

EVALUACION DE LA MADERA DE TRES ESPECIES DE ARBOLES Y
TRES TIPOS DE GRANO COMO MEDIO DE CRECIMIENTO
DE SHIITAKE (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler)

POR **BIBLIOTECA WILSON POPENOR**
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 02
TEGUIGALPA HONDURAS

MARCO ANTONIO MORALES SAGASTUME

TESIS

PRESENTADA A LA
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION
DEL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO

El Zamorano, Honduras

Abril, 1995

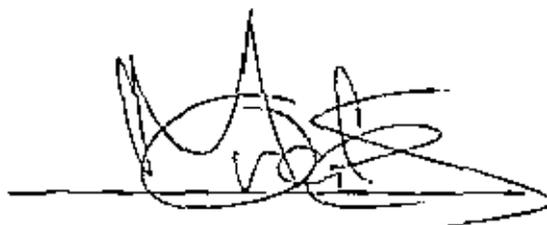
Evaluación de la madera de tres especies de árboles y tres tipos de grano como medio de crecimiento de Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler).

por

Marco Antonio Morales Sagastume

El autor concede a la Escuela Agrícola Panamericana permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para los usos que considere necesarios.

Para otras personas y otros fines se reservan los derechos de autor.

A handwritten signature in black ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke at the end, positioned above a solid horizontal line.

Marco Antonio Morales Sagastume

Abril, 1995

DEDICATORIA

A mi padre (Q.E.P.D.), a mi madre, Leticia y a mis hermanos Claudia y Estuardo.

AGRADECIMIENTO

A Dios.

A mi familia.

Al Dr. Alfredo Montes por su guía, ayuda, consejos y enseñanzas.

Al Dr. Duarte y al Dr. Pilz por su colaboración y apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

A la Sección de Fitopatología del D.P.V. y en especial a Doña Nolvía Ramos por facilitarme su equipo y compartir conmigo su experiencia.

A mis compañeros de " El Pantanal " por su amistad y por hacer de este año una experiencia ~~grata~~ grata en mi vida.

INDICE GENERAL

TITULO.....	i
DERECHOS DE AUTOR.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE GENERAL.....	v
INDICE DE CUADROS.....	vii
INDICE DE ANEXOS.....	viii
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	4
A. Clasificación.....	4
B. Nombre científico.....	6
C. Micelio primario y secundario.....	6
D. Ciclo de vida.....	7
E. Factores ambientales que afectan el desarrollo del hongo.....	10
1. Temperatura.....	10
2. Humedad.....	11
3. Luz.....	12
4. Concentración de gases.....	13
5. pH.....	14
F. Características de las especies de árboles utilizables como sustrato.....	15
1. Corteza.....	15
2. Densidad de la madera.....	15
3. Relación Duramen/Corazón.....	16
4. Especies de árboles utilizadas.....	16
G. Sustratos artificiales para producción del hongo y sus características..	21
1. Suplementos.....	23
2. Formulaciones del sustrato.....	24
3. Contenido de humedad.....	25
4. Materiales de covasado.....	25
5. Esterilización.....	26
6. Inoculación.....	27
H. La semilla y su producción.....	27
1. Tipos de semilla.....	27
a. Tacos.....	28
b. Aserrín.....	28
c. Semilla en forma de granos.....	28
d. Semilla líquida.....	29

2. Producción de semilla.....	29
III. MATERIALES Y METODOS.....	31
A. Ubicación.....	31
B. Semilla.....	31
C. Especies de árboles utilizados.....	33
D. Cultivo en troncos.....	33
E. Cultivo en bolsas.....	35
1. Composición del medio de crecimiento.....	35
2. Contenido de humedad de la mezcla.....	36
3. Material de envase.....	37
4. Intercambio gaseoso.....	37
5. Esterilización del medio.....	37
6. Inoculación.....	38
7. Condiciones para la corrida del micelio.....	38
F. Evaluación de materiales para la propagación de semilla.....	38
1. Cultivo de tejidos.....	39
2. Ensayo en platos Petri.....	39
3. Ensayo en bolsas.....	40
G. Información tomada.....	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	43
A. Cultivo en bolsas.....	43
1. Primera semana.....	43
2. Segunda semana.....	44
3. Tercera semana.....	45
4. Cuarta semana.....	46
B. Cultivo en troncos.....	46
C. Substratos para semilla.....	47
1. Sorgo.....	47
2. Maíz.....	48
3. Arroz.....	49
4. Quercus y Mango.....	49
5. Liquidambar.....	50
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	51
VI. RESUMEN.....	53
VII. BIBLIOGRAFIA.....	54
VIII. ANEXOS.....	55
DATOS BIOGRAFICOS DEL AUTOR.....	58
APROBACION.....	59

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Rango ideal de temperatura para el período vegetativo y de fructificación en la producción de Shiitake.....	11
Cuadro 2. Contenido óptimo de humedad de los substratos de crecimiento de Shiitake.....	11
Cuadro 3. Clasificación de aptitud para el cultivo del hongo en diferentes especies de árboles, según Przybylowicz y Donoghue (1988).....	18
Cuadro 4. Tabla de clasificación de aptitud para producción del hongo en diversas especies de árboles, según Quinio et al. (1990).....	19
Cuadro 5. Porcentaje de humedad del material utilizado.....	36

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Cambios en el nombre científico y clasificadores del Shiitake a través del tiempo.....	56
Anexo 2. Compuestos biológicos activos presentes en el Shiitake y su efecto sobre la salud.....	57

BIBLIOTECA WILSON POPPER
ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA
APARTADO 62
TEGUCIGALPA HONDURAS

L INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha aumentado el consumo de hongos comestibles a nivel mundial (Przytylowicz y Donoghue, 1988). En el caso específico de *Lenzula edodes*, Brookhart (1994) estima que existe un aumento en la demanda que va desde el 10 hasta el 15% anual. Todo esto está influenciado por diversos factores, incluyendo las nuevas tendencias hacia el consumo de productos que no dañan la salud.

Los hongos comestibles tienen el potencial para llegar a ser un renglón muy importante dentro del mercado de comida sana. Este potencial se lo podemos atribuir al hecho de que se trata de un cultivo orgánico, con un contenido proteico alto y bajo nivel de colesterol, a su textura y sabor especial, que lo convierten en un plato delicado y a sus propiedades medicinales (Rambelli, 1985), que incluyen algunas propiedades anti-cancerogénicas.

Otro factor interesante acerca de la producción de hongos es que los sustratos donde crece, como el aserrín y otros materiales compuestos mayormente de celulosa, generalmente son materiales de desecho que de otra manera serían desperdiciados o sub-utilizados. Los materiales que ya fueron utilizados para la producción, pueden ser reciclados o incorporados al suelo como una enmienda para subir el contenido de materia orgánica o como fertilizante, e incluso pueden servir como una fuente de alimento del ganado (Quinio et al., 1990), maximizando así el uso de los recursos disponibles. En el caso del Shiitake, también pueden ser utilizados como sustratos de siembra los troncos

que resultan de podas en plantaciones de ~~indales~~, o de raleos en plantaciones forestales. Esta madera que en otro caso sería usada para leña, postes u otro uso similar, se utiliza para la producción de alimentos y puede dar una vida productiva que va desde 4 a 6 años.

Otra ventaja importante del cultivo del Shiitake, es su compatibilidad con prácticas de manejo del bosque (FAO, 1993), ya que mantener los troncos de cultivo debajo de la bóveda del bosque no altera el ambiente en ninguna forma y por lo tanto puede constituirse en una forma de proteger el bosque a la vez que este nos produce un ingreso, resultado de la cosecha de los hongos.

El cultivo de Shiitake no compete por área con otros cultivos, ya que podemos aprovechar el espacio ocupado por el bosque. En el caso del cultivo en bolsas tampoco hay competencia, ya que el cultivo se realiza en instalaciones que ocupan un área pequeña, pero que dan una producción intensiva.

El Shiitake podría llegar a tomar un papel importante en las fincas de pequeños agricultores, ya que no ocupa mucho espacio y su cultivo en troncos es relativamente sencillo. El cultivo del hongo podría funcionar como un ingreso adicional para la familia rural.

Todas las razones enumeradas anteriormente consolidan al hongo como un cultivo interesante bajo muchos puntos de vista, y el objetivo del presente estudio es conocer más su biología, identificar cuales son las etapas más críticas de su cultivo y sus problemas

principales y finalmente evaluar diferentes medios de crecimiento, tanto para su producción como para la propagación de la semilla.

U. REVISIÓN DE LITERATURA

A. Clasificación:

Los hongos pertenecen al reino Mycetozoa, esta clasificación se basa en características que los hacen diferentes de los demás organismos. Algunas de estas características son;

1. Incapacidad para producir su propio alimento: esto se debe a que carecen de clorofila y por lo tanto no pueden sintetizar su alimento directamente del bióxido de carbono y el agua.
2. Digestión externa y absorción de los materiales disueltos: el micelio de los hongos produce enzimas que digieren los carbohidratos complejos, lípidos y proteínas y los hace fáciles de absorber por las hyphas.
3. Crecimiento en forma de filamentos y paredes celulares compuestas de celulosa o quitina (compuesto asociado con el exoesqueleto de los insectos).
4. Reproducción por medio de esporas.

Taxonómicamente el Shiitake, pertenece a la clase de los Basidiomicetos, sub-clase Holobasidiomycetidae, orden de los Agaricales y familia Tricholomataceae (Alexopoulos y Mims, 1979).

El orden Agaricales incluye los hongos que tradicionalmente han sido utilizados para el consumo humano directo; son conocidos por el hombre desde que este tomó

conciencia de su entorno y son de los pocos hongos que muchas veces tienen nombres comunes además de sus nombres científicos. Los hongos comestibles, según Alexopoulos y Mins (1979), generalmente son sporophoros carnosos, fuertes y en forma de sombrilla que forman sus basidios en la superficie de agallas o platos. En adición a esto podemos decir que la palabra *mykes*, de la cual se deriva micología, significa hongo comestible para los antiguos griegos y por lo tanto etimológicamente la micología es el estudio de los hongos comestibles.

Según Alexopoulos y Mins (1979), los Agaricales ocupan un amplio espectro de hábitats, que van desde el ártico hasta el trópico. Mientras algunas especies solo existen en áreas restringidas, otras existen en áreas bastante separadas geográficamente. A pesar de esto la mayoría parece tener preferencia por un hábitat determinado. Algunos se encuentran principalmente en áreas altas y boscosas; otras prefieren áreas pantanosas; y otras muestran preferencia por áreas abiertas como jardines y pasturas. Muchas especies, especialmente las micorrizas, están directamente asociadas con cierta clase de vegetación. En un hábitat determinado los hongos también mostrarían preferencia por determinadas clases de sustratos. Los basidiocarpos de algunos son producidos en el suelo y generalmente se hace mención de ellos como formas terrestres. Otros se forman en hojas muertas, madera, estiércol y enclima de otros hongos. Los hábitats y sustratos diversos reflejan el hecho de que el orden Agaricales está conformado por especies parasíticas, saprófitas y micorrizas.

"*Lentinula* Earle es un género ampliamente difundido de distribución tropical y subtropical y contiene al menos cinco especies (*L. edodes*, *L. lateritia*, *L. novaezealandiae*, *L. boryana*, y *L. guarapiensis* [Pegler, 1983]). Este género fue por largo tiempo incluido en el más grande y diseminado *Lentinus* Fr. Sin embargo, Pegler (1975) examinó la estructura de la hypha, encontrando diferencias significativas comparada con la estructura de *Lentinus edodes* (Berk.) Singer." (Quimio et al., 1990).

B. Nombre Científico:

A través de los años se le han asignado diversos nombres científicos al Shiitake, debido a un proceso de clasificación y re-clasificación. Su nombre actual es *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. Se ha tenido bastante confusión en su clasificación, ya que ha sufrido 15 cambios de nombre desde que fuera clasificado inicialmente.

C. Micelio primario y secundario:

Cuando la espóra de un hongo cae al suelo, o sobre otro tipo de sustrato y si encuentra condiciones favorables germinará para formar una masa de micelio. Aquí es donde empieza la etapa vegetativa de crecimiento del hongo. El micelio que se desarrolla a través de la espóra germinada se llama micelio primario y se caracteriza por ser haploide y uninucleado. Esta fase de la vida del hongo generalmente es corta, ya que el micelio que proviene de diferentes esporas tiende a ramificarse y fundirse, creando el

micelio secundario. Típicamente dos micelios primarios son diferentes genéticamente, pero compatibles, crecen juntos e intercambian núcleos para formar un micelio dicariótico, que es llamado micelio secundario. En el micelio secundario cada célula tiene todos los organelos necesarios para un crecimiento independiente y ya que es segmentado, fragmentos del micelio se pueden reproducir para formar nuevas colonias. El Shiitake no puede formar cuerpos fructificantes a partir del micelio primario, solo es capaz de formarlos a través del micelio secundario.

D. Ciclo de Vida:

Según Przybylowicz y Donoghue (1988), el ciclo de vida del Shiitake comienza cuando un hongo maduro libera basidiosporas en el aire y estas son dispersadas por el viento. Las basidiosporas, siendo de paredes delgadas, perecen rápidamente cuando son expuestas a la luz del sol y la mayoría mueren. Algunas de las basidiosporas aterrizan en algún tipo de sustrato viable para su desarrollo y si concuerdan con las condiciones apropiadas de humedad y temperatura pueden germinar y establecer una nueva colonia.

Cuando la basidiospora germina produce el micelio primario, si el micelio no tiene una fuente apropiada de nutrientes usa sus reservas y después muere. Si el micelio encuentra una fuente ilimitada de nutrientes y condiciones ambientales favorables, su crecimiento puede continuar indefinidamente.

En la naturaleza la etapa de micelio primario es corta. El micelio secundario producto de la unión de dos micelios primarios es el único que puede producir cuerpos fructificantes y por lo tanto el encargado de completar el ciclo de vida. Según Quimio et al. (1990), las basidiosporas de los hongos pueden ser autofértiles o autoestériles. La autofertilidad es muy común en los hongos, pero en los Basidiomicetos solo un 10% de las especies son autofértiles, comparadas con el 90% autoinfértiles o heterotálicas. Según Przybyłowicz y Donoghue (1988), no todos los micelios primarios del Shiitake son compatibles. El Shiitake tiene cuatro tipos principales o "sexos", que son compatibles solo en ciertas combinaciones. El sistema reproductivo de *Lentinula edodes* es heterotálico, que significa que dos esporas genéticamente diferentes se deben unir y tetrapolar, lo que indica que son cuatro genes los que controlan la compatibilidad de las esporas.

El micelio absorbe nutrientes del sustrato donde está creciendo, crece y almacena energía para el momento de la formación de los cuerpos fructificantes. En el ciclo de vida del hongo, la etapa de fructificación es la formación del cuerpo fructificante visible, que está formado de una agregación de micelio. El basidiocarpo comienza como un primordio pequeño, pero rápidamente aumenta de tamaño para entrar a su fase de botón. Después de esta etapa el hongo se diferencia en una estructura con forma de sombrilla y por último tiene una formación de agallas en la parte inferior de la sombrilla. En los bordes de las agallas se forman unas células especiales, en las cuales dos núcleos provenientes de células de micelios diferentes se unen, esto eventualmente hace que se

doble su número de cromosomas. Estas células reciben el nombre de basidios y son el punto focal en la fase reproductiva del hongo (Químio et al., 1990).

La unión de dos núcleos haploides resulta en la formación de un núcleo diploide en el basidio. Después de esto el núcleo sufre una meiosis y produce cuatro núcleos meióticos. Estos cuatro núcleos haploides emigran fuera del basidio, a través de proyecciones llamadas sterigmata, a cuatro basidiosporas. Estas esporas continúan desarrollándose hasta que son liberadas del basidio y lanzadas al aire. El proceso de producción y liberación de esporas dura sólo unas horas, al término de las cuales el basidiocarpio muere (Químio et al., 1990).

Como conclusión se tiene que la reproducción sexual en los hongos envuelve tres procesos principales; plasmogamia (fusión del citoplasma de dos individuos), karyogamia (fusión nuclear) y meiosis (reducción de cromosomas de diploides a haploides).

E. Factores Ambientales que Afectan el Desarrollo del Hongo:

1. Temperatura:

La temperatura es uno de los factores más importantes en el cultivo del shitake, ya que afecta su sobrevivencia, tasa de crecimiento, tiempo de fructificación y morfología (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Se ha reportado sobrevivencia del micelio en temperaturas que van desde los -30°C a los 45°C , aunque exposiciones prolongadas a temperaturas mayores a los 35°C pueden causar su muerte. En cuanto a la tasa de crecimiento, esta aumenta conforme se va alcanzando una temperatura óptima y luego decrece conforme se llega a temperaturas más altas. La temperatura es un factor muy importante en el inicio de la fructificación, ya que esta es inducida por un cambio brusco de temperatura, o por un periodo de temperaturas fluctuantes (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

La temperatura afecta morfológicamente al hongo, Przybylowicz y Donoghue (1988), mencionan que temperaturas altas causarían talluelos largos y capas delgadas y que temperaturas bajas producirían el efecto contrario. Lo mismo mencionan Quimio et al. (1990), cuando afirman que el talluelo tiende a alargarse y el diámetro de la capa a reducirse a temperaturas mayores a los 16°C . Con esto entendemos que el manejo del cultivo en un rango de temperatura apropiado, aumenta el rendimiento y calidad del producto.

CUADRO 1. Rango ideal de temperatura para el periodo vegetativo y de fructificación en la producción de Shiitake.

	Periodo vegetativo	Periodo de fructificación	Fuente.
<i>Lentinula edodes</i>	22-27°C	15-20°C	Ishikawa, 1967, citado por Quimio et al., 1990.
	24-28°C	10-16°C	Przybyłowicz y Donoghue, 1988.
	24-28°C	12-20°C	Kambelli, 1983.

2. Humedad:

El contenido de agua en el sustrato es crucial para un buen desarrollo del micelio y para obtener un buen rendimiento y calidad del producto. Contenidos de humedad muy bajos o muy altos pueden inhibir el desarrollo del micelio o incluso matarlo.

CUADRO 2. Contenido óptimo de humedad de los sustratos de crecimiento de Shiitake.

TIPO DE CULTIVO	RANGO ÓPTIMO DE HUMEDAD (%)	FUENTE
Cultivo en troncos	70	Akiyama, 1976, citado por Quimio et al., 1990.
	55-65	Przybyłowicz y Donoghue, 1988.
Cultivo en bolsas	55-68	Miller y Joog, 1987, citado por Quimio et al., 1990.
	55-68	Przybyłowicz y Donoghue, 1988.

3. Luz:

La luz es necesaria durante el crecimiento del micelio y en la etapa de fructificación del hongo (Przybylowicz y Donoghue, 1988). En general las reacciones de los hongos a la luz visible y luz ultravioleta se pueden dividir en tres tipos principales: inducción, inhibición y tropismo (Cochrane, 1958, citado por Quimio et al., 1988).

Los efectos inductivos incluyen los requerimientos de luz absoluta para la iniciación o maduración de estructuras reproductivas y efectos cuantitativos como aumento o disminución en rendimientos debido a iluminación.

La luz puede ser un factor inhibitorio para el crecimiento y rendimientos en Shitake, esto fue demostrado por Ishikawa (1967), cuando descubrió una disminución en los rendimientos conforme aumentaba la intensidad lumínica a un nivel mayor de 50 lux en el período vegetativo del hongo. Sin embargo, Przybylowicz y Donoghue (1988) aseguran que el período vegetativo necesita una intensidad lumínica de 130 a 940 lux, con 550 lux como un óptimo.

La duración de exposición a la luz tampoco está bien definida, Royse (no-publicado, citado por Quimio et al., 1990) afirma que como regla general 2-4 horas al día son suficientes para iniciar fructificación, mientras que Przybylowicz y Donoghue (1988) afirman que periodos tan cortos como de 20 minutos diarios pueden ser suficientes

para promover la fructificación e incluso que se puede llenar el requerimiento de luz del hongo exponiéndolo a la luz por un período largo justo antes de iniciar fructificación.

Durante ciertas etapas especializadas del cultivo, como la propagación por medio de cultivo de tejidos, la luz puede ser la causa de un crecimiento más lento del micelio (Quimio et al., 1990).

Como conclusión y para efectos prácticos, se puede usar bulbos de luz blanca fluorescente para proveer la iluminación necesaria para la fructificación del hongo, ya que estos proveen el largo de onda e intensidad adecuadas. Además, se tiene la opción de someter el sustrato a períodos cortos de iluminación diarios o iluminación continua durante 10 a 20 días antes de la fructificación para llenar su requisito de luz.

4. Concentración de Gases:

Los hongos son organismos aeróbicos que usan el oxígeno de la atmósfera y liberan bióxido de carbono como producto de la respiración. Una aireación adecuada para evitar concentraciones muy altas de bióxido de carbono puede ser un factor fundamental en el manejo del cultivo, ya que efecto de este gas en la fisiología del hongo puede ser sustancial (Quimio et al., 1990).

La concentración normal de bióxido de carbono que se encuentra en la atmósfera es aproximadamente de un 0.03%. Concentraciones de bióxido de carbono que van desde 0.4-0.6% inhiben totalmente la formación de primordios. Concentraciones de 0.2-0.4% pueden causar deformaciones morfológicas como talluelos largos y capas pequeñas. Una concentración de 0.2% o menor es ideal para la fructificación (Przybyłowicz y Donoghue, 1988).

5. pH:

El pH afecta directamente las reacciones entre las enzimas degradativas y la madera. Cada enzima tiene un pH óptimo para realizar su trabajo y mientras más se aleje de este ideal la enzima trabajará más lentamente o incluso se verá inhibida del todo. El pH también afecta la solubilidad de los compuestos y esto también determina su disponibilidad para su utilización por el hongo.

El pH óptimo para hongos que se alimentan de madera va de 4.5 a 5.5 y el crecimiento se inhibe del todo a un pH de 2 (Przybyłowicz y Donoghue, 1988).

F. Características de las especies de árboles utilizables como sustrato:

1. Corteza:

Los árboles vivos son prácticamente estériles debido a su habilidad de producir sustancias que inhiben el crecimiento de hongos y a barreras físicas como su corteza. Sin embargo, una vez talados pierden la habilidad de producción de sustancias y el único medio de protección que les queda es la corteza, que reduce la pérdida de agua y debido a su bajo nivel de nutrientes no es apropiada como sustrato para la colonización y penetración de hongos. Estas características pueden aprovecharse, ya que un tronco que conserve en buen estado la corteza y sea inoculado con Shiitake no será invadido por otro tipo de hongos, además de que la corteza va a ayudar a mantener la pérdida de agua en niveles bajos (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

La corteza gruesa va a soportar mejor el manejo que la corteza delgada y también va a perder menos agua.

2. Densidad de la madera:

El rendimiento total y vida productiva del tronco aumentan mientras más densa sea la madera. Esto se debe a que un árbol más denso, debido a su mayor peso, tiene más cantidad de nutrientes y al hongo le va a tomar más tiempo descomponer el material.

Esta densidad se expresa en términos de gravedad específica (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

3. Relación Duramen/Corazón:

El duramen es la parte metabólicamente activa del tronco y es donde se encuentra la mayor cantidad de azúcares disponibles, por lo tanto es donde el micelio tiene una colonización más rápida. El corazón no es fácilmente colonizable por el micelio debido a que generalmente tiene un nivel de humedad más bajo y algunas veces contiene sustancias que inhiben el crecimiento del hongo (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Troncos ideales para el cultivo de Shiitake tienen poco o ningún corazón. Generalmente la proporción de corazón aumenta con el diámetro y la edad, también depende de la especie del árbol, de su ritmo de crecimiento y de las condiciones del suelo donde está creciendo (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

4. Especies de árboles utilizadas:

Según Rambelli (1983), el hongo es cultivado en troncos de *Castanea crenata* y algunas especies de *Quercus*, *Carpinus*, *Alnus* y *Acer*. Por su parte Przybylowicz y Donoghue (1988) clasifican los troncos según sus características en muy aptos,

medianamente aptos y de baja aptitud para el cultivo, y han elaborado una tabla que se presenta en el cuadro 3.

Según Przybylowicz y Donoghue (1988), los árboles de alta aptitud son usados extensamente, los de mediana aptitud requieren un manejo muy cuidadoso y los de baja aptitud no se recomiendan para producciones comerciales de Shiitake.

Quimio et al. (1990), explican que la especie principal de árbol usada en el pasado por Japón era el árbol de Shii, y que de este hecho se deriva el nombre común del hongo, también aseguran que en la producción actual se usan mayormente diferentes especies de *Quercus*. Estos mismos autores también elaboraron una tabla de productividad potencial de diferentes especies de árboles basados en los trabajos de Ito e Imai (1925), San Antonio (1981), Leadham (1982), Farr (1983), Kuo y Kuo (1983), Harris (1986) y Singer y Harris (1987). En el cuadro a cada especie se le asigna un número del cero al cuatro, en el cual cuatro es excelente, tres es bueno, dos es satisfactorio, uno es pobre y cero es muy pobre. La clasificación se presenta en el cuadro 4.

CUADRO 3. Clasificación de aptitud para el cultivo del hongo en diferentes especies de árboles, según Przybylowicz y Donoghue (1988).

FAMILIA	GÉNERO	ESPECIES
ALTA APTITUD:		
Fagaceae	<i>Quercus</i>	<i>acutissima, alba, brandlyana, crispula, dentata, garryana, kelloggii, kerri, kingiana, mongolica, muehlenbergii, prinis, rubra, semiserrata, serrata, variabilis.</i>
Fagaceae	<i>Castanopsis</i>	<i>acuminatissima, argentea, chrysophilla, cuspidata, indica.</i>
Fagaceae	<i>Lithocarpus</i>	<i>curiculatus, densiflorus, lanceifolia, undleyanus, poystachyus.</i>
Fagaceae	<i>Carpinus</i>	<i>betula, caroliniana, japonica, laxiflora, tschonoskii.</i>
MEDIANA APTITUD:		
Betulaceae	<i>Alnus</i>	<i>glutinosa, japonica, rubra, serrulata, unctoria.</i>
Betulaceae	<i>Populus</i>	<i>balsamifera, deltoides, grandidentata, nigra, trichocarpa.</i>
Fagaceae	<i>Fagus</i>	<i>spp.</i>
Betulaceae	<i>Betula</i>	<i>nigra, pendula.</i>
Fagaceae	<i>Castanea</i>	<i>crenata.</i>
Juglandaceae	<i>Carya</i>	<i>spp.</i>
Aceraceae	<i>Acer</i>	<i>rubrum, macrophyllum.</i>
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar</i>	<i>styraciflua</i>
Nyssaceae	<i>Nyssa</i>	<i>silvatica.</i>
Salicaceae	<i>Salix</i>	<i>nigra.</i>
BAJA APTITUD:		
Magnoliaceae	<i>Magnolia</i>	<i>acuminata.</i>
Magnoliaceae	<i>Liriodendron</i>	<i>tulipifera.</i>
Cornaceae	<i>Cornus</i>	<i>florida.</i>
Rosaceae	<i>Malus</i>	<i>sylvestris.</i>
Platanaceae	<i>Platanus</i>	<i>occidentalis</i>
Pinaceae	<i>Pinus</i>	<i>virginiana.</i>

CUADRO 4. Tabla de clasificación de aptitud para producción del hongo en diversas especies de árboles, según Quimio et al. (1990).

GÉNERO	ESPECIE	CLASIFICACIÓN
<i>Acer</i>	<i>nigrum</i>	2
	<i>pensylvanicum</i>	2
	<i>pictum</i>	2
	<i>platanoides</i>	2
	<i>rubrum</i>	2
	<i>saccharinum</i>	2
	<i>saccharum</i>	2
<i>Alnus</i>	<i>firmu</i>	2
	<i>japonica</i>	2
	<i>tinctoria</i>	2
	<i>rubra</i>	2
	<i>serrulata</i>	3
<i>Betula</i>	<i>lutea L.</i>	3
	<i>lutea Michx.</i>	3
	<i>nigra</i>	3
	<i>papyrifera</i>	1
	<i>populifolia</i>	2
<i>Carpinus</i>	<i>caroliniana</i>	2
	<i>laxiflora</i>	4
	<i>tscholoskii</i>	4
<i>Carya</i>	<i>cordiformis</i>	3
	<i>glabra</i>	1
	<i>illinoensis</i>	2
	<i>ovata</i>	1
<i>Carytomentora</i>	<i>spp.</i>	2
<i>Castanea</i>	<i>crenata</i>	4
	<i>dentata</i>	3
<i>Castanopsis</i>	<i>cuspidata</i>	4
	<i>sieboldii</i>	4
<i>Cornus</i>	<i>florida</i>	1
<i>Cyclobalanopsis</i>	<i>ocuta</i>	4

<i>Cyclobalanopsis</i>	<i>glauca</i>	4
	<i>myrsiniifolia</i>	4
	<i>solicaria</i>	4
<i>Diospyros</i>	<i>virginia</i>	2
<i>Fagus</i>	<i>grandifolia</i>	3
<i>Liquidambar</i>	<i>styraciflua</i>	2
<i>Liriodendron</i>	<i>ulpifera</i>	1
<i>Lithocarpus</i>	<i>densiflorus</i>	3
<i>Malus</i>	<i>sylvestris</i>	0
<i>Ostrya</i>	<i>virginiana</i>	4
<i>Pinus</i>	<i>virginiana</i>	0
<i>Platanus</i>	<i>occidentalis</i>	0
<i>Populus</i>	<i>balsamifera</i>	2
	<i>grandidentata</i>	1
	<i>tremuloides</i>	1
	<i>trichocarpa</i>	1
<i>Quercus</i>	<i>alba</i>	4
	<i>acutissima</i>	4
	<i>bicolor</i>	4
	<i>chrysolepis</i>	4
	<i>coccinea</i>	4
	<i>crispata</i>	4
	<i>dentata</i>	4
	<i>fulva</i>	3
	<i>fulcata var. pagodaefolia</i>	4
	<i>garryana</i>	4
	<i>imbricaria</i>	4
	<i>kelloggii</i>	4
	<i>laurifolia</i>	4
<i>Quercus</i>	<i>lobata</i>	4
	<i>lyrata</i>	4
	<i>macrocarpa</i>	4
	<i>marilandica</i>	4
	<i>michauxii</i>	4

Quercus	<i>muehlenbergii</i>	2
	<i>nigra</i>	4
	<i>palustris</i>	4
	<i>phellos</i>	4
	<i>prinus</i>	4
	<i>ruba</i>	4
	<i>serrata</i>	4
	<i>shumardii</i>	4
	<i>stellata</i>	4
	<i>variabilis</i>	4
	<i>velutina</i>	4
	<i>virginiana</i>	4
<i>Salix</i>	<i>nigra</i>	4
<i>Ulmus</i>	<i>rubra</i>	3
	<i>americana</i>	3
	<i>thomasi</i>	2

G. Substratos artificiales para producción del hongo y sus características

El cultivo de Shiitake en substratos artificiales es un método relativamente nuevo, aunque la respuesta del Shiitake al medio ambiente es idéntica y el hongo pasa por las mismas etapas de crecimiento (Przybyłowicz y Donoghue, 1988). Las principales ventajas de este método sobre el cultivo en troncos son el menor periodo de tiempo a cosecha y la mayor eficiencia biológica que se obtiene, lo que repercute en mayores rendimientos (Quimio et al., 1990). El Shiitake puede ser cultivado en una gran cantidad de materiales compuestos de celulosa y lignina (Przybyłowicz y Donoghue, 1988). Uno de los primeros reportes de obtención de basidiocarpos de *Lentinula edodes* en un medio artificial apareció en 1933, cuando Passecker uso bloques de madera prensada.

esterilizados e inoculados en un cilindro de vidrio para cultivar el hongo (Quimio et al., 1990).

Usualmente el aserrín de árboles de hoja ancha es el principal ingrediente del sustrato y generalmente compone del 60 al 90% del peso seco de la mezcla. Aserrín proveniente de especies de coníferas es usado donde el aserrín de árboles de hoja ancha es escaso, aunque la práctica más aconsejable es mezclar los dos tipos de aserrín para darle mejores propiedades al sustrato proveniente de coníferas. La madera proveniente de coníferas generalmente contiene resinas y compuestos fenólicos que inhiben el crecimiento de hongos. Estos compuestos tienen que ser degradados o removidos antes de usar el aserrín como medio de cultivo del Shiitake. El carbonato de sodio puede usarse como medio químico para remover parte de estos compuestos. Almacenar el aserrín en composteras al aire libre por un periodo de un año o más puede degradar parte de los compuestos, además de aumentar la accesibilidad de compuestos como la celulosa y de aumentar el nivel de nutrientes como el nitrógeno (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

La madera se compone mayormente de celulosa y lignina y en una menor proporción de hemicelulosas, pectinas y azúcares simples. Los niveles de nitrógeno en la madera son bajos, van desde 0.03 a 0.3% y pueden ser un factor limitante para su descomposición (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

1. Suplementos:

Al contrario de los troncos naturales, cuando se utilizan substratos artificiales para la producción del hongo, se puede manipular la mezcla de los componentes y aumentar la cantidad de nutrientes disponibles (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Se han probado una gran variedad de suplementos para el ascrín, entre estos la harina de avena, afrecho de cereales, harina de maíz y maíz molido (Royse, 1985; Petipher, 1988; Chang y Miles, 1989, citados por Worrall y Yang, 1992). Przybylowicz y Donoghue (1988), reportan como suplementos más usados al maíz, , avena, trigo, afrecho de trigo, afrecho de arroz, harina de diferentes semillas, soya, levadura y subproductos de destilerías. Productos agrícolas e industriales de desecho como las cáscaras de cocoa, olote de maíz, cascarilla de arroz y pulpa de frutas también han sido considerados como suplementos (Chang y Miles, 1989; Ohga, 1990, citados por Worrall y Yang, 1992). Estos substratos han obtenido diferentes grados de éxito, aunque en general no ha habido un substrato standard con el que hayan sido comparados (Worrall y Yang, 1992).

La finalidad de añadir suplementos al sustrato es acelerar el crecimiento del micelio e incrementar las cosechas. Los suplementos se añaden para incrementar los niveles de nitrógeno y carbohidratos disponibles. Niveles de nitrógeno de 0.5% se han reportado como los mejores para obtener cosechas máximas (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

2. Formulaciones del sustrato:

Las composiciones del sustrato pueden variar en cada región, dependiendo de lo que se encuentre disponible. Worrall y Yang (1992), sostienen que el desarrollo de una industria exitosa depende de la disponibilidad local de sustratos adecuados y de bajo costo. La mayor parte de las veces se hace referencia al aserrín mezclado en diversas proporciones con productos provenientes de granos, como el sustrato más utilizado (Przybylowicz y Dunoghue, 1988; Quimio et al., 1990; Koske, 1992; Worrall y Yang, 1992; Northwest Mycological Consultants Inc, 1993; Brookhart, 1994).

La mezcla "standard" que está más ampliamente distribuida se basa en un 80% de aserrín y 20% de suplementos, en base a peso seco, aunque las formulaciones pueden variar mucho dependiendo de la disponibilidad de materiales. Una mezcla común usada en Estados Unidos consiste de 80% aserrín, 10% afrecho y 10% granos. En Taiwan se usa un medio que contiene 84% aserrín, 5% afrecho de arroz, 5% afrecho de trigo, 3% harina de soya y 3% cal. En Suiza se ha reportado éxito con un medio que contiene 75% aserrín, 24% afrecho de trigo y 1% cal (Przybylowicz y Donoghue, 1988). Una mezcla de 80% de aserrín, 10% afrecho de trigo y 10% molindas de grano, ha probado tener buenas condiciones y es usada comercialmente (Royse, 1985, citado por Quimio et al., 1990).

Mientras más alta suplementación se tenga mejores rendimientos se van a obtener, pero esta suplementación también va a favorecer el crecimiento de competidores del hongo. El nivel de suplementación que se tenga tiene que estar directamente relacionado

con la limpieza de las instalaciones. Algunos cultivadores usan niveles de suplementación bajos para tener niveles más bajos de contaminación. Con esta mentalidad dos ejemplos del tipo de mezcla que se podría usar consistirían de 90% de aserrín, 10% afrecho de arroz y 0.2% de cal o 95% de aserrín, 5% de afrecho de arroz y 0.4% de fécula de maíz (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

3. Contenido de humedad:

Un contenido de humedad adecuado es importante para un buen desarrollo del micelio. El contenido óptimo de humedad antes de someter el sustrato al tratamiento con calor está entre 55% y 70%, esto depende de la fórmula del sustrato, el tamaño de partícula y la cantidad de agua a perderse durante la incubación (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Northwest Mycological Consultants Inc. (1993) aseguran que el porcentaje óptimo de humedad es del 55% y Quimio et al. (1990) dicen que este puede variar entre 55% y 68% dependiendo de la capacidad del aserrín para absorber agua.

4. Materiales de envasado:

Debido al proceso de esterilización al que se tiene que someter el sustrato, el envase que se use para contenerlo tiene que ser resistente al calor. El tipo de envase más usado es el de bolsas plásticas resistentes al proceso de esterilización. Las bolsas pueden

estar hechas de polietileno de alta densidad o de polipropileno. El polipropileno es el material más favorecido por los productores, ya que por su mayor claridad permite una observación más detallada del desarrollo del micelio (Químio et al., 1988).

Debido a que la permeabilidad a gases del polipropileno y del polietileno de alta densidad es muy limitada, se tiene que proveer un medio para que haya intercambio de gases. Esto se puede lograr colocando un tapón permeable, como por ejemplo algodón, y asegurándolo en la abertura de la bolsa con un tipo de amarre y material que soporte el calor sin dañar la bolsa. Algunas bolsas especiales para el cultivo de Shiitake cuentan con un filtro integral al material de la bolsa, llamado Tyvek, que permite el intercambio de gases y que elimina la necesidad de un tapón permeable (Przybylowicz y Donoghue, 1988; Químio et al., 1990).

5. Esterilización:

Antes de la inoculación el sustrato tiene que sufrir un proceso de esterilización para erradicar todos los microorganismos competidores que puedan interferir con el desarrollo del micelio (Químio et al., 1990). La esterilización se logra sometiendo el sustrato a una temperatura de 121°C por una hora, esto se logra con la ayuda de un autoclave. Otros métodos de esterilización, que usan vapor como fuente de calor, también son usados. Con estos métodos se somete el sustrato a una temperatura de 100°C por un periodo de 6 a 8 horas (Przybylowicz y Donoghue, 1988; Químio et al., 1990; Worrall y Yang, 1992; NorthwestMycological Consultants Inc., 1993).

6. Inoculación:

El sustrato debe ser inoculado con micelio sano, vigoroso y que se encuentre en crecimiento activo. Esta inoculación se debe hacer en las condiciones más asépticas que se pueda, siendo el uso de filtros de aire de alta eficiencia altamente recomendado. Si no se cuenta con este tipo de equipo se puede acondicionar un " cuarto limpio " donde se tenga un bajo conteo de esporas, y por lo tanto, mejores condiciones para efectuar las inoculaciones (Przybyłowicz y Donoghue, 1988; Químio et al., 1990).

H. La semilla y su producción:

La semilla consiste de sustrato que ha sido completamente permeado por el micelio, y es lo que se usa para introducir el hongo en los medios de cultivo. Es muy importante el uso de semilla de alta calidad en el cultivo, ya que muchas fallas se pueden deber a semilla débil y de baja calidad que fue incapaz de crecer y competir en el medio de cultivo (Przybyłowicz y Donoghue, 1988).

1. Tipos de semillas:

La semilla de Shiitake para inoculación en troncos tiene dos formas que son usadas extensivamente, semilla en forma de tacos y semilla en forma de aserrín. Las dos formas tienen ventajas y desventajas y la decisión de cual usar es determinada por el costo, disponibilidad, clima, tamaño de la operación y método de inoculación

(Przybylowicz y Donoghue, 1988). Para la inoculación en bolsas se usa también semilla en forma de aserrín, además de semilla en forma de granos y ocasionalmente semilla líquida (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

a. Tacos: consiste en tacos de madera permeados con micelio del hongo. Tiene la ventaja de que no se necesitan herramientas especializadas para realizar la inoculación y resisten mejor la pérdida de humedad, por lo que no se necesita sellar los agujeros donde se realizó la inoculación, esto ahorra tiempo y trabajo (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

b. Aserrín: usualmente es una mezcla de aserrín con algún tipo de suplemento en una proporción de 4:1. Este tipo de semilla tiene más alto nivel de nutrientes y humedad que los tacos, y es inoculada en agujeros más grandes. Por lo tanto, el micelio comienza la colonización de la madera más rápido. La desventaja que tiene, es que es más propenso a secarse y por lo tanto los agujeros inoculados con aserrín deben ser sellados con cera o alguna sustancia o material similar (Przybylowicz y Donoghue, 1988). Este tipo de semilla también es usado para la inoculación de bolsas, debido a que es muy similar al sustrato de cultivo, tiene la ventaja de que el micelio ya está adaptado a crecer sobre aserrín y por lo tanto se aclimata rápidamente al nuevo sustrato (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

c. Semilla en forma de granos: consiste de granos colonizados por el Shiitake. Este tipo de semilla se separa fácilmente en granos individuales, que pueden ser distribuidos uniformemente en el medio de cultivo, disminuyendo el tiempo de

colonización. La base de nutrimentos de los granos es muy diferente a la del aserrín, por lo que el micelio tiene que sufrir cambios metabólicos antes de empezar a colonizarlo. Debido a que los granos tienen un alto nivel nutritivo son más susceptibles a contaminantes que la semilla en forma de aserrín (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

d. Semilla líquida: es el método menos usado de inoculación. Consiste de micelio licuado como solución nutritiva. Sus ventajas son el gran número de partículas de inóculo que se introducen en el sustrato y la facilidad de inoculación. Sus desventajas son que el micelio tiene que adaptarse a crecer en el nuevo medio y que la pureza de la semilla debe ser absoluta, ya que los contaminantes pueden diseminarse mucho más que con los métodos convencionales (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

2. Producción de semilla:

La semilla se produce tomando micelio del hongo y multiplicándolo. El micelio se puede desarrollar a partir de esporas o por medio de cultivo de tejidos (Quimio et al., 1990). La multiplicación del micelio es un proceso exponencial, cada nuevo nivel se incrementa la cantidad de micelio por un factor de 10 o más (Przybylowicz y Donoghue, 1988). Para asegurar la calidad de la semilla se requieren condiciones estériles en todo el proceso y un estricto control de calidad para evitar la reproducción de organismos contaminantes junto al micelio (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Para la reproducción inicial del micelio se usan medios de agar semi-sintéticos, de los cuales el más popular es el de Papa-Dextrosa-Agar (PDA). La semilla que se va a usar como inóculo en el medio de cultivo no tiene que haber sido transferida de medio más de ocho veces, siendo éste el máximo recomendable para obtener cosechas aceptables (Quimio et al., 1990).

Existen casas comerciales y centros de investigación que trabajan con diferentes líneas del hongo que tienen uniformidad genética. El uso de estas líneas representa una ventaja enorme, ya que sus diferentes características de crecimiento, como temperaturas óptimas para cada etapa, velocidad de colonización, rendimiento potencial, etc., son conocidas. Se puede escoger una línea que se adapte perfectamente a las condiciones climáticas y de cultivo, con lo que se elevan las probabilidades de éxito. El uso de este tipo de líneas de micelio que provienen de casas comerciales serias, o centros de investigación es altamente recomendado (Quimio et al., 1990).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Ubicación:

En la realización de este trabajo se llevaron a cabo ensayos en la sección de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal y en las instalaciones para producción de hongos de la Zona # 3 del Departamento de Horticultura de la Escuela Agrícola Panamericana. Ambas se encuentran en el Valle del Río Yeguare, a 37 km. al este de Tegucigalpa, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. Su posición geográfica es de 14° de latitud norte, y 87° de longitud oeste y su altitud de 800 msnm.

Otra parte del estudio se llevó a cabo en la reserva del Monte Yuca, localizada a 1700 msnm en condiciones de un bosque nublado. Geográficamente, la reserva se encuentra entre los $14^{\circ}00'11''$ y $14^{\circ}01'49''$ de latitud Norte, y los $87^{\circ}01'40''$ y $87^{\circ}05'00''$ de longitud Oeste, en el Departamento de Francisco Morazán, Honduras.

B. Semilla:

La semilla que se utilizó procedía de una casa comercial japonesa y su presentación era en forma de tacos de madera peneados por el micelio del hongo. El cultivar utilizado recibe el nombre de "290".

Debido a la poca disponibilidad de semilla existió la necesidad de multiplicar la se tenía, por lo que se usó el siguiente procedimiento, con el cual Nakamura (no publicado) reportó éxito;

1. Se prepararon trozos de madera en forma de taco, de 2 cm de largo y 3/8 de pulgada de diámetro. La madera que se utilizó fue caoba, esto debido a ser la única madera no resinosa de la que había disponibilidad en ese momento.
2. Los tacos se dejaron remojoando en agua por un periodo de 10 horas.
3. Los tacos, mezclados con aserrín de *Quercus rubra* a 60% de humedad, se introdujeron en 10 envases de vidrio de 350 ml de capacidad. La boca del envase se tapó con algodón para permitir intercambio de gases.
4. Se sometió al envase y su contenido a un proceso de esterilización en un autoclave a 121°C por 1 hora.
5. Se dejó enfriar la botella hasta que alcanzó temperatura ambiente.
6. Se procedió a la inoculación del medio, para esto se usaron tres tacos que ya contenían micelio por cada envase. Para lograr condiciones asépticas todo el proceso se realizó en una cámara de transferencia equipada con un filtro de aire de alta eficiencia y con la ayuda de un mechero.
7. Los envases ya inoculados se colocaron dentro del cuarto para producción de hongos de Zona # 3 del Depto. de Horticultura, por un periodo de tres semanas, que fue lo que se tardó el micelio en colonizar el medio. Las condiciones del lugar fueron de oscuridad completa, exceptuando 30 minutos diarios que se usaban para las observaciones, así como para llenar el requerimiento de luz del micelio. La temperatura promedio durante las tres

semanas fue de 25 °C y la humedad relativa de 88%. Para estas mediciones se usó un higrotérmógrafo y para la calibración inicial de este se usó un Slin- Psychrometro para determinar la humedad relativa.

S. La semilla que se usó para la inoculación del cultivo en bolsas recibió exactamente el mismo tratamiento antes descrito, pero con la diferencia de que el medio de propagación de la semilla consistió de aserrín de *Quercus rubra* mezclado con afrecho de arroz en una proporción de 4:1 en base a peso. A la mezcla se le agregó agua hasta que llegó a 60% de humedad.

C. Especies de árboles utilizadas:

Se evaluaron tres especies de árboles como sustrato. Se usó *Quercus rubra*, *Liquidambar styraciflua* y *Mangifera indica*. El estudio del comportamiento del hongo sobre los tres tipos de madera se dividió en dos partes, ya que se evaluó la madera tanto en su forma natural de tronco, como en su forma de aserrín para cultivo en bolsas.

D. Cultivo en troncos:

Esta parte del estudio semeja las condiciones de una explotación semi-intensiva del hongo. Para esta parte del estudio se talaron troncos de 1.2 m de longitud y de aproximadamente 20 cm de diámetro, de cada una de las especies utilizadas. Después de talados se dejaron en reposo por oases, esto se hizo con el objetivo de dejar un tiempo

prudente para que desaparecieran todas las defensas del árbol que pudieran intervenir con el desarrollo del hongo. Durante este período de reposo se evitó que los troncos tuvieran un contacto directo con el suelo, ya que este es una fuente de contaminantes. También se evitó que los troncos perdieran mucha humedad, ya que esto puede comprometer la sobrevivencia y establecimiento inicial del micelio. Los dos problemas se solucionaron con un recubrimiento de plástico, tanto por encima como por debajo de los troncos.

Concluido el período de reposo se procedió a abrir 30 orificios uniformemente distribuidos en cada tronco a inocular. Esto se hizo con la ayuda de un barrenador eléctrico y una broca. Los orificios tenían 3 cm de profundidad y 3/8 de pulgada de diámetro. Al mismo tiempo que se hicieron los orificios se renovaron todos los líquenes y musgo que estaban adheridos a la corteza de los troncos, para evitar su competencia con el hongo. A continuación se procedió a la inoculación de los troncos, esto se hizo clavando tacos de madera de 2 cm de largo y 3/8 de pulgada de diámetro en los orificios abiertos. Estos tacos ya se encontraban permeados con micelio del hongo.

Los troncos inoculados fueron transportados a la parte alta del Monte Uyuca, donde ya se ha demostrado que existen condiciones favorables para el desarrollo del hongo. Se dejaron sobre una capa de plástico para evitar su contaminación por el contacto con el suelo y se acomodaron en forma cruzada con dos troncos en la base y después cuatro troncos en los siguientes niveles. La muestra consistió de 4 troncos de cada especie de árbol utilizada y se hicieron 3 repeticiones.

E. Cultivo en bolsas:

Esta parte del estudio semeja las condiciones en una explotación de manejo intensivo. Para esta parte se fabricaron troncos sintéticos que reproducen las condiciones que hacen posible el crecimiento del bongo en los troncos naturales, pero que tienen mayor contenido nutricional y en una forma mucho más disponible para el hongo. Esto hace que aumente la eficiencia y que se puedan obtener cosechas en un período de solo 90 días, que es mucho más rápido que en troncos naturales. Cada tronco sintético contenía 500 g de materia seca, a la que se le había agregado agua para alcanzar 60% de humedad.

El tamaño de muestra fue de 5 bolsas por cada especie de árbol utilizada y se hicieron tres repeticiones.

1. Composición del medio de crecimiento:

El medio de crecimiento estuvo compuesto por aserrín y afrecho de arroz, en una proporción de 4:1 en base a peso fresco.

Se obtuvo el aserrín con la ayuda de una motosierra, fue recolectado en sacos y posteriormente fue puesto a secar al sol para reducir al mínimo su contenido de humedad.

El afrecho de arroz se usó como un tipo de suplemento para aumentar el nivel de nutrientes de la mezcla y proporcionar carbohidratos rápidamente disponibles al hongo. El afrecho de arroz contiene en promedio 11.6% de minerales, 13.7% de grasas, 37% de carbohidratos, 2% de nitrógeno y 16% de fibra ácido detergente, todo esto en base a peso fresco. (US-Canadian Tables of Feed Composition, 1982, citado por Przybylowicz y Donoghue, 1988.)

2. Contenido de humedad de la mezcla:

Toda la mezcla se estandarizó a 60% de humedad, que es lo óptimo para el crecimiento del micelio. Para lograr este porcentaje se tomó en cuenta el contenido de humedad de los materiales, por lo que se hizo una prueba de contenido de materia seca, cuyos resultados se presentan en el siguiente cuadro;

CUADRO 5. Porcentaje de humedad del material utilizado.

MATERIAL	PORCENTAJE DE HUMEDAD
Afrecho de arroz	11.18
Aserrín de <i>Quercus rubra</i>	11.87
Aserrín de <i>Liquidambar styraciflua</i>	11.15
Aserrín de <i>Mangifera indica</i>	10.47

Conociendo el contenido de humedad de los materiales, fue posible agregar la cantidad de agua exacta para que la mezcla alcanzara 60% de humedad.

3. Material de envases:

La mezcla se envasó en bolsas de polipropileno. El polipropileno es un tipo de plástico de alta densidad que resiste el proceso de autoclavado y por lo tanto es ideal para someter el medio al proceso de esterilización. La bolsa cumple las mismas funciones que cumpliría la corteza en un tronco, ya que protege la mezcla de la pérdida de agua y de la invasión de contaminantes.

4. Intercambio gaseoso:

El polipropileno no permite casi nada de intercambio gaseoso, por lo que las bolsas fueron cerradas con un trozo de algodón tapando la apertura de la bolsa. Este dispositivo permite el intercambio gaseoso, pero no el ingreso de contaminantes a la mezcla.

5. Esterilización del medio:

Las bolsas fueron sometidas a un proceso de esterilización en un autoclave. Se sometió la mezcla a una temperatura de 121 °C por el período de una hora. Es importante hacer notar que las bolsas deben de tener el dispositivo de intercambio gaseoso ya colocado al momento de la esterilización, ya que de estar las bolsas herméticamente cerradas es muy probable que con la presión provocada por el autoclave se rompan o se dañen de tal manera que permitan el ingreso de contaminantes al medio de cultivo.

6. Inoculación:

Después de que las bolsas alcanzaron temperatura ambiente se procedió a la inoculación de las mismas. Cada bolsa se inoculó con aproximadamente 50 g de aserrín que contenía micelio en crecimiento activo. Para este proceso se utilizó una cámara de transferencia de flujo laminar.

7. Condiciones para la corrida del micelio:

Las bolsas ya inoculadas fueron llevadas a las instalaciones para producción de hongos de Zona # 3 del Depto. de Horticultura, donde se presentó una temperatura promedio de 25 °C y una humedad relativa del 88%. Existieron condiciones de oscuridad absoluta, exceptuando media hora diaria que se utilizaba para la inspección de las bolsas y para satisfacer las necesidades de luz del micelio.

F. Evaluación de materiales para propagación de semilla:

Como complemento del estudio se evaluaron seis materiales para la propagación de la semilla. Los materiales usados fueron maíz, sorgo y arroz en grano y aserrín de *Quercus rubra*, *Mangifera indica*, y *Liquidambar styraciflua*. El aserrín utilizado estaba mezclado con alfecho de arroz en una proporción de 4:1. En el estudio se evaluaron las diferencias en rapidez de crecimiento y vigor del micelio entre los 3 tipos de aserrín y los

3 tipos de granos, comparándose también la ventajas y desventajas de usar aserrín o granos como semilla.

1. Cultivo de tejidos:

Debido a la poca disponibilidad de semilla se dio la necesidad de obtener micelio fresco por medio de cultivo de tejidos. Para esto se utilizaron hongos frescos y completamente desarrollados. Los hongos se lavaron con agua y luego se procedió a cortarlos por la mitad en sentido longitudinal. Se tomaron pequeños pedazos del tejido del hongo, principalmente del área donde se unen las agallas de la parte inferior de la capa del hongo y el talluelo. Los pedazos fueron sembrados en platos Petri que contenían una solución de Papa-Dextrosa-Agar (PDA), y se dejaron a temperatura ambiente ($\pm 26^{\circ}\text{C}$) y en completa oscuridad por un período de 2 semanas, después de las cuales todo el medio estaba colonizado y el micelio presentaba un vigor muy alto. Todos los materiales utilizados fueron desinfectados con alcohol al 70% y con flameo. Para lograr asepsia todo el proceso se realizó dentro de una cámara de flujo laminar y utilizando la ayuda de un mechero.

2. Ensayo en platos Petri:

Se llevó a cabo un ensayo en platos Petri, utilizando los seis diferentes medios en evaluación. Esto se hizo, ya que los platos Petri son menos propensos a la contaminación y

la observación de los avances y vigor del micelio se facilitan mucho en ellos. La muestra utilizada fue de 6 platos Petri por cada tipo de material que se evaluó.

Para el ensayo se colocaron 10 g de material y 12 ml de agua dentro de cada plato Petri. Los platos se sometieron a un proceso de esterilización en un autoclave a 121°C por 1 hora. Después que los platos se enfriaron a temperatura ambiente se procedió a su inoculación con un solo trozo de medio PDA colonizado con micelio en crecimiento activo.

Los platos se colocaron en una incubadora que mantenía una temperatura constante de 25°C y completa oscuridad, exceptuando media hora diaria que eran expuestos a la luz para su observación y para llenar el requerimiento de luz del micelio.

3. Ensayo en bolsas:

El desarrollo del hongo en los 6 materiales también fue evaluado usando bolsas de polipropileno como envase de los medios de crecimiento. Esto se hizo para dar condiciones de producción más reales, ya que las bolsas de polipropileno están mucho más expuestas a los contaminantes que los platos Petri y la cantidad de semilla que se puede producir en ellas es mucho mayor y adecuada para una producción comercial.

Las bolsas se llenaron con 250 g de ~~material~~ y 150 ml de agua y fueron sometidas al mismo proceso de esterilización, inoculación y condiciones ambientales ~~con~~ las que se trabaja en el cultivo en bolsas.

El tamaño de la muestra utilizada fue de 3 bolsas y se hicieron 2 repeticiones con 15 días de diferencia entre ambas.

G. Información tomada:

El método que se usó para determinar las diferencias de viabilidad de los medios y la velocidad de crecimiento y vigor del micelio en cada medio fue la observación y comparación visual directa.

En el cultivo en bolsas se hacía una revisión diaria de las bolsas y se llevó un registro semanal, en el que se describía el progreso individual del micelio de cada bolsa, sus niveles de contaminación y otros problemas que se presentaban. Al mismo tiempo se hacía una comparación entre los 3 diferentes medios de cultivo, estableciendo un promedio del desempeño de las bolsas de cada sustrato específico.

Para el cultivo en troncos se comprobó el nivel de establecimiento del micelio en cada especie utilizada y los problemas que presentó cada especie individual como susceptibilidad a contaminación por otros hongos o daño por insectos. El proceso de comprobación de colonización es un proceso destructivo, ya que implica la remoción de

parte de la corteza del árbol y por consiguiente del mecanismo protector que impide el ingreso de contaminantes a la madera. Por lo tanto, se trató de mantener al mínimo estas exploraciones para no comprometer la cosecha posterior de hongos, comprobándose la colonización del hongo en cada especie y detectando diferencias en el prendimiento del inóculo.

Para la evaluación de los materiales para semilla se hicieron observaciones y reportes diarios, en los que se describían los adelantos en crecimiento y vigor del medio. Aquí la observación se facilitó mucho gracias a la superficie uniforme que se logra en un plato Petri. Cada medio fue comparado primero dentro de su clase (aserrín o grano) y luego se comparó el desempeño del micelio en granos y en aserrín. El ensayo de substratos para semilla que se hizo en bolsas, también fue evaluado diariamente y se utilizó el mismo procedimiento de comparación que se usó con los platos Petri.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Cultivo en bolsas:

1. Primera semana:

Se pudo observar la superioridad del aserrín de mango en cuanto a establecimiento inicial del micelio se refiere, ya que 11 de las 15 bolsas (73.3%) que componían la muestra presentaron un crecimiento excelente, que incluso ya no permitía la observación del sustrato. El micelio que creció sobre el mango presentó una colonización rápida y vigorosa.

En el caso del *Quercus rubra*, 9 de las 15 bolsas (60%) presentaron una buena colonización del micelio, aunque este no fue tan vigoroso como el de mango, ya que la observación del aserrín todavía era posible.

De las quince bolsas que contenían sustrato a base de liquidambar, solo seis (40%) mostraron un buen crecimiento en la primera semana. En muchos casos se observó que existe crecimiento de micelio en todo el sustrato, pero el vigor del crecimiento era muy pobre. La observación del aserrín es mucho más fácil que en los otros dos sustratos.

Desde la primera semana se empezaron a notar problemas de contaminación, esto debido al mal estado de las bolsas, ya que se les abrieron pequeñas fisuras al momento de la esterilización debido a la presión a la que fueron expuestas y a que en ese momento estaban cerradas herméticamente.

La contaminación en esta primera etapa afectó mucho más al liquidambar que a los otros dos sustratos. Esto puede deberse a que la velocidad de crecimiento fue más lenta en este sustrato y el vigor del micelio también era menor, por lo tanto, presentaba mejores condiciones para la competencia de mohos verdes de rápido crecimiento.

2. Segunda semana:

Al finalizar la segunda semana de observaciones, nuevamente se detectaron mejores condiciones de crecimiento en el serrín de mango. Se observó excelente cubrimiento del micelio sobre el sustrato en 14 de las 15 bolsas de la muestra. En esta etapa se empezaron a observar problemas de contaminación, aunque esta estaba localizada en pequeños porcentajes del área de la bolsa y parecía estar controlada gracias al vigor del micelio de Shiitake.

En *Quercus* se observó un avance respecto a la semana anterior, esto evidenciado por un cubrimiento más completo del sustrato, aunque en menor proporción que en mango. Los problemas de contaminación en este caso se encontraban afectando en forma fuerte a 6 de las 15 bolsas.

En liquidambar la velocidad de colonización más lenta fue un factor determinante para el fracaso del sustrato, ya que el micelio fue incapaz de competir con los mohos que tienen una reproducción mucho más rápida y como consecuencia todas las bolsas se encontraban afectadas por la contaminación a esta altura de las observaciones.

3. Tercera semana:

A la tercera semana de observaciones el único sustrato en el que el micelio todavía resistía en cierto grado la contaminación por mohos fue el mango, ya que aproximadamente la mitad de las bolsas todavía presentaban un cubrimiento excelente.

En *Quercus* la contaminación fue tan severa que en la mayoría de las bolsas se había perdido la mitad o un tercio del sustrato, aunque en la parte de la bolsa no contaminada todavía se podía observar un buen cubrimiento por parte del micelio.

La totalidad de las bolsas que contenían aserrín de liquidambar presentaron una contaminación tan alta que se dio por perdido el micelio y se optó por sacar las bolsas del cuarto de crecimiento.

4. Cuarta semana:

A la cuarta semana las condiciones de contaminación en las que se encontraba el sustrato hicieron imposible la producción de hongos en ellos, por lo que se procedió a sacar las bolsas del cuarto de crecimiento. En la observación posterior de las bolsas se pudo comprobar que la fuente de contaminación fueron pequeñas fisuras que tenían las mismas, provocadas por la alta presión durante el proceso de esterilización. Se llegó a esta conclusión, ya que generalmente ahí se encontraba concentrada la mayor cantidad de contaminantes. Es importante hacer notar, que el moño se encontraba mayormente en la superficie externa de el bloque de aserrín, pegado a la bolsa y no así dentro del sustrato donde la incidencia de este era mucho menor.

B. Cultivo en troncos:

En el cultivo en troncos se observó colonización en los troncos de las tres especies de árboles. A diferencia que en el cultivo en bolsas, en el cultivo en troncos el sustrato que tuvo más éxito fue el *Quercus ngra*, comprobándose que había colonización del hongo en la totalidad de orificios que fueron abiertos para la exploración. El micelio tenía un crecimiento vigoroso y estaba colonizando el grano de la uradere, ya que este presentaba un color anarillo.

En mango también se comprobó que el micelio estaba colonizando la madera, aunque solo se encontró micelio en el 70 % de los orificios exploratorios. Este sustrato fue el único en el que se observó presencia de contaminantes, ya que se encontraron cuerpos fructificantes de otro tipo de hongo en los extremos de todos los troncos de la muestra. Este tipo de sustrato también fue sujeto al ataque de termitas que perforaban la madera.

En liquidambar se tuvo un éxito moderado con el pegue del inóculo, ya que solo se encontró micelio en el 40% de los orificios exploratorios. Probablemente se pueda mejorar esto con semilla de mejor calidad. El sustrato presentó la ventaja de no ser afectado por ningún tipo de contaminantes.

C. Substratos para semilla:

1. Sorgo:

El sorgo demostró ser el mejor de los tres tipos de granos que se usó como sustrato para la producción de semilla. Esto se puede atribuir tanto a su nivel nutricional, como a la textura y tamaño del grano.

El micelio tuvo un crecimiento mucho más rápido que en los otros 5 medios, llegando a cubrir en su totalidad una bolsa conteniendo 400g de sorgo en solo semana y media.

La diseminación del micelio se facilitó gracias al pequeño tamaño del grano, lo que hace fácil el avance del micelio entre los granos. El tamaño del grano también fue una ventaja a la hora de la inoculación, ya que el bloque de granos se divide fácilmente en granos individuales y estos son fáciles de distribuir uniformemente en el medio de cultivo, con lo que se logra una inoculación más homogénea.

Es importante hacer notar que aunque el crecimiento del micelio en granos es mucho más rápido que en aserrín, también implica un gran riesgo por su susceptibilidad a sufrir contaminación. Esto sucede ya que los granos son un sustrato mucho menos selectivo para Shiitake que el aserrín y una multitud de organismos puede crecer sobre ellos. Los granos son especialmente susceptibles a ataque de bacterias, y fue con estas que se encontró el mayor problema en la realización de este ensayo.

2. Maíz:

En maíz el micelio tuvo un crecimiento vigoroso sobre los granos donde se había inoculado. Sin embargo, tuvo muchos problemas en su rápida diseminación sobre todo el sustrato de cultivo. Esto se puede atribuir al tamaño demasiado grande de los granos que hacía difícil la diseminación del micelio de uno a otro grano. Solo se obtuvo un éxito limitado.

3. Arroz:

El arroz fue el del peor desempeño de los sustratos compuestos de granos. El inóculo tuvo una colonización limitada de los granos que estaban inmediatos a él, pero el crecimiento no prosperó en ninguno de los componentes de la muestra, se obtuvo solamente pequeñas manchas de micelio de un vigor raquítico.

La principal causa de este fracaso fue la consistencia del arroz, ya que este no soportó muy bien el proceso de autoclave y la mayor absorción de agua, teniendo al final una consistencia casi de masa, nada favorable para el desarrollo del hongo.

4. Quercus y Mangu:

Se incluye el aserrín de estas dos especies dentro de la misma categoría, ya que tuvieron un comportamiento muy similar a lo largo de todo el estudio. En ambos el micelio tuvo un crecimiento rápido y vigoroso.

Este tipo de aserrín es la mejor opción para la producción de semilla, ya que le proporciona un medio de crecimiento adecuado al micelio, al mismo tiempo que no presenta los mismos problemas de contaminación de la semilla a base de granos. El aserrín es un sustrato mucho más selectivo para Shiitake y el micelio no tiene que atravesar por cambios metabólicos cuando se traspasa semilla en forma de aserrín a los sustratos de cultivo,

5. Liquidambar:

El micelio que se desarrolló en este sustrato tuvo un crecimiento y vigor inferior al que se desarrolló en aserrín de *Quercus* y mango. Sin embargo, se logró detectar que esta diferencia era mucho más marcada en el periodo inicial de establecimiento del micelio y disminuía posteriormente, ya que al final el micelio presentaba un vigor y crecimiento aceptable, aunque algo inferior al de los otros tipos de aserrín.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Como principales conclusiones de este estudio se tiene que es posible el cultivo del hongo en la madera de las tres especies de árboles utilizados. La especie de mejor aptitud para el cultivo es el *Quercus nibra*, ya que tuvo un buen desempeño tanto en cultivo en troncos, como en cultivo en bolsas y como sustrato para semilla. El mango tuvo un excelente comportamiento como sustrato para cultivo en bolsas y como sustrato para propagación de semilla, pero es posible que tenga problemas en el sistema de cultivo en troncos, ya que fue el único que presentó problemas de contaminación y ataque de insectos en este sistema de cultivo. Usando aserrín de mango se probó que es posible utilizar la madera de las podas de plantaciones de frutales como sustrato para cultivar el hongo, se tendrían que hacer más estudios para estudiar la viabilidad del cultivo del hongo en otras especies de frutales. El liquidambar fue el sustrato de desempeño más pobre, tuvo la desventaja de no permitir un establecimiento rápido del micelio, pero puede ser una alternativa viable, ya que el micelio llega a tener un desarrollo aceptable en él.

En lo referente a sustratos para propagación de semilla se concluye que lo mejor cuando no se tiene mucha experiencia, es propagarla en un sustrato a base de aserrín. Es más difícil de manipular a la hora de la inoculación y es un poco más lento que en los granos, pero es mucho menos susceptible a contaminación, que es uno de los principales problemas del cultivador inexperto y además el micelio no tiene que sufrir cambios metabólicos al ser traspasado al sustrato de cultivo, ya que este generalmente se compone en su mayoría de aserrín.

Si se tienen instalaciones adecuadas y una técnica aséptica efectiva, es mejor hacer la propagación de la semilla en granos de sorgo. Esto se debe a que el proceso es más rápido que en aserrín y se logra una mejor distribución del inóculo en el sustrato de cultivo y por lo tanto una colonización más rápida y uniforme.

Se lograron identificar los factores críticos para tener éxito en el cultivo del hongo, estos son: Usar semilla de calidad, que tenga alto vigor y la asepsia total a lo largo de todo el proceso del cultivo. Si se logra cumplir con estos dos factores está casi asegurado el éxito de la explotación.

Se recomienda que se siga monitoreando los troncos ubicados en la reserva del Monte Uyuca, para determinar diferencias en la producción relacionadas con el sustrato de crecimiento y el establecimiento de una explotación más grande en este lugar, ya que existen las condiciones adecuadas para ello y es un cultivo que no interfiere con el equilibrio natural ni el medio ambiente.

Otra recomendación es que se adquiera semilla joven de una casa comercial conocida para continuar con los estudios sobre este cultivo.

VI. RESUMEN

El hongo Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), que se cultiva en madera o aserrín de madera, ha mostrado un incremento en su demanda en los últimos años. Cada tipo de madera tiene características únicas. La disponibilidad de nutrientes, densidad y características de la corteza afectan el desarrollo y producción del hongo. Si se conocen las especies que ofrecen las mejores condiciones para el desarrollo del hongo se puede aumentar los rendimientos, reducir prácticas de manejo y aumentar la vida útil. Este estudio evaluó el comportamiento del micelio del hongo en *Quercus rubra*, *Liquidambar styraciflua* y *Mangifera indica* y consistió de tres partes:

La primera reflejó las condiciones de una explotación semi-intensiva. Se cortaron troncos de 1.2 m x 20 cm y se dejaron en reposo un mes para que desaparecieran todas las defensas del árbol que pudieran interferir con el hongo. Luego se abrieron 30 orificios uniformemente distribuidos en cada tronco y se procedió a la inoculación clavando trocos de madera infectados con el micelio dentro de los orificios. Se utilizaron cuatro troncos por cada especie de árbol y tres repeticiones. Esta parte fue realizada en el bosque del monte Uyuca, donde existen condiciones favorables para el hongo.

La segunda parte imitó una explotación de manejo intensivo. Se usó troncos sintéticos compuestos de una mezcla de aserrín y afrecho de arroz en una proporción de 4:1 empacados en bolsas de polipropileno resistentes a la esterilización en autoclave y que cumplen una función de protección similar a la de la corteza en los troncos. Cada tronco sintético estaba compuesto de 500 g de materia seca, a la cual se le agregó agua para que su humedad llegara a 60%, la apropiada para el desarrollo del hongo. Cada bolsa fue esterilizada y se inoculó con micelio en crecimiento activo. Esta parte se realizó en las instalaciones del Depto. de Horticultura de la E.A.P. y consistió de cinco troncos sintéticos por cada tipo de aserrín, con tres repeticiones.

En la tercera parte a los 3 sustratos se añadió sorgo, maíz y arroz y los 6 recibieron el mismo tratamiento que para cultivo en bolsa y consistió de 6 platos Petri y 6 bolsas de polipropileno por cada medio de crecimiento.

La evaluación se hizo por comparaciones visuales directas y se tomó en cuenta el ritmo de crecimiento del micelio y su vigor. El micelio tuvo un comportamiento similar y superior en mango y *Quercus*, aunque el mango puede tener problemas para su utilización en cultivo en troncos, ya que fue el único que tuvo presencia de contaminantes en esta modalidad de cultivo. En *Liquidambar* el desarrollo fue más lento y la vitalidad inferior, aunque las diferencias entre sustratos fueron más grandes durante el período de establecimiento del micelio.

El mejor sustrato para propagación de semilla fue el sorgo, sin embargo, cuando se utilizaron granos como medio de propagación la contaminación fue mucho más grave, aunque el desarrollo más rápido y la distribución del inóculo más uniforme en el medio de cultivo. El mango y *Quercus* nuevamente permitieron un buen desarrollo del micelio.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ALEXOPOULOS, C.P.; MINS, C.W. 1979. *Introductory mycology*. 3 ed. New York, E.U.A., John Wiley & Sons. 632 p.
- BROOKHART, B. 1994. Shiitake sales mushroom. *America Vegetable Grower Western Edition* (E.U.A.) January 1994: 36G-36H.
- FAO (ITALIA). 1993. *The challenge of sustainable forest management What future for the world's forests?*. Roma, Italia, FAO. 128 p.
- KOSKE, T.J. 1992. *Producing Shiitake the fancy forest mushroom*. E.U.A. Louisiana State University Agricultural Center/ Louisiana Cooperative Extension Service. Publicación 2492. 11 p.
- NORTHWESTMYCOLOGICAL CONSULTANTS, INC. 1993. *Mushroom cultivation catalog*. Corvallis, Oregon, E.U.A. Northwest Mycological Consultants, Inc. 21 p.
- PRZYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. 1988. *Shiitake growers handbook*. Dubuke, Iowa, E.U.A., Kendall /Hunt Publishing Company. 216 p.
- QUIMIO, T.H.; CHANG, S.T.; ROYSE, D.J. 1990. *Technical guidelines for mushroom growing in the tropics*. Italia. Colección FAO: Plant Production and Protection Paper no. 106. 155 P.
- RAMBELLI, A. 1983. *Manual on mushroom cultivation*. Italia. Colección FAO: Plant Production and Protection Paper no. 43. 65 p.
- WORRALL, J.J.; YANG, C.S. 1992. Shiitake and oyster mushroom production on apple pomace and sawdust. *HortScience* (E.U.A.) 27 (10): 1131 - 1133.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Cambios en el nombre científico y clasificadores del Shiitake a través del tiempo.

<i>Collybia shiitake</i>	Schroet. (1866)
<i>Agaricus edodes</i>	Berk. (1877)
<i>Armillaria edodes</i>	(Berk.) Sacc.(1877)
<i>Agaricus russaticeps</i>	Berki.(1888)
<i>Leptota shiitake</i>	Schroet.(1889)
<i>Lentinus tonkinensis</i>	Pat.(1890)
<i>Mastuleucomyces edodes</i>	(Berk.) ● Kuntze.(1891)
<i>Pleurotus russaticeps</i>	(Berk.) Sacc. (1891)
<i>Cortinellus shiitake</i>	(Schroet.) Henn.(1899)
<i>Tricholoma shiitake</i>	(Schroet.) Lloyd (1918)
<i>Cortinellus berkeleyanus</i>	Ito, Imai. (1925)
<i>Lentinus shiitake</i>	(Schroet.) Singer.(1936)
<i>Cortinellus edodes</i>	(Berk.) Ito, Imai (1933)
<i>Lentinus edodes</i>	(Berk.) Singer (1941)
<i>Lentinula edodes</i>	(Berk.) Pegler (1975)

ANEXO 2. Compuestos biológicos activos presentes en el Shiitake y su efecto sobre la salud.

COMPUESTO	EFEECTO	TIPO DE COMPUESTO	ACTIVIDAD
Eritadenina	baja colesterol. antiviral	derivado de la adenina	acelera el metabolismo y la excreción de colesterol
Ac2P	antiviral	polisacárido	inhibe la replicación viral
Partículas parecidas a virus.	antiviral antitumoral	RNA de doble cadena.	induce producción de interferón
KS-2	antitumoral antiviral	polisacárido	induce producción de interferón
Lentian.	antitumoral	polisacárido	estimula las células en el sistema inmunológico
LAPI	antitumoral	polisacárido	modulador del sistema inmunológico
Polifenol oxidasa	antitumoral	proteína	desconocida
Desconocido	reduce la coagulación de la sangre	posiblemente nucleótidos	inhibe la agregación de plaquetas
Corinellina	antibacterial	desconocido	antibiótico de amplio espectro
Desconocido	fungistático	disulfida	desconocido
FBP	antiviral	proteína	inhibe la infección viral en plantas

Fuente: Przybylowicz y Donoghue, 1988.

DATOS BIOGRAFICOS DEL AUTOR

Nombre: Marco Antonio Morales Sagastume.

Lugar y fecha de nacimiento:

Ciudad de Guatemala, 9 de abril de 1973.

Educación Primaria:

Colegio Capouilliez (1980-1986), Guatemala, Guatemala.

Educación Secundaria:

Colegio Interamericano (1987-1990), Guatemala, Guatemala.

Título obtenido:

Bachiller en Ciencias y Letras.

Educación Superior:

Escuela Agrícola Panamericana (1991-1993), El Zamorano, Honduras.

Título obtenido: Agrónomo.

Escuela Agrícola Panamericana (1994-1995), El Zamorano, Honduras.

Título obtenido: Ingeniero Agrónomo.