

CRECIMIENTO Y DESARROLLO IN VITRO DEL HONGO SHIITAKE *LENTINULA EDODES* BERK. PEGLER EN UNA MEZCLA DE RESIDUOS VEGETALES.

Stella Perlaza ¹, Celina Torres ¹, Julio Cesar Wilches ² y Enrique Peña ¹

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle, A.A. 25360 Cali, Colombia

² Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Occidente, Campus Valle del Lili Km 2 Via Jamundi, Cali, Colombia.

Recibido Nov-2006, revisado Mar-2007, aceptado Jun-2007 Publicado Dic-2007

Resumen. El cultivo de los hongos comestibles es una actividad que se ha difundido a lo largo de varios países diferentes a los asiáticos, de donde es originario el cultivo. El presente estudio evaluó el crecimiento de la cepa L-54 del hongo *Lentinula edodes* Berk. pegler, sobre un sustrato basado en una mezcla de residuos vegetales, constituido por hojas de guadua (*Angustifolia kunth*), vainas de *Leucaena leucocephala* y cascarilla de arroz *Oriza sativa*, en proporciones G-100, GLC - 80:10:10 y GLC - 50:25:25, bajo condiciones ambientales controladas y no controladas. De cada sustrato se tomó un kilo de peso fresco, se introdujeron en bolsas plásticas, y esterilizadas por una hora a 121 °C y 15 psi. Los sustratos evaluados presentaron una humedad del 70% y pH de 4.5. Un grupo de 20 bolsas se llevaron a un cuarto con temperatura controlada (22±1 °C) y otras 20 bolsas a un cuarto sin control de temperatura (±25-27 °C). Se realizaron cinco repeticiones de cada tratamiento. La eficiencia biológica de *L. edodes* en el sustrato de hojas de guadua al 100% fue de 19.46%, mientras que en los sustratos de Guadua + Leucaena + Cascarilla de arroz en proporción ochenta, diez, diez (GLC 80-10-10) fue del 24.20% y en Guadua + Leucaena + Cascarilla de arroz en proporción cincuenta, veinticinco, veinticinco (GLC 50-25-25) fue del 9.89%.

Abstract. The cultivation of edible fungi has spread throughout several countries, different as those from Asians, where cultivation is original. In this study, we evaluated the growth of L-54 fungi strain named *Lentinula edodes* (Berk) Pegler, in a mixture of vegetable substrates, such as leaves of guadua (*Angustifolia kunth*), pots of *Leucaena leucocephala* and rice husk (*Oriza sativa*). The following concentrations were used: G-100, GLC - 80:10:10 and GLC - 50:25:25, under controlled and not controlled environmental conditions. A kilogram of fresh weight was taken from each substrate, and introduced in plastic bags and sterilized for about an hour, at 121°C and 15 psi. The evaluated substrates had a 70% of humidity and pH of 4.5. A group of 20 bags were carried to a culture room with control temperature (22±1 °C) and other 20 bags to a normal room without controlled temperature (±25-27 °C). Five replicates of each treatment were used. The biological efficiency of *L. edodes* in 100 % guadua leaves substrate G-100 was 19,46%, whereas in the substrates of Guadua + Leucaena-Husk of rice (proportion GLC 80-10-10) was 24,20%, whereas Guadua-Leucaena-Husk of rice (proportion GLC 50-25-25) was 9,89%.

1 Introducción La producción mundial de los hongos comestibles y medicinales en los últimos 10 años ha sido alrededor de 5 millones de toneladas, de las cuales, 2, 6 millones fueron producidas en China. Las

*Corresponding author: e-mail: cettorres@univalle.edu.co

especies comercializadas fueron *Agaricus sp*, *L. edodes*, *Pleurotus spp.* y *Auricularia sp*). La importancia de estas especies se debe a su uso medicinal y quizá esta sea una razón por la cual se han abierto mercados a nivel mundial [8].

Según Jaramillo^[4] y Rodríguez^[13], en el eje cafetero colombiano se han realizado algunos trabajos exploratorios sobre propagación en residuos de café con buenos resultados de eficiencia biológica,, pero se puede inferir que dado el volumen de residuos agrícolas que se generan, el cultivo de hongos podría ser una opción viable. El Valle del Cauca cuenta con desechos agroindustriales, como son la caña de azúcar, pastos y guadua entre otros, cuyo manejo ejerce un efecto ambiental detrimental, dado su indebido manejo.

Para el crecimiento *L. edodes*, se requiere de sustratos celulolíticos que ayuden a su desarrollo y fructificación y esto, se logra solo con nutrientes básicos. Generalmente los sustratos utilizados para el crecimiento de *L. edodes* son maderas, este hongo es conocido como hongo de encino u hongo de pino, que crece fácilmente en sustratos preparados con base en desechos de maderas duras, en forma de aserrín. De igual manera los parámetros ambientales como temperaturas de 15 -20°C, humedad cercana al 90% son importantes para la producción de *Lentinula edodes* [3].

El propósito del presente estudio fue probar el valor nutricional de sustratos vegetales como las hojas de guadua *Angustifolia kunth*, vainas de *Leucaena leucocephala* y cascarilla de arroz *Oriza sativa*, para el crecimiento del hongo Shii-take, como recurso alimenticio y como una opción para el manejo de variados residuos agrícolas producidos en la región.

2 Metodología

2.1 Preparación del Inóculo: El inóculo se elaboró a partir de una cepa L - 54, facilitada por el Centro Nacional de Investigación del Café- CENICAFE- del hongo *Lentinula edodes*. Dicha cepa se multiplicó en el medio de cultivo PDA y una vez crecida se elaboró inóculo primario en semillas de sorgo.

2.2 Preparación de los Sustratos: Los materiales de prepararon en mezclas diferentes y se llevaron a una humedad de 70% y un pH de 4.5.

Posteriormente se elaboraron cuatro tratamientos, correspondientes a las diferentes mezclas, cuya relación C/N fue de: 44.06, 44.05, 44.6 y 42.6 respectivamente:

Mezcla 1; (G-100)	Guadua 100%
Mezcla 2; (GLC 80-10-10)	Guadua (80%) Leucaena (10%) cascarilla de arroz (10%)
Mezcla 3; (GLC 50-25-25)	Guadua (50%) Leucaena (25%) cascarilla de arroz (25%)
Mezcla 4; (GL 75-25)	Guadua (75%) Leucaena (25%)

De cada mezcla, se elaboraron cinco repeticiones, para lo cual se utilizaron bolsas plásticas a las cuales se les colocó un kilo de cada sustrato húmedo. A cada bolsa se les adaptó tubos de PVC de pulgada y media de diámetro por 5 cm de largo, en su parte terminal y se colocó un tapón de algodón para facilitar luego la inoculación de la semilla al sustrato y para un buen intercambio gaseoso. Posteriormente se esterilizaron a 15 lb. de presión (Psi) durante sesenta minutos. De las 40 bolsas obtenidas veinte de cada mezcla fueron llevadas al laboratorio de Estudios Ambientales de la Universidad Autónoma de Occidente con condiciones de temperatura y humedad controladas 22 - 23° C. El otro grupo de 20 bolsas se llevaron la Estación Experimental Biología en el Campus de Melendez en la Universidad del Valle sin condiciones controladas, 25 y 27° C. Se mantuvieron en oscuridad por cinco semanas, al cabo de las cuales se les proporcionó luz fluorescente. La inducción de la fructificación se realizó a los sesenta días, para lo cual se sacaron los tapones de algodón, se introdujeron las bolsas en agua destilada por veinticuatro horas, se escurrieron y se llevaron a 5 °C.

2.3 Datos Evaluados

Se tomaron datos de crecimiento del micelio, peso fresco de los carpóforos, días para la primera cosecha, Eficiencia Biológica (EB), cantidad de hongos cosechados, y se realizó un análisis de varianza entre los tratamientos de mezcla utilizados usando el Programa Estadístico SPSS versión 8.1.

3. Resultados y Discusión

3.1 Crecimiento del Micelio en el Sustrato: El promedio de crecimiento micelial semanal en condiciones controladas y no controladas en los sustratos se observa en las Figuras 1 A y B.

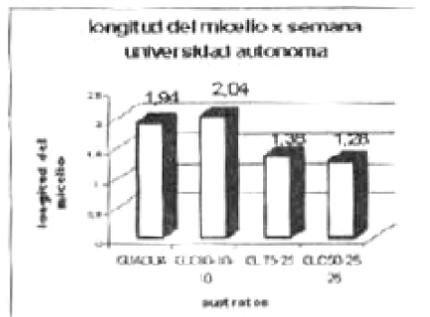


Figura 1.A.

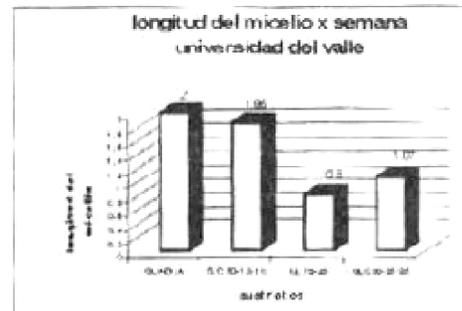


Figura 1.B.

Figura 1.A Comparación del promedio total del crecimiento micelial por semana en *L. edodes* para cada uno de los tratamientos a condiciones controladas y no controladas en la Universidad Autónoma de Occidente.

1.B Comparación del promedio total del crecimiento micelial por semana en *L. edodes* para cada uno de los tratamientos a condiciones controladas y no controladas en la Universidad del Valle

Los resultados obtenidos en las dos formulaciones iniciales probablemente están demostrando una relación con la composición del sustrato y por esta razón en los tratamientos GLC 50-25 Y GL 75-25 no ocurrió crecimiento del micelio. La humedad es un factor de gran influencia dado que, el crecimiento fue muy lento y no permitió la colonización en el sustrato (Figura 2).

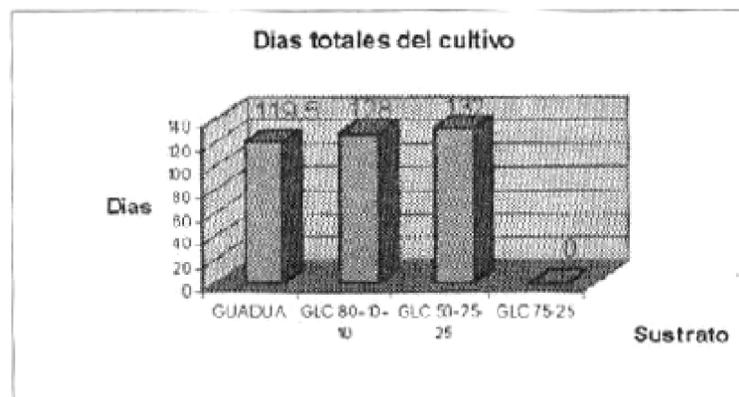


Figura 2. Promedio de los días totales del cultivo (desde la inoculación hasta la primera cosecha por cada tratamiento para *L. edodes* en condiciones controladas.

3.2 Días para la Primera Cosecha: La primera cosecha para guadua 100%, fue a los ciento diecinueve días con un peso de 195.96 g en diecisiete carpoforos. Esto permite observar que en el sustrato compuesto por 100 de Guadua, se obtuvo el ciclo de vida mas corto entre los tratamientos, sin necesidad de estar enriquecido (Figura 3).



Figura 3. Basidiocarpos de *L. edodes* a los ciento diecinueve días cosechado en la mezcla G-100 o 100 % sustrato de guadua.

3.3 Peso Fresco de los basidiocarpos de *L. edodes*

Según Guzmán ⁽¹⁾ algunas cepas *L. edodes* toleran temperaturas hasta de 27°C. En las fases de desarrollo de la cepa en PDA e inoculación de la semilla de sorgo, no hubo presencia de hongos invasores (contaminantes), mientras que algunas bolsas sí presentaron contaminación después de la inoculación en el sustrato y la mayor parte de contaminación se presentó en la fase de fructificación, esto, pudo deberse al agua usada para inducir al crecimiento, y la exposición al medio ambiente. El peso fresco de basidiocarpos de *L. edodes* se encuentran en la figura 4.

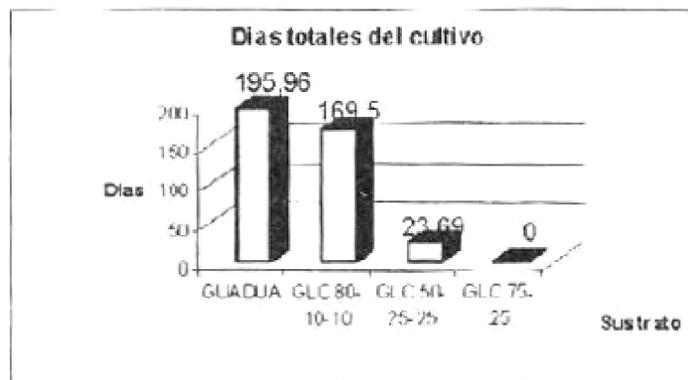


Figura 3. Peso fresco de basidiocarpos *L. edodes* para cada formulación.

3.4. Eficiencia Biológica

De acuerdo a los datos de eficiencia biológica, el mayor valor obtenido fue el tratamiento GLC 80-10-10, con una eficiencia de 24.20 (Figura 4). Un evento que probablemente puede explicar este resultado es el hecho de que se obtuvo solo una cosecha. Los resultados del presente estudio permiten

concluir que los sustratos a base de hojas de guadua y/o mezclados con otros residuos vegetales permiten el crecimiento, colonización del micelio y fructificación de *Lentinula edodes*. Estos datos sugieren que la producción de hongos comestibles y medicinales, es un proceso eficiente en la transformación de desechos agroindustriales lignocelulósicos. A partir de estos resultados, se recomienda enfocar futuras investigaciones en formulaciones de sustratos a base de hojas de guadua para la producción de *Lentinula edodes* para su aprovechamiento en cultivos comerciales.

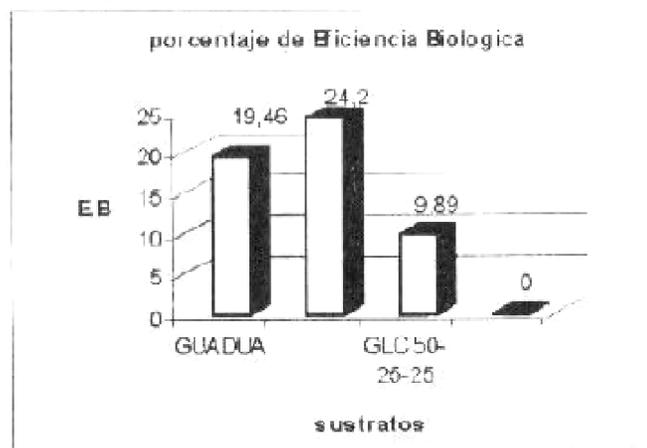


Figura 5. Porcentaje de eficiencia biológica de *L. edodes* sometido a diferentes mezclas de sustratos biológicos.

4. Agradecimientos

Los autores desean expresar sus agradecimientos al grupo de investigaciones ambientales Geades, de la Universidad Autónoma de Occidente, por su apoyo logístico de equipos y laboratorio para el desarrollo del trabajo. A la Cooperación Iberoamericana de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED por su apoyo financiero en la realización de este trabajo. Especial reconocimiento a la Dra. Ana Cristina Bolaños, Docente del Depto de Biología de la Universidad del Valle, por sus valiosos aportes en la discusión de los resultados.

5. Referencias

- [1] Chang, S. T. YP. G. Miles. Edible mushrooms and their cultivation. (CRC Press, Boca Raton, Florida, 1989) 345p.
- [2] Fung, Y. W., T. W. Fung. & M. Franco. Evaluación del crecimiento y producción de *Lentinula edodes*. Berk. Plegler

- (Shiitake) sobre diferentes sustratos a base de residuos agroindustriales Colombianos. (Editorial, lugar, 2003).
- [3] Guzman, G., G. Mata., D. Salmones., C. V. Soto. & L. G. Davalos. El cultivo de los hongos comestibles. México. Instituto Politécnico Nacional y Centro de Ecodesarrollo a.c. (Editorial, lugar, 1993) 245p.
- [4] Jaramillo, L. C. Informe anual de labores, periodo septiembre de 1999 a octubre del 2000. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (Editorial, lugar, 2000) P 37.
- [5] Jaramillo, L. C. Informe anual de labores, periodo septiembre de 2000 a Octubre del 2001. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia (Editorial, lugar, 2001.) P 49.
- [6] Jaramillo, L. C. & V. N. Rodríguez. Cultivo de Shiitake en subproductos del café. Chinchina. Revista de Cenicafé. Avances técnicos. (Editorial, Lugar, 2001) 287p.
- [7] Mendenhall, W. & T. Sincich. Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias. (Prentice Hall, México, 1997). 639p.
- [8] Miles, P. G. & Chang, S. T. Biología de las setas. Santafé de Bogotá. Colombia. Instituto Zeri para Latinoamérica. (Editorial, lugar, 1999) 206p.
- [9] Montes, A. Cultivo de los hongos comestibles *Flammulina velutipes* (Curtis ex Fries) Singer y *Pleurotus sajor caju* (Fr.) Singer. En desechos agrícolas del cultivo de pino y café. Tesis de postgrado. Manizales-Colombia. Facultad de Estudios Profesionales en Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Manizales. (Manizales, 2003)100p.
- [10] Pire, D. G., J. E. Wright. & E. Albertó. Cultivation of Shiitake using sawdust from widely available local woods in Argentina. *Micología Aplicada Internacional*. 13(2) : 87-91. (2001)
- [11] Przybyłowicz, P., & J. Donoghue.. The art and science of mushroom cultivation. (Kendall / Hunt, . Dubuque, Iowa ,1988) 217p.
- [12] Quimio, T. H., S. T. Chang. & D. J. Royse. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. (Editorial, Roma, Italia, 1990) FAO. 154p.
- [13] Rodríguez, V. N. & C. F. Gomez. Cultivo de hongos comestibles en pulpa de café. Chinchiná. Revista de Cenicafé. Avances Técnicos. (CENICAFÉ. 2001). 285p.