación en Procesos Ambientales y Biotecnológicos. Departamento de Ingeniería de Procesos. Universidad EAFIT

² MRes. en Biotecnología Vegetal, vvilleg2@eafit.edu.co, docente, Universidad EAFIT, Medellín–Colombia.

³ Ingeniera de Procesos, aperezma@eafit.edu.co, investigadora, Universidad EAFIT, Medellín–Colombia.

⁴ Ingeniera de Procesos, carredon@eafit.edu.co, investigadora, Universidad EAFIT, Medellín–Colombia.

de colonización del bloque ($P < 0,05$), siendo la viruta de roble un elemento esencial para la reducción del tiempo de colonización. Adicionalmente, se halló que la cascarilla de cacao no es un buen suplemento para la producción del macromiceto. Los tratamientos que proporcionaron mejores condiciones para la formación de cuerpos fructíferos contenían 75 % de viruta de roble en combinación con salvado de trigo (20 – 25 %) o motosa de algodón (25 %). Dependiendo del tratamiento evaluado, se obtuvieron eficiencias biológicas entre un 5,3 a un 21,5 %, tamaños de píleo entre 4,7 y 9,3 cm para la primera cosecha, precocidades de colonización entre 69 y 125 días, con relaciones C/N superiores a 110 y calidades nutricionales superiores a las reportadas por otros investigadores.

Palabras claves: *Lentinula edodes*, shiitake, hongos comestibles, residuos agroindustriales.

Abstract

Production of *Lentinula edodes*, medicinal and gourmet mushroom commonly known as shiitake, was evaluated in synthetic blocks with the aim of using agroindustrial wastes not yet studied quantitatively and environmentally problematical for many industries. Fifty five different combinations of substrates were analyzed using two agroindustrial wastes (cocoa husk and cotton waste), one wood supplement (oak), one nitrogen source (wheat bran), one pH controller (CaCO_3), and one growth stimulator (CaSO_4). It was found that the substrate formulation has a considerable effect upon the colonization time of the block ($P < 0.05$), being the oak supplement essential for the time colonization reduction. Furthermore, the cocoa husk was not a good waste for shiitake production. The treatments that gave the best conditions for shiitake culture contained 75% of oak, and 20 to 25% of wheat bran or 25% of cotton waste. Depending on the treatment evaluated, the biological efficiency achieved were between 5.3 to 21.5%, the pileo size from 4.7 to 9.3 cm for the first flush and the colonization precocity between 69 to 125 days with C/N relationship superior to 110 and with better nutritional value to those reported by other researchers.

Key words: *Lentinula edodes*, shiitake, agroindustrial wastes, medicinal and gourmet mushrooms.

1 Introducción

El hongo *Lentinula edodes* Pegler, es un hongo degradador, que crece en sustratos muertos, o en desechos forestales. Su cultivo se puede realizar en bloques

naturales (troncos de maderas duras) o sintéticos (preparación de combinación de sustratos). El cultivo en bloques naturales tiene la ventaja de ser de bajo costo de implementación, salvo por la demanda de maquinaria, la dependencia estacional, y los largos períodos de cosecha requeridos [1, 2].

La mayoría de los estudios realizados con *L. edodes* hoy en día se han realizado en bloques sintéticos debido a sus diversas ventajas (mayores productividades, menores tiempos de cosecha). Estos apuntan hacia la evaluación de medios de cultivo y sustratos que proporcionen las mejores condiciones productivas y con altas calidades nutricionales [3]. Los métodos modernos usan un sustrato basado en madera dura, arreglado con un suplemento rico en nitrógeno [4].

Fung *et al.*, 2003 [5] y Jaramillo y Rodríguez, 2001 [6] han realizado estudios en Colombia con el objetivo de evaluar la obtención de cuerpos fructíferos de shiitake en bloques sintéticos compuestos por algunos residuos agroindustriales (cascarilla de algodón, bagazo de caña de azúcar, cisco de café y fibrilla de coco) y residuos de madera (aserrín de cedro, de eucalipto, de pino y de roble). Sin embargo, para generar procesos agroindustriales más productivos es necesario optimizar los diferentes componentes del bloque sintético. Recientemente Gaitan *et al.*, 2006 [7], evaluaron la producción del hongo shiitake por medio de una fermentación sólida de ciruela pasa, cebada y salvado de trigo; encontrando que la ciruela pasa genera menores tiempos de formación de primordios (primer estadio de desarrollo del hongo) (28 días), altas eficiencias biológicas (93,25 %) y rendimientos (37,46 %). Philippoussis *et al.*, 2003 [8], seleccionaron dos variedades de *L. edodes* (S4080 y SIEF0231) y las cultivaron en aserrín de roble (OS), salvado de trigo (WS) y granos de maíz (CC). Sus resultados demuestran que los medios OS y WS mostraron una rápida colonización del micelio para las dos variedades del hongo. Los primordios aparecieron entre 4–5 días después de someter a los sustratos a un choque térmico (cambio de temperatura para inducir formación de primordios); obteniéndose un tiempo de fructificación de 58 días en WS y 62 días en CC. Con el sustrato WS se obtuvo la mayor eficiencia biológica (54,17 %), presentando tiempos más cortos de cultivo a través de las diferentes cosechas.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento del hongo *L. edodes* en diferentes combinaciones de sustratos entre los cuales se encuentran algunos residuos estudiados y publicados como lo son la motosa de algodón

[5] y algunos desechos con estudios preliminares, mas no publicados, como la cáscara de la semilla de cacao. Todo esto con el fin de evaluar la producción de shiitake en sustratos a base de residuos agroindustriales y evaluar la utilidad de los sustratos generados para posterior alimentación animal.

2 Materiales y métodos

2.1 Microorganismo

La cepa jumbo de *L. edodes* Pegler, suministrada por la colección de Fungi Perfecti® LLC de Estados Unidos se conservó a temperatura ambiente en aceite mineral. La cepa fue repicada en agar extracto de malta (MA) (Oxoid) a pH 5,5 y se conservó a temperatura ambiente por 15 días.

2.2 Condiciones de inoculación

La inoculación de la semilla (micelio en cultivo sólido) de *L. edodes* se realizó por la técnica de inoculación líquida ya que se logra aumentar la velocidad de colonización, la pureza de la semilla y es de más fácil manipulación en comparación con la inoculación sólida [4, 9]. El medio de cultivo para la fermentación contenía 40 g de extracto de malta (Oxoid), 2 g de extracto de levadura (Oxoid), 1 g de sulfato de calcio, y 3 g de aserrín de eucalipto en 1000 mL de agua [4]. La fermentación se llevó a cabo en erlenmeyers de 500 mL con 200 mL de medio de cultivo, se inocularon 2 cuadrantes de 1 cm² del micelio de 15 días de cultivado en agar malta levadura, MYA, (pH 5,0 y 0,3 % aserrín de eucalipto) [10], se agitó a 100 rpm por 72 horas en un agitador orbital.

La “semilla” se preparó con una combinación de 80 % semilla de trigo–20 % viruta de eucalipto [10] con una humedad final del $50 \pm 2\%$. Posteriormente fue esterilizada por 20 minutos a 121°C y 15 psig. La mezcla fue inoculada con micelio líquido de *L. edodes* según la relación de 250 gr “semilla” por 15 mL inóculo [4, 11]. La incubación se realizó por 15 días en completa oscuridad a 25°C.

2.3 Obtención de cuerpos fructíferos

Los bloques sintéticos fueron utilizados para el cultivo de *L. edodes*, ya que brindan mayores beneficios productivos y reducción de tiempos de cosecha en comparación con los cultivos tradicionales en bloques naturales. Los sustratos utilizados fueron: motosa de algodón y cascarilla de cacao como residuos agroindustriales; viruta y aserrín de roble como suplemento maderable; salvado de trigo como fuente de nitrógeno; CaCO_3 como regulador de pH y CaSO_4 como estimulador de crecimiento [12]. La motosa de algodón, la cascarilla de cacao, y el roble se variaron en un 0, 25, 50 y 75%; el salvado de trigo en un 0, 20 y 25%, y el CaSO_4 y CaCO_3 en un 0, 2,5 y 5% en peso seco. El total de experimentos realizados fueron 55 combinaciones diferentes y cada uno de ellos se realizó por quintuplicado. Cada bloque contenían 2 kg con una humedad del $50 \pm 3\%$ y fueron empacados en bolsas de polipropileno de calibre 2 plg.

Todos los bloques fueron esterilizados a 121°C por 3 horas a 15 psig y posteriormente inoculados con $6 \pm 1\%$ de “semilla” sólida de 15 días de maduración. Las bolsas fueron selladas con calor y posteriormente trasladadas al cuarto de incubación donde permanecieron por 66 días aproximadamente a una temperatura entre $23 \pm 2^\circ\text{C}$, una humedad relativa de $70 \pm 5\%$ bajo condiciones de oscuridad parcial [13]. Una vez el micelio formó el micoderma café (coloración café rojiza) los bloques fueron despojados de las bolsas y trasladados al cuarto de fructificación con una temperatura de $19 \pm 2^\circ\text{C}$, a una humedad relativa de $80 \pm 5\%$, y con una iluminación natural de 8 horas diarias y 16 horas de oscuridad. La humedad relativa se mantuvo realizando aspersiones de agua dos veces al día por 30 minutos. La ventilación del cuarto de fructificación se realizó con ventiladores encendidos durante día y noche.

Las variables cuantitativas determinadas fueron el tiempo de colonización, la precocidad de colonización, el rendimiento, la eficiencia biológica (EB), y el tamaño del píleo. El tiempo de colonización se define como el tiempo necesario para que el micelio colonice todo el sustrato, y la precocidad de colonización como el tiempo necesario desde la inoculación de la “semilla” hasta la obtención de los primeros primordios. Para determinar la eficiencia biológica y el tamaño del píleo, los hongos fueron cosechados después de observar que la lámina (himeneo) estaba expuesta y el carpóforo estaba completamente

extendido. Estos fueron pesados y medidos (carpóforo). La eficiencia biológica se determinó mediante la ecuación

$$\%EB = \frac{\text{Kg de hongos frescos}}{\text{Kg de sustrato seco}^*} \times 100 \quad [4].$$

* Los kg de sustrato seco corresponden al peso total del bloque sintético seco.

2.4 Análisis bromatológicos

Los análisis bromatológicos se realizaron para determinar la calidad nutricional de los diferentes sustratos individuales (cascarilla de cacao, motosa de algodón, viruta de roble, salvado de trigo), del sustrato de menor tiempo en el desarrollo del cuerpo fructífero, y de los hongos cosechados. Los parámetros evaluados fueron: % Calcio (Ca) (espectrofotometría A.A.), % Cenizas (Cen.) (Incineración directa), % extracto etéreo (EE) (extracción Soxhlet con inmersión), % Fibra Cruda (FC) (Weende), % Fibra Detergente Ácido (FDA) (Van Soest), Fibra en Detergente Neutro (FDN) (Van Soest), % Fósforo (P) (espectrofotometría U.V.), % Humedad (Hum.) (Termogravimétrico por secado), % lignina (Van Soest), % Materia Seca (MS) (Termogravimétrico por secado), % Proteínas (Pr) (Kjedahl).

La relación carbono nitrógeno C/N se calculó según la ecuación

$$C/N = \frac{\sum (\text{Pr} + \text{FDN} + \text{FDA} + \text{Lignina} + \text{EE}) \times 1,724}{\text{Pr} \times 6,25} \quad [14].$$

2.5 Análisis estadístico y diseño de experimentos

Para el tiempo de colonización del sustrato se realizó un análisis unifactorial de varianza (ANOVA) con un 95 % de confianza en Startgraphics Plus 5.0. El factor de estudio fue el tipo de formulación, la variable de respuesta fue el tiempo de colonización del sustrato, con 55 niveles (tabla 1) por quintuplicado. Adicionalmente se analizaron las posibles interacciones entre las diferentes variables involucradas en la formulación de los bloques (cantidades de los residuos estudiados, salvado de trigo, CaSO_4 y CaCO_3) por medio de regresiones múltiples.

Tabla 1: contenido de los diferentes tratamientos en porcentajes

| Tratamiento | Porcentajes % | | | | | | C/N |
|-------------|---------------|-------------------|---------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------|
| | Roble | Motosa de algodón | Cascarilla de cacao | Salvado de trigo | CaCO ₃ | CaSO ₄ | |
| 1 | 75 | 25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 439,5 |
| 2 | 25 | 50 | 0 | 25 | 0 | 0 | 82,3 |
| 3 | 25 | 50 | 0 | 20 | 2,5 | 2,5 | 92,6 |
| 4 | 0 | 25 | 50 | 20 | 0 | 5 | 36,1 |
| 5 | 50 | 25 | 0 | 20 | 5 | 0 | 110,7 |
| 6 | 50 | 25 | 0 | 25 | 0 | 0 | 96,1 |
| 7 | 50 | 0 | 50 | 0 | 0 | 0 | 73,5 |
| 8 | 25 | 0 | 50 | 20 | 5 | 0 | 40,0 |
| 9 | 25 | 25 | 25 | 25 | 0 | 0 | 54,2 |
| 10 | 25 | 0 | 50 | 25 | 0 | 0 | 38,2 |
| 11 | 75 | 0 | 0 | 20 | 5 | 0 | 136,1 |
| 12 | 0 | 25 | 75 | 0 | 0 | 0 | 40,3 |
| 13 | 0 | 0 | 75 | 20 | 2,5 | 2,5 | 26,1 |
| 14 | 75 | 0 | 0 | 20 | 0 | 5 | 136,1 |
| 15 | 25 | 50 | 0 | 20 | 5 | 0 | 92,6 |
| 16 | 25 | 0 | 50 | 20 | 0 | 5 | 40,0 |
| 17 | 75 | 0 | 25 | 0 | 0 | 0 | 150,9 |
| 18 | 0 | 75 | 0 | 20 | 0 | 5 | 79,1 |
| 19 | 0 | 75 | 0 | 20 | 5 | 0 | 79,1 |
| 20 | 50 | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 276,2 |
| 21 | 0 | 50 | 50 | 0 | 0 | 0 | 57,2 |
| 22 | 50 | 0 | 25 | 20 | 0 | 5 | 66,5 |
| 23 | 50 | 0 | 25 | 20 | 2,5 | 2,5 | 66,5 |
| 24 | 0 | 0 | 75 | 25 | 0 | 0 | 25,5 |
| 25 | 50 | 25 | 25 | 0 | 0 | 0 | 122,3 |
| 26 | 50 | 25 | 0 | 20 | 0 | 5 | 110,7 |
| 27 | 25 | 25 | 25 | 20 | 5 | 0 | 58,4 |
| 28 | 25 | 0 | 50 | 20 | 2,5 | 2,5 | 40,0 |
| 29 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 29,4 |
| 30 | 0 | 50 | 25 | 20 | 5 | 0 | 51,7 |
| 31 | 0 | 50 | 25 | 20 | 0 | 5 | 51,7 |
| 32 | 0 | 25 | 50 | 25 | 0 | 0 | 34,7 |
| 33 | 25 | 50 | 0 | 20 | 0 | 5 | 92,6 |
| 34 | 50 | 0 | 25 | 25 | 0 | 0 | 61,1 |
| 35 | 0 | 25 | 50 | 20 | 2,5 | 2,5 | 36,1 |
| 36 | 0 | 25 | 50 | 20 | 5 | 0 | 36,1 |
| 37 | 0 | 50 | 25 | 20 | 2,5 | 2,5 | 51,7 |
| 38 | 25 | 50 | 25 | 0 | 0 | 0 | 102,2 |
| 39 | 25 | 0 | 75 | 0 | 0 | 0 | 44,6 |
| 40 | 25 | 25 | 50 | 0 | 0 | 0 | 64,5 |
| 41 | 50 | 0 | 25 | 20 | 5 | 0 | 66,5 |
| 42 | 25 | 25 | 25 | 20 | 0 | 5 | 58,4 |
| 43 | 75 | 0 | 0 | 20 | 2,5 | 2,5 | 136,1 |
| 44 | 25 | 25 | 25 | 20 | 2,5 | 2,5 | 58,4 |
| 45 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 154,7 |
| 46 | 0 | 0 | 75 | 20 | 0 | 5 | 26,1 |
| 47 | 0 | 50 | 25 | 25 | 0 | 0 | 48,5 |
| 48 | 25 | 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 199,4 |
| 49 | 0 | 75 | 0 | 20 | 2,5 | 2,5 | 79,1 |
| 50 | 0 | 0 | 75 | 20 | 5 | 0 | 26,1 |
| 51 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1022,3 |
| 52 | 0 | 75 | 0 | 25 | 0 | 0 | 71,5 |
| 53 | 50 | 25 | 0 | 20 | 2,5 | 2,5 | 110,7 |
| 54 | 75 | 0 | 0 | 25 | 0 | 0 | 114,5 |
| 55 | 0 | 75 | 25 | 0 | 0 | 0 | 87,2 |

El valor F-ratio en la tabla ANOVA permitió identificar el efecto real del factor en la variable de respuesta, lo cual es confirmado por el valor de la prueba (valor P). La tabla de regresiones permitió identificar la relación entre las diferentes variables involucradas en el factor de estudio.

3 Resultados y discusión

3.1 Colonización del bloque

Es importante evaluar el tiempo de colonización del sustrato como un indicativo de la rapidez para metabolizar el alimento por parte del hongo. Los resultados estadísticos arrojaron que el tipo de formulación afecta el tiempo de colonización del bloque (figura 1). El valor de F-ratio permitió asegurar con un 95 % de confianza que existe un efecto real del tipo de formulación sobre el tiempo que tarda en colonizarse el bloque, y se confirmó con un valor P menor al 0,05.

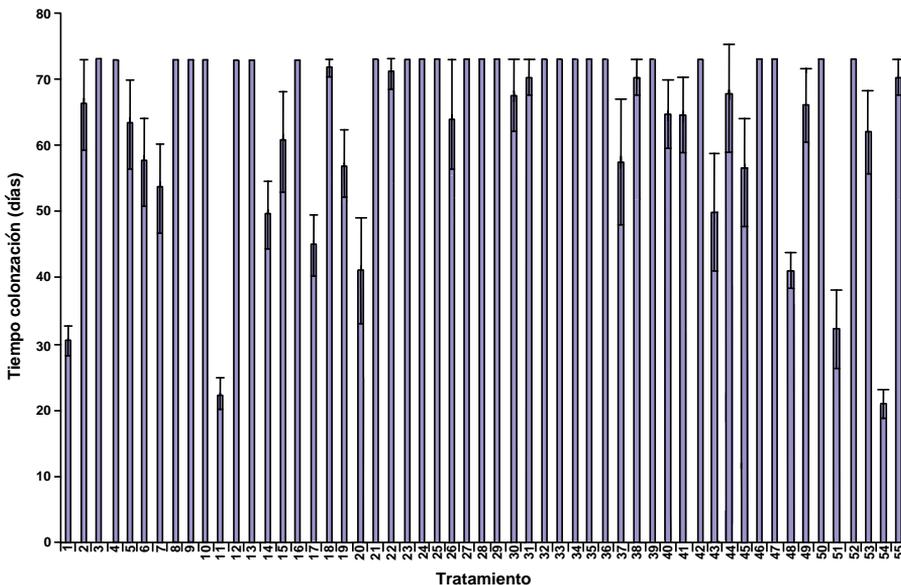


Figura 1: tiempos de colonización. (Barras verticales: error estándar)

En la figura 2 se puede observar que el 56 % de los tratamientos tuvieron tiempos de colonización mayores a 70 días, lo cual fue superior a lo reportado por Fung *et al.*, 2003 [5], quienes usaron residuos agroindustriales como la motosa de algodón para la producción del shiitake. De este 56 %, alrededor del 70 %, no colonizaron totalmente el bloque (para efectos estadísticos se asumen en estos experimentos 73 días de colonización del sustrato).

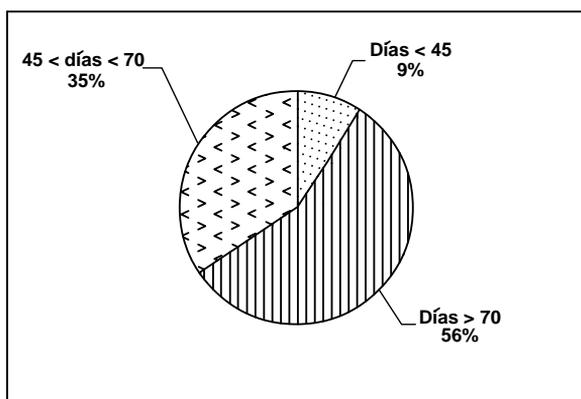


Figura 2: distribución porcentual de los tiempos de colonización

Los altos tiempos de colonización generados pudieron generarse por diferentes factores: el pH de la formulación y el exceso de CO_2 . El pH es controlado por la adición de 1 a 2 % de CaCO_3 y se encontró que el 58 % de los bloques con tiempos de colonización mayores a 70 días no contenían carbonato de calcio. El 12 % de los bloques con tiempos de colonización superiores a 70 días contenían una relación C/N menor a 40:1, lo que pudo ocasionar un exceso de CO_2 , luego perdido en forma amoniacal. Este proceso fermentativo genera una alta oxidación de la materia orgánica hasta agua y CO_2 [15]. Para el 22 % restante de los bloques con altos tiempos de colonización, se tienen casos puntuales de exceso de CaCO_3 , ausencia de viruta de roble y por compactación del bloque por la presencia de tamaños de partícula pequeños (cascarilla de cacao).

Con el fin de determinar la función de cada sustrato con el tiempo de colonización se realizaron regresiones lineales (tabla 2) para determinar el modelo donde se ajusta mejor cada variable y observar su relación.

Tabla 2: regresiones para cada componente del sustrato*

| Componente | Ecuación |
|---------------------|--|
| Cascarilla de cacao | $t = (3347,71 + 1157,15 \times (C)^2)^2$ |
| Motosa de algodón | $t = \frac{1}{1,94 \times 10^{-2} - 1,98 \times 10^{-3} \times (A)^2}$ |
| Viruta de roble | $t = \exp(4,36 - 0,23 \times (V)^2)$ |
| Salvado de trigo | $t = (3682,46 + 909,42 \times (T)^2)^2$ |

*t: tiempo de colonización (días). C, A, V, T: kg de cascarilla de cacao, motosa de algodón, viruta de roble y salvado de trigo.

La regresión para la viruta de roble muestra una relación inversamente proporcional con el número de días de colonización del bloque, lo que indica que a mayor cantidad de este componente, menor es el tiempo de colonización del sustrato. Para la cascarilla de cacao se observó una pendiente positiva lo que lleva a deducir que la presencia de ésta, aumenta el número de días de colonización del sustrato. Las variables motosa de algodón y salvado de trigo presentan correlaciones bajas con la variable, lo que no permite una correcta determinación de su relación con respecto a los días de colonización del sustrato (tabla 2).

Adicionalmente, para obtener combinaciones óptimas que disminuyan el número de días de colonización, se evaluaron combinaciones entre residuos (tabla 3). Se encontró que todas las combinaciones con viruta de roble predicen disminuciones en días por cada kilogramo de este residuo adicionado y que las combinaciones entre motosa de algodón y salvado de trigo, y entre motosa de algodón y cascarilla de cacao, no son recomendables debido a que sus pendientes son positivas y el número de días sólo podría aumentar con estas combinaciones.

Los tratamientos que mejor tiempo de colonización presentaron (17 días) fueron los tratamientos 11 y 54 los cuales están compuestos sólo por viruta de roble y salvado de trigo. La combinación de estos componentes afectan favorablemente la capacidad para sintetizar enzimas hidrolíticas y oxidativas (biosíntesis). Es decir, la viruta de roble es un sustrato lignocelulósico y el hongo *L. edodes* necesita sintetizar dichas enzimas para convertir componentes como celulosa, hemicelulosa y lignina en componentes de bajo peso molecular

Tabla 3: regresiones con combinaciones de sustratos*

| Primer componente | Segundo componente | Ecuación* | Coefficiente correlación |
|-------------------|---------------------|---|--------------------------|
| Viruta de roble | Cascarilla de cacao | $t = 68,13 - 6,35 \times V + 2,82 \times C$ | 0,47 |
| | Salvado de trigo | $t = 69,28 - 7,43 \times V + 5,22 \times T$ | 0,14 |
| | Motosa de Algodón | $t = 80,13 - 9,49 \times V - 3,82 \times A$ | 0,47 |
| Motosa de algodón | Cascarilla de cacao | $t = 48,75 + 4,37 \times A + 7,88 \times C$ | 0,47 |
| | Salvado de trigo | $t = 56,63 + 1,06 \times A + 8,43 \times T$ | 0,14 |

*t: tiempo de colonización del bloque (días), C, A, V, T: kg de cascarilla de cacao, de motosa de algodón, de viruta de roble y de salvado de trigo.

que puedan ser asimilados por el hongo [16]. Teniendo en cuenta que el salvado de trigo es el componente con mayor cantidad de nitrógeno, se podría decir que el micelio de *L. edodes* logró una mejor producción de enzimas como respuesta al nitrógeno como nutriente, el cual es considerado como factor limitante del crecimiento [17] permitiendo una biosíntesis más rápida (tiempo menor de colonización del bloque).

La relación C/N (tabla 1) arrojó un valor $P < 0,05$ lo cual permitió asegurar que existe un efecto real sobre el tiempo de colonización del bloque. La relación de estos dos parámetros es inversamente proporcional.

3.2 Variables cuantitativas de fructificación

Se obtuvieron cosechas de los tratamientos 1, 11, 43 y 54 (tabla 4) para la primera cosecha. El tratamiento 54 presentó la mejor eficiencia biológica, seguido del tratamiento 43, 11 y 1. Sin embargo, estadísticamente solo fue posible comparar los tratamientos 11 y 1, obteniendo diferencias significativas ($P < 0,05$) entre ambos. Para el tamaño promedio del púleo y la precocidad de colonización no existe una diferencia significativa entre ambos tratamientos. Los demás tratamientos no produjeron cuerpos fructíferos.

Las eficiencias biológicas reportadas por Gaitan *et al.*, 2006 [7] (EB desde 37,02% a 93,25%), Jaramillo y Rodríguez 2001 [6] (EB alrededor del 75%), Philippoussis *et al.*, 2003 [8] (EB 54,17%) y González *et al.*, 2006 [18] (EB 55,5% y 44,2%) son superiores a las halladas en esta investigación debido a

Tabla 4: variables cuantitativas de fructificación*

| Variables de fructificación | Tratamiento | | | |
|-----------------------------------|--------------|--------------|-------|------|
| | 11 | 1 | 43 | 54 |
| EB (%) | 12,5 ± 0,28a | 5,3 ± 3,13b | 16,1 | 21,5 |
| Tamaño de píleo (cm) | 8,4 ± 1,56a | 8,05 ± 2,86a | 4,7 | 9,3 |
| Precocidad de colonización (días) | 69 ± 0,5a | 73 ± 0,5a | 125,0 | 74,0 |
| Rendimiento (Kg/m ²) | 2,1 | 0,85 | 2,5 | 3,8 |

±: desviación estándar

que éstas corresponden a un total de 2 a 3 cosechas consecutivas mientras que en la presente investigación sólo se obtuvo la primera cosecha.

En la fotografía (figura 3) se pueden observar los cuerpos fructíferos del tratamiento #11 con 4 días de formación del cuerpo fructífero y una vez cosechados.



Figura 3: cuerpos fructíferos del tratamiento #11. a) Fructificación 4 días después de la obtención de los primeros primordios, b) Shiitake cosechado

De los 55 tratamientos evaluados el 67,3% (37 tratamientos) de estos no formaron micoderma café después de 48 días, por lo anterior se decidió abrir las bolsas para aumentar el intercambio gaseoso. Estos tratamientos no generaron cuerpos fructíferos por su incapacidad de generar micoderma café y por ende por su imposibilidad para metabolizar todo el sustrato. Adicionalmente al no generar esta condición quedaron más expuestos a contaminación posiblemente con *Tricoderma* sp [15, 19].

3.3 Análisis bromatológicos

Se realizaron análisis bromatológicos a los hongos producidos por los tratamientos 1 y 11 (tabla 5), para identificar la producción más rica en nutrientes.

Tabla 5: composición química de *L. edodes**

| Composición química (%) | Tratamiento | |
|-------------------------|-------------|------|
| | 1 | 11 |
| Calcio (Ca) | 0,03 | 0,03 |
| Cenizas (Cen) | 5,8 | 6 |
| Extracto etéreo | 1,1 | 1,2 |
| Fibra Cruda (FC) | 23,1 | 19,1 |
| Fósforo (P) | 0,34 | 0,32 |
| Humedad | 79 | 77,2 |
| Proteínas (Pr) | 20,8 | 26,1 |

*Resultados expresados en base seca

El contenido de proteína en los hongos producidos por el tratamiento #11 (26,1 %) fue superior al obtenido con el tratamiento #1 e incluso mayor a aquel reportado por Gaitan *et al.*, 2006 [5] en sustratos de ciruela pasa, cebada y salvado de trigo (14,87; 16,12 y 14,72 %, respectivamente). Igualmente el contenido de fibra cruda es superior al reportado por Gaitan *et al.*, 2006 [5] en dichos sustratos por lo que se podría recomendar su consumo para mejorar la actividad digestiva del cuerpo humano.

El extracto etéreo representa el contenido de grasa, el cual no es muy diferente entre los tratamientos 1 y 11 (1,1 y 1,2 %, respectivamente). El bajo contenido encontrado con respecto al reportado por Morais *et al.*, 2000 [20] para shiitake cultivados en viruta de madera (1,82 – 2,76 % en base seca) confirma el bajo contenido de grasa de los hongos. El fósforo es un elemento importante dentro de la nutrición humana porque interviene en la formación y el mantenimiento de los huesos, el desarrollo de los dientes, la secreción normal de la leche materna, la formación de los tejidos musculares y el metabolismo celular [21], sin embargo no puede ser mayor a 0,7 % del alimento

consumido diariamente [22]. Adicionalmente el porcentaje de calcio de ambos tratamientos es acorde a la cantidad de calcio reportado por Manzi *et al.*, 1999 [23].

El sustrato del tratamiento #11 fue evaluado bromatológicamente (tabla 6) con el fin de evaluar la posibilidad de utilizar dicho bloque, después de la cosecha, como alimento para rumiantes.

Tabla 6: composición química bloque 11 después de la cosecha*

| Composición química % | Tratamiento # 11 | Forrajes** |
|-----------------------|------------------|------------|
| Ca | 2,47 | 0,8 – 0,9 |
| FDN | 59,8 | 50 – 70 |
| P | 0,32 | 0,2 – 0,4 |
| Lignina | 14,1 | 6 – 10 |
| Pr | 4,4 | 15 |

*Resultados en base seca, ** (Comunicación personal)

Comparando los resultados de los análisis bromatológicos para el tratamiento #11 y la información suministrada por Cuellar (comunicación personal [24]), el sustrato resultante no es apto para la alimentación animal por sus altos contenidos de calcio y lignina, y su bajo contenido proteico.

4 Conclusiones y recomendaciones

De los residuos agroindustriales evaluados, la cascarilla de cacao no es un buen suplemento para la obtención de cuerpos fructíferos de *L. edodes*. Este suplemento aunque contiene altos valores proteicos, genera compactación en el bloque y por ende poca transferencia de oxígeno hacia el interior inhibiendo el crecimiento micelial del hongo.

La combinación de sustratos más apropiado para la reducción del tiempo de colonización y la producción de cuerpos fructíferos de *L. edodes* en bloques sintéticos debe contener viruta de roble en una cantidad igual o levemente superior al 75 %, combinada con una fuente de nitrógeno como el salvado de trigo en una proporción del 20 al 25 %.

Las eficiencias biológicas halladas son inferiores si se comparan con las obtenidas por otros autores (5, 6, 8, 18). Sin embargo, los valores reportados por la literatura corresponden a tres cosechas y los presentados en este trabajo a una sola producción.

La relación carbono nitrógeno mas indicada para la formación de cuerpos fructíferos corresponde a valores entre 110 a 140.

El shiitake producido contiene un alto contenido proteico y de fibra, y un bajo contenido de grasa, lo que lo hace un alimento muy nutritivo para el ser humano. Sin embargo el sustrato resultante del proceso de biotransformación no es apto para la alimentación de rumiantes por su bajo contenido proteico, y su alto contenido lignocelulósico.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad EAFIT, financiadora del proyecto de investigación; a Felipe Caney, Raúl Arango y Rodrigo Moreno colaboradores en el desarrollo del mismo.

Referencias

- [1] E. Kruger. *A new status for the lowly ironwood*. Shiitake News, 9, 2 (1992). Referenciado en 25
- [2] G. Leatham. *Cultivation of shiitake, the Japanese forest mushroom, on logs: a potential industry for the United States*. Forest Products Journal, ISSN 0015-7473, **32**, 29-35 (1982). Referenciado en 25
- [3] D. Royse y J. Sánchez-Vázquez. *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 (2000). Referenciado en 25
- [4] Paul Stamets. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*, ISBN 1-58008-175-4, 3 edition. Editorial Ten Speed Press, Washington, 259-275 (2000). Referenciado en 25, 26, 28
- [5] Yih Wen Fung, Tao Weng Fung y Marcela Franco. *Evaluación del Crecimiento y Producción de Lentinula edodes, Berk. Pegler (Shiitake) sobre Diferentes Sustratos a Base de Residuos Agroindustriales Colombianos*.

- Revista de La Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas, ISSN 0120-4173, **15**(1), 53-69 (2003). Referenciado en 25, 26, 31, 35
- [6] Carmenza Jaramillo López y Nelson Rodríguez Valencia. *Cultivo de shiitake en subproductos del café*. Avances técnicos Cenicafe, ISSN 0120-0178, 287, 1-3 (2001). Referenciado en 25, 33
- [7] Rigoberto Gaitán-Hernández, Martín Esqueda, Aldo Gutiérrez, Alfonso Sánchez, Miguel Beltrán-García and Gerardo Mata. *Bioconversion of agrowastes by Lentinula edodes: the high potential of viticulture residues*. Applied Microbiology and Biotechnology, ISSN 1432-0614, **71**(4), 432-439 (2006). Referenciado en 25, 33
- [8] A. Philippoussis, P. Diamantopoulou and G. Zervakis. *Correlation of the Properties of Several Lignocellulosic Substrates to the Crop Performance Of The Shiitake Mushroom Lentinula edodes*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, ISSN 1573-0972, **19**(6), 551-557 (2003). Referenciado en 25, 33
- [9] G. Kawai, H. Koboyashi, Y. Fukumisha and K. Ohsaki. *Effect of Liquid Mycelial Culture Used as Spawn on Sawdust Cultivation of Shiitake (Lentinula edodes)*. Mycoscience, ISSN 1618-2545, 37, 201-207 (1996). Referenciado en 26
- [10] V. Villegas, A. Pérez y C. Arredondo. *Evaluación del Crecimiento del hongo Lentinula edodes pegler en medios de cultivo sólido para la Producción de Micelio*. Revista Colombiana de Biotecnología, ISSN 0123-3475, **9**(2), (2007). Referenciado en 26
- [11] Q. Yang and S. Jong. *A Quick and Efficient Method of Making Mushroom Spawn*. Mushroom Science, XII, 317-324 (1987). Referenciado en 26
- [12] L. Raasca. *Production of Lentinula edodes mycelia in liquid media: improvement of mycelial growth by medium modification*. Mushroom Journal for the Tropics, ISSN 0259-3653, 10, 79-92 (1990). Referenciado en 27
- [13] Paul Stamets and J. Chilton. *The Mushroom Cultivator: A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home*, ISBN10 0961079800. Agarikon Press, Washington, 158-170 (1983). Referenciado en 27
- [14] INTA Rafaela. *Tabla de Composición Química de Alimentos*. Mundo Lácteo-Súper Campo, Buenos Aires (1996). Referenciado en 28
- [15] Fundases. *Compostaje con EM*, <http://www.fundases.com/p/pub-compostaje02.html>, febrero 17 de 2007. Referenciado en 31, 34
- [16] John Anthony Buswell, Yijin Cai and Shu-Ting Chang. *Ligninolytic enzyme production and secretion in edible mushroom fungi*. Mushroom Biology and Mushroom Products, ISBN10 9622016103. Royse (Ed.), 113-122 (1996). Referenciado en 33

- [17] E. E. Kaal, J. A. Field and T. W. Joyce. *Increasing ligninolytic enzyme activities in several white-rot basidiomycetes by nitrogen-sufficient media*. Bioresource Technology, ISSN 0960–8524, **53**(2), 133–139 (1995). Referenciado en 33
- [18] Teodoro Bernabé-González, Gerardo Mata, Maricela Cayetano-Catarino y Gildardo Gutiérrez Reyes. *Cultivo Experimental del Hongo Shiitake, Lentinula edodes, sobre dos Subproductos Agrícolas en Guerrero México*. Revista Mexicana de Micología, ISSN 0187–3180, 23, 63–68 (2006). Referenciado en 33
- [19] Terashima Yoshie, Igusa Hisao and Ohga Shoji. *Influence of Contamination by Penicillium brevicompactum and Trichoderma harzianum during Lentinula edodes Spawn Run on Fruiting in Sawdust-Based Substrates*. Mycoscience, ISSN 1618–2545 (print version), **43**(3), 277–280 (2002). Referenciado en 34
- [20] M. H. Morais, A. C. Ramos, N. Matos, E. J. Santos-Oliveira. *Production of Shiitake Mushroom (Lentinula edodes) on Lignocellulosic Residues*. Food science and technology international, ISSN 1082–0132, **6**(2), 123–128 (2000). Referenciado en 35
- [21] José Luis Córdoba Frunz. *La Química y la Cocina*, Editorial Fondo de Cultura Económica, ISBN 97896816666088, México, 50–52 (2002). Referenciado en 35
- [22] M. Demirci and G. Kimyasi. *The Nutrients of Exotic Mushrooms (Lentinula edodes and Pleurotus species) and an Estimated Approach to the Volatile Compounds*. 105–131 (2006). Referenciado en 36
- [23] P. Manzi, L. Gambelli, S. Marconi, V. Vivanti and L. Pizzoferrato. *Nutrients in Edible Mushrooms: An Inter-Species Comparative Study*. Food Chemistry, ISSN 0308–8146, **65**(4), 477–482 (1999). Referenciado en 36
- [24] A. G. Cuellar. Coordinador del laboratorio de análisis químico y bromatológico. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Comunicación personal, 2007. Referenciado en 36