

**DETERMINACIÓN DE UN SUSTRATO EFICIENTE PARA EL CULTIVO DE
SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) A PARTIR DE UNA MEZCLA DE RESIDUOS DE
PRODUCCIÓN DE CAFÉ Y VAINA DE ARVEJA (*PISUM SATIVA*) EN EL
LABORATORIO**

CARLOS ANDRÉS CHIRIVÍ CARREÑO

242698

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA – SECCIONAL BUCARAMANGA
ESCUELA DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2018**

DETERMINACIÓN DE UN SUSTRATO EFICIENTE PARA EL CULTIVO DE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*) A PARTIR DE UNA MEZCLA DE RESIDUOS DE PRODUCCIÓN DE CAFÉ Y VAINA DE ARVEJA (*PISUM SATIVA*) EN EL LABORATORIO ii

CARLOS ANDRÉS CHIRIVÍ CARREÑO

242698

PROYECTO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL

TÍTULO DE:

INGENIERO AMBIENTAL

DIRECTOR DEL PROYECTO

MSc. YOLANDA GAMARRA HERNÁNDEZ

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA – SECCIONAL BUCARAMANGA

ESCUELA DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

BUCARAMANGA

2018

En primer lugar, dedico este trabajo a Dios por su infinito amor y bondad que me guía en el día a día, dándome salud, conocimiento, confianza y paciencia para superar los diferentes obstáculos, demostrando que sin su compañía nada sería igual.

De igual forma a mis padres por darme la existencia, formación y educación que conllevan una dedicación incesante y un apoyo incondicional.

A mis amigas y amigos que me motivaron con su compañía y cariño; mis compañeros de carrera, por las buenas experiencias y aprendizajes adquiridos.

Agradecimientos

v

Agradezco en primera instancia a Dios por permitirme este logro, culminar la carrera profesional y brindarnos la felicidad de vivir cada día.

A mi familia por su inconmensurable esfuerzo y compañía en todos los momentos de mi vida, buscando siempre lo mejor para mí y enseñándome a salir adelante en los caminos de la vida.

Quiero reconocer y agradecer el incansable apoyo de la profesora Ms.c Yolanda Gamarra Hernández, quien ha demostrado confianza y dedicación en su vocación y conocimiento para lograr la elaboración de este estudio.

Un especial agradecimiento al profesor PhD. Ariel René Carreño Olejua por su colaboración y atención en la cámara de emulación del clima, medio que fue parte fundamental para el proyecto.

En particular, doy gracias a la Universidad Pontificia Bolivariana – Seccional Bucaramanga, por ser ese espacio esencial en la búsqueda del conocimiento y formación integral, haciendo énfasis del gran plantel educativo que dejó enseñanzas de gran valor durante estos cinco años.

A las profesoras PhD. Sandra Natalia Correa Torres y MSc. Angélica María Muskus Morales, por sus estupendas recomendaciones y comentarios que concedieron una base sólida al proyecto con su excelente dedicación y supervisión.

Agradezco el respaldo del profesor MSc. Olmedo González Herrera, quien, con su magnífico aporte en el campo estadístico, permitió el análisis de las variables y su significado.

A Diego Blanco y Naidú Villamizar por su disposición y colaboración en el uso de materiales e instalación del laboratorio de Microbiología.

Finalmente, me gustaría agradecer el apoyo de mis compañeros de carrera, en especial a Germán Andrés Arenas Díaz por estar presente en el desarrollo del proyecto, así como el aporte de ideas y sugerencias para conseguir mejores resultados.

Tabla de Contenidos

vi

Introducción	1
1. Objetivos	3
1.1. Objetivo general	3
1.2. Objetivos específicos	3
2. Marco de referencia	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Marco teórico	7
2.2.1. Hongos comestibles	7
2.2.2. Características y propiedades	9
2.2.3. Ciclo vital	9
2.2.4. Basidiomicetos	10
2.2.5. <i>Lentinula edodes</i> (Shiitake)	11
2.2.6. Características del Shiitake	13
2.2.7. Etapas del cultivo	14
2.2.8. Sustratos orgánicos para el cultivo de Shiitake	16
2.2.9. Residuos para la elaboración del sustrato orgánico	16
2.2.10. Análisis estadístico	18
3. Metodología	21
3.1. Composición del sustrato	21
3.2. Evaluación de sustrato	22
3.2.1. Inoculación del sustrato	23
3.2.2. Incubación o colonización	23
3.3. Medición de cuerpo fructífero y eficiencia de sustrato	24
3.3.1. Recolección de datos	24
3.4. Selección del sustrato más eficiente	25
3.5. Análisis estadístico	25
4. Resultados y Discusión	28
4.1. Condiciones ambientales	28
4.2. Colonización del sustrato	29
4.3. Pardeamiento del abrigo micelial	31
4.4. Número de cuerpos fructíferos	34
4.5. Peso final de los tratamientos	36
4.6. Análisis del pH	38
4.7. Tasa de biodegradación	39
5. Conclusiones	42
6. Recomendaciones	43
Lista de referencias	44
Anexos	49
Apéndice	58

Lista de tablas

vii

Tabla 1 Comparación del diámetro superficial del micelio a los 24 días de inoculación.....	6
Tabla 2 Cantidad de especies de hongos comestibles y medicinales.....	8
Tabla 3 Contenido nutricional Champiñon, Pleurotus y Shiitake.....	12
Tabla 4 Componentes activos del Shiitake	13
Tabla 5 Impactos ambientales de 1 kg de Shiitake	15
Tabla 6 Composición química vaina de <i>P. sativum</i>	17
Tabla 7 Composición química de pulpa de café	17
Tabla 8 Compuestos de la pulpa de café en tres presentaciones.....	18
Tabla 9 Distribución de los componentes en los tratamientos.....	22
Tabla 10 Registros condiciones ambientales en cámara de emulación del clima.....	28
Tabla 11 Monitoreo en etapa de colonización	29
Tabla 12 Porcentaje de unidades que presentaron colonización.....	30
Tabla 13 Monitoreo etapa de pardeamiento.....	31
Tabla 14 Porcentaje de unidades que presentaron pardeamiento	31
Tabla 15 Registro de basidiocarpos	33
Tabla 16 Registro de cuerpos fructíferos en semanas.....	34
Tabla 17 Cantidad de cuerpos fructíferos	35
Tabla 18 Resumen de análisis de varianza cuerpos fructíferos	35
Tabla 19 Análisis de varianza para cuerpos fructíferos	35
Tabla 20 Peso final de las unidades experimentales	36
Tabla 21 Resumen de análisis de varianza para peso final de las unidades experimentales	37
Tabla 22 Análisis de varianza para peso final de unidades experimentales	37
Tabla 23 Registro de pH semanal	38
Tabla 24 Tasa de biodegradación en tratamientos	39
Tabla 25 Resumen tasa de biodegradación en tratamientos	40
Tabla 26 Análisis estadístico para la tasa de biodegradación en tratamientos	40

Figura 1. Ciclo de reproducción en hongos	10
Figura 2. Diagrama diseño experimental	22
Figura 3. Contenido de tratamientos.....	26
Figura 4. Distribución de unidades experimentales en cámara emulación del clima	26
Figura 5. Medidor temperatura y humedad (Termohigrómetro)	27
Figura 6. Gráfico colonización en semanas (1-4)	30
Figura 7. Gráfico pardeamiento en semanas (5-9).....	32
Figura 8. Preparación de sustratos para esterilizar	49
Figura 9. Sustratos esterilizados en autoclave	49
Figura 10. Bolsas en cámara de emulación del clima.....	50
Figura 11. Sustratos con comienzos de colonización	51
Figura 12. Sustrato TA1 comenzando colonización.....	52
Figura 13. Sustrato TB1 con colonización y lixiviados.....	52
Figura 14. Distribución en cámara de emulación de clima luego de la colonización.....	53
Figura 15. TA1 colonizado con pardeamiento parcial.....	54
Figura 16. TC2 con colonización completa.....	54
Figura 17. Pardeamiento en TC1	55
Figura 18. Formación de protuberancias en TE1.....	55
Figura 19. Moho presente en TB1	56
Figura 20. Pardeamiento con algunas protuberancias en TC3.....	56
Figura 21. Sustrato abierto en TD1 para producción de pequeños basidiocarpos	57
Figura 22. Distribución final compartida en cámara de emulación de clima	57
Figura 23. Obtención del micelio del Shiitake	58
Figura 24. Tiras de medición de pH	58
Figura 25. Bombillos (tres) para iluminación en cámara de emulación del clima	59
Figura 26. Visualización externa de la cámara de emulación del clima.....	59

Lista de Anexos

ix

Anexo A. Semana 1: Preparación tratamientos y montaje en laboratorio	49
Anexo B. Semana 2: Adaptación de sustratos y colonización.....	50
Anexo C. Semana 3: Inicio de colonización del sustrato.....	51
Anexo D. Semana 4: Colonización avanzada y toma de pH	52
Anexo E. Semana 5: Colonización y principios de pardeamiento.....	53
Anexo F. Semana 6: Pardeamiento y colonización completa.....	54
Anexo G. Semana 7: Pardeamiento y formación de protuberancias	55
Anexo H. Semana 8: Pardeamiento y desarrollo de basidiocarpos	56
Anexo I. Semana 9: Desarrollo de basidiocarpos y pesaje final.....	57

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: DETERMINACIÓN DE UN SUSTRATO EFICIENTE PARA EL CULTIVO DE SHIITAKE (LENTINULA EDODES) A PARTIR DE UNA MEZCLA DE RESIDUOS DE PRODUCCIÓN DE CAFÉ Y VAINA DE ARVEJA (PISUM SATIVA) EN EL LABORATORIO

AUTOR(ES): CARLOS ANDRÉS CHIRIVÍ CARREÑO

PROGRAMA: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): YOLANDA GAMARRA HERNÁNDEZ

RESUMEN

En las plazas y mercados, los residuos agrícolas son generados a diario y se reúnen con la basura ordinaria, produciendo más contaminación en el ambiente al llegar a los rellenos sanitarios. A raíz de esta problemática, el uso de estos residuos orgánicos en sustratos para cultivos de hongos es una solución práctica y rentable. La producción de Shiitake se ha desarrollado en torno a la sostenibilidad, aporte nutricional y uso medicinal. Teniendo en cuenta que las vainas de arveja y la pulpa de café, son considerados residuos sin ninguna utilidad después del uso de sus productos (café y arveja), se proponen estos elementos como sustrato para el cultivo del hongo shiitake. El aprovechamiento de estos subproductos hace parte de la gestión ambiental para reducir la contaminación, además de generar un alimento muy rico en vitaminas, minerales y compuestos bioactivos que ayudan a la salud en general, así como la acción de reducción de diferentes tumores y tipos de cáncer. El presente estudio propone cultivar el hongo en una cámara de emulación de clima, probando cinco tratamientos, cada uno con cinco repeticiones durante nueve semanas para evaluar el crecimiento y desarrollo del hongo. Las mediciones para evaluar los resultados de la eficiencia biológica estaban asociadas al peso de los cuerpos fructíferos y la tasa de biodegradación. De acuerdo con los resultados, sólo en TC se desarrollaron basidiocarpos no mayores a tres unidades. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el modelo de ANOVA que presentó discrepancia entre la varianza de cada tratamiento según los factores estudiados bajo las condiciones controladas.

PALABRAS CLAVE:

Residuos, Shiitake, Vaina de arveja, Pulpa de café, eficiencia, ANOVA

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: DETERMINATION OF AN EFFICIENT SUBSTRATE FOR THE CULTURE OF SHIITAKE (LENTINULA EDODES) A PART OF A MIXTURE OF RESIDUES OF COFFEE AND SHEEP PRODUCTION (PISUM SATIVA) IN THE LABORATORY

AUTHOR(S): CARLOS ANDRÉS CHIRIVÍ CARREÑO

FACULTY: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR: YOLANDA GAMARRA HERNÁNDEZ

ABSTRACT

In squares and markets, agricultural waste is generated on a daily basis and meets ordinary garbage, producing more pollution in the environment when it reaches landfills. As a result of this problem, the use of this organic waste in substrates for mushroom crops is a practical and profitable solution. The production of Shiitake has been developed around sustainability, nutritional contribution and medicinal use. Taking into account that pea pods and coffee pulp are considered waste without any utility after the use of their products (coffee and peas), these elements are proposed as a substrate for the cultivation of the shiitake mushroom. The use of these by-products is part of environmental management to reduce pollution, in addition to generating a food rich in vitamins, minerals and bioactive compounds that help health in general, as well as the action of reducing different tumors and types of Cancer. The present study proposes to cultivate the fungus in a climate emulation chamber, testing five treatments, each with five repetitions during nine weeks to evaluate the growth and development of the fungus. The measurements to evaluate the results of the biological efficiency were associated to the weight of the fruiting bodies and the rate of biodegradation. According to the results, basidiocarps no greater than three units were developed on TC only. The results were analyzed statistically by means of the ANOVA model that showed discrepancy between the variance of each treatment according to the factors studied under the controlled conditions.

KEYWORDS:

Residues, Shiitake, Pea pod, Coffee pulp, efficiency, ANOVA.

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

Introducción

La problemática de seguridad alimentaria a nivel mundial está dada por la incertidumbre de disponibilidad de alimentos lo cual se requieren soluciones inmediatas, sin embargo, para conseguir tales soluciones, se debe contar con el apoyo de inversiones públicas y privadas que aumenten la productividad agrícola lo que a su vez permite el desarrollo de tecnologías, servicios, entre otros elementos que soportan de manera íntegra las diversas soluciones (FAO, 2014).

Los hongos comestibles han sido alternativas nutritivas en la dieta de los seres humanos ya que poseen las suficientes proteínas para suplir las demandas diarias. Desde esta perspectiva la literatura ha venido aportando importantes avances para el cultivo de hongos, de tal forma que genere interés en las comunidades científicas para el buen uso del mismo en la sociedad (Sierra, Fernando; Orozco, 2014).

El cultivo de hongos comestibles utilizando la pulpa del café ofrece beneficios por la bioconversión de materiales agrícolas como solución parcial a los problemas asociados al incremento de la población mundial, que genera a su vez escasez de alimentos, contaminación ambiental, y permite reducir costos para la alimentación y control de los daños en el medio ambiente (Camilo et al., 2003).

Los cultivos de shiitake se presentan hoy en día en todo el mundo ya sea de forma sintética o natural, a tal medida que se viene invirtiendo tiempo y dedicación a estudios en los productos, subproductos y residuos que estos generan en su proceso de crecimiento y fructificación. La producción de shiitake (*L. edodes*) en todo el mundo aumentó más de 110 veces desde 1936 (12.000 toneladas) a 1997 (1.321, 600 toneladas). La mayor parte de este aumento ocurrió en los años noventa. El shiitake representó el 26% de la producción de diversas variedades de hongos en todo el mundo y ocupó el segundo lugar después de la seta de botón (*Agaricus bisporus*) en 1997 (Shen, Liu, Wang, & Royse, 2008).

La biomasa del hongo shiitake en Colombia es muy baja con respecto a las cifras manejadas en mercados como el europeo (0.06Kg. per. cápita contra 8Kg. per. cápita), debido al desconocimiento de las características del hongo y sus propiedades nutricionales y medicinales (Andrés, Barrero, Alberto, & Alvarez, 2004).

El presente estudio está dirigido al aprovechamiento de la biomasa vegetal que se desecha en una plantación de café, así como también la vaina de arveja, que resulta siendo un residuo voluminoso en las plazas de mercado o sectores de su comercialización. Estos elementos contienen valores significativos de nutrientes para ser utilizados en el cultivo del hongo shiitake (*L. edodes*) asociado a tratamientos. Con sustratos dosificados en diferentes concentraciones y en condiciones ambientales controladas por medio de una cámara de emulación de clima, esta técnica pretende establecer el sustrato con la mayor eficiencia biológica durante un periodo de seis meses (César & Rodríguez, 2014).

Se han realizado varias investigaciones con cada uno de los componentes ya mencionados, sin embargo, la concentración de los elementos será un factor importante porque permitirá mediante el análisis de los tratamientos identificar el que aporta la mayor eficiencia biológica en el menor tiempo posible de cultivo con el fin de aportar un sustrato óptimo bajo las condiciones de sustentabilidad y beneficio nutricional (Escobar & P, 2007). Para esto, se utilizó el modelo estadístico de análisis de varianza (ANOVA), teniendo en cuenta el número de variables a estudiar y su practicidad en cuanto a la aleatoriedad con el fin de determinar la discrepancia entre las medias de los tratamientos y obtener resultados que afirmen la hipótesis según el aporte dado por la literatura (Dagnino, 2011).

1. Objetivos

1.1. Objetivo general

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

1.2. Objetivos específicos

Establecer las condiciones ambientales requeridas en el laboratorio para el crecimiento eficiente de los micelios del hongo shiitake (*L. edodes*) a partir de consulta bibliográfica.

Evaluar cinco variaciones de concentración de vaina de arveja y pulpa de café como sustrato, para la producción del shiitake mediante ensayos.

Reportar la eficiencia biológica de cada uno de los tratamientos para la selección del mejor resultado a partir de un balance de masa.

Seleccionar el sustrato que permite el crecimiento del mayor número de cuerpos fructíferos, y una óptima tasa de biodegradación del hongo en el menor tiempo de cultivo.

Determinar la discrepancia entre las medias de los tratamientos que son mayores en la estimación de resultados, bajo las variaciones que ocurren entre sí.

2. Marco de referencia

2.1. Antecedentes

Un estudio realizado en China publicado en el 2011 evaluó los efectos de los compuestos para varios sustratos en diferentes niveles de concentración, en los que se utilizaron salvado de trigo, salvado de arroz y suplementos de polvo de maíz con aserrín para fortalecer la inoculación del shiitake y llevar un buen registro en el crecimiento de estos. Esto fue llevado a cabo por el aumento de cultivos del hongo shiitake en el cual se busca cada vez aumentar su calidad y vida útil. El valor que tiene este cultivo se da por la importancia medicinal y nutricional, sobre todo que este último está siendo uno de los factores más importantes en el mundo (Moonmoon et al., 2011).

Dada las demandas del mercado, las técnicas de cultivo se han venido mejorando con el fin de optimizar los recursos y ampliar la gama de sustratos, así como la reducción de los tiempos de producción. En este caso se usó sustratos en serrín complementado con una variedad de niveles de salvado de trigo, salvado de arroz y polvo de maíz en combinaciones de (1:1:1) respectivamente. Los resultados más relevantes se determinaron en la combinación de suplementos porque se observó una tasa de crecimiento en el micelio que varió de 0.2 a 0.4 cm/día. Estos resultados se obtuvieron en el serrín (sustrato común) combinado con salvados agrícolas bajo condiciones controladas; un exceso de los salvados reduce la producción de los hongos en el sustrato. (Moonmoon et al., 2011).

Otros estudios por el contrario decidieron realizar sus cultivos sin suplementos para conseguir datos que validen netamente las características que componen los sustratos los cuales influyen en el crecimiento del hongo. El desarrollo de este fue llevado a cabo por investigadores de USA y China, en los que cultivaron hongos ostra en sustratos hechos de arroz y paja de trigo sin suplementación de nutrientes para determinar los efectos que el tamaño de estos producían en el hongo bajo la observación de rendimiento de setas, eficiencia biológica los cuales a su vez iban evaluados por la eficiencia de bioconversión del sustrato en tiempos paralelos que reflejaban la comparativa de la paja de arroz versus paja de trigo (Zhang, Li, & Fadel, 2002).

Los resultados confirmaron que la paja molida produce una mayor tasa de crecimiento frente al escaso rendimiento dado por la picada, pero una observación muy importante frente a este parámetro se dio cuando los rendimientos disminuían en la paja molida, producto del tamaño de partícula, el cual era muy pequeña y el hongo demoraba más en colonizar con sus cepas distribuidas en un volumen mayor de paja molida (Zhang et al., 2002).

Los estudios basados en la producción de hongos Shiitake conllevan a dar provecho de los residuos agrícolas como parte de sustrato para conseguir cuerpos fructíferos para su consumo; además se comienzan a realizar estudios con el fin de aprovechar todos los

elementos y subproductos que se generan mediante el cultivo. Una muestra de estos enfoques se dio en una investigación datada en el 2003 sobre la evaluación de las enzimas en las cepas de *L. edodes*. Para ello, usaron nueve cepas distintas en sustratos compuestos por ramas, cortezas y hojas de eucalipto en el que iban monitoreando el crecimiento de estas cepas para evaluar así mismo la actividad que tenían las enzimas en sus etapas (E. M. Silva, MacHuca, & Milagres, 2005).

El estudio concluyó por medio de la observación de la cepa de Shiitake el efecto de las enzimas, las cuales a partir de estas pueden optimizar tiempos de producción por la correlación dada en su crecimiento micelial gracias a la biotransformación y metabolitos que se generan. Los resultados son ahora la base para demostrar en futuros estudios la implicación de estas enzimas dirigidas a la hemicelulosa y lignina, que son las fuentes nutritivas para el desarrollo del hongo (E. M. Silva et al., 2005).

Un estudio realizado en USA y China, integraron el cultivo de Shiitake para la digestión anaerobia en la utilización de biomasa leñosa. Esto se desarrolló pensando en la relación costo-beneficio de la producción de bioenergía desde la biomasa leñosa; conociendo el aporte de las astillas de madera como sustrato para el Shiitake, en la que genera los nutrientes necesarios para el crecimiento del hongo, produciendo a la vez un rendimiento de metano durante la digestión anaeróbica, lo que permite la producción de setas de alto valor y un aumento de producción de metano mediante el pretratamiento en el cultivo (Lin, Ge, Liu, & Li, 2015).

Uno de los resultados de mayor relevancia fue la efectividad que permitió el cultivo del Shiitake en la digestibilidad enzimática de los sustratos, el cual fue 1,5 veces según reportan los autores en el estudio, en el cual también resaltaron la relación de proporcionalidad entre la astilla y la producción de metano el cual fue de 1 kg: 50% más de metano; los resultados contribuyen además a la reducción de desechos sólidos y la alta productividad en el cultivo con una tasa de cosecha semejante a la convencional (Lin et al., 2015).

En un estudio realizado en los Estados Unidos en el 2008 se evaluó el crecimiento de hongos comestibles mediante el uso de diferentes métodos de cultivo. Se encontró que en el cultivo del hongo shiitake se presentó un crecimiento más rápido en sustratos de leguminosas previamente combinados con pajas de trigo y pajas de arroz, ver Tabla 1. También se evidenció una proliferación considerablemente baja del hongo en sustratos compuestos por tomate, albahaca que fueron mezclados con paja de trigo y paja de arroz (Nyochembeng, Beyl, & Pacumbaba, 2008).

Tabla 1

Comparación del diámetro superficial del micelio a los 24 días de inoculación

Residuo de cosecha	Crecimiento micelial – radial superficial (diámetro, cm)	
	LE001	LE002
Tomate	5.90	7.30
Paja de trigo	9.20	10.1
Paja de arroz	2.30	8.00
Haba de soja	8.90	9.90
Albahaca	0.40	5.50
Frijol	10.5	9.70
Batata	0.00	0.40
Paja de trigo + tomate	9.20	10.2
Paja de trigo + albahaca	6.30	8.50
Paja de trigo + haba de soja	9.80	10.5
Paja de trigo + batata	0.00	3.00
Paja de trigo + frijol	10.5	10.6
Paja de arroz + tomate	9.30	10.3
Paja de arroz + haba de soja	8.10	10.5
Paja de arroz + albahaca	5.30	8.00
Paja de arroz + batata	0.00	2.70
Paja de arroz + frijol	10.7	10.2

Fuente: Traducido de Nyochembeng, 2008.

Según los resultados observados en la tabla anterior, se determinó que únicamente la cepa de *L. edodes* (LE001) tuvo un crecimiento considerable en los sustratos respecto a las cepas analizadas (LE001 y LE002), lo que llevó a concluir que la cepa es un factor importante y de gran relevancia para obtener una proliferación micelial rápida y de mejor tamaño (Nyochembeng et al., 2008).

La participación de países en Suramérica ha tomado los pasos de estudios internacionales para aportar en la colección de datos respecto a los sustratos. Es así como se llevó a cabo un estudio llamado “Cultivo de hongos comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales” en el cual el Centro de Biotecnología del Instituto de Estudios Avanzados de Venezuela hizo parte, con el fin de demostrar cuál combinación de sustratos iba mejor en la eficiencia biológica, estas especies de hongos tipo orejas blancas se sometieron a 20 diversos sustratos compuestos de desechos industriales y agrícolas que variaban su composición y mezcla (Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela), Instituto Nacional de Agricultura (Venezuela), Centro de Investigaciones Agronómicas (Venezuela), & Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela), 2002).

Los datos que generaron mayor importancia para el cultivo del Shiitake se dieron en la mezcla de cáscara de arroz con tusa de maíz debido a su principal aporte C/N y en las

mezclas de paja por su composición rica en celulosa lignocelulosa y de tamaño en partícula para la bioconversión de las setas principalmente en las etapas de colonización y fructificación (Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela) et al., 2002). Este tipo de estudios ha repercutido en Colombia, a tal punto que se generan estrategias de producción más limpia en proyectos sociales, de los cuales en el Valle del Cauca se aplicó bajo el concepto de negocio rentable, al cultivar el hongo *Pleurotus ostreatus* para suplir la dieta proteica. Esta producción se realizó en sustratos compuestos por bagazo de caña, capacho de maíz, fríjol y otros residuos de cosecha. Se realizó un proceso de fermentación para degradar los azúcares y así impedir el crecimiento de otros hongos que combatan con el producto principal. Se demostró que la producción de estos hongos en sustratos agrícolas, no generan ninguna clase de químicos y se aprovechan y valoran los residuos, aumentando así la producción (Mineducación, 2009).

En los últimos años, se ha fomentado la práctica de los cultivos de hongos comestibles, en los cuales el shiitake ha tomado gran importancia debido a sus propiedades medicinales y proteicas, así como las de sus residuos que se utilizan en diversos campos en la industria alimentaria. En la actualidad, universidades como la Nacional de Colombia estudiaron la fermentación líquida de estos cultivos, para obtener metabolitos que conlleven a tener un alimento funcional y de esta forma sacar más provecho no solo al cuerpo fructífero sino a todo lo que compone el desarrollo del mismo (Arango, 2012).

La continuación y desarrollo de nuevas estrategias, investigación y estudios al respecto está siendo guiado por CENICAFÉ, que por medio de informes semestrales o anuales, según sea su producción, detallan los procesos que llevan a cabo para conseguir que los cultivos de hongos de mayor interés en Colombia (Orella y Shiitake) logren desarrollarse sin mayores requerimientos económicos, permitiendo el conocimiento a las distintas poblaciones, la facilidad de conseguir un alimento rico y nutritivo sin tener que recurrir a grandes costos y así aprovechar los beneficios de los residuos orgánicos propios de la zona (Rodríguez Valencia, Liliana Araque Fonseca, Perdomo Perdomo, Científico Cenicafé, & Profesionales Cenicafé, 2006).

2.2. Marco teórico

2.2.1. Hongos comestibles

Los hongos en la mayoría de sus géneros son los organismos que se adaptan a los entornos y logran reproducirse sin mayor dificultad debido a las características fisicoquímicas que estos poseen. De este criterio nació la idea de estudiar y aprovechar los hongos silvestres para su consumo. Según registros, en China, siglos antes de Cristo, se comenzó a usar los hongos silvestres como comestibles, desde aquel momento se fueron descubriendo más especies comestibles no tóxicas para el ser humano (Kiple, 2000).

La tendencia de consumir hongos fue aumentando conforme se daban resultados de investigaciones las cuales generaban satisfacción para el consumidor, ya que se determinó que eran bajos en sodio, contenían antioxidantes y además eran ricos en nutrientes de gran importancia que muchas veces no se encontraban en otros productos frescos. Esta información permitió valorar a los hongos comestibles como una alternativa saludable y nutritiva en varias presentaciones. Otro de los aportes de los hongos comestibles es que juegan un papel importante para combatir el cáncer de mama y próstata; conjuntamente un compuesto realiza la supresión en tumores de cáncer según estudios realizado en la última década (Koopman & Laney, 2010).

El aporte nutricional y medicinal de los hongos varía según la especie y su medio de cultivo, teniendo en cuenta esta distribución en los géneros, existen algunos considerados peligrosos por las reacciones químicas que se desarrollan en el organismo del ser humano. El temor dado por estos hongos silvestres es más publicitario o de creencias populares ya que las cifras de víctimas es poca frente al consumo habitual. En la Tabla 2 se puede observar el compilado en las categorías de hongos según su especie; los números obtenidos de los hongos son basados en 110 países los cuales se encuentran estos hongos silvestres (Boa, 2005).

Tabla 2

Cantidad de especies de hongos comestibles y medicinales

Categoría	Número de especies	Porcentaje total
1. Sólo comestibles	1009	43
2. Comestibles y medicinales	88	4
3. Sólo alimentos	820	35
4. Alimento y medicinal	249	11
5. Sólo medicinal	133	6
6. Otros usos (fuera de los anteriores)	29	1
TOTAL, especies silvestres útiles	2327	
TODOS sólo comestibles (1+2)	1097	
TODOS alimentos (3+4)	1069	
TODOS medicinales (2+4+5)	470	

Fuente: Boa, 2005.

La cantidad de especies de hongos comestibles es muy diversa, además de que estos a su vez reportan porcentajes significativos para uso alimenticio, así como medicinal. Teniendo en cuenta estos resultados, la calidad y seguridad que debe tener las diferentes

poblaciones para el consumo de los hongos es considerablemente aceptable, ya que se aportan beneficios en un producto cosechado sin daño alguno al ambiente y con excelentes propiedades para el ser humano (Boa, 2005).

2.2.2. Características y propiedades

Los hongos hacen parte de los organismos menos explorados, hasta la fecha se estima aproximadamente 1.5 millones de especies, de la cual se conoce cerca de 80000 a 120000. Actualmente se clasifican según varios factores, tales como: su nutrición, estado vegetativo, pared celular, estado nuclear, ciclo de vida, reproducción, propágulos (cantidad de esporas), esporocarpos (estructura celular), hábitat, ecología (funciones como saprótrofos, simbiosis, parásitos, etc.), distribución geográfica (Webster & Weber, 2007).

Los organismos eucarióticos no vasculares como los hongos contienen 80 ribosomas y están compuestos por hifas que son filamentos que ayudan al transporte de agua y alimento. Cuando el hongo ya ha tomado un sustrato, estas hifas se ramifican formando un micelio, extendiéndose de forma aleatoria cuando disponen de espacio, posteriormente se agrupan en estructuras que definen el hongo (McConnaughey, 2007).

Una característica esencial del reino fúngico es los tipos morfológicos que estos poseen: levaduras (hongos unicelulares) o hifas verdaderas (filamentosos multicelulares). Toda célula fúngica posee estructuras celulares internas acompañadas de su pared celular y un núcleo verdadero; bajo este concepto se atribuye su gran éxito en la colonización de los ecosistemas, por la formación de hifas y micelios de enorme extensión (Bueno & Silva, 2014).

La importancia de los hongos en los ecosistemas está en las múltiples funciones que cumplen mediante las transformaciones biogeoquímicas, las cuales degradan, utilizan y transforman sustratos orgánicos hasta inorgánicos. Estos procesos implican en otros seres vivos, como las plantas que generarán posteriormente alimentos para los humanos y animales. El reino fungi actúa sobre todos los ciclos elementales, por lo que se han desarrollado investigaciones con la interacción de los hongos para obtener resultados favorables en el entorno de la biotecnología, algunos de ellos son: la degradación de contaminantes xenobióticos por medio de las enzimas y metabolitos generados en el crecimiento de los hongos, lixiviación de metales, entre otros (Gadd, 2008).

2.2.3. Ciclo vital

Los hongos tienen dos formas para lograr su reproducción, manteniendo las características de la especie en los nuevos individuos. La sexual y la asexual son los caminos para conseguir multiplicar los hongos; la última es la más utilizada en la producción para hongos comestibles debido a que se puede lograr la reproducción sin necesidad de fusionar los núcleos como lo hacen en su entorno natural (Stamets, 2000).

Para conseguir esta reproducción asexual también llamada somática, se deben mantener ciertas condiciones de pH, humedad y temperatura, añadiendo un sustrato con buenos nutrientes para el desarrollo de la cepa mediante sus hifas, del cual en menos tiempo que la reproducción sexual se logra conseguir una seta con semejanzas a la madre, como se puede apreciar en la Figura 1 (Stamets, 2000).

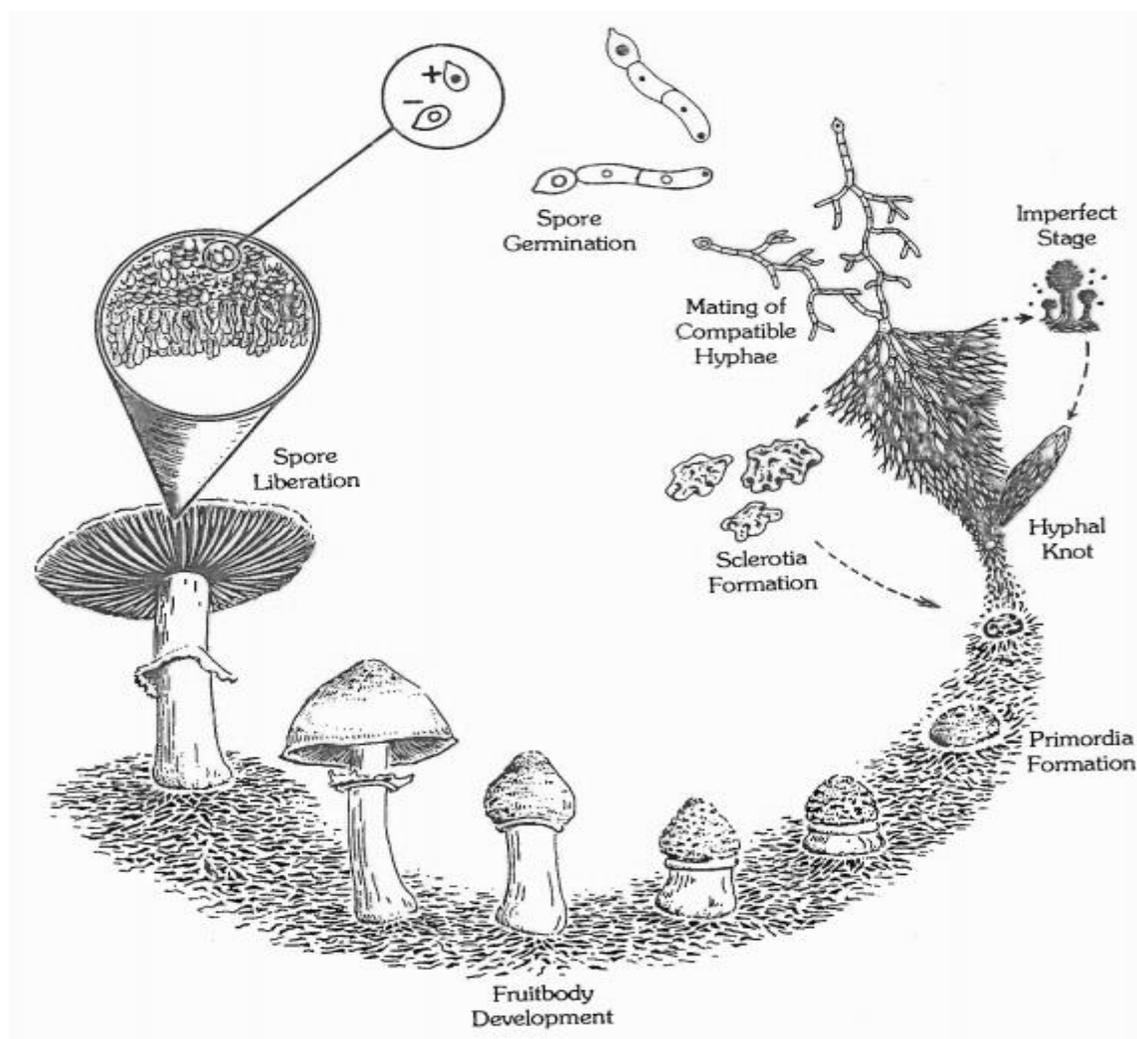


Figura 1. Ciclo de reproducción en hongos

Fuente: Stamets, 2000.

2.2.4. Basidiomicetos

División del grupo de fungi importante en la naturaleza debido a su versatilidad en las especies que lo conforman, las cuales poseen desde metabolitos que actúan

positivamente ante diferentes patologías clínicas, así como especies comestibles que son fuentes significativas de nutrientes. Uno de los grupos de mayor interés se encuentra en esta división, los hongos de podredumbre blanca; especiales por su capacidad de degradar compuestos aromáticos y otros, los cuales favorecen las investigaciones en aplicaciones para biorremediación de agua y suelos contaminados de estas sustancias (Rojas Ramírez, 2013).

Este grupo de hongos desarrolla estructuras macroscópicas para su reproducción, conocidos como setas, pueden encontrarse en ambientes terrestres y acuáticos, con estas características se adaptan bajo condiciones como saprobios, micorrízicos o parásitos; por lo general la mayoría son saprófitos y desempeñan un papel importante en los ciclos de nutrientes por su descomposición de troncos, ramas, entre otros (Gimenes, 2010).

La degradación de material biológico de estos hongos va acompañada de bacterias y otros patógenos presentes en el momento de actividad, además son capaces de producir enzimas en pequeñas cantidades para degradar la lignina, aun en maderas colonizadas tienden a causar caries blandas para seguir su desarrollo (Agrios, 2005).

2.2.5. *Lentinula edodes* (Shiitake)

Es un hongo perteneciente al género *Lentinula*, conocido también como “hongo negro del bosque” o “elixir de vida” por sus beneficios a la salud. Proveniente de Asia oriental, lugar donde se comenzó a cultivar y consumir en pequeñas proporciones. A medida que su exquisito sabor y su práctico método de cultivo fue dado a conocer, su producción aumentó y las investigaciones respecto a sus características nutricionales y medicinales se expandió a diversos lugares, hasta tenerlos hoy en día como productos alimenticios en diferentes presentaciones. El interés económico en su producción genera atractivas salidas en el mercado, es por ello que se posiciona como uno de los hongos más populares, ocupando el segundo lugar en la producción mundial desde el nuevo milenio (Fung, 2002).

Al ser un hongo de renombre en el mercado, se han dado estudios sobre su composición y las diferentes reacciones de sus metabolitos en desarrollo de sustratos. Sin embargo, lo que se busca conseguir con el shiitake, es producirlo a bajos costos para abarcar todas las poblaciones ya que su contenido nutricional es alto en varios factores de interés para la salud. En la Tabla 3 se representa los diferentes perfiles nutricionales en los tres tipos de hongos más cultivados y consumidos (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2007).

Tabla 3
Contenido nutricional Champiñon, Pleurotus y Shiitake

	Champiñon (por 100 g de porción comestible)	Pleurotus (por 100 g de porción comestible)	Shiitake (por 100 g de porción comestible)	CDR hombres	CDR mujeres
Energía	26	26	34	3000	2300
Proteínas (g)	1,8	1,8	2,24	54	41
Lípidos	0,3	0,3	0,49	<1000	<77
AG saturados	0,07	0,07	-	<23	<18
AG	Tr	Tr	Tr	>57	>43
AG poliinsat.	0,17	0,17	-	10-20	8-15
Ω-3 (g)	0,133	0,133	-	0,33-3,3	0,25-2,6
Ω-6 (g)	0,032	0,032	-	1,3-16,5	1,2-10,4
Colesterol	0	0	0	<300	<230
Hidratos de C	4	4	6,79	375-450	288-345
Fibra (g)	2,5	2,5	2,5	38	29
Agua (g)	91,4	91,4	89,74	1000-2000	1000-2000
Calcio (mg)	9	9	2	800	800
Hierro (mg)	1	1	0,41	10	18
Yodo (µg)	3	3	-	140	110
Magnesio	14	14	20	350	330
Zinc (mg)	0,1	0,1	1,03	15	15
Sodio (mg)	5	5	9	<2400	<2400
Potasio (mg)	470	470	304	3500	3500
Fósforo (mg)	115	115	112	700	700
Selenio (mg)	9	9	5,7	70	55
Tiamina (mg)	0,1	0,1	0,015	1,2	0,9
Riboflavina	0,41	0,41	0,217	1,8	1,4
Niacina (mg)	4,6	4,6	3,877	20	15
Vitamina B6	0,1	0,1	0,293	1,8	1,6
Ácido fólico	23	23	18	400	400
Vitamina B12	0	0	0	2	2
Vitamina C	4	4	0	60	60
Vitamina A	0	0	0	1000	800
Vitamina D	0	0	0,5	5	5
Vitamina E	0,12	0,12	0	12	12

Fuente: Moreiras et al., 2007.

Cada hongo posee sus propiedades benéficas que lo resaltan en comparación con los otros, estos van desde vitaminas, minerales, aporte energético o bajos índices de grasas. La tabla anterior también consigue afirmar los valores necesarios diarios para hombres y mujeres, lo que resulta interesante para la selección del hongo más conveniente según sus necesidades y el aporte extra que estos pueden brindarle (Moreiras et al., 2007).

2.2.6. Características del Shiitake

El Shiitake posee atributos nutricionales y funcionales de buena calidad, sin embargo, el píleo es lo más consumido ya que la cantidad de fibra insoluble que posee el tallo es muy alta y no favorece su comercialización en el mercado. Los reportes científicos acerca de los componentes bioactivos que tiene este hongo, indican que los metabolitos secundarios son benéficos para reducir el colesterol y prevenir enfermedades cardiovasculares, así como la prevención de algunos tipos de cáncer (Rivera, Albarracín, & Lares, 2017). Los glucanos, quitina y proteínas son los que conforman la pared celular del Shiitake. A partir de esta constitución, los polisacáridos brindan aquellos valores medicinales y nutricionales que caracterizan y denominan al hongo como el elixir de vida (Gao, Shi, Wang, Zhou, & Zhang, 2010).

Lo que convierte al Shiitake en un alimento funcional y con funciones biológicas de gran importancia como: antitumoral, antiviral, antiinflamatoria, antiparasitaria, antidiabético, inmunomodulador, entre otros, es debido a los compuestos aislados que presenta en su estípite y el píleo, abundantes en Eritadenina, Quitina 12 y ergosteroles. En la Tabla 4 se puede observar lo referente a estos compuestos con sus respectivos grupos funcionales (Wasser & Weis, 1999).

Tabla 4

Componentes activos del Shiitake

Compuesto	Grupo funcional	Bioacción
Eritadenina	Derivado acíclico de la adenosina	Hipolipidémico, reduce los niveles de colesterol en la sangre por excreción
Lentinan	Polisacárido	Antibacterial, Antiviral, Inmunoactivo
Emitanina	Polisacárido	Inmunoactivo
Quitina	Ácidos Nucleicos	Antiviral
Ergosterol	Triterpeno	Provitamina D-2

Fuente: Rivera, 2017.

Según los compuestos expuestos en la tabla 4, el Shiitake es un alimento muy completo y funcional en la salud de cualquier consumidor, la fórmula integrada de estos elementos bioactivos refleja en el organismo una defensa muy fuerte ante las enfermedades de cualquier índole, así como la reducción de ciertos malestares ocasionados por patógenos y otros factores que influyen en la salud del ser humano (Wasser & Weis, 1999).

El cultivo de este hongo es practicado desde la Dinastía Sung, época en la que resultó ser un platillo delicioso y con gran relevancia para su producción continua, desde entonces han surgido técnicas de producción y procesos que optimizan los tiempos de producción además de aumentar la fructificación. Uno de los autores más recordados por

sus aportes en métodos de cultivo de Shiitake fue Wang Cheng que dejó reportes de estos, en libros de agricultura (Hobbs, 1995).

2.2.7 Etapas del cultivo

La producción de *L. edodes* es baja en América Latina, manteniendo un porcentaje del 3.1% a nivel mundial; hecho que contrasta con los países más desarrollados al ser los potenciales cultivadores para el aprovechamiento en producto comestible y de investigación (MushWorld, 2005). Para conseguir una producción fructífera y de calidad, conocer las etapas del cultivo es imprescindible ya que cada una requiere de diferentes condiciones para estimular el desarrollo del hongo.

2.2.7.1 Semilla

Esta etapa comienza con la elaboración del sustrato del que se van a alimentar las hifas del hongo, aquí surge el futuro del macromiceto mediante las propiedades fisicoquímicas que tenga el sustrato, lo que a su vez facilitaría según las condiciones en las que se encuentre, la absorción de nutrientes y la actividad microbiana, entre otros factores (Emilsa & Castillo, 2007).

2.2.7.2 Inoculación

Esta etapa es también llamada la “siembra”, porque se procede a mezclar el inóculo del Shiitake con un sustrato previamente estudiado. La inoculación suele demorar según la calidad y preparación del sustrato para no tener inconvenientes como la contaminación o de humedad. Para llevar a cabo este proceso, los sustratos junto con el micelio estarán en la oscuridad en bolsas para lograr el desarrollo de futuros carpóforos (Emilsa & Castillo, 2007).

2.2.7.3. Incubación

Luego de que el sustrato se encuentre inoculado, el micelio comienza a colonizar el sustrato siempre y cuando tenga las condiciones ideales para su crecimiento, en la que influyen factores como humedad, pH, temperatura, luminosidad, entre otras. En esta etapa se puede observar las posibles deficiencias ya sea del sustrato o en inóculo agregado según el crecimiento de este. Se espera que, a este punto, el micelio comience a generar pardeamientos que significarán el buen desarrollo del micelio en el sustrato (Emilsa & Castillo, 2007).

2.2.7.4. Fructificación

Para esta etapa se espera tener bloques compactos en el sustrato, lo que querrá decir que el micelio ha colonizado a la perfección y se procederá a cambiar las condiciones ambientales a las que se encuentra sometido el cultivo para estimular el brote de primordios. Se considera etapa de fructificación cuando se observa pequeños corpúsculos en zonas de pardeamiento, así como las distintas protuberancias que se observen en el sustrato. Pasada una semana, los primordios ya tendrán cuerpos mínimos que, esperando la adaptación a las nuevas condiciones de humedad, temperatura y demás, procederán a pasar a la etapa de madurez fisiológica con el fin de ser recolectados (Emilsa & Castillo, 2007).

Todo cultivo requiere de elementos para crear un sustrato en base a una materia prima que generará frutos en un tiempo determinado, lo que a su vez dicho proceso tendrá residuos, subproductos e impactos positivos y negativos que harán parte de la producción de este. Este último factor está poco estudiado en la rama de los hongos macromicetos comestibles, no obstante, se ha contribuido en algunos aspectos para llegar a obtener impactos positivos al mismo tiempo que se reducen los impactos negativos en las diferentes etapas que este conlleva. En la Tabla 5 se puede observar lo relacionado a estos impactos en 1 kg de Shiitake (Rungnapa Tongpool & Pongpat, 2013).

Tabla 5
Impactos ambientales de 1 kg de Shiitake

Categoría del impacto	Unidad	Impacto
Cambio de climático	kg CO ₂ eq	1.8671
Reducción de Ozono	kg CFC-11 eq	1.44 x 10 ⁻⁸
Acidificación terrestre	kg SO ₂ eq	0.0195
Toxicidad en humanos	kg 1,4-DB eq	0.0563
Formación fotoquímica oxidante	kg NMVOC	0.0483
Formación de material particulado	kg 1,4-DB eq	0.0067
Ecotoxicidad terrestre	kg 1,4-DB eq	0.0005
Ecotoxicidad en aguas	kg 1,4-DB eq	0.0053
Ecotoxicidad marina	kg 1,4-DB eq	0.0022

Fuente: Traducido de Rungnapa, 2013.

Los impactos observados en la Tabla 5 son el reflejo de un alimento potencial para el futuro debido a la poca carga dada en las anteriores categorías, lo que conlleva a ser un producto alimenticio de alto valor nutritivo y medicinal que no requiere mayores intervenciones para su cultivo; el balance de estos factores

permite reconocer el cultivo del shiitake como una producción biosostenible y amigable con el ambiente (Runghana Tongpool & Pongpat, 2013).

2.2.8. Sustratos orgánicos para el cultivo de Shiitake

La preparación de sustratos orgánicos para esta familia de hongos resulta sencilla ya que cualquier residuo agroindustrial sirve para la elaboración de este. El micelio de este hongo hace posible el aprovechamiento de estos residuos gracias a la extracción de carbono y demás nutrientes en la materia orgánica que se le agregue. Lo principal para el hongo es la fuente de carbono, constituida por la celulosa y lignina, de fácil adquisición en los residuos agrícolas, pero con mayor concentración en aserrín, paja de cereales, cáscara de arroz o tuzas de maíz (Rodríguez, 2007).

El nitrógeno por su parte puede cubrirse en el proceso de descomposición bioquímico, ya que, a partir de este, los aminoácidos y las proteínas generadas en mayor cantidad por las harinas, granos de cereales, estiércol, entre otros, consiguen fusionarse en el momento en el que el carbono es consumido por el micelio para conformar el sustrato en el que el hongo se desarrollará mediante la combinación de estos elementos (Rodríguez, 2007).

2.2.9. Residuos para la elaboración del sustrato orgánico

2.2.9.1 Vaina de arveja

Su valor nutritivo es destacado por la fibra, proteína, vitaminas y minerales que contiene, además de tener una considerable cantidad de proteína que es acompañada con bajos niveles de sodio y colesterol. Uno de los factores más relevantes de esta familia de legumbres es que no contiene gluten y las kilocalorías que presenta no son tan elevadas, lo que permite ser un alimento sin contraindicaciones en su consumo. (Vaca Patiño, 2011).

La vaina de la arveja proviene del final del proceso de fecundación, en la que los pétalos de la planta se marchitan, dando paso a una vaina en desarrollo (Vaca Patiño, 2011). Estas cumplen el importante papel de proteger las semillas hasta el estado de madurez, donde toman un color verde que significa el tiempo ideal para ser consumida (Jácome Segovia, 2015).

La composición química de la vaina de *P. sativum* se observa en la Tabla 6, estos valores pueden ser afectados en un grado mínimo según el terreno en la que se ha cultivado, así como la hidratación que reciben en su desarrollo (González González, 2010).

Tabla 6

Composición química vaina de P. sativum

Composición	Valor promedio hallado (%)	Desviación estándar
Humedad inicial (vainas frescas)	86,22	1,1890
Humedad después de secado	2,53	0,2312
Cenizas	4,65	0,0833
Fibra	55,07	1,4317
Grasa	1,64	0,5314
Proteína	13,34	1,9044

Fuente: González, 2010.

La humedad es un valor que contrasta en la vaina de arveja según el estado en el que se encuentre, lo que permite a su vez conocer la capacidad de retención de líquido que las vainas pueden tener a medida que se hidratan. La fibra es otro punto para analizar en la tabla, porque su valor sigue permaneciendo pese al estado en el que se reporte; de la misma forma ocurre con la proteína con un promedio menor y una alta desviación (González González, 2010).

2.2.9.2 Pulpa de café

Después del proceso de beneficio, este residuo lignocelulósico desechado en las fincas y productoras de café se convierte en un importante compuesto para mejorar suelos, así como un fertilizante de calidad para las plantas que carecen de una buena relación carbono – nitrógeno, lo que a su vez permite la fijación de otros nutrientes esenciales. En la Tabla 7 se puede observar el contenido químico de la pulpa seca (Cervantes, Castro, Cabrera, Fernández, & Fernández, 2014).

Tabla 7

Composición química de pulpa de café

Ca (%)	Mg (%)	P (%)	K (%)	N (%)	pH	C (%)	C/N
2.26	0.23	0.2	1.96	3.41	4.4	54.14	16:1

Fuente: Cervantes, 2014.

La composición observada en la tabla permite conocer los beneficios que la pulpa de café posee como fuente de carbono para cualquier sustrato, así como su relación con el nitrógeno. Además, el pH que posee de 4.4 es un aspecto a considerar según el tipo de cultivo a realizar, este a su vez combinado con un sustrato alcalino lograría crear un equilibrio lo que brindaría un desarrollo estable y fructífero para la producción de los cultivos (Cervantes et al., 2014).

La pulpa de café representa aproximadamente el 29% del peso del fruto entero (cereza). Se le atribuye además del peso, el alto nivel de humedad que esta posee, medida que dificulta el aprovechamiento de esta para procesos agroindustriales o de uso directo en alimentos, entre otros. La composición química de la pulpa de café se puede ver en la Tabla 8, la cual realiza la comparativa de este subproducto en tres de sus presentaciones (Braham, 1979).

Tabla 8
Compuestos de la pulpa de café en tres presentaciones

Compuesto	Fresco	Deshidratado	Fresco recién deshidratado
Humedad	76.7	12.6	7.9
Materia Seca	23.3	87.4	92.1
Éter	0.48	2.5	2.6
Fibra cruda	3.4	21.0	20.8
Proteína cruda	2.1	11.2	10.7
Ceniza	1.5	8.3	8.8
Extracto libre de nitrógeno	15.8	44.4	49.2

Fuente: Braham, 1979.

La Tabla 8 brinda múltiples respuestas para las necesidades de los cultivos, porque según sus estados, podrían brindar desde una humedad alta a una muy baja, así como la regulación de fibra y nitrógeno que se requieran para lograr una producción óptima con la combinación de otros elementos (Braham, 1979).

2.2.10 Análisis estadístico

La estadística resulta siendo una fuente confiable para los datos analíticos, para llegar a ello, se debe usar medios o técnicas que se ajusten a los diseños experimentales. Una de las más utilizadas es el Análisis de Varianza, conocido como ANOVA por sus siglas en inglés Analysis of Variance o AVAR en español. Su uso es dado en casos de más de dos medias, lo que contribuye a contrastar los datos según la extensión de las pruebas. Es una técnica popular en la creación de modelos estadísticos por su flexibilidad, según sean constatados los datos experimentales; tal afirmación es dada por permitir la división en dos o más componentes de la varianza atribuida a la variable dependiente, mediante un factor influyente ya identificado (Tamayo, 2000).

Su mayor uso es dado en la relevancia de los factores examinados en un estudio de múltiples factores, así como también para suplementar el estudio de variables en medios experimentales (Davim, 2015). Las variables analizadas en cualquier diseño, experimentan posibles interacciones según la independencia de las mismas, estas a su vez reflejan

resultados importantes por las que se consigue brindar representaciones más prácticas para analizar, es así como se identifica el uso de ANOVA (Nemeth, 2004).

El uso de ANOVA requiere el cumplimiento de tres condiciones, las cuales pueden tener una mínima desviación, pero se acepta con mayor seguridad la probabilidad cuando estas se cumplen en su totalidad. Las hipótesis a tener en cuenta para el utilizar el modelo estadístico consta de: La independencia de los datos respecto a cada conjunto de datos; los resultados de los conjuntos siguen una distribución normal; las varianzas de los datos para cada conjunto no difieren significativamente (D.L. Massart, B.M.G. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. de Jong, P.J. Lewi, 1997).

La aplicación de este modelo estadístico se llevó acabo teniendo en cuenta las variables previamente definidas, ya que estas son parte fundamental para la aplicación de las fórmulas, así como el número de repeticiones, con los cuales se consiguieron los resultados enfáticos a las hipótesis en el margen de cada variable, estas, se dividen en dos (Salazar & Zapata, 2009):

- ✓ Variable independiente: Sustratos orgánicos (Mezcla de pulpa de café y vaina de arveja)
- ✓ Variable dependiente: Número de cuerpos fructíferos, peso en gramos de las unidades experimentales, tasa de biodegradación.

En el marco de las variables dependientes se debió realizar una secuencia de obtención de resultados para determinar la tasa de biodegradación, el factor correspondiente se basa en el peso final del sustrato, por ende, el análisis para esta tasa fue el último, ya que para hallarlo se aplicó la fórmula adaptada de la tasa de biodegradación: $TB = (\text{peso seco del sustrato inicial} - \text{peso seco del sustrato final} / \text{peso seco del sustrato inicial} * 100)$, con los valores porcentuales obtenidos de esta fórmula la tendencia a una fructificación es probable siempre y cuando las condiciones sean controladas y la tasa supere el porcentaje de la media entre las unidades estudiadas (Stamets, 2000).

El procedimiento para realizar las fórmulas estadísticas se centra en programas especializados o en ocasiones, cuando se hace de un solo factor se pueden desarrollar mediante hojas de cálculo siempre y cuando se conozcan bien los parámetros que estos infieren en la solución de los cálculos. Las medidas de dispersión o distribución generan un interés al momento de operar el modelo estadístico, esto porque representa el espaciado que se tiene las variables, lo que conlleva a identificar términos como (Badii, Castillo, Landeros, & Cortez, 2007):

- ✓ Rango: Estimación de la dispersión de los datos a estudiar, genera los límites a analizar. $R = \text{valor máximo} - \text{valor mínimo}$.
- ✓ Varianza: Representa el grado de igual o diferencia en las muestras provenientes de un mismo origen. Determina la dispersión de los datos, según incremente la varianza, menor grado de homogeneidad se hallará.

- ✓ Desviación estándar: Se relaciona con la varianza para representar la raíz de esta, con el fin de obtener resultados de dispersión en variables de intervalo y razón.

Conociendo los parámetros y valores, el procedimiento del modelo estadístico realizado, arroja resultados que varían según el criterio establecido y los diferentes ítems a analizar. La relación entre todos los valores se culmina con la hipótesis a definir según el planteamiento establecido, teóricamente se plantea con $H_0: \beta_i = 0$ con $i = \{1,2,3,4,5\}$; $H_a: \beta_i \neq 0$. Estas se identifican en cuatro casos (Montgomery, 2012):

- ✓ Rechazo de hipótesis: Ocurre cuando H_0 tiene un 95% de confianza en la relación de influencia sobre las variables independientes (tratamientos) en cualquier muestra de las variables dependientes (número de cuerpos fructíferos, peso final, tasa de biodegradación).
- ✓ Aceptación de hipótesis: Es dado cuando todos los β_i tienen valores iguales a cero en la estadística, lo que indica que no hay variable independiente que implique un efecto en las variables respuesta.
- ✓ Hipótesis nula: Se dice cuando la variable independiente afecta toda la producción del hongo, sin dejar excepciones en los tratamientos, todos de la misma manera.
- ✓ Hipótesis alternativa: La variable independiente no afecta de la misma manera toda la producción, dejando variables dependientes en incertidumbre a la aceptación.

3. Metodología

De acuerdo con la literatura consultada, se encuentran diferentes medios y condiciones ambientales para desarrollar los micelios del hongo. En el presente estudio se establecieron las condiciones más acertadas para el mayor rendimiento y eficiencia biológica en escala laboratorio, con factores ambientales controlados mediante una cámara de emulación de clima. Posteriormente se siguió la metodología estándar para cultivos sintéticos (Camilo et al., 2003). El procedimiento para obtener la mejor eficiencia biológica del cultivo del Shiitake a escala laboratorio, requirió de varias etapas.

3.1. Composición del sustrato

A partir de la literatura consultada con relación a la eficiencia biológica para el cultivo de *L. edodes*, se seleccionaron dos residuos agrícolas con altos contenidos de lignocelulosa (Camilo et al., 2003). La pulpa de café y vaina de arveja fueron la base de los sustratos preparados; se prepararon cinco tratamientos: TA, TB, TC, TD Y TE, cada uno con diferentes proporciones en la mezcla de los residuos. Para cada tratamiento se efectuaron cinco repeticiones con el fin de reducir el error en la medida (Camilo et al., 2003).

La pulpa del café se tomó a partir del menor tiempo del proceso de beneficio y su dimensión fue el ideal para el cultivo de shiitake. En algunos se presentaron defectos en la pulpa del café, por lo que se descartaron y se seleccionaron otras de menor tamaño que ya habían pasado a su vez por el lavado y esterilización por autoclave (Clavijo, Adrián, & Jiménez, 2016).

El tamaño de partícula para la vaina de arveja osciló entre 0.5 y 2 cm ya que estos tamaños presentaban los mejores rendimientos para el cultivo del shiitake. Este componente se sometió al mismo proceso de lavado y esterilización, por medio de autoclave, para evitar la contaminación externa (Camilo et al., 2003).

Los sustratos se empacaron en unidades experimentales (bolsas rectangulares de polipropileno bioorientado de 38 cm de largo x 20 cm de ancho y calibre 2); cada una contenía 125 g de sustrato y 25 g de semilla del hongo shiitake. Estas unidades de estudio se clasificaron en cinco tratamientos diferenciados por una letra según su composición (TA, TB, TC, TD y TE) la cual varió según el contenido de sus concentraciones en la mezcla de pulpa de café y vaina de arveja, a relaciones de 20:80,40:60,50:50,60:40 y 80:20 respectivamente, tal distribución se visualiza en la Tabla 9 y se complementa en la Figura 2 concerniente al diseño experimental (Camilo et al., 2003).

Tabla 9
Distribución de los componentes en los tratamientos

TRATAMIENTO	% EN PESO PULPA DE CAFÉ	% EN PESO VAINA DE ARVEJA	PESO (g) PULPA DE CAFÉ	PESO(g) VAINA DE ARVEJA
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.

La Tabla 9 presenta los datos en porcentaje de peso respecto a los 125 g de sustrato, como el peso para cada uno de los componentes en los cinco tratamientos. Estas variaciones contaban con cinco repeticiones para cada tratamiento con sus respectivos rótulos que los diferenciaban según su contenido.

En la Figura 2 se representa el diseño experimental de acuerdo con los criterios establecidos en el desarrollo del proyecto.

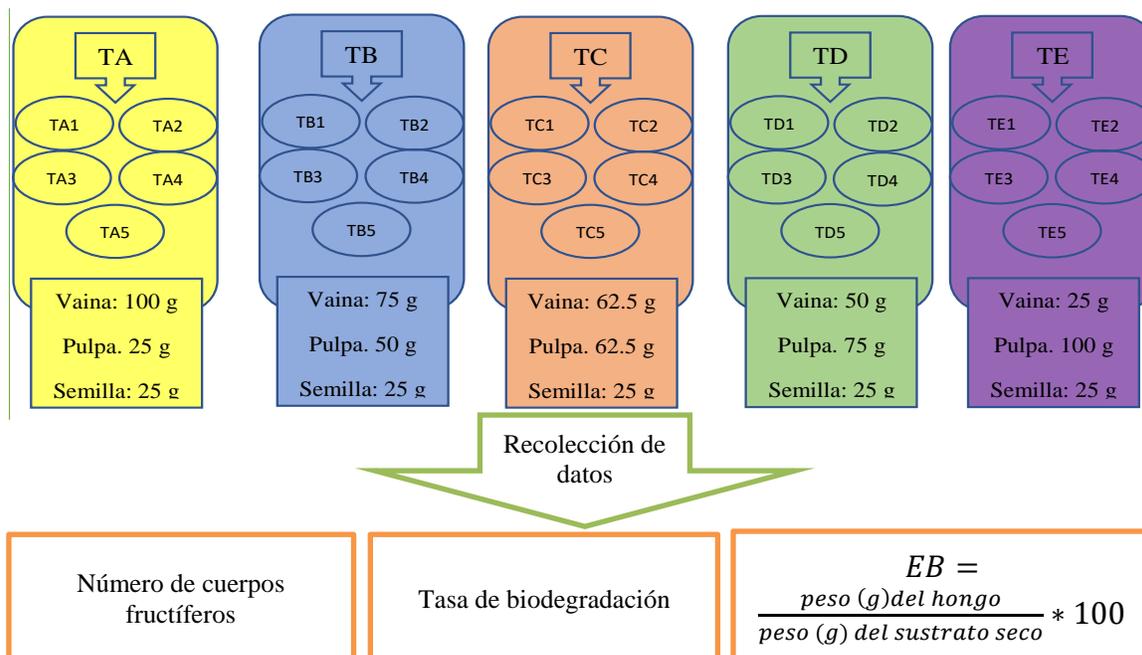


Figura 2. Diagrama diseño experimental

Fuente: Autor, 2018.

3.2. Evaluación de sustrato

3.2.1 Inoculación del sustrato

En una cámara de aislamiento, bajo condiciones asépticas, se procedió a inocular la semilla del shiitake, introduciéndola en las unidades experimentales previamente preparadas con la mezcla de los residuos agrícolas esterilizados en las bolsas de polipropileno con una humedad entre 60–65% aproximadamente (Philippoussis, Diamantopoulou, & Israilides, 2007).

3.2.2. Incubación o colonización

En la cámara de emulación de clima, se recrearon las condiciones necesarias para la etapa de incubación del hongo: temperatura superior a 27 °C y ventilación que permitió la entrada de aire fresco al cultivo. Esta etapa se efectuó después de la inoculación, tras cinco fases (Camilo et al., 2003).

3.2.2.1. *Crecimiento micelial*

En esta fase el micelio inició el proceso de colonización del sustrato por medio de su actividad enzimática que consistió en transformar las estructuras más complejas del sustrato en moléculas simples que pudieron ser absorbidas por el hongo. La temperatura fue controlada para que no fuera superior a los 28 °C, así también se registró con el termohigrómetro la humedad relativa en este periodo, el cual se permitió que oscilara en un 80 y 85% lo que recreaba el ambiente ideal para mejorar la eficiencia del crecimiento a medida que la biodegradación de los residuos se iba efectuando (Fukushima, Okada, Kawai, & Motai, 1993).

3.2.2.2. *Formación del abrigo micelial*

Después de un período de 30-45 días, pasada la etapa de inoculación se formó una capa gruesa de micelio blanco sobre la superficie del sustrato, lo que indujo a registrar los cambios de pH con más constancia, al mismo tiempo en el que la humedad relativa se controlaba a un margen mayor al 80% aun cuando la literatura sugería un porcentaje mayor al 90% (Royse & Sanchez-Vazquez, 2001).

3.2.2.3. *Formación de protuberancias del micelio*

El proceso de crecimiento continuó, 15-30 días después de la formación del micelio blanco se formaron algunas protuberancias de distintos tamaños semejantes a palomitas de maíz sobre el abrigo micelial en la mayoría de las unidades experimentales. La aparición de estos grupos de micelios fue producto de las buenas condiciones ambientales (manteniendo la temperatura y humedad constante), así como la obtención de los nutrientes C/N en los sustratos proporcionados (Chen, 2001).

3.2.2.4. Pardeamiento del abrigo micelial

Posteriormente, se dio un fenómeno de pigmentación del micelio conocido como micoderma o pseudoesclerocio, lo que representó la etapa de maduración completa del hongo. Bajo estas observaciones, la forma de conseguir la estimulación completa del shiitake en ese estado constó de retirar a cada unidad la parte superior de las bolsas que cubrían los bloques; durante ese período, se debió mantener una humedad relativa entre 70 y 80% (Bernabé-González, Mata, Gerardo; Cayetano-Catarino, & Gutiérrez Reyes, 2006).

3.2.2.5. Ablandamiento del bloque pigmentado

Los bloques formados durante el desarrollo del hongo se expusieron al aire, lo que indujo a que se tornara de un color rojizo con una superficie dura y seca. El interior del sustrato comenzó a ablandarse y se humedeció hasta alcanzar un 80%. En aquel momento se estimuló la formación de los primordios por medio de un choque térmico (logrado con bloques de hielo depositados en las esquinas de la cámara de emulación del clima), disminuyendo la temperatura de los bloques a 5°C estimando una aparición más abundante de primordios en un lapso de cuatro a cinco días (Paredes Arias, 2015).

3.3. Medición de cuerpo fructífero y eficiencia de sustrato

Una vez formados los primordios, se retiró los residuos de polipropileno de las unidades experimentales que cubría el sustrato; tras el hecho se permitió que el micelio dejará de estar inmerso en su ajustado microclima que lo dejaba susceptible a las condiciones de la cámara de emulación. Se siguió la recomendación de la literatura, motivo por el cual se trasladaron los bloques al área de fructificación para dejarlos expuestos los al aire y reducir las altas concentraciones de CO₂ que inhibían la formación de los primordios (Catalunya, 2011).

Se recrearon las condiciones ambientales propias de la etapa de fructificación en la cámara de emulación de clima, las cuales correspondían a una temperatura entre 13 y 20 °C y una humedad relativa entre 85 y 90% que evitaban la deshidratación del bloque luego de haber pasado un tiempo de 24 horas en el área de fructificación. Se empleó además el uso de tres bombillos incandescentes Philips de 1300 lúmenes para brindar fotoperiodos de 10 horas de luz y 14 de oscuridad (R. Silva, Fritz, Cubillos, & Díaz, 2010).

3.3.1. Recolección de datos

Al final del periodo de cultivo establecido, se esperaba pesar los cuerpos fructíferos, sin embargo, en el tiempo estimado no se alcanzaron a desarrollar los primordios y abundó más el micelio vegetativo con una textura alargada y parda. Con esta ausencia de fructificación, no se determinó el porcentaje de eficiencia biológica con respecto al peso del hongo por unidad de sustrato, y así mismo el conteo de cuerpos fructíferos no se llevó a cabo ya que los basidiocarpos no se tomaron en cuenta debido a su alta incertidumbre de desarrollarse como cuerpo fructífero. Lo que se procedió a realizar fue el pesaje de cada una de las unidades experimentales para aplicar el factor añadido de la tasa de biodegradación, relacionado al peso final del bloque, con el fin de analizar la capacidad del hongo para alimentarse del sustrato proporcionado y relacionar los demás datos para la interpretación de estos cambios (Gavidia & León, 2016).

3.4. Selección del sustrato más eficiente

Los tratamientos observados se clasificaron según el número de cuerpos fructíferos, peso final de las unidades experimentales y su tasa biodegradación de acuerdo con los componentes que lo conformaban en sus respectivas variaciones de concentraciones. El proceso se realizó con el fin de seleccionar el sustrato que aportaba los mejores nutrientes y condiciones para un crecimiento óptimo en el menor tiempo de cultivo (Pedreros Mosquera, 2007).

3.5. Análisis estadístico

Los múltiples datos obtenidos en el transcurso del proyecto constituyeron la razón cualitativa en la observación del cultivo, teniendo en cuenta los diferentes parámetros. Estos fueron corroborados mediante un modelo estadístico, en el cual se realizaron tres análisis por medio del método ANOVA en el que se examinaron los datos correspondientes al número de cuerpos fructíferos, peso final de las unidades experimentales y la tasa de biodegradación.

En el diseño experimental se presentaron los cinco tipos de tratamientos (TA, TB, TC, TD y TE) correspondientes a diferentes concentraciones de pulpa de café y vaina de arveja como se ilustra en la Figura 3 (Dagnino, 2011).



Figura 3. Contenido de tratamientos

Fuente: Autor, 2018.

El número de repeticiones también correspondió a cinco unidades por cada tratamiento con el fin de conseguir que el modelo estadístico aplicado fuera congruente tanto al diseño como a los factores de aleatoriedad estudiados, lo anterior puede ser observado en la Figura 4, la cual muestra la distribución de las unidades en la cámara de emulación del clima, lugar en donde se desarrollaron las diferentes etapas de crecimiento del hongo. Para tener una constante, cada unidad experimental contenía 25 g de inóculo de Shiitake, consiguiendo así un total de peso seco de 150 g por unidad experimental (Lee, 2015).

Finalizando se determinó la discrepancia entre las medias de los tratamientos para comprobar si eran mayores de lo que se podía esperar razonablemente ante las variaciones que ocurrían en el diseño experimental, las cuales fueron dadas para el número de cuerpos fructíferos, peso final de las unidades experimentales y la tasa de biodegradación obtenidas al final del monitoreo (Zhou, Ning, & Song, 2008).



Figura 4. Distribución de unidades experimentales en cámara emulación del clima

Fuente: Autor, 2018.

El registro continuo de condiciones ambientales (temperatura y humedad relativa) de la cámara de emulación del clima se logró por medio del termohigrómetro presentado en la Figura 5. El aparato se insertaba en un orificio específico de la cámara de emulación del clima donde desplegaba simultáneamente las unidades respectivas de temperatura en °C y de humedad en porcentaje (%), funcionaba conectado a la toma de corriente que se ubicaba en la parte lateral de la cámara de emulación del clima. Sus medidas eran aproximadamente 5 cm de largo x 7 cm de ancho x 10 cm de alto. Tras varios ensayos se comprobó que se encontraba calibrado y tenía una precisión ± 2 °C para temperatura y $\pm 4.5\%$ RH para humedad relativa.



Figura 5. Medidor temperatura y humedad (Termohigrómetro)

Fuente: Autor, 2018.

4. Resultados y Discusión

4.1. Condiciones ambientales

El cultivo del Shiitake necesitó de un control en parámetros como temperatura y humedad durante su proceso de desarrollo para satisfacer las necesidades a las que se veía sometido según sus etapas. En la cámara de emulación del clima, estos factores se lograron establecer y registrar en un monitoreo realizado tres veces por semana desde la disposición del medidor, posteriormente cada dato fue tabulado para ser analizado a medida que los cambios en el hongo se iban dando, tales valores se pueden ver en la tabla 10.

Tabla 10

Registros condiciones ambientales en cámara de emulación del clima

#	Semana	Etapas	Temperatura			Humedad		
1	9 - 18 marzo	Colonización del micelio	28			85		
2	19 - 25 marzo	Colonización del micelio	26.6			84.6		
3	26 marzo - 1 abril	Colonización del micelio	28			83.3		
4	2 - 8 abril	Colonización	29	27.1	27.5	85.2	83.3	84.5
5	9 - 5 abril	Pardeamiento	27.4	26.9	25.7	82.5	83.1	82.9
6	16 - 22 abril	Pardeamiento	26.9	27	26.8	85.6	83.3	83.9
7	23 - 29 abril	Pardeamiento y formación de protuberancias	26.4	26.6	26.3	82.3	84.5	85.4
8	30 abril - 6 mayo	Pardeamiento y formación de protuberancias	26.9	27.3	27	75.6	76.4	72.4
9	7 - 13 mayo	Fructificación	26.6			74.6		

Fuente: Autor, 2018.

De acuerdo con los registros presentados en la tabla, la temperatura y la humedad fueron monitoreados tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes) a partir de la cuarta semana. La idea de monitorear los hongos día por medio se implementó al observar que el hongo presentaba pardeamiento antes de cumplir un mes en la cámara de emulación del clima, por ende, el interés de conocer estos parámetros ayudó a relacionar los resultados obtenidos en cada etapa.

4.2. Colonización del sustrato

La colonización fue una etapa importante en el proceso, porque con base al tiempo que demoraba en colonizar la totalidad del sustrato se podían predecir ciertos comportamientos de las próximas fases. En la Tabla 11 se observa el registro de estos, con sus respectivos cambios en las unidades experimentales precedido de un código de colores para interpretar dichos cambios en el tiempo de monitoreo con el significado cuantitativo en porcentaje para cada tabla.

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

Tabla 11
Monitoreo en etapa de colonización

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																									

Fuente: Autor, 2018.

Los cambios ocurrieron a partir de la cuarta semana, en la cual solo cuatro unidades de diferentes tratamientos presentaron cambios mínimos, mientras que el resto ya habían tenido una colonización muy avanzada para la semana. Con base a estos resultados de cambios se tabularon en la Tabla 12 los siguientes registros cuantitativos según los tratamientos.

Tabla 12

Porcentaje de unidades que presentaron colonización

Semana	Porcentaje de unidades experimentales que presentan colonización									
	A		B		C		D		E	
	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
1	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0
2	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0
3	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0	0/5	0
4	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100

Fuente: Autor, 2018.

La respuesta a esta cuarta semana en la que todas las unidades se encontraban con indicios o desarrollo completo de colonización se encuentra representada en la Figura 6.

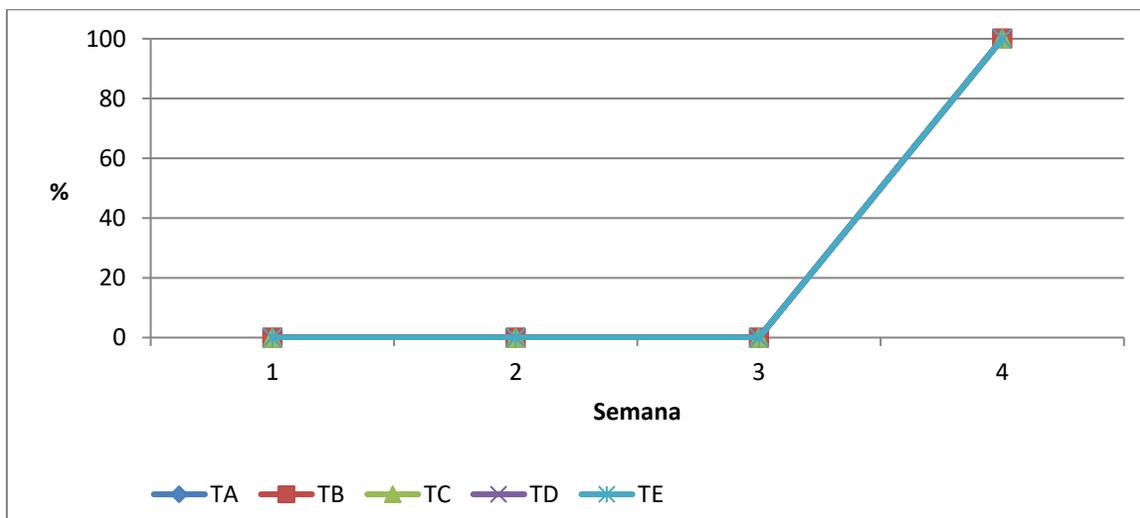


Figura 6. Gráfico colonización en semanas (1-4)

Fuente: Autor, 2018.

Siguiendo el desarrollo de esta etapa, todas las unidades en la última semana se encontraban cubiertas de micelio en su totalidad, excepto la TA5. Por esta razón y para continuar con la metodología se realizó la apertura de orificios a los bloques para permitir el paso de aire en los bloques y así conseguir un intercambio de gases CO₂ y O₂ que a su vez estimulara el crecimiento de los hongos.

4.3. Pardeamiento del abrigo micelial

Posteriormente a la colonización, la semana cinco y seis comenzaron algunos tratamientos a desarrollarse más que otros, esto se visualizaba con los cambios de color o pardeamiento de estos en sus respectivos bloques. Durante el monitoreo también se recolectaron estos datos cualitativos y cuantitativos definidos de la misma forma que en la colonización, estos pueden verse en la Tabla 13.

Tabla 13

Monitoreo etapa de pardeamiento

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
5	Green		Green			Green				Green	Green		Green		Green	Green		Green		Green	Green		Green		Green
6	Yellow	Green	Green	Green		Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow	Green	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green	Green
7	Yellow	Orange	Yellow	Yellow	Green	Orange	Yellow	Orange	Yellow	Green	Red	Orange	Red	Green	Red	Red	Orange	Orange	Green	Orange	Red	Red	Red	Orange	Orange
8		Green	Green	Green							Green	Green	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Green
9	Green				Green	Green				Green		Green	Green			Yellow							Green		

Fuente: Autor, 2018.

La anterior tabla se justificó realizando una tabulación de cada una de las unidades en el tiempo de la quinta a novena semana, ver Tabla 14.

Tabla 14

Porcentaje de unidades que presentaron pardeamiento

Semana	Porcentaje de unidades experimentales que presentan pardeamiento									
	TA		TB		TC		TD		TE	
	#	%	#	%	#	%	#	%	#	%
5	2/5	40	2/5	40	4/5	80	4/5	80	5/5	100
6	4/5	80	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100
7	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100	5/5	100
8	3/5	100	0/5	0	5/5	100	5/5	100	5/5	100
9	2/5	40	2/5	40	2/5	40	1/5	20	1/5	20

Fuente: Autor, 2018.

Teniendo en cuenta los cambios en cada tratamiento, cada semana se observó una modificación en el sustrato respecto al micelio, desde la finalización de la colonización, inicio y transcurso de pardeamiento, así como comienzo de pequeñas protuberancias en la última semana (novena). Las transformaciones ocurrieron por la adaptación de cada una de las unidades experimentales a su entorno, lo que a su vez representó datos significativos como la tasa de biodegradación, la cual reflejó la capacidad del micelio para alimentarse de los residuos agrícolas en los que dependiendo de su concentración de mezcla influyó en el pardeamiento. Este monitoreo se encuentra representado en la Figura 7, en la que se toma en cuenta las etapas de pardeamiento y fructificación (mínimas protuberancias en bloques para este caso).

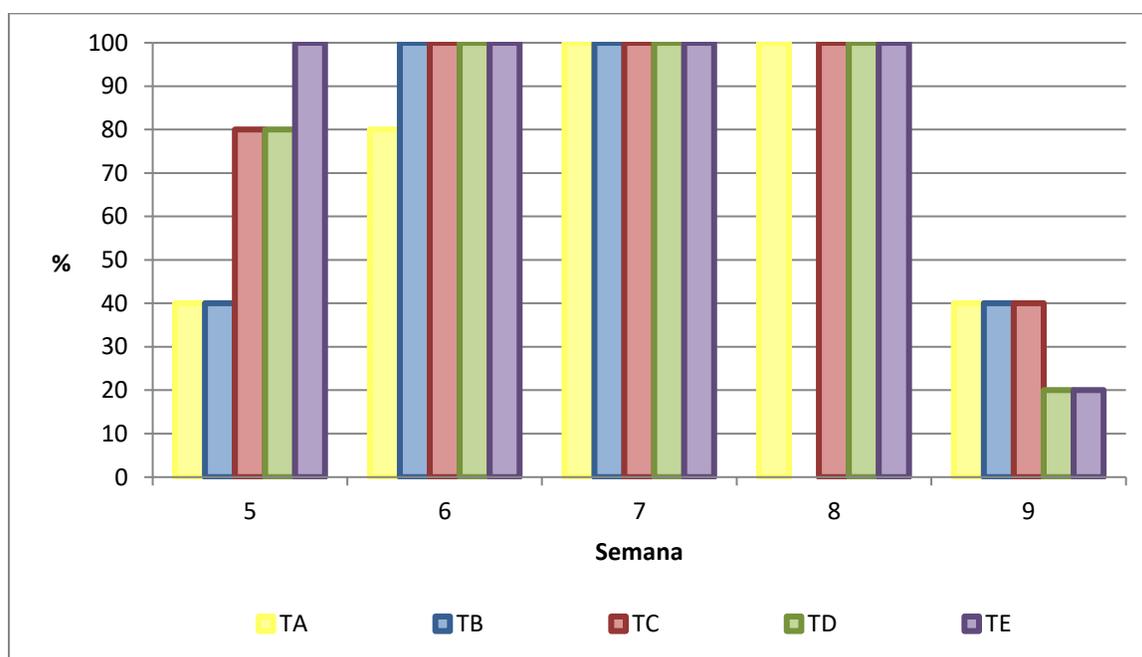


Figura 7. Gráfico pardeamiento en semanas (5-9)

Fuente: Autor, 2018.

En estas semanas los cambios fueron desde muy leves en algunos tratamientos, como de cierta importancia para algunos debido a la concentración de los sustratos, así como de la humedad generada en la biodegradación de estos. Los datos se registraron según la secuencia de las semanas, en las que se presentaron los siguientes hechos:

Semana 5: Las bolsas se compactaron, formando bloques muy sólidos. Sin embargo, para TB las unidades comenzaron a presentar algunas aglomeraciones de mocho en las esquinas de las bolsas.

Semana 6: Cumplido los dos meses, todos los tratamientos presentaron un micelio que cubría todo el sustrato; a pesar de que TB se encontraba contaminado con moho, el combate del micelio del shiitake logró mantener la totalidad del sustrato. Al tener bloques sólidos, se procedió a la siguiente etapa, en la cual se expusieron los tratamientos a la luz desde la séptima semana debido a que los hongos ya se encontraban aptos para la recepción indirecta de este espectro.

Semana 7: TA Y TB presentaron pigmentaciones mínimas, con algunos sectores esquineros llenos de moho para TB por causa de la humedad. Para las unidades tres y cinco de TB, el pardeamiento fue más notorio debido a la rápida absorción de nutrientes en las hifas que colonizaban, lo que reflejó en su momento ser el sustrato más compacto de todos los tratamientos. Además, se abrieron las bolsas para exponer los bloques de sustrato a la luz y permitir mayor crecimiento de los pequeños basidiocarpos vistos en (TC1, TC3, TD1, TE1-2-3).

Semana 8: La apertura de las bolsas permitió el crecimiento de más moho para las unidades de TA y TB, mientras que en TC y TE el crecimiento de basidiocarpos fue mínimo pero constante. El pardeamiento de los bloques en TA Y TB fue desapareciendo en la semana y tomó un color grisáceo en gran parte del bloque.

Semana 9: El TA y TB lograron conservar bloques con alguna pigmentación del micelio, pero sin generación de basidiocarpos. En las unidades dos y tres de TC, se presentó la mayor protuberancia a comparación de los otros tratamientos. En TD1 y TE3 se desarrolló un pequeño brote de basidiocarpos en un espacio muy reducido del sustrato.

El registro de los cambios en basidiocarpos se presenta en la Tabla 15, esta permitió conocer los primeros cambios y apariciones en el transcurso de las semanas.

Tabla 15

Registro de basidiocarpos

Semana	TA					TB					TC					TD					TE				
	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5	C1	C2	C3	C4	C5	D1	D2	D3	D4	D5	E1	E2	E3	E4	E5
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	2	1	0	0	0	1	1	1	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	0	0	3	1	0	0	0	1	1	2	0	0

Fuente: Autor, 2018.

En la Tabla 15 se muestra cómo desde la semana siete, TC, TD y TE comenzaron a generar pequeños basidiocarpos, hasta completar la semana nueve en la que el mayor número de estos fue tres, hallados en TC y TD, lo que deja a su vez expectativas para una futura fructificación en un tiempo más prolongado que en otras combinaciones propuestas por literatura.

4.4. Número de cuerpos fructíferos

Durante las nueve semanas, se observó detenidamente cada una de las unidades experimentales con el fin de encontrar algunos primordios que en futuro llegarían a ser cuerpo fructífero, pero los sustratos y la cámara de emulación del clima no lograron desarrollar tales objetivos por la mala adaptación en la etapa de fructificación al ser más susceptibles en cambios de humedad y temperatura, los cuales ya comenzaban a ser mayores debido a la disminución gradual del pH, que generó un efecto catalítico en la biodegradación de los sustratos, lo que llevó a agotar las fuentes de nitrógeno para el hongo provocando un exceso de humedad que detuvo el desarrollo y crecimiento de los cuerpos fructíferos. Estos resultados se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16

Registro de cuerpos fructíferos en semanas

Semana	TA					TB					TC					TD					TE				
	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	B4	B5	C1	C2	C3	C4	C5	D1	D2	D3	D4	D5	E1	E2	E3	E4	E5
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Autor, 2018.

Los datos recolectados en las semanas fueron agrupados en la Tabla 17 que sirvió para realizar el análisis estadístico de la misma.

Tabla 17
Cantidad de cuerpos fructíferos

Número de repetición	TA	TB	TC	TD	TE
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0

Fuente: Autor, 2018.

Según el número de cuerpos fructíferos, el resumen de estos valores en el análisis de varianza es presentado en la Tabla 18.

Tabla 18
Resumen de análisis de varianza cuerpos fructíferos

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	0	0	0
TB	5	0	0	0
TC	5	0	0	0
TD	5	0	0	0
TE	5	0	0	0

Fuente: Autor, 2018.

El análisis de la tabla anterior se encuentra representado en la Tabla 19 donde se visualizan datos relevantes para describir lo ocurrido estadísticamente.

Tabla 19
Análisis de varianza para cuerpos fructíferos

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre tratamiento	0	4	0	65535	#¡DIV/0!	2.866081402
Dentro de los tratamientos	0	20	0			
Total	0	24				

Fuente: Autor, 2018.

Según los resultados obtenidos por ANOVA, se tiene que:

Ho: MA= MB= MC= MD =ME

Ha: MA ≠ MB ≠ MC ≠ MD ≠ ME

K = número de tratamientos

N = total de observaciones

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

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

$F_o = 65535$

Como F_o es mayor que F_c se rechaza la hipótesis nula H_o y se concluye que sí hay diferencias significativas entre los promedios del número de cuerpos fructíferos obtenidos a partir de los cinco tratamientos; es decir, existe una tendencia que difiere a la igualdad en los tratamientos.

La respuesta a este suceso se vio una vez puesto en marcha la etapa de fructificación, momento en el que se presentaron fugas de agua sobre la tubería de la cámara de emulación del clima, así como la adaptación de los primordios al ser liberados del microclima producido, añadiendo también factores que impidieron el desarrollo de los cuerpos fructíferos como los agentes contaminantes (moho y otros hongos competidores) desarrollados por la alta humedad en la que se encontraban (Pratt, 1957).

4.5. Peso final de los tratamientos

El peso final de cada una de las unidades experimentales, realizado bajo la clasificación de los tratamientos una vez culminada las nueve semanas, se expone en la Tabla 20.

Tabla 20

Peso final de las unidades experimentales

Número de repetición	Peso final de las unidades experimentales (g)				
	TA	TB	TC	TD	TE
1	53.33	177.76	69.18	88.98	210.20
2	70.10	181.92	78.15	88.11	124.61
3	139.78	94.71	103.06	173.30	139.76
4	66.09	144.33	74.20	130.52	143.23
5	130.43	135.81	130.75	139.80	138.69

Fuente: Autor, 2018.

Lo observado en la Tabla 20 permite reconocer todos los tratamientos junto con el número de repetición obtenidos en los pesos finales los cuales contrastan a los 150 g de peso inicial de cada unidad experimental, evidenciando la reducción del peso en la mayoría de los sustratos exceptuando aquellos que aumentaron por la producción de moho y agentes contaminantes.

Además, la ausencia de una fuente de nitrógeno de mayor concentración en los sustratos demostró que el micelio vegetal no logró desarrollarse con normalidad y afectó el desequilibrio de C/N, hecho que se agravó por el intercambio de gases en la cámara de emulación del clima la cual contaba con la debilidad de tener poca ventilación, además de mantener altos porcentajes de humedad (Feng, Li, Wu, Cheng, & Ma, 2010). Para la Tabla 20 se incluye un resumen presentado en la Tabla 21, la cual permite el desarrollo del análisis de varianza.

Tabla 21

Resumen de análisis de varianza para peso final de las unidades experimentales

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	459,73	91,946	1601,52143
TB	5	734,53	146,906	1258,03223
TC	5	455,34	91,068	662,23947
TD	5	620,71	124,142	1309,25802
TE	5	756,49	151,298	1134,71867

Fuente: Autor, 2018.

Con la tabla anterior, se logró construir la Tabla 22 que representa el análisis de varianza sobre los pesos de los cuerpos fructíferos.

Tabla 22

Análisis de varianza para peso final de unidades experimentales

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	16694,9771	4	4173,74428	3,498076867	0,025436119	2,866081402
Dentro de los grupos	23863,0793	20	1193,15396			
Total	40558,0564	24				

Fuente: Autor, 2018.

Según los resultados obtenidos mediante el análisis de varianza aplicado para los pesos finales de las unidades experimentales, se tiene que:

Ho: MA= MB= MC= MD =ME

Ha: MA ≠ MB ≠ MC ≠ MD ≠ ME

K= número de tratamientos

N= total de observaciones

Fc [α ; K-1; N-K]

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

$$F_o = 3,498076867$$

Como F_o es mayor a F_c se rechaza la hipótesis nula H_o y se concluye que sí hay diferencias significativas en cuanto a los pesos promedio de los diferentes tratamientos como se puede ver en la Tabla 22. En cuanto a las magnitudes en extremo, la TE1 presentó el mayor peso con un total de 210.20 g y la unidad de menor peso fue la TA1 con un mínimo de 63.3 respecto al peso inicial que fue de 125 g para todos los tratamientos. Además, TB Y TD son los principales incidentes en el análisis por sus unidades con mayor peso, lo que hace el rechazo de la hipótesis nula, y difiere así las magnitudes de las demás variables observadas.

Las diferencias entre los pesos finales, es la evidencia del desarrollo micelial según la distribución de las semillas en los sustratos, de tal forma que la adaptación para las mezclas con un gran volumen y la misma cantidad de semilla se ve afectada directamente por la relación de la humedad (factor adyacente al hongo) el cual según investigaciones se identificó una mayor humedad cuando la degradación se da en hongos triturados. Un aumento de estos parámetros influye directamente en las condiciones controladas, lo que explica el excedente de humedad en algunas unidades de TA Y TB que contenían mayor volumen proporcionado por la vaina de arveja (Etheridge, 1957).

4.6. Análisis del pH

El análisis de este factor se llevó a cabo en la cuarta semana ya que en las tres primeras semanas el riesgo de infectar y/o dañar el micelio era muy probable. Para la medición se siguió el procedimiento estándar con tiras marca Merck, manteniendo solo el contacto del sustrato en la región del orificio para el intercambio de gases durante las cinco restantes semanas. Estos registros se pueden seguir en la Tabla 23, además de contener información de los cambios al respecto.

Tabla 23

Registro de pH semanal

Semana	pH				
	TA1	TB1	TC1	TD1	TE1
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	7	8	6	7	6
5	7	7	6	6	6
6	7	7	5	6	6
7	7	7	5	6	5
8	6	7	5	6	5
9	6	7	5	6	5

Fuente: Autor, 2018.

De acuerdo con los valores de pH proporcionados en la Tabla 23, se presentó una disminución en todos los tratamientos, esto se expresó mediante la correlación de dos factores influyentes como lo fueron el agua que se depositaba en ciertos sectores, así como el aumento en la concentración de dióxido de carbono por las funciones metabólicas del hongo. Estas variaciones se reflejan en TC y TE del cual su valor es menor, respecto a los otros tratamientos con valores más neutrales.

Un descenso gradual en los registros de pH para todos los tratamientos proporciona soporte concluyente del desarrollo micelial y sus metabolitos asociado a la completa colonización, así como la producción de los basidiocarpos. Los estudios revelaron que la actividad enzimática es directamente proporcional al pH, ya que este factor inhibe y retarda la producción de enzimas. Desde esta afirmación, lo obtenido en las nueve semanas resulta lógico para la determinación del sustrato no biodegradado en su totalidad y el requerimiento de nitrógeno para conseguir los objetivos de las hifas en los residuos agrícolas, además de combatir con los agentes contaminantes (Katsuki et al., 2018).

4.7. Tasa de biodegradación

Este parámetro fue analizado para conocer los sustratos que mayor aceptación tenían en la respuesta enzimática del hongo para conseguir la biodegradación parcial de los elementos usados como spawn. Los valores tabulados se exponen en la Tabla 24, los cuales luego fueron analizados con el modelo estadístico ANOVA.

Tabla 24

Tasa de biodegradación en tratamientos

Número de repetición	Tasa de biodegradación (%)				
	TA	TB	TC	TD	TE
1	64.66	-18.50	53.88	40.68	-40.13
2	53.26	-21.28	47.9	41.26	16.92
3	6.81	36.86	31.29	-15.53	6.82
4	55.94	3.78	50.53	12.98	4.51
5	13.04	9.46	12.83	6.8	7.54

Fuente: Autor, 2018.

La Tabla 24 evidencia las tasas de biodegradación variaron en magnitudes superiores a la media. Los datos relevantes fueron los de valor negativo, estos se entienden por el exceso de humedad adquirido en los sectores de goteras más la producción del triturado del hongo. Estos datos sirvieron como base de datos para realizar la Tabla 25 la cual presenta el resumen de estos valores con el fin de realizar un análisis estadístico.

Tabla 25
Resumen tasa de biodegradación en tratamientos

Tratamiento	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
TA	5	193,71	38,742	714,63292
TB	5	10,32	2,064	559,05688
TC	5	196,43	39,286	294,36733
TD	5	86,19	17,238	581,85202
TE	5	-4,34	-0,868	504,16007

Fuente: Autor, 2018.

A partir de la tabla anterior, se desarrolló el modelo estadístico ANOVA, el cual se reporta en la Tabla 26.

Tabla 26
Análisis estadístico para la tasa de biodegradación en tratamientos

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Fo	Probabilidad	Valor crítico para F
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.

Lo que representan los datos estadísticos en la tabla anterior se demuestra como:

Ho: MA= MB= MC= MD =ME

Ha: MA ≠ MB ≠ MC ≠ MD ≠ ME

K= número de tratamientos

N= total de observaciones

Fc [α ; K-1; N-K]

Fc [0.05; 4; 20] = 2.866081402

Fo = 9.0888678

Como Fo es mayor a Fc se rechaza la hipótesis nula Ho, por lo cual se concluye que sí hay diferencia significativa en la tasa de biodegradación promedio obtenido a partir de los diferentes tratamientos como se puede observar en la Tabla 26. En resumen, lo observado en la Tabla 25 representa los tratamientos que presentaron una mayor tasa de biodegradación, estos fueron TA y TC.

Los valores negativos obtenidos en la tasa de biodegradación para TB2, TD3 Y TE1 están directamente relacionados con la fuga de agua de la tubería en la cámara de emulación del clima. Los resultados del resto de las unidades experimentales se vieron implicado por los cambios de pH que alteraron la producción enzimática para la biodegradación del sustrato, dejándolos con pesos similares a los iniciales y reportando a su vez la escasez de nitrógeno respecto a la tasa de biodegradación.

5. Conclusiones

Las condiciones ambientales requeridas en la cámara de emulación del clima fueron recreadas y monitoreadas en cada etapa según la literatura, desempeñando un buen papel junto al termohigrómetro; no obstante, la falta de ventilación permanente luego del pardeamiento en la cámara de emulación del clima afectó el óptimo desarrollo de los hongos, los cuales requerían un intercambio de gases para lograr reducir el exceso de humedad provocado por la disminución del pH.

La variación en concentración de la vaina de arveja contrajo incidentes en el desarrollo del micelio, esto se demostró en TA, que estaba compuesto en una proporción de 80:20 respecto a la pulpa de café y por consiguiente demoró más tiempo en su colonización, así como el pardeamiento, en el que este último se perdió finalizando el monitoreo como consecuencia del desnivel de C/N y la acidez que tomó por la falta de adaptación en la etapa de fructificación.

El reporte de la eficiencia biológica no pudo ser efectuado debido al déficit de los cuerpos fructíferos, los cuales constataban el valor principal del objetivo, sin embargo, los primordios que surgieron en las últimas semanas para TC y TE quedan como expectativa de tratamientos con futura fructificación.

La selección del mejor sustrato a partir del número de cuerpos fructíferos resulta poco considerable con base a los resultados; la determinación por medio de la tasa de biodegradación es ambigua ya que los resultados se vieron afectados por el flujo de agua generado en las fugas de las tuberías de la cámara de emulación del clima que involucró a algunas unidades experimentales de diferentes tratamientos. Lo anterior interfiere significativamente en los pesos finales a causa de absorción del agua en los bloques, así como la aparición de otros microorganismos que compiten por el sustrato, debilitando los procesos de biodegradación y destruyendo capas de micelio del shiitake. Aun así, TC demostró ser el tratamiento con mayor degradación siendo respaldado por los resultados obtenidos en las etapas de colonización y pardeamiento.

Según los resultados analizados por el modelo estadístico ANOVA, la varianza de acuerdo con la discrepancia entre las medias para cada tratamiento influyó con una certidumbre no mayor a la media en cada etapa respecto a la dependencia de los valores observados, lo que se concluye como una correlación de los datos estudiados para cada factor de aleatoriedad en los ensayos.

6. Recomendaciones

Realizar un estudio más detallado en las dimensiones específicas de la vaina de arveja, los cuales permitan diferenciar el grado de corte para su uso en el sustrato y consiga ser mejor degradado en la combinación con otros residuos.

Evaluar las condiciones asépticas de la cámara de emulación del clima; por consiguiente, llevar a cabo la reparación de la gotera que afecta los tratamientos puestos sobre la superficie y así mantener el estado ideal para el desarrollo del hongo.

Realizar un seguimiento que abarque los intercambios de gases en la cámara de emulación del clima desde el comienzo de la inoculación hasta la fructificación, llevando registros que permitan conocer con mayor certeza las implicaciones de estos gases sobre los sustratos y el hongo.

Se recomienda en futuros estudios, concentrarse más en la relación de C/N para determinar los sustratos que mayor relación tengan y sirvan de soporte para la aplicación de suplementos.

Lista de referencias

- Agrios, G. (2005). *Plant pathology*. Retrieved from <http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/Agrios2005ParteI.pdf>
- Andrés, J., Barrero, G., Alberto, A., & Alvarez, R. (2004). *Estudio de factibilidad técnico – financiero de un cultivo del hongo pleurotus ostreatus*. Retrieved from <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ingenieria/tesis79.pdf>
- Arango, C. S. (2012). utilización de la fermentación líquida de lentinula edodes (shiitake), para la producción de metabolitos secundarios bioactivos y evaluación de su potencial empleo en la producción de un alimento funcional. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/8989/1/01107463.2012.pdf>
- Badii, M. ., Castillo, J., Landeros, J., & Cortez, K. (2007). Papel de la estadística en la investigación científica (Role of statistics in scientific research). *UANL*, 1–40. Retrieved from http://www.web.facpya.unl.mx/rev_in/Revistas/4.1/A5.pdf
- Bernabé-González, T., Mata, Gerardo; Cayetano-Catarino, M., & Gutiérrez Reyes, G. (2006). Cultivo experimental del hongo Shiitake Lentinula edodes, sobre dos subproductos agrícolas. *Revista Mexicana de Micología*. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=88302309E> te odoro bernabe.pdf
- Boa, E. (2005). Los hongos silvestres comestibles: Perspectiva global de su uso e importancia para la población. *Productos Forestales No Madereros*, 163.
- Braham, J. E. (1979). *Coffe pulp: composition, technology, and utilization*. Ottawa, Canada. Retrieved from <https://idl-bnc-idrc.dspacedirect.org/bitstream/handle/10625/6006/IDL-6006.pdf?sequence=1> .
- Bueno, D. J., & Silva, J. O. (2014). FUNGI | The Fungal Hypha. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 11–19). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00132-4>
- Camilo, J., Salazar, R., Gómez, M., César, E., Campos, E., Danilo, A., ... Gómez, E. (2003). Federación nacional de caFeteros de colombia comité nacional. Retrieved from <http://www.cenicafe.org/es/publications/bot028.pdf>
- Catalunya, U. P. de. (2011). *Estudio de la implantación de una granja de producción de Shiitakes (Lentinula Edodes) en Costa Rica “Las Mellizas.”*
- Cervantes, B. R., Castro, L. I., Cabrera, A. J., Fernández, V. D., & Fernández, V. D. (2014). Efecto de la pulpa de cafeto (Coffea arábica l.) variedad arábica sobre propiedades químicas de tres suelos del macizo montañoso Guamuhaya chemical properties of three soils of Guamuhaya mountainous group. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 23(3), 17–21.
- César, J., & Rodríguez, W. (2014). valoración y crecimiento de hongos comestibles nutraceuticos y nutraceuticos en sustratos. Retrieved from <http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/6789/2011/TESIS2014.pdf?sequence=1>
- Chen, A. W. (2001). Cultivation of Lentinula Edodes on Synthetic Logs. *The Mushroom Growers Newsletter*. Retrieved from <https://mushroomcompany.com/resources/shiitake/shiitake.pdf>

- Clavijo, N. M., Adrián, A., & Jiménez, R. (2016). *Evaluación de diferentes métodos para la transformación de la pulpa de café en abono orgánico en fincas cafeteras*. Retrieved from http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/6789/2620/Moreno_Nidia_2016.pdf?sequence=1
- D.L. Massart, B.M.G. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. de Jong, P.J. Lewi, J. S.-V. (1997). *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A*. Amsterdam: Elsevier.
- Dagnino, J. (2011). Análisis de Varianza (ANOVA). Retrieved from http://asesorias.cuautitlan2.unam.mx/Laboratoriovirtualdeestadistica/Carpeta_3_inferencia_estadistica/doc_inferencia/tema_4/11_analisis_de_varianza.pdf
- Davim, J. P. (2015). *Desing of experiments in production engineering*. Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=3>
- Emilsa, L., & Castillo, S. (2007). La producción de los hongos comestibles. *La Produccion de Hongos Comestibles*, 213.
- Escobar, V. V., & P, A. M. (2007). Evaluación de la producción del hongo *Lentinula edodes* Pegler en bloques sintéticos a base de residuos, 23–39.
- Etheridge, D. E. (1957). Moisture and temperature relations of heartwood fungi in subalpine spruce d. e. etheridge, 935.
- FAO. (2014). El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i4030s.pdf>
- Feng, Y. L., Li, W. Q., Wu, X. Q., Cheng, J. W., & Ma, S. Y. (2010). Statistical optimization of media for mycelial growth and exo-polysaccharide production by *Lentinus edodes* and a kinetic model study of two growth morphologies. *Biochemical Engineering Journal*, 49(1), 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.12.002>
- Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela), A. A., Instituto Nacional de Agricultura (Venezuela), D., Centro de Investigaciones Agronómicas (Venezuela), N. M., & Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (Venezuela). (2002). *Agronomía tropical: revista del Instituto Nacional de Agricultura. Agronomía Tropical* (Vol. 52). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2002000400002
- Fukushima, Y., Okada, K., Kawai, G., & Motai, H. (1993). Efficient production of mycelium of *Lentinus edodes* by a continuous culture and the effect of lignin on growth. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 76(1), 45–48. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90051-9](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90051-9)
- Fung, Y. (2002). *Evaluación del crecimiento y producción de Lentinula edodes sobre diferentes sustratos a base de residuos agroindustriales colombianos*. Pontificia Universidad Javeriana.
- Gadd, G. M. (2008). Fungi and Their Role in the Biosphere. In *Encyclopedia of Ecology* (pp. 1709–1717). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00734-5>
- Gao, H., Shi, D., Wang, S., Zhou, M., & Zhang, Q. (2010). Effect of superfine grinding on functional components and properties of *Lentinus edodes* stems. *Food Science*, 40–42.
- Gavidia, B., & León, Y. (2016). Evaluación preliminar de la producción de *Pleurotus*

pulmonarius en vainas de frijol, vainas de arveja y tamo de retamo espinoso como sustratos orgánicos.

- Gimenes, L. G. (2010). Fungos basidiomicetos: Técnicas de coleta, isolamento e subsídios para processos biotecnológicos. *Instituto de Botânica - IBt*, 1–19.
- González González, S. A. (2010). Sacrificación enzimática de la vaina de arveja fresca (*Pisum Sativum* L.) variedad sabanera para obtención de azúcares reductores. *Fundación Universitaria Agraria de Colombia*, 4. Retrieved from <http://oaji.net/articles/2017/5082-1501175731.pdf>
- Hobbs, C. (1995). *Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing, and Culture*. (2nd ed.). USA. Retrieved from <https://es.slideshare.net/jenniferpetrerson/medicinal-mushrooms-an-exploration-of-tradition-healing-and-culture-pdf>
- Jácome Segovia, F. J. (2015). *Evaluación de la adaptabilidad de seis variedades mejoradas de arveja (Pisum sativum) mediante el apoyo de investigación participativa en la parroquia Eloy Alfaro (Chan y San Juan) Cantón Latacunga provincia de Cotopaxi*. Universidad técnica de Cotopaxi. Retrieved from <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/2526/1/T-UTC-00063.pdf>
- Katsuki, A., Kato, H., Tahara, Y., Hashimoto, M., Fujii, I., & Tsukamoto, S. (2018). pH-dependent production of himeic acid A and its non-enzymatic conversions to himeic acids B and C. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(8), 1869–1874. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.02.034>
- Kiple, K. (2000). Cambridge World History of Food. <https://doi.org/10.1017/CHOL9780521402156>
- Koopman, R., & Laney, K. (2010). Mushrooms: Industry and Trade Summary. *Office of Industries Publication ITS-07*, (2010002), 70.
- Lee, Y. (2015). What repeated measures analysis of variances really tells us. *Korean Journal of Anesthesiology*, 68(4), 340–5. <https://doi.org/10.4097/kjae.2015.68.4.340>
- Lin, Y., Ge, X., Liu, Z., & Li, Y. (2015). Integration of Shiitake cultivation and solid-state anaerobic digestion for utilization of woody biomass. *Bioresource Technology*, 182, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.102>
- McConnaughey, M. (2007). Physical and Chemical Properties of Fungi. In *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (pp. 1–3). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.60231-4>
- Mineducación. (2009). Producción de hongos: negocio rentable para agricultores - Centro Virtual de Noticias de Educación. Retrieved November 15, 2017, from <http://www.mineducacion.gov.co/cvn/1665/w3-article-201800.html>
- Montgomery, D. C. (2012). *Design and Analysis of Experiments* (Eighth edi). Arizona. Retrieved from [http://home.ufam.edu.br/jcardoso/FGD927 Experimentação Florestal/Douglas C. Montgomery-Design and Analysis of Experiments-Wiley \(2012\).pdf](http://home.ufam.edu.br/jcardoso/FGD927%20Experimenta%C3%A7%C3%A3o%20Florestal/Douglas%20C.%20Montgomery-Design%20and%20Analysis%20of%20Experiments-Wiley%20(2012).pdf)
- Moonmoon, M., Shelly, N. J., Khan, M. A., Uddin, M. N., Hossain, K., Tania, M., & 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 (*Lentinus edodes* (Berk.) Singer). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(4), 323–

328. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.12.008>
- Moreiras, O., Carbajal, Á., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2007). *Tablas de composición de alimentos* (Ediciones). Retrieved from https://catedraalimentacioninstitucional.files.wordpress.com/2014/09/3-1-tablas_de_composicion_de_alimentos.pdf
- MushWorld. (2005). *Mushroom Growers Handbook. Shiitake Cultivation*. Korea. Retrieved from http://www.goba.eu/wp-content/uploads/2015/06/Mushroom_Growers_Handbook_2_-_Shiitake_Cultivation.pdf
- Nemeth, C. P. (2004). *Human Factors Methods for Design: Making Systems Human-Centered*. Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=PzScunUcpYC&dq=%22ANOVA+can+be+used+to+examine+all+possible+interactions+among+independent+variables+and+to+generalize+research+results+by+providing+a+broader+baseline+of+variables+which+is+more+representative+of+the+>
- 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), 5645–5649. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.061>
- Paredes Arias, D. G. (2015). *Efecto del sustrato en la producción del hongo comestible shiitake (lentinula edodes (berk) pegler) en ambiente protegido, en el departamento de tarija. Universidad Mayor De San Andrés Facultad De Agronomía Carrera De Ingeniería Agronómica*. Retrieved from <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/6000/T-2125.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pedrerros Mosquera, J. C. (2007). *Evaluación del crecimiento y producción de Lentinula edodes (Shiitake), en residuos agroindustriales*.
- 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.), 216–219. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.10.007>
- Pratt, R. M. (1957). Relation between moisture conditions and rust mite infestations. In *Proceedings of the Florida State horticultural society* (70th ed., pp. 48–51). Florida state. Retrieved from <https://fshs.org/proceedings-o/1957-vol-70/48-51> (PRATT).pdf
- Rivera, O., Albarracín, W., & Lares, M. (2017). Componentes Bioactivos del Shiitake (*Lentinula edodes* Berk. Pegler) y su impacto en la salud. *Sociedad Venezolana de Farmacología Clínica Y Terapéutica*, 36(798–264), 67–71.
- Rodríguez, G. (2007). Cultivo de hongos comestibles, 10–15.
- Rodríguez Valencia, N., Liliana Araque Fonseca, M., Perdomo Perdomo, F., Científico Cenicafé, I. I., & Profesionales Cenicafé, S. (2006). Producción de los hongos comestibles Orellanas y Shiitake. Retrieved from http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/857/1/Hongos_comestibles_Orellanas_Shiitake.pdf
- Rojas Ramírez, L. (2013). Reseña Los basidiomicetos: una herramienta biotecnológica promisorio con impacto en la agricultura. *Fitosanidad*, 17(1), 49–55.

- Royse, D. J., & Sanchez-Vazquez, J. E. (2001). Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. *Bioresource Technology*, 76(3), 229–233. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00110-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00110-3)
- Rungnapa Tongpool, R., & Pongpat, P. (2013). Analysis of Shiitake Environmental Performance via Life Cycle Assessment. *International Journal of Environmental Science and Development*, 4(5), 552–557. <https://doi.org/10.7763/IJESD.2013.V4.412>
- Salazar, J. C., & Zapata, A. B. (2009). Análisis Y Diseño De Experimentos Aplicados a Estudios De Simulación Analysis and Design of Experiments Applied To Simulation Studies. *Dyna*, 159, 249–257.
- Shen, Q., Liu, P., Wang, X., & Royse, D. J. (2008). Effects of substrate moisture content, log weight and filter porosity on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. *Bioresource Technology*, 99(17), 8212–8216. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.067>
- Sierra, Fernando; Orozco, J. (2014). sistema de cultivo para la gestión de hongos comestibles como complemento alimenticio dirigido a los habitantes de la comuna 18 de cali para mejorar la seguridad alimentaria causada por la inaccesibilidad.
- Silva, E. M., MacHuca, A., & Milagres, A. M. F. (2005). Evaluating the growth and enzyme production from *Lentinula edodes* strains. *Process Biochemistry*, 40(1), 161–164. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.053>
- 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, 38.
- Stamets, P. (2000). *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. Retrieved from <https://decroissons.files.wordpress.com/2014/04/paul-stamets-growing-gourmet-and-medicinal-mushrooms-2000.pdf>
- Tamayo, I. (2000). Análisis de varianza con SPSS 8.0.
- Vaca Patiño, R. E. (2011). Evaluación de tres bioestimulantes con tres dosis en el cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.). En santa martha de Cuba – Carchi. Retrieved from http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/793/1/03_agp_119_Científico_Artículo_tesis.pdf
- Wasser, S. P., & Weis, A. L. (1999). Medicinal Properties of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1(1), 31–62. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v1.i1.30>
- Webster, J., & Weber, R. (2007). *Introduction to Fungi*. Cambridge University Press. Retrieved from http://www.dbbe.fcen.uba.ar/contenido/objetos/WEBSTER30521807395_1400021643840195.pdf
- Zhang, R., Li, X., & Fadel, J. . (2002). Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. *Bioresource Technology*, 82(3), 277–284. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00188-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00188-2)
- Zhou, Y.-D., Ning, J.-H., & Song, X.-B. (2008). Lee discrepancy and its applications in experimental designs. *Statistics & Probability Letters*, 78(13), 1933–1942.

Anexos

Anexo A. Semana 1: Preparación tratamientos y montaje en laboratorio



Figura 8. Preparación de sustratos para esterilizar

Fuente: Autor, 2018.



Figura 9. Sustratos esterilizados en autoclave

Fuente: Autor, 2018.

Anexo B. Semana 2: Adaptación de sustratos y colonización



Figura 10. Bolsas en cámara de emulación del clima

Fuente: Autor, 2018.

Anexo C. Semana 3: Inicio de colonización del sustrato



Figura 11. Sustratos con comienzos de colonización

Fuente: Autor, 2018.

Anexo D. Semana 4: Colonización avanzada y toma de pH



Figura 12. Sustrato TA1 comenzando colonización

Fuente: Autor, 2018.



Figura 13. Sustrato TB1 con colonización y lixiviados

Fuente: Autor, 2018.

Anexo E. Semana 5: Colonización y principios de pardeamiento



Figura 14. Distribución en cámara de emulación de clima luego de la colonización

Fuente: Autor, 2018.

Anexo F. Semana 6: Pardeamiento y colonización completa



Figura 15. TA1 colonizado con pardeamiento parcial

Fuente: Autor, 2018.



Figura 16. TC2 con colonización completa

Fuente: Autor, 2018.

Anexo G. Semana 7: Pardeamiento y formación de protuberancias



Figura 17. Pardeamiento en TC1

Fuente: Autor, 2018.



Figura 18. Formación de protuberancias en TE1

Fuente: Autor, 2018.

Anexo H. Semana 8: Pardeamiento y desarrollo de basidiocarpos



Figura 19. Moho presente en TB1

Fuente: Autor, 2018.



Figura 20. Pardeamiento con algunas protuberancias en TC3

Fuente: Autor, 2018.

Anexo I. Semana 9: Desarrollo de basidiocarpos y pesaje final



Figura 21. Sustrato abierto en TD1 para producción de pequeños basidiocarpos

Fuente: Autor, 2018.



Figura 22. Distribución final compartida en cámara de emulación de clima

Fuente: Autor, 2018.

Apéndice

Apéndice A. Registro fotográfico complementario



Figura 23. *Obtención del micelio del Shiitake*

Fuente: Autor, 2018.

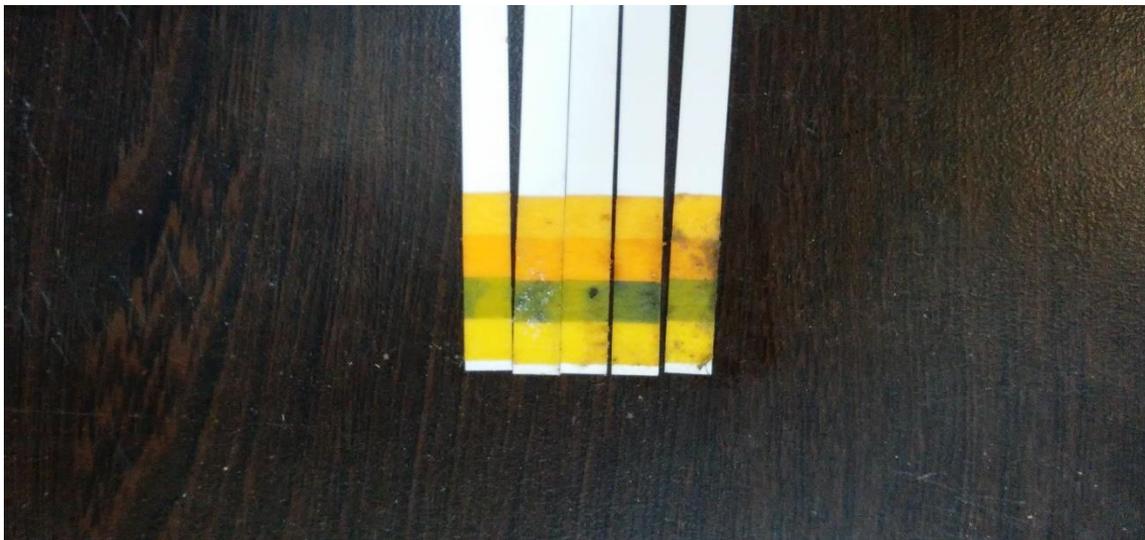


Figura 24. *Tiras de medición de pH*

Fuente: Autor, 2018.

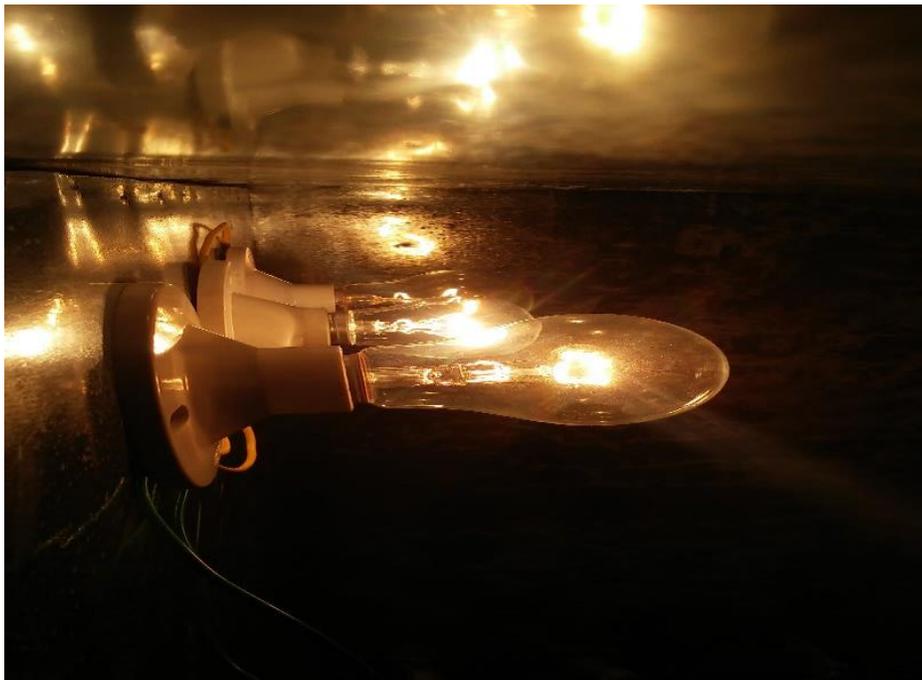


Figura 25. Bombillos (tres) para iluminación en cámara de emulación del clima
Fuente: Autor, 2018.



Figura 26. Visualización externa de la cámara de emulación del clima
Fuente: Autor, 2018.