

**DETERMINACIÓN DEL SUSTRATO DE MAYOR EFICIENCIA PARA EL CULTIVO
DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) A PARTIR DE RESIDUOS AGRÍCOLAS A
ESCALA DE LABORATORIO**

GERMÁN ANDRÉS ARENAS DÍAZ

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADO
BUCARAMANGA
2018**

**DETERMINACIÓN DEL SUSTRATO DE MAYOR EFICIENCIA PARA EL CULTIVO
DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) A PARTIR DE RESIDUOS AGRÍCOLAS A
ESCALA DE LABORATORIO**

**GERMÁN ANDRÉS ARENAS DÍAZ
CÓDIGO: 240725**

Proyecto de grado, para optar por el título de ingeniero ambiental

**Director
MSc. Yolanda Gamarra Hernández
Profesora Facultad de Ingeniería Ambiental
Universidad Pontificia Bolivariana**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
COMITÉ DE TRABAJOS DE GRADO
BUCARAMANGA
2018**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del jurado

Jurado Calificador

Jurado Calificador

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por la vida, sus bendiciones, mi familia, mis amigos, la naturaleza y por poner en mí camino a las personas correctas en los momentos oportunos.

A mi familia por los principios inculcados, su apoyo continuo e incondicional y por ser ese motor que me lleva a alcanzar las metas.

A mi directora de trabajo de grado, Yolanda Gamarra Hernández, por sus consejos, dedicación, asesoramiento y enseñanzas durante el desarrollo del proyecto.

A los profesores René Carreño y Brayan Ortiz, por su apoyo, colaboración y gran aporte en cuanto a la cámara de emulación del clima y de igual manera a Naidú Villamizar por su colaboración en el laboratorio de Microbiología y al profesor Olmedo González por su asesoramiento en cuanto al análisis estadístico y buena disposición.

A las profesoras Sandra Correa y Angélica María Muskus, por sus valiosas correcciones.

A mi compañero de trabajo Carlos Chiriví, por todos sus aportes y acompañamiento durante el desarrollo del proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. Objetivo General	4
2.2. Objetivos Específicos	4
3. ANTECEDENTES	5
4. MARCO TEÓRICO	9
5. METODOLOGÍA	21
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
7. CONCLUSIONES	47
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Contenido nutricional en 100 g de shiitake.....	14
Tabla 2. Principales vitaminas en 100 g de shiitake.....	14
Tabla 3. Minerales en 100 g de shiitake.....	14
Tabla 4. Composición nutricional de la tusa del maíz	17
Tabla 5. Composición de la borra de café.....	18
Tabla 6. Contenido mineral de la borra de café	19
Tabla 7. Condiciones fisicoquímicas para el cultivo del shiitake	19
Tabla 8. Distribución de los componentes en los tratamientos.	22
Tabla 9 Condiciones ambientales en la cámara de emulación del clima	29
Tabla 10. Grado de pardeamiento de las unidades experimentales	32
Tabla 11. Unidades experimentales que presentan pardeamiento	32
Tabla 12. Generación de Cuerpos fructíferos durante 8 semanas.....	34
Tabla 13. Número de cuerpos fructíferos.....	34
Tabla 14. Resumen análisis de varianza para número de cuerpos fructíferos.....	34
Tabla 15. Análisis de varianza para número de cuerpos fructíferos.....	35
Tabla 16. Peso final de las unidades experimentales (g).....	36
Tabla 17. Resumen análisis de varianza para los pesos finales de las unidades experimentales.....	36
Tabla 18. Análisis de varianza para los pesos finales de las unidades experimentales	37
Tabla 19. Medidas cuerpos fructíferos	38
Tabla 20. Promedios de la longitud del pie	40
Tabla 21. Resumen análisis de varianza para los promedios de la longitud del pie de los cuerpos fructíferos.....	40
Tabla 22. Análisis de varianza para los promedios de la longitud del pie de los cuerpos fructíferos	40
Tabla 23. Promedios del ancho del sombrero.....	42
Tabla 24. Resumen análisis de varianza para los promedios del ancho del sombrero en los tratamientos.....	42

Tabla 25. Análisis de varianza para los promedios del ancho del sombrero en los tratamientos	42
Tabla 26. Medición de pH	44
Tabla 27. Tasa de biodegradación	44
Tabla 28. Resumen análisis de varianza para la tasa de biodegradación de las unidades experimentales	45
Tabla 29. Análisis de varianza para la tasa de biodegradación de las unidades experimentales	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diseño experimental	22
Figura 2. Unidades experimentales.....	23
Figura 3. Unidades experimentales en la cámara de emulación de clima.....	24
Figura 4. Medidor de temperatura y humedad relativa.....	27
Figura 5. Colonización unidad experimental TE5.....	31
Figura 6. Gráfica del desarrollo del pardeamiento	33
Figura 7. Preparación unidades experimentales	54
Figura 8. Inicio de la colonización del sustrato en la cámara de emulación del clima ...	54
Figura 9. Colonización TA4	55
Figura 10. Colonización TB4	55
Figura 11. Colonización TC4.....	55
Figura 12. Colonización TD3.....	55
Figura 13. Colonización TE5	55
Figura 14. Pardeamiento TA1. Semana 4	56
Figura 15. Pardeamiento TB3. Semana 4	56
Figura 16. Pardeamiento TC3. Semana 4	56
Figura 17. Pardeamiento TD3. Semana 4.....	56
Figura 18. Pardeamiento TE4. Semana 4	57
Figura 19. Pardeamiento y formación de protuberancias TA1. Semana 5	57
Figura 20. Pardeamiento y formación de protuberancias TB3. Semana 5	57
Figura 21. Pardeamiento y formación de protuberancias TC3. Semana 5.....	57
Figura 22. Pardeamiento y formación de protuberancias TD3. Semana 5.....	57
Figura 23. Pardeamiento y formación de protuberancias TE4. Semana 5	58
Figura 24. Pardeamiento y formación de protuberancias TA1. Semana 6	58
Figura 25. Pardeamiento y formación de protuberancias TA4. Semana 6	58
Figura 26. Pardeamiento y formación de protuberancias TB3. Semana 6	58
Figura 27. Pardeamiento y formación de protuberancias TC3. Semana 6.....	58
Figura 28. Pardeamiento y formación de protuberancias TC4. Semana 6.....	59
Figura 29. Pardeamiento y formación de protuberancias TD5. Semana 6.....	59

Figura 30. Pardeamiento y formación de protuberancias TE4. Semana 6	59
Figura 31. Pardeamiento y fructificación TA1	59
Figura 32. Pardeamiento y fructificación TA2.....	59
Figura 33. Pardeamiento y fructificación TA4.....	60
Figura 34. Pardeamiento y fructificación TA5.....	60
Figura 35. . Pardeamiento y fructificación TB5.....	60
Figura 36. . Pardeamiento y fructificación TC3	60
Figura 37. Pardeamiento y fructificación TC4	60
Figura 38. Pardeamiento y fructificación TD3	60
Figura 39. Pardeamiento y fructificación TD4	60
Figura 40. Pardeamiento y fructificación TE2.....	60
Figura 41. Pardeamiento y fructificación TE4.....	61
Figura 42. Pardeamiento y fructificación TE5.....	61
Figura 43. Fructificación TA1	61
Figura 44. Fructificación TA2	61
Figura 45. Fructificación TA3	61
Figura 46. Fructificación TA4	61
Figura 47. Fructificación TA5	62
Figura 48. Fructificación TB1	62
Figura 49. Fructificación TB2	62
Figura 50. Fructificación TB3	62
Figura 51. Fructificación TB4	62
Figura 52. Fructificación TB5	62
Figura 53. Fructificación TC1	62
Figura 54. Fructificación TC2	62
Figura 55. Fructificación TC3	63
Figura 56. Fructificación TC4	63
Figura 57. Fructificación TC5	63
Figura 58. Fructificación TD1	63
Figura 59. Fructificación TD2	63
Figura 60. Fructificación TD3	63

Figura 61. Fructificación TD4 vista 1	63
Figura 62. Fructificación TD4 vista 2	63
Figura 63. Fructificación TD4 vista 3	64
Figura 64. Fructificación TD5	64
Figura 65. Fructificación TE1	64
Figura 66. Fructificación TE2	64
Figura 67. Fructificación TE3	64
Figura 68. Fructificación TE4	64
Figura 69. Fructificación TE5	64

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Semana 1: Preparación unidades experimentales	54
Anexo B. Semana 2: Inicio de la colonización del sustrato	54
Anexo C. Semana 3: Colonización del sustrato	55
Anexo D. Semana 4: Pardeamiento y formación de protuberancias.....	56
Anexo E. Semana 5: Pardeamiento y formación de protuberancias	57
Anexo F. Semana 6: Pardeamiento y formación de protuberancias	58
Anexo G. Semana 7: Pardeamiento y fructificación	59
Anexo H. Semana 8: Fructificación	61

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: DETERMINACIÓN DEL SUSTRATO DE MAYOR EFICIENCIA PARA EL CULTIVO DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) A PARTIR DE RESIDUOS AGRÍCOLAS A ESCALA DE LABORATORIO

AUTOR(ES): Germán Andrés Arenas Díaz

PROGRAMA: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): Yolanda Gamarra Hernández

RESUMEN

La investigación se enfoca en el aprovechamiento de la biomasa vegetal de residuos agrícolas con altos contenidos de lignocelulosa como lo son la borra residual generada en la preparación del café y la tusa de maíz, por medio del cultivo de la seta comestible de alto contenido proteico, *L. edodes* (Shiitake). Estos desechos se emplearon en la preparación de cinco tratamientos (Tratamiento A (TA), Tratamiento B (TB), Tratamiento C (TC), Tratamiento D (TD) y Tratamiento E (TE)) constituidos por combinaciones de los residuos mencionados en diferentes proporciones que varían en su porcentaje en peso y a los cuales se les fueron asignados cinco réplicas por tratamiento. La preparación de las unidades experimentales se hizo a escala de laboratorio y su desarrollo se efectuó durante un periodo de ocho semanas en la cámara de emulación del clima, en donde se recreaban las condiciones ambientales requeridas por el hongo. Con el fin de determinar el sustrato que presenta la mayor eficiencia en cuanto al crecimiento del shiitake, se reportaron los valores correspondientes a factores como el número de cuerpos fructíferos, las medidas de la longitud de pie y ancho del sombrero de los cuerpos fructíferos y la tasa de biodegradación. Los resultados experimentales indicaron que TE es el tratamiento de mayor eficiencia al presentar la mayor tasa de biodegradación con un 44.43%, junto a la tendencia de generar el mayor número de cuerpos fructíferos en promedio. En cuanto a las medidas de los cuerpos fructíferos TA tuvo en promedio el mayor ancho del sombrero con 2.1cm y TE presentó la mayor longitud de pie con 1.31 cm en promedio.

PALABRAS CLAVE:

Residuos, borra, tusa, shiitake, hongos, eficiencia

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: DETERMINATION OF THE HIGHEST EFFICIENCY SUBSTRATE FOR SHIITAKE CULTURE (*Lentinula edodes*) FROM AGRICULTURAL RESIDUES TO LABORATORY SCALE

AUTHOR(S): Germán Andrés Arenas Díaz

FACULTY: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR: Yolanda Gamarra Hernández

ABSTRACT

The research focuses on the use of vegetable biomass from agricultural residues with high levels of lignocellulose, such as waste generated in the preparation of coffee and the cob, through the cultivation of the high protein edible mushroom, *L. edodes* (Shiitake). Said wastes were used in the preparation of five treatments (Treatment A (TA), Treatment B (TB), Treatment C (TC), Treatment D (TD) y Treatment E (TE)) constituted by combinations of the mentioned residues in different proportions that vary in their weight percentage and to which five replications were assigned per treatment. The preparation of the experimental units was done on a laboratory scale and its development was carried out during a period of eight weeks in the climate emulation chamber, where the environmental conditions required by the fungus were recreated. In order to determine the substrate that shows the highest efficiency in the growth of the shiitake, the values corresponding to factors such as the number of fruit bodies, the measurements of the foot length and hat width of the fruiting bodies and the rate of biodegradation. The experimental results indicated that TE is the most efficient treatment with the highest rate of biodegradation with 44.43%, together with the tendency to generate the highest number of fruiting bodies with an average of 5 for each experimental unit. Regarding the measures of the fruiting bodies TA had on average the largest width of the hat with 2.1cm and TE had the longest foot length with 1.31 cm on average.

KEYWORDS:

Waste, coffee waste, cob, Shiitake, fungi, efficiency

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

1. INTRODUCCIÓN

En Colombia los componentes que predominan en la conformación de los residuos sólidos domésticos corresponden a los de carácter orgánico; paradójicamente el foco en el manejo de los residuos se centra en la recuperación y aprovechamiento de desechos de menores proporciones como el plástico, cartón y metales. En lo que respecta a los desechos orgánicos, se evidencian falencias en su manejo y un atraso en cuanto al empleo de alternativas para la disposición correcta de estos desperdicios alimenticios. A esto se le suma la falta de educación en cuanto a la separación y aprovechamiento de estas materias, induciéndolas hacia una disposición final incorrecta (El Tiempo, 2016).

Los residuos agrícolas se presentan como nuevas materias primas que pueden emplearse como medios de cultivo para setas comestibles como el shiitake gracias a sus altos contenidos de ligno celulosa, de lo cual destacamos el empleo de la borra del café y la tusa de maíz (Pauli, 2011).

La preparación del café genera un residuo conocido como borra, el cual es un subproducto generado a partir de la torrefacción del grano. La borra habitualmente es desechada por los consumidores sin ninguna separación, lo que implica su contaminación con otros tipos de residuos e impide su aprovechamiento. Habitualmente el destino de este desecho está en aumentar la carga que llega a los rellenos sanitarios, obviando su potencial para nuevos usos. Al igual que la borra, las tusas de maíz son consideradas como un residuo inofensivo que se genera en los hogares, plazas de mercado y demás establecimientos que la comercialicen o la usen en sus preparaciones y son parte de los residuos orgánicos que se desperdician en el relleno sanitario

La técnica de cultivo convencional de shiitake consiste en la inoculación de la semilla de la seta en troncos de madera dura como el roble, eucalipto, encina, entre

otros, lo que requiere de una alta demanda maderera que podría reemplazarse por otros medios de cultivo (Pauli, 2011).

La integración de estos residuos agrícolas a una nueva vida útil a partir de su uso como sustrato para el cultivo de shiitake corresponde a un modelo que se basa en emular la dinámica sostenible que se da en los ecosistemas, en los cuales los desechos son reincorporados a los ciclos ecosistémicos luego de sufrir transformaciones biológicas y químicas, producto de las interacciones entre los diferentes elementos y organismos que conviven. Tomando este ejemplo de la naturaleza se presenta este enfoque en el que los residuos que se percibían como desperdicios sin valor, son aprovechados y permite obtener beneficios económicos, ambientales y sociales (Pauli, 2011).

Es importante destacar que *L. edodes* es conocida por tener un contenido elevado de proteína y ser una buena fuente de vitaminas, minerales y fibra además de poseer un bajo contenido de grasas y carbohidratos. Esta composición nutricional se presenta como una alternativa para ondear en problemáticas de seguridad alimentaria teniendo en cuenta el aumento acelerado de las tasas de crecimiento poblacional a nivel mundial, y la escasez alimentaria, ya que brinda una alternativa de alimento con un alto valor nutricional, con posibilidad de cultivo a partir de desechos agrícolas que corresponden a la mayor cantidad de residuos que se generan en los países en vía del desarrollo (Roncero, 2015).

El presente estudio se presenta como una alternativa al considerar las pocas opciones que se presentan en Bucaramanga con respecto al manejo de residuos orgánicos. El objetivo de este trabajo está en la consecución de un tratamiento a base de la borra del café y tusa de maíz para cultivar el hongo shiitake con una mayor eficiencia con respecto a los métodos convencionales. Además, por medio de esta alternativa se está reincorporando a un ciclo productivo estos desechos que no cuentan con un aprovechamiento a pesar de su potencial.

El estudio tiene como punto de partida utilizar un sustrato a base de borra de café y tucas de maíz para determinar la proporción de componentes que presente mayor eficiencia en la generación de cuerpos fructíferos del hongo shiitake. Los residuos se obtienen de zonas y establecimientos comerciales en los que se desechan regularmente, como domicilios particulares, cafeterías y plazas de mercado del área metropolitana de Bucaramanga.

Dichos residuos se producen diariamente en grandes cantidades, por lo cual el cultivo del hongo shiitake es una buena alternativa de aprovechamiento y se presenta como una oportunidad para mejorar la gestión deficiente que se le da a este tipo de desechos en particular. Además estas acciones implican sensibilizar a la comunidad acerca de una correcta disposición de sus residuos teniendo en cuenta que estos elementos son de fácil obtención y separación, al ser sus fuentes, establecimientos relacionados con el sector alimenticio. Estas fuentes de generación se caracterizan por producir basuras compuestas en un alto grado con desechos orgánicos y los trabajadores que están involucrados en las operaciones diarias continuamente están en contacto con estos desechos.

Para el análisis de resultados se va a medir el desarrollo del hongo a través del surgimiento y crecimiento de los cuerpos fructíferos, en los diferentes tratamientos; para lo cual se utilizará el método de análisis de varianza ANOVA.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Determinar el sustrato más eficiente para el cultivo de *L. edodes* (Shiitake) a partir de residuos agrícolas a escala de laboratorio.

2.2. Objetivos Específicos

Establecer las condiciones ambientales requeridas en el laboratorio para el crecimiento eficiente de los micelios del hongo shiitake a partir de la literatura consultada.

Evaluar cinco variaciones de concentración de borra de café y tusa de maíz como sustrato, para la producción del hongo mediante ensayos.

Identificar el sustrato que genera el crecimiento de mayor número de cuerpos fructíferos en el menor tiempo de cultivo.

Calcular la tasa de biodegradación de cada uno de los sustratos para la selección del mejor resultado.

3. ANTECEDENTES

En un estudio publicado en el año 2008, se evaluó el crecimiento de hongos comestibles mediante el uso de diferentes métodos de cultivo. Para el cultivo del hongo shiitake se presentó un crecimiento rápido en sustratos de leguminosas combinados con pajas de arroz y pajas de trigo. Por otra parte, la proliferación del hongo en sustratos como el tomate, albahaca y sus respectivas mezclas con paja de trigo y paja de arroz fue considerablemente baja (Nyochembeng et al. 2008).

En este trabajo de investigación se determinó que solo una de las dos cepas de *L. edodes* analizadas (LE001 y LE002) tuvo un crecimiento considerable por lo cual, factores como la cepa y la especie del hongo son de gran relevancia en cuanto a obtener una proliferación micelial rápida y de gran tamaño (Nyochembeng et al. 2008).

En estudios realizados en EU se abordó el uso de nuevas tecnologías para la producción de hongo shiitake en interiores por medio de una transición desde los métodos convencionales que utilizan troncos naturales y fuentes de aserrín teniendo en cuenta el crecimiento en la demanda de esta seta comestible. Para esto se usaron bolsas plásticas con contenidos ricos en aserrín concluyendo que se deben hacer más ensayos para poder determinar los valores de las variables correctas tales como tensión, condiciones de crecimiento del hongo y condiciones para la inhibición de la actividad de patógenos, con el fin de llevarlo a una producción a gran escala (Jong, 1986).

En otro estudio, se desarrolló un cultivo de *L. edodes* del cual se examinó la producción tomando como referencia tres rangos de temperatura que corresponden a frío, cálido y un rango de temperatura amplio. Los mejores rendimientos reportados se pudieron evidenciar en la variedad de shiitake expuesta al rango de temperatura amplio. La cepa de clima frío fue sensible a la temperatura. En cuanto a la inoculación, en la semilla de aserrín se proporcionaron mayores rendimientos para una amplia gama de condiciones ambientales (Bruhn et al. 2009). El segundo y tercer año después

de la inoculación del sustrato en la semilla fueron los de mayor producción (Bruhn et al.2009).

Otro trabajo comparó los efectos de la madera dura con cuatro clases de tamaño de partícula en tres cultivos de shiitake (2.8 ± 4 mm; 1.7 ± 2.8 mm; 0.85 ± 1.7 mm; < 0.85 mm). Los rendimiento de las setas con tamaños de partículas < 0.85 mm fueron inferiores en un 27,7%, 12,4% y 2% para los cultivos I, II y III, respectivamente, en comparación con los otros tamaños de partícula. Los rendimientos aumentaron a medida que se usaban tamaños más pequeños por lo cual el uso de astillas de madera podría ayudar a la optimización de la producción (Royse and Sánchez-vazquez, 2001).

Ante el aumento de los cultivos en Bangladesh del hongo shiitake a causa de las propiedades nutricionales, medicinales y su sabor, se realizó un estudio publicado en el 2011 para lo cual se cultivó el hongo en aserrín con diferentes niveles de salvado de trigo (WB), arroz salvado (RB), polvo de maíz (MP) y su combinación (WB + RB + MP = 1: 1: 1) con el fin de mejorar la producción. El rendimiento de los hongos mejoró con cada uno de los suplementos hasta un nivel y luego disminuyó. El aserrín con salvado de trigo produjo el mayor número de fructificación con 153.3 / 500 g de sustrato (Singer et al. 2011).

En otro estudio del año 2016 se estudió la producción de enzimas hidrolíticas en cultivos de *L. edodes* en pulpa de café esterilizada para lo cual se tomaron muestras de sustrato colonizado en diferentes etapas de crecimiento del hongo que corresponden al periodo posterior de incubación y el periodo de fructificación. Se pudo observar que la actividad enzimática fue menor durante el crecimiento micelial temprano y mayor durante la formación y desarrollo de los cuerpos fructíferos. En la etapa de reproducción del hongo se expuso a un tratamiento de remojo que no influyó en la producción de enzimas (Mata, Salmones, and Pérez-Merlo, 2016).

En el año 2003, por medio de un sustrato sintético a base de aserrín de roble (50%), mijo blanco (28%), centeno de invierno (11%) y salvado de trigo rojo

suave(11%) se buscó determinar el efecto de tres suplementos de CaCO₃ precipitado correspondientes a 0.2%, 0.4% y 0.6% base en peso seco. Al comparar la eficiencia biológica de los mencionados tratamientos con sustratos no suplementados; se pudo reportar eficiencias menores con respecto a los sustratos con CaCO₃. Entre los resultados obtenidos se puede destacar el mayor tamaño de la seta para sustratos no suplementados (16.8 g) con respecto a los sustrato suplementados con 0.6% de CaCO₃ (15.1 g). Sin embargo, se pudo evidenciar una consistencia mayor en la producción de hongos con el suplemento de 0.6% de CaCO₃ (Royse and Sanchez-vazquez, 2003).

En otro trabajo del año 2008 se investigo acerca de la productividad de residuos agrícolas para el cultivo del hongo *L. edodes* obteniendo como resultado que los esporoforos aparecieron 4-5 días después del tratamiento de choque frio en tubos que contenían paja de trigo y tusas de maíz luego de que transcurrieran 48 y 50 días, respectivamente, después de la fase de inoculación. Este hongo es un agente degradador de la lignina de gran eficiencia lo cual beneficia la generación de cuerpos fructíferos (Philippoussis et al. 2007).

Los sustratos que presentaron mejores rendimientos en los cultivos fueron los que contenían mayores niveles de azúcares solubles en agua como la hemicelulosa que tiene un efecto que favorece el crecimiento antes de la etapa en la que se descompone la lignina y la celulosa. (Philippoussis et al. 2007) En esta investigación se llegó a la conclusión de emplear mazorcas de maíz y paja de trigo para la producción de *L. edodes* con el fin de reemplazar el convencional uso de madera por residuos cereales. El empleo de estos residuos agro-industriales se presenta como una gran alternativa de aprovechamiento para la producción de alimentos (Philippoussis et al. 2007).

En Maracaibo, Venezuela se publicó un estudio cuya finalidad era evaluar el crecimiento micelial y la obtención de fructificación para 3 especies de hongos comestibles correspondientes a *Pleurotus ostreatus*, shiitake japonés y *stropharia*

gigante, en 20 sustratos elaborados con desechos agrícolas. Los sustratos estaban compuestos de paja, cascara de arroz, fibra de coco, caña de azúcar, tusa de maíz, mosto de cerveza, aserrín, borra de café, hojas de plátano y granos de sorgo (Rodzinskaya et al. 2002). El sustrato que se colonizó en menor tiempo fue el de tusa de maíz y caña de azúcar para el cultivo de shiitake a pesar de que presentó más retraso en cuanto a la aparición de primordios. Las mezclas con una mayor producción de shiitake fueron las de cáscara de arroz con tusa de maíz y la de fibra de coco con borra de café (Rodzinskaya et al. 2002).

En un estudio que se llevó a cabo en Medellín en el año 2007, se evaluó el crecimiento de *L. edodes* (shiitake) por medio de una fermentación sólida en diferentes mezclas de residuos agroindustriales y aserrín de eucalipto. Los sustratos evaluados corresponden a motosa de algodón y cascarilla de cacao; viruta y aserrín de roble; salvado de trigo, CaSO₄ y CaCO₃ (Arredondo et al. 2007). El micelio creció en todos los medios de cultivo y se utilizaron diámetros de partícula de 9cm. Los tratamientos de menor tiempo de colonización corresponden a los conformados por virutas de roble y salvado de trigo debido a la activación de enzimas que se estimula por la presencia del nitrógeno en el trigo. Los hongos cultivados en 75% viruta de roble, 20% de salvado de trigo y 5% CaSO₄ tienen el mayor porcentaje proteico (26,1%) (Arredondo et al. 2007).

En otra investigación realizada en Bogotá, se buscó determinar cómo se realiza el proceso productivo de hongos comestibles, de acuerdo a los criterios para alcanzar un óptimo desarrollo, para lo cual se midió la eficiencia biológica que es la relación del porcentaje de peso de los hongos frescos dividido por el peso seco del sustrato (Guarín et al. 2004). Los resultados en esta investigación arrojaron eficiencias biológicas de 186% en tamo de maíz, 50% en tusas de maíz, 118.2% en pulpa de café y 15.7% en el bagazo de la caña de azúcar lo cual está asociado a su bajo contenido de nitrógeno. Con el fin de mejorar los rendimientos en los diferentes sustratos se realizó un proceso de compostaje (Guarín et al. 2004).

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Generalidades de los hongos

Los hongos son heterótrofos, por lo que no elaboran su propio alimento y deben obtener compuestos sintetizados por otros organismos. En su mayoría son saprofitos, que se nutren de desechos y residuos orgánicos al descomponerlos. Algunos son parásitos que toman nutrientes de los tejidos de un huésped (Starr and Taggart, 2008).

Se alimentan secretando enzimas digestivas que digieren los alimentos presentes en el entorno para luego absorber los productos de la descomposición y liberar dióxido de carbono junto a nutrientes que llegan a ser captados por las plantas. Este tipo de alimentación se denomina, digestión y absorción extracelular (Starr and Taggart, 2008).

Existen especies de hongos tanto unicelulares como multicelulares; esta última se desarrolla como una trama de filamentos ramificados, llamada micelio. El micelio filamentoso crece sobre material orgánico y tienen una proporción superficie-volumen adecuada para absorber nutrientes. Un filamento se conoce como hifa. Generalmente sus células poseen una pared reforzada con quitina. El citoplasma de las células colindantes se interconecta en las hendiduras de las paredes cruzadas lo que hace que los nutrientes fluyan libremente a través del micelio (Starr and Taggart, 2008).

En muchas especies las hifas forman complejos cuerpos generadores de esporas, las cuales son células reproductoras o estructuras multicelulares que germinan después de separarse del progenitor. Las esporas normalmente son pequeñas, secas y abundantes; pueden dispersarse por el aire y en germinación pueden iniciar otro micelio (Starr and Taggart, 2008).

Los hongos producen esporas sexuales, asexuales o de ambos tipos dependiendo de diferentes factores como lo pueden ser la disponibilidad del alimento, el clima y la humedad (Starr and Taggart, 2008).

4.1.1. Principales grupos de hongos

4.1.1.1. Zigomicetos

Los zigomicetos representan el 1% de los hongos conocidos. Existen algunos tipos que son de naturaleza saprofita y forman rápidamente grandes colonias en cualquier fuente rica en carbono, mientras que otros son parásitos de las setas y otros organismos (Starr and Taggart, 2008).

Producen esporas sexuales de paredes gruesas. Colonizan rápidamente los sustratos produciendo y dispersando una gran cantidad de esporas asexuales no móviles, que se transforman en sacos en la punta de una hifa especializada. Dentro del saco de la espora se forman diminutas esporas haploides que pueden dar origen a otro micelio (Starr and Taggart, 2008).

4.1.1.2. Basidiomicetos

Este grupo lo conforman más de 25.000 especies y comprenden las setas, amanitas, royas, tizones y champiñones. Su nombre es atribuido a que se desarrolla a partir de un basidio. Cada basidio es una célula hifal grande, alargada en cuyo extremo se desarrollan cuatro basidiosporas. Las basidiosporas se desarrollan fuera del basidio. Cuando se liberan pueden llegar a producir nuevos micelios dependiendo del medio (Vilée, 1996).

A este tipo también se le conoce como hongos tipo maza y cuentan con una estructura reproductiva que sobresale del micelio y crece a través del suelo o en la materia en descomposición (Starr and Taggart, 2008).

Su origen evolutivo es un misterio ya que no tienen relación con ninguna alga por lo cual se cree que proceden de otros hongos (Vilée, 1996).

4.1.1.3. Ascomicetos

Los ascomicetos, u hongos de sacos, forman la clase más amplia de los hongos con cerca de 35.000 especies. Su nombre se debe a que sus esporas se producen en sacos llamados ascos. Cada asco produce entre dos a ocho ascosporas. De este tipo podemos destacar las levaduras, el mildew pulverulento, los mohos presentes en el queso, jalea, mermelada, frutas y trufas comestibles (Villem, 1996).

Los cuerpos de los ascomicetos pueden ser unicelulares como en las levaduras; pueden tener micelios filamentosos pluricelulares, como en el mildew pulverulento, o ser gruesos y carnosos como en la trufa (Villem, 1996).

Existe una gran variedad que los diferencia ya sea por la forma de las células vegetativas o el modo de reproducción. La mayor parte de los ascomicetos son miceliales y tienen hifas tabicadas; estos tabiques cuentan con poros que permiten una continuidad citoplásmica de una célula a otra y se ha observado el paso de núcleos por dichos poros (Villem, 1996).

La reproducción es asexual por gemación (levaduras) o por esporas llamadas conidios que se desarrollan en serie sucesiva en los extremos de algunas hifas, y sexual por medio de un proceso de fertilización (Villem, 1996).

4.2. Hongos comestibles

Desde hace miles de años los hongos comestibles han sido una fuente de alimento y esto se debe a que además de su faceta como afamado ingrediente culinario, cuentan con un alto contenido proteico que puede enriquecer la dieta del hombre. Un aspecto importante es la facilidad con la que se logran cosechar los cuerpos fructíferos al contar con los requerimientos específicos de las especies y las condiciones ambientales de temperatura, humedad, luz, pH y ventilación.

Los hongos comestibles son recolectados en más de 80 países de todo el mundo. Su importancia radica más allá de su exportación, en la supervivencia de los llamados países en desarrollo. El aporte que representa para los países de África central y meridional cobra una importancia significativa en los meses en que escasean los alimentos mientras que en otros lugares que cuentan con poblaciones rurales se considera como un complemento nutritivo (Boa, 2005).

La demanda de hongos comestibles presenta una tendencia en la que los países pobres les exportan a los países ricos, lo cual es una ventaja para los productores locales ya que les significa importantes ingresos económicos. En cuanto a los beneficios ecológicos se destaca la relación simbiótica de muchas especies con los árboles que se traduce en el mantenimiento de los bosques y el reciclaje de nutrientes por parte de especies saprofitas. Este enfoque sostenible para el ambiente se replica en el ámbito comercial ya que su comercialización ronda los 23 mil millones de dólares en EE.UU. por año (Boa, 2005).

Chile ha sido uno de los mayores exportadores de hongos comestibles a nivel mundial, convirtiéndose esta actividad en la de mayor importancia en cuanto a procesamiento y comercialización de productos no madereros. Para esta actividad se emplean aproximadamente 40 mil personas en las provincias de Valparaíso y Magallanes y más de 35 empresas exportadoras e incluso localidades enteras se dedican y benefician del cultivo, recolección y procesamiento de hongos comestibles (Silva et al. 2010).

4.3. *Lentinula edodes* (Shiitake)

El hongo shiitake es una de las setas más conocidas en la gastronomía, ocupando el segundo lugar en cuanto a producción de hongos comestibles en el mundo. Su nombre proviene de "Shii" que significa madera y "take" hongo. Es de pudrición blanca lo que indica que remueven la lignina al mismo tiempo que la celulosa cambiando su coloración oscura a un blanco pálido (Luley, 2006). Se cultiva en

subproductos agrícolas e industriales (Stamets, 2000). Esta especie es nativa de países como Japón, Corea y China en donde tradicionalmente se ha cultivado en troncos de árboles, de las regiones montañosas. En los últimos años se ha optimizado el método de cultivo tradicional al inocular la semilla en otros tipos de sustratos y bajo condiciones controladas consiguiendo aumentar la generación de carpóforos (Araque et al. 2006).

Estos hongos por lo general tienen un sombrero de 5 a 25 cm de diámetro de forma convexa que se torna plana al alcanzar la madurez. En sus etapas más tempranas adquieren una coloración marrón oscura, conocida como pardeamiento, que con el paso del tiempo se va aclarando. Su talo se caracteriza por ser fibroso, de textura áspera y por lo general se ubica en el centro del sombrero (Araque et al. 2006). El estípite es de textura suave y fibroso (Stamets y Chilton, 2000). Es saprofito por lo cual son descomponedores de materia orgánica y sus basidios soportan cuatro esporas las cuales son blancas y de forma ovoide (Rodríguez and Jaramillo 2005).

La reproducción asexual del hongo shiitake se da por la formación de esporas, que son expulsadas hacia el exterior al abrirse el píleo o sombrero; al germinar dicha espora se forma un filamento compuesto por células vivas conocidas como hifas. Las hifas son paralelas, con células irregulares (Stamets y Chilton, 2000).

4.3.1. Contenido nutricional del Shiitake

El shiitake es conocido por sus altos contenidos en proteína, potasio y zinc, además de ser una fuente rica en polisacáridos que funcionan como potenciadores del sistema inmunológico (Tabla 1, 2 y 3).

Tabla 1. Contenido nutricional en 100 g de shiitake.

Nutriente	Contenido
Energía	34 Kcal
Carbohidratos	6.8 g
Azúcar	2.38 mg
Fibra	2.5 g
Sodio	9 mg
Agua	89.74 g
Proteína	2.24 g
Calorías	34 Kcal
Grasa	0.49 g
Colesterol	0 g

Fuente: Araque et al., (2006)

Tabla 2. Principales vitaminas en 100 g de shiitake.

Vitamina	Contenido
Vitamina B-3	3.9 mg
Vitamina B-5	1.50 mg
Vitamina B-9	13 µg

Fuente: Araque et al., (2006)

Tabla 3. Minerales en 100 g de shiitake

Minerales	Contenido
Calcio	2 mg
Potasio	304 mg
Magnesio	20 mg
Fosforo	112 mg
Sodio	9 mg
Zinc	1.03 mg
Selenio	5,7 µg

Fuente: Araque et al., (2006)

4.4. Etapas del cultivo

4.4.1. Semilla

La semilla del Shiitake consiste en una preparación en la que el micelio del hongo crece en un medio de trigo esterilizado y se utiliza para inocular los sustratos (Araque et al. 2006).

4.4.2. Inoculación

La inoculación o siembra es una operación que consiste en introducir la semilla en los medios de cultivo o sustratos previamente esterilizados. Esta etapa se desarrolla bajo las mayores condiciones asépticas y previamente a su ejecución e debe activar la semilla desmoronándola (Araque et al. 2006).

4.4.3. Incubación

Esta etapa consiste en el crecimiento o colonización del micelio en el sustrato bajo condiciones controladas de humedad relativa, temperatura, luz y pH. Se sabe que el sustrato ha sido completamente colonizado en el momento que ya no se distingue el aspecto y coloración del sustrato inicial (Araque et al. 2006).

Se procederá a la siguiente etapa cuando los bloques adquieran protuberancias de coloración marrón y textura blanda o inicie la formación de primordios.

4.4.4. Fructificación

La etapa de fructificación consiste en la formación de los cuerpos fructíferos y cuyo crecimiento es incentivado por condiciones específicas de temperatura, ventilación, humedad y luz (Araque et al. 2006).

4.5. Composición de residuos orgánicos empleados en el cultivo de *L. edodes*

El hongo shiitake requiere de nutrientes para su desarrollo y cobran mayor importancia los que aportan fuentes de energía y carbono. Al ser heterótrofos obtienen

estas fuentes de energía y carbono, de la oxidación de sustratos orgánicos procedentes de organismos vegetales en descomposición (García et al.2004). Se caracterizan por ser degradadores de algunos de los componentes que conforman la pared celular vegetal entre los cuales se identifica la celulosa, hemicelulosa y la lignina. Estos componentes se encuentran distribuidos en diferentes proporciones según el tipo de planta o su procedencia vegetal.

4.5.1. Celulosa

La celulosa es el biopolímero de mayor abundancia. Está compuesto por cadenas lineales de celobiosa. En las células vegetales gran parte de la celulosa se presenta como microfibrillas (Prinsen, 2010).

4.5.2. Lignina

La lignina es el segundo biopolímero más abundante de la biomasa lignocelulósica y corresponde al 30% del carbono orgánico en la biosfera (Boerjan et al., 2003). Se encuentra distribuida junto a la hemicelulosa, alrededor de las hebras de celulosa (Feldman, 2016).

Entre sus funciones se destaca ser un componente estructural de las paredes celulares aportándole fuerza y rigidez, además de permitir el transporte de agua y solutos a través del sistema vasculatorio de las plantas. También actúa como una barrera que se antepone a invasiones de Fito patógenos y otros factores del tipo ambiental debido a sus propiedades de carácter hidrolítico. Previene la degradación de polisacáridos estructurales (Liu, 2012; Grabber, 2005).

4.5.3. Hemicelulosa

Son polisacáridos con grupos heterogéneos que presentan insolubilidad en el agua aunque pueden solubilizarse en un medio alcalino (Prinsen, 2010). Las pajas

de cereales como el trigo, el arroz y el centeno contienen entre un 30 y 40% de hemicelulosas (Fang et al., 2000b; Xiao et al., 2001) y los residuos agrícolas tienen entre un 40 a 50% (Claye et al., 1993).

4.6. Residuos orgánicos provenientes del maíz y el café

4.6.1. Tusas de maíz

Corresponde al residuo generado al desgranar la mazorca del maíz y está compuesto en base seca por celulosa (45%), hemicelulosa (35%) y lignina (15%). La hemicelulosa está compuesta mayormente por xilano en un 95%. Este tipo de residuo habitualmente se emplea como soporte para contrarrestar la erosión del suelo con reportes de bajos rendimientos (Robledo et al. 2012).

En cuanto a su disposición como desechos se suele someter a incineración o su manejo está supeditado a incrementar la carga contaminante que llega a los depósitos de basura e inclusive llegan a esparcirse en la intemperie (Robledo et al. 2012).

Al paso de 100 días la fracción que se degrada de la tusa del maíz corresponde al 84% (Boschini and Amador, 2001).

En la tabla 4 se describe la composición nutricional de la tusa del maíz denotando su aporte potencial al sustrato.

Tabla 4. Composición nutricional de la tusa del maíz

Composición nutricional	Contenido (%)
Materia seca	90
Proteína	2.5
Calcio	0.02
Fósforo	0.02
Grasa	0.8
Fibra	32.80
Ceniza	3

Fuente: Infante et al., (2016)

4.6.2. Borra de café

Las fuentes de generación de borra de café son los domicilios particulares, cafeterías y demás establecimientos en los que la preparación del café es una actividad rutinaria. A esta extensa generación se le suma el hecho de ser un residuo poco controlado y con poca aplicabilidad o aprovechamiento.

Este tipo de residuo tiene en su composición elementos que podrían significar un interés comercial pero sus usos se reducen a su empleo como combustible para calderas, incineración y la habitual disposición en rellenos sanitarios (García et al.1999). El tiempo de degradación de la borra de café corresponde a 75 días (Montoya, 2008).

La pared celular del grano de café contiene microfibrillas de celulosa, envuelta por un recubrimiento de lignina, pectinas y hemicelulosas. También posee un alto contenido de fibra que corresponde entre un 57y 71%(García et al.1999).

En las Tablas 5 y 6 se describe la composición de la borra de café denotando su aporte potencial al sustrato.

Tabla 5. Composición de la borra de café

Composición nutricional	Contenido (%)
Materia seca	89.51
Humedad	10.49
Proteína	11.72
Cenizas	1.81
Nitrógeno	1.88
Grasas	13.41

Fuente: Aiello et al., (2014)

Tabla 6. Contenido mineral de la borra de café

Composición nutricional	Contenido
Calcio	0.174%
Magnesio	0.138%
Fósforo	0.132%
Sodio	0.036%
Potasio	0.339%
Zinc	96.09 ppm
Manganeso	43.226 ppm
Cobre	8.879 ppm
Hierro	75.419 ppm

Fuente: Aiello et al., (2014)

4.7. Condiciones fisicoquímicas para el cultivo del shiitake

En la Tabla 7 se describen las condiciones fisicoquímicas de mayor relevancia en el desarrollo del hongo shiitake.

Tabla 7. Condiciones fisicoquímicas para el cultivo del shiitake

Condiciones fisicoquímicas	Descripción
pH	El hongo shiitake presenta mejores rendimientos en cuanto a su crecimiento en el lado ácido del punto de neutralidad en un rango entre 6.5 y 6.8.
Temperatura	Este es un factor de gran importancia en el crecimiento del hongo shiitake y de ahí su amplio estudio. En el desarrollo de la seta se definen temperaturas óptimas que influyen directamente en etapas como el crecimiento micelial sobre el sustrato y la formación de los cuerpos fructíferos; dichos rangos de temperatura promueven el crecimiento del hongo (Araque et al. 2006).
Humedad	Por lo general los hongos tienen requerimiento en cuanto a humedad muy altos para lo cual se debe tener en cuenta tanto la humedad del sustrato y el ambiente en el que se desarrollan las setas. Estos requerimientos de humedad pueden variar según las diferentes etapas de crecimiento (Araque et al. 2006).

Condiciones fisicoquímicas	Descripción
Luz	A pesar de que los hongos sean organismos no fotosintéticos, la luz puede ser un factor influyente, por lo cual normalmente el micelio se cultiva en oscuridad y con el objetivo de impulsar la generación de primordios se acostumbra exponer los sustratos colonizados a la luz (Araque et al. 2006).
Tamaño de partícula del sustrato	Los hongos logran asimilar de mejor manera los sustratos en los cuales sus componentes tienen partículas con tamaños entre 2 y 3 cm (Royse and Sanchez-vazquez, 2001).
Aireación	En cuanto al crecimiento de la seta, los componentes gaseosos de la atmósfera de mayor interés son el oxígeno y el dióxido de carbono. Los hongos son organismos aeróbicos por lo que deben contar con un contenido de oxígeno adecuado. Además el crecimiento vegetativo puede ser incentivado por un ligero aumento en la concentración de CO ₂ debido a la respiración del micelio (Araque et al. 2006).

Fuente: Autor, 2018.

4.8. Análisis de varianza para un factor

El análisis de varianza de un factor es un método empleado para comparar grupos en una variable cuantitativa. Esta prueba se utiliza para contrastar la igualdad de medias de tres o más poblaciones independientes con distribución normal. La variable categórica define los grupos que se van a comparar y se denomina independiente. La variable cuantitativa en la que se desea comparar los grupos se le llama dependiente. Se trata de contrastar la hipótesis nula de que las medias de las distintas poblaciones coinciden por medio de un estadístico F y F crítico que reflejan el grado de parecido entre las medias. Se compara la medida de la variación entre los grupos con la medida de la variación dentro de cada grupo. Si la variación entre los grupos es mayor se concluye que las muestras son distintas (Peña, D. 1987).

5. METODOLOGÍA

A partir de la consulta bibliográfica se establecieron las condiciones ambientales requeridas para el crecimiento del hongo shiitake, en una cámara de emulación de clima, que permite controlar variables como humedad relativa y temperatura según los requerimientos para cada etapa de crecimiento de la seta.

5.1. Preparación de tratamientos

Teniendo en cuenta la eficiencia biológica, se seleccionaron los residuos agrícolas con altos contenidos de lignocelulosa, para el cultivo de la seta *L. edodes*. Se prepararon cinco tipos de sustrato a base de borra de café y tusas de maíz, con diferentes proporciones, en el porcentaje de sus componentes. Para reducir el porcentaje de error. En cada tratamiento se asignaron cinco unidades de estudio.

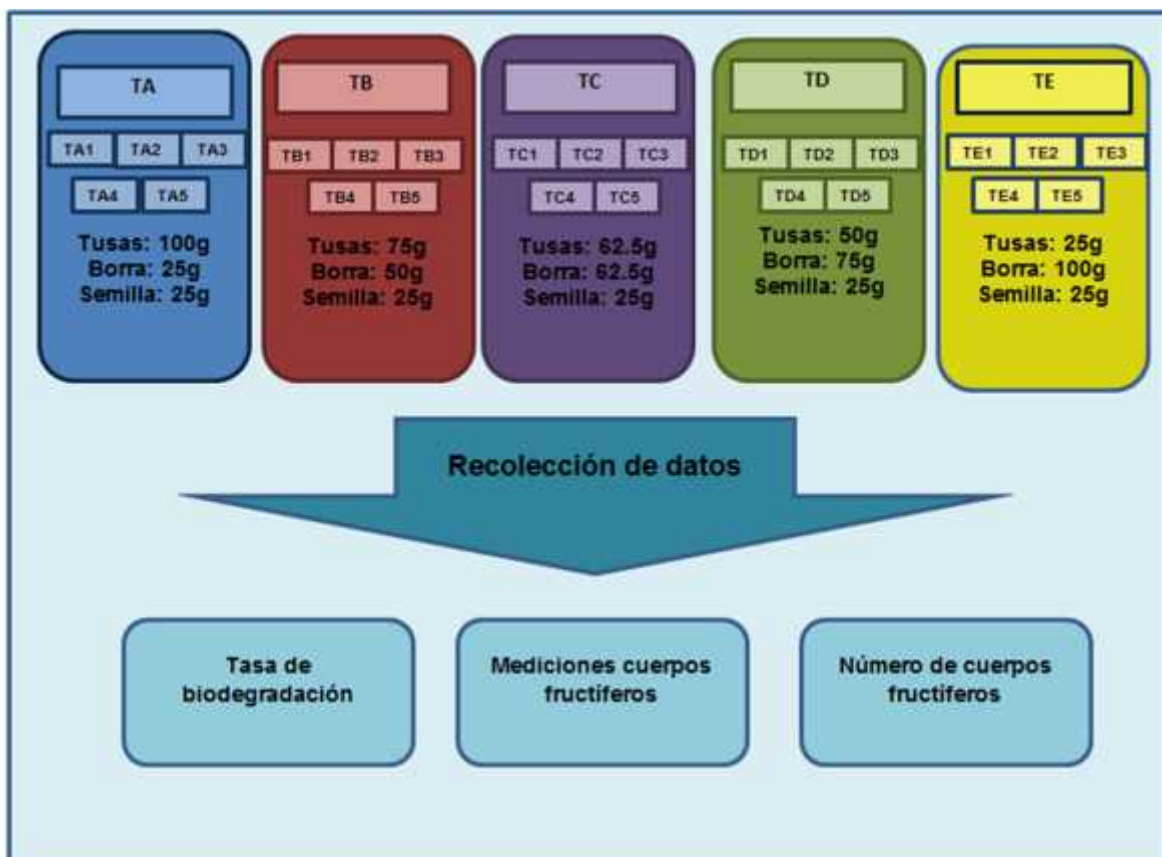
5.1.1. Composición del sustrato

En la preparación del sustrato, se usó un tamaño de partícula para la tusa de maíz entre 0.5 y 2 cm porque en éste tamaño se reporta el mejor rendimiento para el cultivo del shiitake (Rodríguez & Jaramillo 2005). Este componente se sometió a un proceso de esterilización por medio de una autoclave con el fin de evitar la contaminación externa que puede inhibir el crecimiento del hongo (Rodríguez & Jaramillo 2005). La borra humedecida fue sometida a esterilización desde la preparación del café, y esto permitió su utilización sin ningún tratamiento adicional, además de que presenta un tamaño de partícula óptimo para el cultivo de shiitake (Pauli, 2011).

Las unidades de estudio corresponden a bolsas de polipropileno y cada una contenía 125g de sustrato y 25 g de semilla del hongo shiitake (Figura 1). Estas unidades de estudio se clasificaron en 5 tratamientos (TA, TB, TC, TD y TE) que varían

según el contenido de borra de café y tusa de maíz como se puede observar en la Tabla 8.

Figura 1. Diseño experimental



Fuente: Autor, 2018.

Tabla 8. Distribución de los componentes en los tratamientos.

TRATAMIENTO	% EN PESO BORRA DE CAFÉ	% EN PESO TUSA DE MAIZ	PESO (g) BORRA DE CAFÉ	PESO(g) TUSA DE MAIZ
TA	20	80	25	100
TB	40	60	50	75
TC	50	50	62.5	62.5
TD	60	40	75	50
TE	80	20	100	25

Fuente: Autor, 2018.

5.1.2. Inoculación del sustrato

En el laboratorio de Microbiología de la UPB, en una cámara de aislamiento, bajo condiciones asépticas, se procedió a inocular el shiitake, introduciendo 25 g de la semilla en cada unidad experimental, que contenía 125 g de sustrato (Figura 2).

Figura 2. Unidades experimentales



Fuente: Autor, 2018

5.1.3. Incubación o colonización

Para simular las condiciones ambientales requeridas por el hongo con temperatura y humedad relativa para cada etapa de desarrollo, se utilizó una cámara de emulación de clima que contaba con un sistema de control de humedad y temperatura con un sensor Am2001 y un medidor digital con el que se tomaron las mediciones. El sistema ubicado en el laboratorio de procesos agroindustriales de la UPB opera en conjunto con un sistema de aspersion para regular el control en el gasto de agua. Una puerta con cierre hermético evita el cambio de las condiciones dentro de la cámara por factores externos.

Las unidades experimentales se trasladaron a la cámara de emulación de clima, en donde se recrearon las condiciones necesarias para la etapa de incubación del hongo: temperatura de 27 °C, humedad relativa de 80 a 85% y ventilación para proveer de aire fresco el cultivo. Esta etapa se efectuó después de la inoculación, en cinco fases (Figura 3).

Figura 3. Unidades experimentales en la cámara de emulación de clima



Fuente: Autor, 2018

5.1.3.1. Crecimiento micelial

En esta fase el micelio inició el proceso de colonización del sustrato por medio de su actividad enzimática, transformando las estructuras más complejas del sustrato en moléculas simples que pueden ser absorbidas por el hongo. La temperatura no fue superior a los 28 °C, y se mantuvo una humedad relativa entre 80 y 85% (Rodríguez and Jaramillo 2005).

5.1.3.2. Formación del abrigo micelial

Después de un período entre 20 y 30 días posteriores a la inoculación se formó una capa gruesa de micelio blanco sobre la superficie del sustrato (Rodríguez and Jaramillo 2005).

5.1.3.3. Formación de protuberancias del micelio

El proceso de crecimiento continuó, 15-30 días después de la formación del micelio blanco. Se formaron protuberancias de distintos tamaños sobre el abrigo micelial (Araque et al. 2006).

5.1.3.4. Pardeamiento del abrigo micelial

Posteriormente, se dio el fenómeno de pigmentación del micelio, por lo cual se retiró la bolsa que cubre el bloque y se mantuvo una humedad relativa entre 70 y 85%(Rodríguez and Jaramillo 2005).

5.1.3.5. Ablandamiento del bloque pigmentado

Los bloques formados durante el desarrollo del hongo, se expusieron a ventilación, induciendo a que se tornaran de un color rojizo con una superficie dura y seca. El interior del sustrato se comenzó a ablandar y se humedeció hasta alcanzar un 80% de humedad relativa. En este momento se estimuló la formación de los primordios por medio de un choque térmico que consiste en disminuir la temperatura del bloque en un rango entre 5 a 8°C (Rodríguez and Jaramillo 2005).

5.2. Fructificación y recolección de datos

Una vez formados los primordios, se retiró el polipropileno de las unidades experimentales que cubren el sustrato, con el fin de exponerlos al aire y reducir las altas concentraciones de CO₂ que inhiben la formación de los primordios. Se recrearon las condiciones ambientales propias de la etapa de fructificación, las cuales corresponden a una temperatura entre 13 y 20 °C y una humedad relativa entre 80 y 85% para evitar la deshidratación del bloque (Araque et al. 2006).

5.2.1. Recolección de datos

Al final del periodo de cultivo establecido, se pesaron las unidades experimentales, para determinar la tasa de biodegradación con respecto al peso para cada unidad de sustrato, y se contó el número de cuerpos fructíferos formados en

cada unidad experimental tomando sus respectivas medidas en cuanto a la longitud del pie y ancho del sombrero.

5.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se realizó el método de análisis de varianza para un factor correspondiente a los sustratos. Las unidades de medición fueron el hongo shiitake y los sustratos en los que se desarrolló para lo cual se midieron variables como el número de cuerpos fructíferos y la tasa de biodegradación de los sustratos.

Para este factor, el sustrato contiene cinco niveles ($k=5$) que están compuestos por tusa de maíz y borra de café en diferentes proporciones que varían en el peso de sus componentes (Peña, D. 1987). Estos tratamientos se identificaron como:

- TA, conformado por 100 g (80%) de tusa de maíz y 25 g (20%) de borra de café
- TB, conformado por 75 g (60%) de tusa de maíz y 50 g (40%) de borra de café
- TC conformado por 62.5 g (50%) de tusa de maíz y 62.5 g (50%) de borra de café
- TD conformado por 50 g (40%) de tusa de maíz y 75 g (60%) de borra de café
- TE conformado por 25 g (20%) de tusa de maíz y 100 g (80%) de borra de café

El número de unidades experimentales para cada tratamiento se estableció por la limitante del espacio disponible en la cámara de emulación del clima, sitio en donde se desarrollaron las diferentes etapas de crecimiento del hongo. A cada unidad experimental se le agregaron 25 g de semilla de shiitake para un peso seco total de 150 g por cada unidad experimental (Anexo A).

La recolección de la información referente a las condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) se efectuó tres veces a la semana por medio de la lectura del medidor (Figura 4).

Figura 4. Medidor de temperatura y humedad relativa



Fuente: Autor, 2018

Al finalizar las etapas de desarrollo se realizó un conteo de los cuerpos fructíferos junto a la toma de sus respectivas mediciones (longitud de pie y ancho de sombrero). Además se tomaran los pesos de cada una de las unidades experimentales para efectuar el cálculo de la tasa de biodegradación.

$$\text{Tasa de biodegradación} = \frac{\text{peso seco inicial} - \text{peso seco final}}{\text{peso seco del sustrato inicial}} * 100$$

5.3.1. Análisis de varianza para un factor

Con el fin de analizar y comparar la eficiencia de los cinco sustratos se aplicó el método de análisis de varianza (ANOVA): se analizaron los datos correspondientes a el número de cuerpos fructíferos, medidas de los cuerpos fructíferos y la tasa de biodegradación que se presentan en los cinco tipos de tratamientos (TA, TB, TC, TD y TE).

Se determinó la discrepancia entre las medias de TA, TB, TC, TD y TE con el fin de saber si son mayores que las variaciones que ocurren dentro de cada uno de los tratamientos (Peña, D. 1987). Se aplicó el método de análisis de varianza para un factor el cual consiste en obtener muestras aleatorias e independientes del valor de Y asociado a cada uno de los distintos tratamientos TA, TB, TC, TD y TE. Con lo cual se determinó si los diferentes niveles de tratamiento tienen un efecto significativo sobre el valor de la variable dependiente que corresponde a las mediciones del número de

cuerpos fructíferos, las medidas de los cuerpos fructíferos y la tasa de biodegradación con respecto al peso de los mismos (Peña, D. 1987).

Para comparar las medias de Y asociadas a los distintos tratamientos (TA, TB, TC, TD y TE), se compara una medida de la variación entre diferentes tratamientos (MS-factor) con una medida de la variación dentro de cada tratamiento (MS-error). Si el MS-factor es mucho mayor que el MS-error, se llega a la conclusión de que las medias asociadas a los tratamientos son distintas (Peña, D. 1987).

Se compara la medida de la variación entre las muestras con la medida de la variación dentro de cada tratamiento. Si la variación entre las muestras es mayor se concluye que las muestras son distintas.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Condiciones ambientales

Para el desarrollo de las etapas de crecimiento del hongo se manejó un ambiente controlado por medio de la cámara de emulación del clima, la cual tenía un medidor que contaba con un sensor y permitía reportar los valores correspondientes a humedad relativa y temperatura dentro de la cámara. La toma de estos valores se realizaba tres veces por semana. Los promedios semanales en cuanto al reporte de temperatura y humedad se encuentran registrados en la Tabla 9.

Tabla 9 Condiciones ambientales en la cámara de emulación del clima

#	Semana	Etapas	Temperatura (°C)	Humedad (%)
1	9 -18 marzo	Colonización. Crecimiento micelial.	28	85
2	19-25 marzo	Colonización. Crecimiento micelial.	27	84.6
3	26 marzo-1 abril	Colonización. Formación del abrigo micelial	28	83.3
4	2-8 abril	Pardeamiento y formación de protuberancias	27.8	84.3
5	9-5 abril	Pardeamiento y formación de protuberancias	26.6	82.8
6	16-22 abril	Pardeamiento y formación de protuberancias	26.9	84.2
7	23-29 abril	Pardeamiento y fructificación	26.4	84
8	30 abril-6 mayo	Fructificación	27	74.8

Fuente: Autor, 2018

Inicialmente se procedió a inocular la semilla del hongo shiitake en el sustrato bajo condiciones asépticas para su posterior traslado a la cámara de emulación del clima e iniciar las posteriores fases de desarrollo.

Durante la etapa de colonización del micelio se mantuvieron temperaturas promedio semanales con un rango que fluctuaba entre 27°C y 28 °C. Al no superar los 28 °C se consideró que se cumple con las condiciones óptimas para esta etapa. Con respecto a la humedad, su valor promedio semanal fluctuó entre un 83.3% y 85 %, por lo cual estas mediciones se encuentran dentro de las condiciones requeridas para esta etapa que corresponden a un rango entre 80 y 85%.

A partir de la semana 4 comenzó la fase de pardeamiento en la que se reportaron valores de humedad relativa promedio semanales correspondientes a un rango entre 84.3% y 82.8%. Estas mediciones se encuentran entre el 70% y 85% de humedad por lo que se cumple con las condiciones ambientales para el desarrollo de la pigmentación.

La etapa de fructificación inicia a partir de la semana 7 a pesar de que algunas unidades experimentales presentaron un crecimiento temprano de cuerpos fructíferos. En la semana 7 se logró una humedad relativa promedio de 84% la cual cumple con el rango de humedad requerido. Para la semana 8 se instaló un aspersor con la finalidad de controlar el gasto de agua de la cámara, lo cual provocó un descenso en el valor de la humedad promedio de 74.8%. A pesar de que este valor no está por dentro del rango requerido de 80 a 85%, es un valor muy cercano y no interfirió significativamente en la generación de cuerpos fructíferos.

En cuanto a la temperatura en la fructificación, la cámara de emulación del clima no logra recrear la temperatura propia de esta etapa que debe estar entre 13 y 20 ° C por lo cual se recurrió a bajar directamente la temperatura de las unidades experimentales

distribuyendo bloques de hielo alrededor de las mismas, lo cual permitió recrear estas condiciones.

6.2. Colonización del sustrato

Los tratamientos llegaron a una colonización total al final de la semana tres, cuando el micelio coloniza totalmente la superficie del sustrato, formando una capa gruesa de color blanco (Anexo B, Anexo C).

Figura 5. Colonización unidad experimental TE5



Fuente: Autor, 2018

En la Figura 5 se puede observar la colonización del sustrato por parte del micelio blanco del hongo en TE5. El sustrato se encuentra completamente colonizado ya que no se distingue su aspecto y coloración inicial.

6.3. Pardeamiento del abrigo micelial

Los datos obtenidos en la etapa de pardeamiento permiten analizar la evolución del desarrollo del hongo shiitake en las unidades experimentales. Para el seguimiento detallado del desarrollo del pardeamiento se estableció un código de colores con una valoración expresada en porcentaje, que describe el grado del cambio en la coloración del bloque colonizado para cada unidad experimental. En la Tabla 10 se representa la descripción y evolución del porcentaje de pardeamiento que presentaron las unidades experimentales durante las ocho semanas en las que se desarrolló el hongo (Anexo D, Anexo E, Anexo F, Anexo G).

% de pardeamiento	Color
Sin cambio	
<25	
25-50	
50-75	
75-100	

Tabla 10. Grado de pardeamiento de las unidades experimentales

	Semana	TA					TB					TC					TD					TE				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Pardeamiento	4																									
	5																									
	6																									
	7																									
	8																									

Fuente: Autor, 2018

En la Tabla 11 se registran los datos correspondientes al porcentaje de unidades experimentales que presentaban pardeamiento para los cinco tratamientos durante las ocho semanas.

Tabla 11. Unidades experimentales que presentan pardeamiento

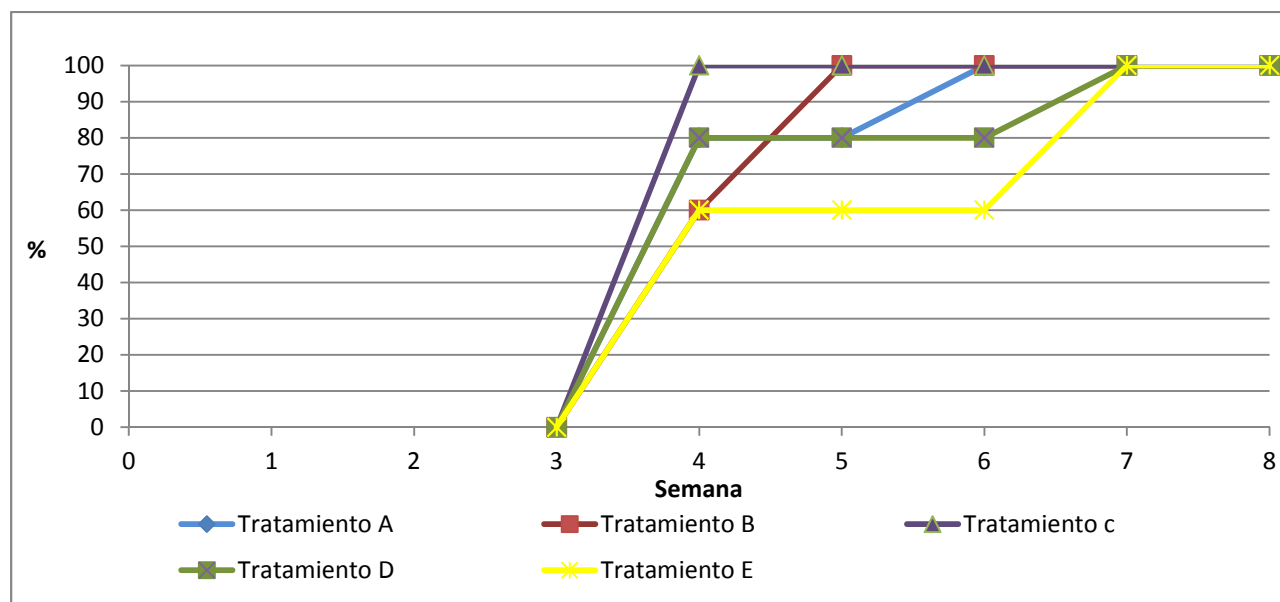
Etapa	Semana	Unidades experimentales que presentan pardeamiento									
		TA		TB		TC		TD		TE	
		#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
Pardeamiento	4	4/5	80	3/5	60	5/5	100	3/5	80	3/5	60
	5	4/5	80	5/5	100	5/5	100	4/5	80	3/5	60
	6	5/5	100	5/5	100	5/5	100	4/5	80	3/5	60
	7	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100
	8	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100

Fuente: Autor, 2018

En la Figura 6 se puede observar el desarrollo del pardeamiento durante las ocho semanas en las que se mantuvieron las unidades experimentales en la cámara de emulación del clima.

En todos los tratamientos se presentó pardeamiento en diferentes grados a partir de la semana 4, siendo TC el tratamiento que de forma más temprana se pigmentó totalmente en esa misma semana. En cuanto al tiempo en que se tardó en pigmentar el bloque micelial, TC fue precedido por TB, TA y finalmente TD junto a TE que alcanzaron una pigmentación total en la semana 7 (Figura 6).

Figura 6. Gráfica del desarrollo del pardeamiento



Fuente: Autor, 2018

6.4. Número de cuerpos fructíferos

En la Tabla 12 se muestran los tratamientos aplicados durante las ocho semanas, y se registra el número acumulativo de cuerpos formados. TA y TC presentaron una fructificación temprana desde la semana 4 (Anexo G, Anexo H).

Tabla 12. Generación de Cuerpos fructíferos durante 8 semanas.

Semana	TA					TB					TC					TD					TE				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	3	0	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	3	0	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	3	0	0	0	1	-	-	-	-	-	0	0	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	3	2	0	3	3	0	0	0	0	8	0	0	2	2	0	0	0	3	1	0	0	1	0	4	4
8	3	2	0	7	5	6	0	0	0	11	0	0	3	4	1	0	0	4	21	0	10	1	6	4	4

Fuente: Autor, 2018.

En la tabla 13 se registraron los datos correspondientes al conteo total de cuerpos fructíferos formados en los diferentes tratamientos hasta la semana 8. Los tratamiento con mayor número de cuerpos fructíferos correspondieron a TD y TE con 25 unidades cada uno.

Tabla 13. Número de cuerpos fructíferos

Número de la réplica	TA	TB	TC	TD	TE
1	3	6	0	0	10
2	2	0	0	0	1
3	0	0	3	4	6
4	7	0	4	21	4
5	5	11	1	0	4

Fuente: Autor, 2018.

6.4.1. Análisis de varianza de un factor / Número de cuerpos fructíferos

Tabla 14. Resumen análisis de varianza para número de cuerpos fructíferos.

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	17	3.4	7.3
TB	5	17	3.4	24.8
TC	5	8	1.6	3.3
TD	5	25	5	83
TE	5	25	5	11

Fuente: Autor, 2018.

Tabla 15. Análisis de varianza para número de cuerpos fructíferos.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre tratamiento	39.84	4	9.96	0.384853168	0.816861558	2.866081402
Dentro de los tratamientos	517.6	20	25.88			S
Total	557.44	24				

Fuente: Autor, 2018.

Se define la hipótesis nula (Ho): todas las medias de los tratamientos son iguales y no se producen efectos significativos en los tratamientos en cuanto al conteo del número de cuerpos fructíferos. De lo contrario se rechaza la hipótesis nula, lo cual indica que los tratamientos son diferentes como lo enuncia la hipótesis alterna (Ha).

$$H_0: MA = MB = MC = MD = ME$$

$$H_a: MA \neq MB \neq MC \neq MD \neq ME$$

Para un nivel de confianza () igual a 0.05, en donde el número de tratamientos (K) es igual a 5 y el total de observaciones(N) corresponde a 25, se establece el F crítico (Fc).

$$F_c [; K-1; N-K]$$

$$F_c [0.05; 4; 20] = 2.866081402$$

A partir del análisis de varianza se determina el F observado (Fo) que corresponde a 0.3848.

Como Fo es menor que Fc se acepta la hipótesis nula (Ho) y se concluye que no hay una diferencia significativa entre los promedios del número de cuerpos fructíferos obtenidos a partir de los cinco tratamientos; es decir, para el número de cuerpos fructíferos generados, los tratamientos no son significativos y tienden a ser iguales

(Tabla 15). Sin embargo, se recomiendan TD y TE por registrar los mayores promedios reportados correspondientes a 5 cuerpos fructíferos cada uno (Tabla 14).

6.5. Peso final de las unidades experimentales

En la Tabla 16 se reporta el peso final de las unidades experimentales una vez culminado las etapas de desarrollo del hongo en la semana 8. Teniendo en cuenta que el peso inicial de cada unidad experimental correspondía a 150g, nótese la considerable disminución en el peso para los tratamientos que contienen un mayor porcentaje de borra de café debido al aprovechamiento del sustrato por parte del hongo.

Tabla 16. Peso final de las unidades experimentales (g)

Número de la réplica	Peso final de las unidades experimentales (g)				
	TA	TB	TC	TD	TE
1	109.69	142.34	66.97	124.90	86.82
2	148.44	148.77	78.76	97.11	84.54
3	134.25	122.57	98.70	121.31	79.29
4	118.01	96.82	117.60	95.84	90.50
5	144.02	141.66	90.76	120.62	75.57

Fuente: Autor, 2018.

6.5.1. Análisis de varianza / pesos finales de las unidades experimentales

Tabla 17. Resumen análisis de varianza para los pesos finales de las unidades experimentales

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	654.41	130.88	276.75577
TB	5	652.16	130.43	448.93207
TC	5	452.79	90.56	373.29732
TD	5	559.78	111.96	202.55963
TE	5	416.72	83.34	35.39783

Fuente: Autor, 2018.

Tabla 18. Análisis de varianza para los pesos finales de las unidades experimentales

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	9721.423336	4	2430.355834	9.08923015	0.000236077	2.866081402
Dentro de los grupos	5347.77048	20	267.388524			
Total	15069.19382	24				

Fuente: Autor, 2018.

Se define la hipótesis nula (Ho): todas las medias de los tratamientos son iguales y no se producen efectos significativos en los tratamientos en cuanto a los pesos finales de las unidades experimentales. De lo contrario se rechaza la hipótesis nula, lo cual indica que los tratamientos son diferentes como lo enuncia la hipótesis alterna (Ha).

$$H_0: MA = MB = MC = MD = ME$$

$$H_a: MA \neq MB \neq MC \neq MD \neq ME$$

Para un nivel de confianza () igual a 0.05, en donde el número de tratamientos (K) es igual a 5 y el total de observaciones(N) corresponde a 25, se establece el F crítico (Fc).

$$F_c [; K-1; N-K]$$

$$F_c [0.05; 4; 20] = 2.866081402$$

A partir del análisis de varianza se determina el F observado (Fo) que corresponde a 9.08923015.

Como Fo es mayor a Fc se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se concluye que si hay diferencias significativas en cuanto a los pesos promedio de los diferentes tratamientos (Tabla 18). TC y TE presentan la mayor disminución en cuanto a peso con un peso promedio de 90.56 g y 83.34 g respectivamente (Tabla 17). Teniendo en cuenta que el peso inicial para todas las unidades experimentales era de 150 g, se evidencia una clara reducción del peso del sustrato debido a la acción degradadora del shiitake que resulta ser mayor en sustratos con mayor contenido de borra de café.

6.6. Longitud del pie y ancho del sombrero de los cuerpos fructíferos

En la Tabla 19 se registran las mediciones en cuanto a la longitud del pie y el ancho del sombrero para cada uno de los cuerpos fructíferos que se generaron en las unidades experimentales de los cinco tratamientos.

Tabla 19. Medidas cuerpos fructíferos

Tratamientos	Medidas cuerpos fructíferos			
	Unidad experimental	# del cuerpo fructífero	Medida del pie (cm)	Ancho del sombrero (cm)
TA	A1	1	1.5	2.5
		2	2.1	4.3
		3	1.1	1.6
	A2	1	1.2	1.3
		2	1.7	1.1
	A4	1	4.5	4.7
		2	4.1	4.3
		3	2	0.4
		4	0.7	0.3
		5	1.3	8.2
		6	0.9	5.5
	A5	7	1.1	3.2
		1	0.5	2.2
		2	0.3	2.5
		3	0.2	2.3
4		2.6	1.9	
TB	B5	5	3.4	4.6
		1	1.5	0.4
		2	4.1	1.3
		3	2.3	0.3
		4	0.8	0.3
		5	3.5	1.2
		6	3	2
		7	2.9	3.1
		8	1.5	1.2
		9	1.3	1.1
		10	1.3	0.3
	11	1.5	0.5	
	B1	1	3.7	2.5
		2	0.8	2.1
		3	1.2	4.3
4		1.4	3.3	
5		0.8	1.7	
6		1.6	1.1	
TC	C3	1	3	2.5
		2	4.6	3.8
		3	3.3	4.1
	C4	1	2	0.7
		2	2.6	1.4
		3	2.1	0.9
		4	1.4	1.1

Tratamientos	Unidad experimental	# del cuerpo fructífero	Medida del pie (cm)	Ancho del sombrero (cm)
TC	C5	1	0.8	0.9
TD	D3	1	1.5	2.1
		2	1.6	1.5
		3	1.8	0.7
		4	2	0.4
TD	D4	1	1	0.7
		2	0.8	1.1
		3	0.6	0.8
		4	0.7	1.8
		5	0.9	0.7
		6	2.2	2.3
		7	2.1	5
		8	1.5	2.5
		9	1.7	3.1
		10	1.3	5.2
		11	0.6	1.3
		12	2	3.5
		13	1.7	3.1
		14	1.2	1.6
		15	1.7	1.9
		16	1.8	1.1
		17	2.4	1.3
		18	0.7	1.7
		19	0.4	0.3
		20	0.7	0.5
		21	1.6	3.7
TE	E1	1	2	0.7
		2	1.1	0.3
		3	0.8	0.2
		4	0.7	1.3
		5	0.5	0.3
		6	0.6	0.3
		7	0.4	0.3
		8	0.4	0.4
		9	0.4	0.7
		10	0.5	0.2
	E2	1	2.5	0.4
	E3	1	1.1	1
		2	0.6	0.3
		3	0.5	0.2
		4	1.3	0.5
		5	0.3	0.2
		6	0.2	0.3
	E4	1	0.7	1.5
		2	2.1	4.2
		3	1.3	1.2
		4	0.9	1.1
	E5	1	3	4.5
		2	1.1	3.7
		3	0.6	0.8
4		0.8	0.7	

Fuente: Autor, 2018

6.6.1. Longitud del pie

En la Tabla 20 se reportan los promedios de las medidas correspondientes a la longitud de pie de cada uno de los cuerpos fructíferos que se generaron en las diferentes unidades experimentales.

Tabla 20. Promedios de la longitud del pie

Número de la réplica	TA	TB	TC	TD	TE
1	1.57	1.58	0	0	0.74
2	1.45	0	0	0	2.5
3	0	0	3.63	1.73	0.67
4	2.09	0	2.03	1.31	1.25
5	1.4	2.15	0.8	0	1.38

Fuente: Autor, 2018

6.5.1.1. Análisis de varianza / promedios de la longitud del pie

Tabla 21. Resumen análisis de varianza para los promedios de la longitud del pie de los cuerpos fructíferos

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	6.51	1.30	0.60487
TB	5	3.73	0.75	1.08408
TC	5	6.46	1.29	2.39787
TD	5	3.04	0.61	0.71517
TE	5	6.54	1.31	0.53977

Fuente: Autor, 2018

Tabla 22. Análisis de varianza para los promedios de la longitud del pie de los cuerpos fructíferos

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2.382024	4	0.595506	0.5574062	0.696079672	2.866081402
Dentro de los grupos	21.36704	20	1.068352			
Total	23.749064	24				

Fuente: Autor, 2018

Se define la hipótesis nula (H_0): todas las medias de los tratamientos son iguales y no se producen efectos significativos en los tratamientos en cuanto al promedio de la longitud del pie de los cuerpos fructíferos. De lo contrario se rechaza la hipótesis nula, lo cual indica que los tratamientos son diferentes como lo enuncia la hipótesis alterna (H_a).

$$H_0: MA = MB = MC = MD = ME$$

$$H_a: MA \neq MB \neq MC \neq MD \neq ME$$

Para un nivel de confianza () igual a 0.05, en donde el número de tratamientos (K) es igual a 5 y el total de observaciones(N) corresponde a 25, se establece el F crítico (F_c).

$$F_c [\alpha ; K-1; N-K]$$

$$F_c [0.05; 4; 20] = 2.866081402$$

A partir del análisis de varianza se determina el F observado (F_o) que corresponde a 0.5574062.

Como F_o es menor que F_c se acepta la hipótesis nula (H_0) y se concluye que no hay una diferencia significativa entre las medias de la longitud del pie de los cuerpos fructíferos obtenidos a partir de los cinco tratamientos; es decir, de los cinco tratamientos ninguno incentiva el crecimiento del pie de los cuerpos fructíferos por lo que todos tienden a ser iguales en cuanto a la baja influencia que presentan en estas mediciones (Tabla 22).

Sin embargo se recomiendan TA y TE por tener los mayores promedios reportados que corresponden a 1.30 y 1.31 cm respectivamente (Tabla 21).

6.6.2. Ancho del sombrero

En la Tabla 23 se reportan los promedios de las medidas correspondientes al ancho del sombrero de cada uno de los cuerpos fructíferos que se generaron en las unidades experimentales.

Tabla 23. Promedios del ancho del sombrero

Número de la réplica	TA	TB	TC	TD	TE
1	2.8	2.5	0	0	0.47
2	1.2	0	0	0	0.4
3	0	0	3.47	1.18	0.42
4	3.8	0	1.03	2.06	2
5	2.7	1.06	0.9	0	2.43

Fuente: Autor, 2018

6.5.2.1. Análisis de varianza /promedios del ancho del sombrero

Tabla 24. Resumen análisis de varianza para los promedios del ancho del sombrero en los tratamientos

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	10.5	2.1	2.24
TB	5	3.56	0.71	1.20972
TC	5	5.4	1.08	2.01995
TD	5	3.24	0.65	0.88412
TE	5	5.72	1.14	0.97963

Fuente: Autor, 2018

Tabla 25. Análisis de varianza para los promedios del ancho del sombrero en los tratamientos

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6.752064	4	1.688016	1.150906	0.36170933	2.866081402
Dentro de los grupos	29.33368	20	1.466684			
Total	36.085744	24				

Fuente: Autor, 2018

Se define la hipótesis nula (H_0): todas las medias de los tratamientos son iguales y no se producen efectos significativos en los tratamientos en cuanto al promedio del ancho del sombrero en los cuerpos fructíferos. De lo contrario se rechaza la hipótesis nula, lo cual indica que los tratamientos son diferentes como lo enuncia la hipótesis alterna (H_a).

$$H_0: MA = MB = MC = MD = ME$$

$$H_a: MA \neq MB \neq MC \neq MD \neq ME$$

Para un nivel de confianza () igual a 0.05, en donde el número de tratamientos (K) es igual a 5 y el total de observaciones(N) corresponde a 25, se establece el F crítico (F_c).

$$F_c [\alpha ; K-1; N-K]$$

$$F_c [0.05; 4; 20] = 2.866081402$$

A partir del análisis de varianza se determina el F observado (F_o) que corresponde a 1.150906.

Como F_o es menor que F_c se acepta la hipótesis nula (H₀) y se concluye que no hay una diferencia significativa entre los promedios del ancho del sombrero de los cuerpos fructíferos obtenidos a partir de los cinco tratamientos; es decir, de los cinco tratamientos ninguno incentiva el crecimiento del ancho en el sombrero del hongo por lo que todos tienden a ser iguales en cuanto a la baja influencia que presentan en estas mediciones (Tabla 25).

Sin embargo se recomienda TA por tener el mayor promedio reportado de 2.1 cm (Tabla 24).

6.7. Análisis del pH

Un ligero aumento en la concentración de CO₂ debido a la actividad metabólica del hongo y la retención de gases en cada una de las unidades experimentales, debido al cierre de las mismas después de la inoculación, provocaron una transición en el pH de 6 a 5 en TA1, TC1 Y TE1 como se muestra en la Tabla 26.

En TB1 Y TD1 se puede observar que el pH se mantuvo constante, lo cual coincide con la baja actividad metabólica del hongo sobre el sustrato en estos tratamientos y se asocia a las emisiones de CO₂.

Tabla 26. Medición de pH

Semana	pH				
	A1	B1	C1	D1	E1
4	6	6	5	6	6
5	6	6	5	6	6
6	6	6	5	6	6
7	6	6	5	6	5
8	5	6	5	6	5

Fuente: Autor, 2018.

6.8. Tasa de biodegradación

La biodegradación del sustrato por efecto de la acción enzimática del hongo que se encarga de descomponer los sustratos es expresada a manera de porcentaje por la tasa de biodegradación (Tasa de biodegradación = (peso seco del sustrato inicial - el peso seco del sustrato final / por el peso seco del sustrato inicial)* 100) (Martínez et al. 2012). Estos valores se encuentran reportados en la Tabla 27.

Tabla 27. Tasa de biodegradación

Número de la réplica	Tasa de biodegradación (%)				
	TA	TB	TC	TD	TE
1	26.87	5.11	55.35	16.73	42.12
2	1.04	0.82	47.50	35.26	43.64
3	10.50	18.29	34.20	19.13	47.14
4	21.33	35.45	21.60	36.11	39.66
5	3.99	5.56	39.49	19.59	49.62

Fuente: Autor, 2018.

6.8.1. Análisis de varianza / tasa de biodegradación

Tabla 28. Resumen análisis de varianza para la tasa de biodegradación de las unidades experimentales

<i>Tratamiento</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
TA	5	63.73	12.75	122.97873
TB	5	65.23	13.05	199.48353
TC	5	198.14	39.63	165.91017
TD	5	126.82	25.36	90.03878
TE	5	222.18	44.44	15.74828

Fuente: Autor, 2018.

Tabla 29. Análisis de varianza para la tasa de biodegradación de las unidades experimentales

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>Fo</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	4320.18964	4	1080.04741	9.0888678	0.000236134	2.866081402
Dentro de los grupos	2376.63796	20	118.831898			
Total	6696.8276	24				

Fuente: Autor, 2018.

Se define la hipótesis nula (H_0): todas las medias de los tratamientos son iguales y no se producen efectos significativos en los tratamientos en cuanto a la tasa de biodegradación de las unidades experimentales. De lo contrario se rechaza la hipótesis nula, lo cual indica que los tratamientos son diferentes como lo enuncia la hipótesis alterna (H_a).

$$H_0: MA = MB = MC = MD = ME$$

$$H_a: MA \neq MB \neq MC \neq MD \neq ME$$

Para un nivel de confianza () igual a 0.05, en donde el número de tratamientos (K) es igual a 5 y el total de observaciones(N) corresponde a 25, se establece el F crítico (F_c).

$$F_c [; K-1; N-K]$$

$$F_c [0.05; 4; 20] = 2.866081402$$

A partir del análisis de varianza se determina el F observado (F_o) que corresponde a 9.0888678.

Como F_o es mayor a F_c se rechaza la hipótesis nula (H_o) por lo cual se concluye que sí hay diferencia significativa en la tasa de biodegradación promedio obtenido a partir de los diferentes tratamientos (Tabla 29). Los tratamientos que presentaron una mayor tasa de biodegradación fueron TC y TE (Tabla 28); éstos tratamientos se caracterizan por tener un alto contenido de borra de café que a diferencia de la tusa de maíz es un residuo muy procesado desde el momento en que se extrae el grano de la planta en donde se expone al sol y se remueve la cascara, hasta la torrefacción que consiste en someter el grano a un proceso de pirolisis con temperaturas de 200 °C, que incrementan la presión dentro del grano y produce una disminución aproximada de una quinta parte de su peso. A esto se le suma el proceso de preparación en el que el polvo de café interactúa con agua caliente en las cafeteras a una presión de 9 atmósferas y una temperatura de 90 °C (Rodríguez, 2012). Todos estos procesos previos hacen que los enlaces químicos de este residuo se debiliten y formen estructuras más sencillas que facilitan la degradación enzimática y el aprovechamiento por procesos metabólicos del hongo shiitake.

7. CONCLUSIONES

La cámara de emulación del clima cuenta con las condiciones ambientales necesarias para efectuar el desarrollo del hongo shiitake, al recrear los parámetros de humedad, ventilación y temperatura requeridos en las etapas de incubación y fructificación.

El sustrato más eficiente para el cultivo de *L. edodes* (Shiitake) a partir de residuos agrícolas a escala de laboratorio es el correspondiente a TE ya que presentó el mayor número de cuerpos fructíferos y una mayor tasa de biodegradación del sustrato.

Los sustratos que generan el mayor número de cuerpos fructíferos durante las ocho semanas en las que se desarrollaron las etapas de crecimiento del hongo corresponden a TE y TD, lo cual demuestra que la eficiencia para esta variable aumenta en los sustratos que contienen mayores contenidos de borra de café.

La tasa de biodegradación más alta se presenta en TE lo cual refleja que el hongo shiitake puede aprovechar en promedio hasta un 44.43% del peso del sustrato empleado para este tratamiento.

RECOMENDACIONES

Realizar un monitoreo constante del CO₂ emitido por el hongo a partir del momento en que se abren las unidades experimentales para favorecer la formación de cuerpos fructíferos.

Analizar la composición nutricional de los cuerpos fructíferos generados en los cinco tratamientos.

Evaluar la eficiencia para nuevos tratamientos que se encuentren en un rango basado en el tratamiento de mayor eficiencia reportado en este trabajo que corresponde a TE.

Optimizar la cámara de emulación del clima de modo que se regule el abundante gasto de agua sin afectar las condiciones ambientales recreadas en su interior.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aiello, C., Arenas, E., Chandler, C., González, E., Rincón, M., Sánchez, J., Urribarrí, A., Zabala, A., 2014. Evaluación del potencial de la borra de café como materia prima para la producción de biodiesel. *Multiciencias*, 14(2), pp. 133.

Araque, M., Rodríguez, N., Perdomo, F., 2006. Producción de los hongos comestibles orellanas y shiitake. *Boletín Técnico*. Huila: Cenicafé, pp. 4-8.

Arredondo, C., Perez A., 2007. Evaluación del crecimiento del hongo *lentinula edodes berk pegler* en residuos agroindustriales. Departamento de ingeniería de procesos, universidad eafit, pp. 65-84.

Boschini, C., Amador, A. 2004. Degradabilidad ruminal de la planta de maíz forrajero en diferentes edades de crecimiento. *Agronomía mesoamericana* 12(1), pp.90-92.

Boa, E., 2005. Los hongos silvestres comestibles. Perspectiva global de su uso e importancia para la población. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación, pp. 7-21.

Boerjan, W., Ralph, J., Baucher, M., 2003. Lignin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 54, pp. 519-546.

Bruhn, J.N., Mihail, J.D. & Pickens, J.B., 2009. Bioresource Technology Forest farming of shiitake mushrooms: An integrated evaluation of management practices. *Bioresource Technology*, 100(24), pp.6472–6480. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.106>.

Claye, S.S., Idouraine A. y Weber C.W., 1993. Extraction and fraction of insoluble fiber from five fiber source. *Food Chemistry*, 57, pp.305-310.

Estos son los departamentos que más producen basura en el país. (18 de octubre de 2016). *El Tiempo*. <http://www.eltiempo.com/vida/ciencia/departamentos-que-mas-generan-basura-en-colombia-49143>

Fang, J.M., Sun, R.C., Tomkinson, J., Fowler, P., 2000. Acetylation of wheat straw hemicellulose B in a new non-aqueous swelling system. *Carbohydrate Polymers*, 41, pp. 379-387.

Feldman, D., 1999. Lignin nanocomposites. *J Macromol Sci A*, 53 (2016), pp. 382-387.

García, M., Quintero, R., López, A., 2004. *Biotecnología alimentaria*. Limusa Noriega editores, pp. 359-360.

García, M., Riaño C., 1999. Extracción de celulosa a partir de la borra de café. *Cenicafé* 50(3), pp. 205-214.

Grabber, J.H., 2005. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies this paper was originally presented at the lignin and forage digestibility symposium, 2003 CSSA Annual Meeting, Denver, CO. *Crop Sci*, 45, pp. 820-831.

Grodzinskaya, A., Infante, H., Nickolai M., 2002. Cultivo de hongos comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales. *Agronomía*. 52(4), pp. 427-447.

Guarín, J., Ramirez, A., 2004. Estudio de factibilidad técnico- financiero de un cultivo de hongos comestibles. Departamento de industrial, pontificia universidad javeriana, pp. 28-41.

Infante, C., Cuadrado, B., de Arco, D., Pérez, K., Barrera, E., San Juan, M., 2016. Evaluación de tusa y cáscara de maíz como sustratos para el cultivo de *pleurotus pulmonarius*. *Ciencia y Tecnología*, 32(1), pp.31-46.

Jong, S.C., 1986. Proc . Intl Sym . Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi . The Penna . State Elsevier Science Publishers B . V ., Amsterdam , 1987 - Printed in The Netherlands, pp. 421–426.

Liu, C. J., 2012. Deciphering the enigma of lignification: precursor transport, oxidation, and the topochemistry of lignin assembly. *Mol Plant*, 5, pp. 304-317.

Luley, C., 2006. Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos. *Arborist News*.

Martínez, G. M. A.; Sihuanca, D.; Macías, L. A.; Pérez, L.; Martínez, M. D and López O. 2012. Characterization and production of Shiitake (*Lentinula edodes*) in Mexico using supplemented sawdust. *Afr. J. Biotechnol.* 11(46), pp. 10582-10588.

Mata, G., Salmones, D., Pérez, R., 2016. Hydrolytic enzyme activities in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) strains cultivated on coffee pulp. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(3), pp.191–195. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.05.008>.

Montoya, S., 2008. Actividad enzimática de residuos sólidos orgánicos y generación de biomasa útil del macromiceto *Grifola Frondosa*. Universidad nacional de colombia. Manizales, pp. 1-96.

Nyochembeng, L.M., Beyl, C.A., Pacumbaba, R.P., 2008. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. *Bioresource Technology*, 99(13), pp .5645–5649.

Orozco, C., Pérez, A., González, N., Alfayate, J., Rodríguez, F., 2011. Contaminación ambiental. Una visión desde la química. Residuos agrarios. Madrid. paraninfo, pp. 597-603.

Pauli, G., 2011. La economía azul: 10 años, 100 innovaciones, 100 millones de empleos. El runrún sobre el café. Barcelona: Tusquets editores, pp. 106-111

Peña Sánchez de Rivera, D., 1987. Estadística. Modelos y Métodos. Volumen 2. Alianza Editorial. Madrid.

Philippoussis, A., Diamantopoulou, P., Israilides, C., 2007. Productivity of agricultural residues used for the cultivation of the medicinal fungus *Lentinula edodes*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 59(3 SPEC. ISS.), pp.216–219.

Prinsen, P., 2010. Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Instituto de recursos naturales y agrobiología de sevilla. Consejo superior de investigaciones científicas. Sevilla, pp. 3-6.

Robledo A., Noé C., Montañez J., 2012. Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas. Departamento de Investigación en

Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Coahuila. México.

Rodríguez, M., 2012. La física y química en el tueste del café. Radar Process. Forún café, pp. 38-45.

Rodríguez, N., Jaramillo, C., 2005. Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera. Boletín Técnico. Manizales: Cenicafé

Roncero, I., 2015. Propiedades nutricionales y saludables de los hongos. Propiedades nutricionales de los hongos. La Rioja: Centro tecnológico de investigación del champiñón de La Rioja, pp. 12-13.

Royse, D. J., Sanchez, J. E., 2003. Influence of precipitated calcium carbonate (CaCO_3) on shiitake (*Lentinula edodes*) yield and mushroom size, 90, pp. 225–228. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00119-6](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00119-6)

Royse, D.J., Sanchez, J.E., 2001. Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. , 76, pp.229–233.

Silva, R., Fritz, C., Cubillos, J., Díaz, M., 2010. Utilización de desechos de podas del arbolado urbano como sustrato para la producción de hongos comestibles (Shiitake) en la comuna de La Pintana. Manual para la producción de hongos comestibles (shiitake). Santiago, pp. 5-14.

Singer, B., Moonmoon, M., Jahan, N., Khan, A., Uddin, N., Hossain, K., Ahmed, S., 2011. Effects of different levels of wheat bran , rice bran and maize powder supplementation with saw dust on the production of shiitake mushroom. Saudi Journal of Biological Sciences, 18(4), pp. 323–328.

Stamets, P., Chilton, J., 1987. The mushroom cultivator. Washington. Ed. Agarikon Press Olimpia, pp.122.

Stamets, P., 2000. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Third edition. Ten Speed- Press. Berkeley, Toronto, pp. 552.

Starr, C., Taggart, R., 2008. Biología. La unidad y la diversidad de la vida. Undécima edición. CENAGE Learning, pp. 390-396.

Villee, C., 1996. *Biología*. Octava edición. McGraw-Hill, pp. 186-190.

Xiao B., Sun X.F., Sun R.C., 2001. Chemical, structural and thermal characterizations of alkalisoluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw and rice straw. *Polymer Degradation and Stability*, 74, pp. 307-319.

ANEXOS

Anexo A. Semana 1: Preparación unidades experimentales y montaje en el laboratorio

Figura 7. Preparación unidades experimentales



Fuente: Autor, 2018.

Anexo B. Semana 2: Inicio de la colonización del sustrato

Figura 8. Inicio de la colonización del sustrato en la cámara de emulación del clima



Fuente: Autor, 2018.

Anexo C. Semana 3: Colonización del sustrato

Figura 9. Colonización TA4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 10. Colonización TB4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 11. Colonización TC4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 12. Colonización TD3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 13. Colonización TE5



Fuente: Autor, 2018.

Anexo D. Semana 4: Pardeamiento y formación de protuberancias

Figura 14. Pardeamiento TA1. Semana 4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 15. Pardeamiento TB3. Semana 4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 16. Pardeamiento TC3. Semana 4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 17. Pardeamiento TD3. Semana 4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 18. Pardeamiento TE4. Semana 4



Fuente: Autor, 2018.

Anexo E. Semana 5: Pardeamiento y formación de protuberancias

Figura 19. Pardeamiento y formación de protuberancias TA1. Semana 5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 20. Pardeamiento y formación de protuberancias TB3. Semana 5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 21. Pardeamiento y formación de protuberancias TC3. Semana 5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 22. Pardeamiento y formación de protuberancias TD3. Semana 5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 23. Pardeamiento y formación de protuberancias TE4. Semana 5



Fuente: Autor, 2018.

Anexo F. Semana 6: Pardeamiento y formación de protuberancias

Figura 24. Pardeamiento y formación de protuberancias TA1. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Figura 25. Pardeamiento y formación de protuberancias TA4. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Figura 26. Pardeamiento y formación de protuberancias TB3. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Figura 27. Pardeamiento y formación de protuberancias TC3. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Figura 28. Pardeamiento y formación de protuberancias TC4. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Figura 29. Pardeamiento y formación de protuberancias TD5. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Figura 30. Pardeamiento y formación de protuberancias TE4. Semana 6



Fuente: Autor, 2018.

Anexo G. Semana 7: Pardeamiento y fructificación

Figura 31. Pardeamiento y fructificación TA1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 32. Pardeamiento y fructificación TA2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 33. Pardeamiento y fructificación TA4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 34. Pardeamiento y fructificación TA5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 35. . Pardeamiento y fructificación TB5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 36. . Pardeamiento y fructificación TC3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 37. Pardeamiento y fructificación TC4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 38. Pardeamiento y fructificación TD3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 39. Pardeamiento y fructificación TD4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 40. Pardeamiento y fructificación TE2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 41. Pardeamiento y fructificación TE4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 42. Pardeamiento y fructificación TE5



Fuente: Autor, 2018.

Anexo H. Semana 8: Fructificación

Figura 43. Fructificación TA1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 44. Fructificación TA2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 45. Fructificación TA3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 46. Fructificación TA4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 47. Fructificación TA5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 48. Fructificación TB1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 49. Fructificación TB2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 50. Fructificación TB3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 51. Fructificación TB4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 52. Fructificación TB5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 53. Fructificación TC1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 54. Fructificación TC2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 55. Fructificación TC3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 57. Fructificación TC5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 59. Fructificación TD2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 61. Fructificación TD4 vista 1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 56. Fructificación TC4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 58. Fructificación TD1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 60. Fructificación TD3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 62. Fructificación TD4 vista 2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 63. Fructificación TD4 vista 3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 64. Fructificación TD5



Fuente: Autor, 2018.

Figura 65. Fructificación TE1



Fuente: Autor, 2018.

Figura 66. Fructificación TE2



Fuente: Autor, 2018.

Figura 67. Fructificación TE3



Fuente: Autor, 2018.

Figura 68. Fructificación TE4



Fuente: Autor, 2018.

Figura 69. Fructificación TE5



Fuente: Autor, 2018.