

Cultivo de hongos medicinales

en residuos agrícolas de la
zona cafetera



Nelson Rodríguez Valencia
Carmenza Jaramillo López



GERENCIA TÉCNICA
PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ
"Pedro Uribe Mejía"

Cenicafé
Chinchiná - Caldas - Colombia

Boletín Técnico

Nº 28

2005



FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA

COMITÉ NACIONAL

Período: 1 de enero de 2003 a 31 de diciembre de 2006

Ministro de Hacienda y Crédito Público
Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural
Ministro de Comercio, Industria y Turismo
Director del Departamento Nacional de Planeación

Juan Camilo Restrepo Salazar
Mario Gómez Estrada
César Eladio Campos Arana
Danilo Cabal Cano
Fabio Villegas Ramírez*
Carlos Alberto Gómez Buendía
Floresmiro Azuero Ramírez
Carlos A. Martínez Martínez
Javier Bohórquez Bohórquez
Jaime García Parra

* Renunció el 8 de marzo de 2005

Gerente General
GABRIEL SILVA LUJÁN

Gerente Administrativo
LUIS GENARO MUÑOZ ORTEGA

Gerente Financiero
CATALINA CRANE ARANGO

Gerente Comercial
ROBERTO VÉLEZ VALLEJO

Gerente Técnico
ÉDGAR ECHEVERRI GÓMEZ

Director Programa de Investigación Científica
Director Centro Nacional de Investigaciones de Café
GABRIEL CADENA GÓMEZ

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.

UNA PUBLICACIÓN DE CENICAFÉ

Editores: Héctor Fabio Ospina Ospina, I.A., MSc.
Sandra Milena Marín López, I.A.

Diseño y Diagramación: María del Rosario Rodríguez L.

Fotografía: Nelson Rodríguez V.
Carmenza Jaramillo L.
Gonzalo Hoyos Salazar.

Fotografía carátula: Fructificación de Shiitake sobre subproductos de café.

Tomada por : Gonzalo Hoyos Salazar.

Editado en Noviembre de 2005
3.500 Ejemplares

Copyright © FNC - Cenicafé - 2005



FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA

**GERENCIA TÉCNICA
PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA**

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ
"Pedro Uribe Mejía"

Cenicafé

Cultivo de hongos medicinales

en residuos agrícolas de la zona cafetera

Nelson Rodríguez Valencia¹
Carmenza Jaramillo López²

¹ Asistente de Investigación. Química Industrial. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.

² Ingeniera Química. Investigadora en Proyectos Especiales, hasta diciembre de 2003. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia.



CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	5
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS HONGOS MEDICINALES ESTUDIADOS.	6
1. SHIITAKE (<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler).	6
1.1. Descripción de la especie.	7
1.2. Técnicas para el cultivo.	7
1.3. Manejo del cultivo.	9
1.4. Tratamiento postcosecha.	9
1.5. Valor nutritivo.	10
1.6. Propiedades medicinales.	10
1.7. El shiitake como control biológico.	12
1.8. Mercado mundial.	12
2. GANODERMA (<i>Ganoderma lucidum</i> (Wm. Curtis. Fries) Karsten).	12
2.1. Descripción de la especie.	13
2.2. Técnicas de cultivo de <i>G. lucidum</i>	13
2.3. Manejo del cultivo.	15
2.4. Tratamiento postcosecha.	16
2.5. Valor nutritivo de <i>G. lucidum</i>	16
2.6. Propiedades medicinales.	16
2.7. Mercado mundial de hongos medicinales.	17
3. USO DE RESIDUOS AGRÍCOLAS DE LA ZONA CAFETERA PARA EL CULTIVO DE SHIITAKE Y GANODERMA.	18
3.1. Producción de la semilla de los hongos.	18
3.2. Preparación de los sustratos.	21
3.3. Esterilización de los sustratos.	28
3.4. Etapa de inoculación.	30
3.5. Etapa de incubación.	32
3.6. Etapa de fructificación y cosecha.	38
3.7. Evaluación de la producción (29).	44
3.8. Manejo postcosecha.	54
3.9. Análisis bromatológico y de minerales de los hongos medicinales.	58
4. TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS DEL CULTIVO	61
5. MANEJO DE ENFERMEDADES Y PLAGAS	65
6. PROBLEMAS EN EL CULTIVO Y SOLUCIONES	67
7. CONCLUSIONES	69
8. LITERATURA CITADA	70
AGRADECIMIENTOS	72



Mediante el cultivo de hongos se realiza la bioconversión de materiales agrícolas en alimentos y medicinas, solucionando de esta manera, al menos parcialmente, tres de los problemas más graves que afronta la población mundial: la escasez de alimentos, las enfermedades y la contaminación ambiental.

En 1997 la producción mundial de hongos comestibles y medicinales fue del orden de 6.158.000 toneladas (3), destacándose el cultivo de los géneros *Agaricus* (champiñón), *Lentinula* (shiitake), *Pleurotus* (orellanas) y *Auricularia* (oreja de Judas).

El alto contenido de proteína de los géneros cultivados, que oscila entre 15 y 30% en peso seco, sumado a las propiedades medicinales descubiertas en éstos, han influido en el incremento del mercado internacional y en los precios de venta. Por ejemplo, en Estados Unidos, el kilogramo de shiitake fresco al productor tiene, en promedio, un precio de 6,30 dólares (41), y para el consumidor el precio oscila entre 7 y 16 dólares por kilogramo de producto fresco, dependiendo de la calidad y el tamaño del mismo (21).

En 1994, el valor de la producción mundial de hongos y productos medicinales extraídos de ellos fue estimado alrededor de los 14 millardos de dólares. Las propiedades medicinales han sido reconocidas como el segundo atributo, en importancia, de los hongos comestibles en los países orientales. En este año se estimaron ventas del orden de 3,6 millardos de dólares en medicinas y tónicos extraídos de estos hongos (3).

En Colombia, el cultivo de los hongos comestibles y medicinales tuvo sus inicios alrededor de 1950, con la producción del champiñón (*Agaricus bisporus*) en Bogotá, posteriormente el hongo shiitake (*Lentinula edodes*) comenzó a cultivarse a principios de la década de los ochenta, con una producción en pequeña escala y comercializada como medicamento, y en los años noventa se inició la etapa experimental del cultivo de hongos del género *Pleurotus* (18).

En el ámbito nacional, las experiencias en el cultivo de hongos se han limitado por el escaso consumo y la poca tradición que se tiene

por este tipo de alimentos. De las ocho especies que se cultivan mundialmente a escala industrial, en nuestro país sólo se han realizado investigaciones de cultivo con *Pleurotus*, *Lentinula* y *Ganoderma* (Figura 1).

En Cenicafé, las investigaciones relacionadas con el cultivo de hongos se iniciaron en 1990, con diferentes especies del género *Pleurotus*, con el propósito de encontrar alternativas para el manejo ecológico de la pulpa de café, que fueran fácilmente aplicables por los productores, evitando que este subproducto generara un impacto ambiental adverso (33).

Entre los años 1998 y 2003 se desarrollaron en Cenicafé, investigaciones relacionadas con el cultivo integral de los hongos medicinales shiitake y ganoderma en los subproductos más abundantes generados en el proceso de cultivo del café, con el propósito de generar alternativas atractivas para los productores que les permitieran diversificar su ingreso, en un período caracterizado por los bajos precios del café en el mercado internacional.

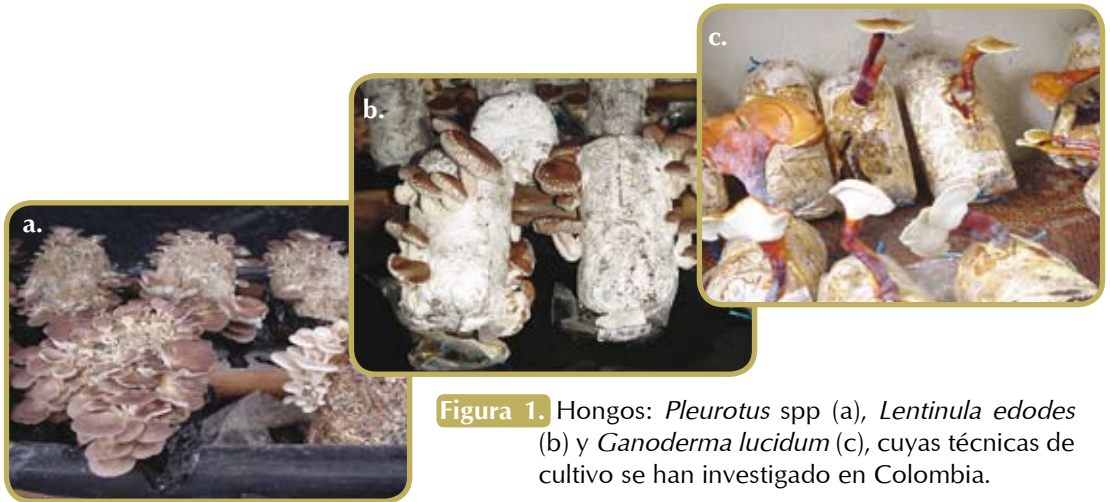


Figura 1. Hongos: *Pleurotus* spp (a), *Lentinula edodes* (b) y *Ganoderma lucidum* (c), cuyas técnicas de cultivo se han investigado en Colombia.

La gran fortaleza que presenta la caficultura para la producción de los hongos medicinales es que los dos subproductos más abundantes generados en el cultivo, la pulpa y los tallos,

con cantidades aproximadas a 2 toneladas/subproducto por hectárea por año (30), pueden emplearse como componentes de los sustratos para el cultivo de este tipo de hongos, permitiendo de esta

manera, que los productores puedan diversificar su ingreso mediante la comercialización de los hongos o utilizarlos para su beneficio como alimento o como medicina.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS HONGOS MEDICINALES ESTUDIADOS.

1. SHIITAKE (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler).

Este hongo es considerado de “especialidad” en la gastronomía de Japón, Corea y China. Tradicionalmente, se cultiva en troncos de árboles en las regiones montañosas de Asia. Su nombre científico es *Lentinula edodes*, pero es conocido comúnmente como “shiitake” u hongo japonés.

Es cultivado extensivamente en Japón y en otros países asiáticos por su agradable sabor y sus propiedades medicinales (8). Además, figura entre los hongos más populares entre los gastrónomos y ocupa el segundo lugar en la producción mundial de hongos comestibles (4).

El shiitake es una especie capaz de degradar la celulosa, las hemicelulosas y las ligninas (Figura 2). Al cultivarlo sobre materiales como paja, tusas de maíz y troncos de cáñamo es posible obtener rendimientos equivalentes o superiores a los encontrados en troncos naturales (10).

Figura 2. Carpóforo de *Lentinula edodes* cultivado en subproductos de café.



1.1. Descripción de la especie.

Los hongos tienen sombreros de 5 a 25 cm de diámetro, hemisféricos, convexos y eventualmente, planos en la madurez. Al inicio de su desarrollo los sombreros son de color marrón oscuro hasta casi negros, y posteriormente se tornan de coloración marrón más clara, debida a la edad o al secado del hongo. El borde del sombrero es de parejo a irregular, al principio ondulado y luego curvado, achatándose con la madurez. Las laminillas son blancas y con la edad adquieren forma irregular o aserrada. El tallo es fibroso y se encuentra normalmente unido al centro del sombrero y de textura áspera (40).

Es un hongo saprófito y sólo crece en tejidos necrosados de árboles de madera dura y hojas anchas. Sus esporas son blancas, de 5 a 6,5 μm x 3 a 3,5 μm , de forma ovoide a oblongo-elipsoide. Los basidios soportan cuatro esporas.

En agar nutritivo el micelio es blanco al principio y luego se torna marrón oscuro, tomando apariencia algodonosa. Es nativo de Japón, Corea y China. Esta especie se encuentra en peligro de extinción debido a la deforestación de su hábitat natural. Existen cepas adaptadas a un amplio rango de temperaturas y a diferentes sustratos (40).

1.2. Técnicas para el cultivo.

Los pasos básicos en el cultivo de shiitake son: la obtención de un medio de cultivo, la utilización de cepas productivas y el manejo apropiado de las condiciones ambientales que intervienen en el crecimiento y el desarrollo de los cuerpos fructíferos (25). En las últimas décadas la tecnología del cultivo de shiitake en condiciones controladas se ha perfeccionado y se usan sustratos a base de aserrines suplementados y esterilizados mediante calor (40).

Existen dos métodos de cultivo:

Cultivo en leño natural (34). Tradicionalmente el shiitake se cultiva en el Japón sobre el árbol *Castanopsis cuspidata*; sin embargo, en Estados Unidos la mayor producción se obtiene sobre leños de roble (*Quercus* spp.), chinkapin (*Castanopsis* spp.), roble color canela (*Lithocarpus* spp.) y carpe (*Carpinus* spp.).

Los leños se cortan en troncos de 1 metro, en el otoño y se inoculan con la semilla de este hongo después de 15 a 30 días. El diámetro que parece ser el más eficaz para el cultivo es de 7 a 15 cm. Cuando los leños tienen un diámetro mayor de 25 cm deben cortarse longitudinalmente en dos mitades.

La semilla se prepara en madera o aserrín formando aglomerados a manera de cuñas de 2,5 cm de diámetro. En los leños se hacen agujeros con taladro que correspondan al diámetro y la longitud de las

cuñas y espaciados cada 15 cm. Finalmente, la semilla se introduce en los agujeros con la ayuda de un martillo y se cubre con cera caliente para prevenir el secado excesivo. El micelio empieza a crecer entre 6 y 18 meses después, dependiendo de la especie maderable empleada, el tamaño del leño, la cepa, la humedad y la temperatura del ambiente.

Después de la incubación, los leños se transfieren al sitio de fructificación, en condiciones de menor temperatura y mayor humedad que las áreas de incubación, donde se encuentra un ambiente óptimo para su crecimiento y desarrollo. La eficiencia biológica alcanzada bajo esta técnica está alrededor del 33%, con el mayor pico de producción después del segundo y el tercer año. Luego el sustrato conformado por los leños se agota y finaliza la producción del hongo.

Cultivo en bloques sintéticos.
Las técnicas de cultivo

comercial del shiitake en aserrín suplementado fueron desarrolladas hace 20 años en Japón, Taiwán y la China. Los sustratos son una mezcla de maderas duras picadas mezcladas con suplementos como el salvado de cereales (26).

Los aserrines de madera y de cortezas confieren buenas propiedades físicas a los sustratos. Un aserrín demasiado fino puede compactarse o una corteza demasiado gruesa afecta a la red micelial tornándola frágil, por lo cual se aconseja utilizar aserrines o cortezas no fermentados. La mezcla de 2/3 partes de corteza y 1/3 de aserrín de madera es apropiada como sustrato (10). Luego se adiciona agua para conseguir una humedad del sustrato entre el 55-68%, para finalmente empacarlo en bolsas de polipropileno, según la técnica de cultivo a seguir, bien sea la técnica asiática o la americana.

En la técnica asiática se utilizan bolsas de polipropileno alargadas, con una argolla en la parte superior y un tapón de algodón, o bolsas alargadas con filtros hechos con esparadrapo y adheridos en forma tal que permitan el intercambio gaseoso (26) (Figuras 3a).

En la técnica americana se utilizan bolsas de polipropileno resistentes al calor, con un parche hecho de plástico micropórico, que permite la salida de CO₂ y la entrada de aire (Figuras 3b y 3c). Después de llenar, las bolsas se esterilizan en una autoclave a 121°C. Posteriormente, los bloques se inoculan por la parte superior y se llevan al cuarto de incubación. En los métodos modernos en pocas semanas se producen entre dos y cuatro cosechas, dependiendo de la cantidad de sustrato que oscila entre 1 y 3 kg (40).



Figura 3. Tipo de bolsas utilizadas para el cultivo del shiitake. Técnica asiática (a); Técnica americana (b y c).

1.3. Manejo del cultivo.

Durante la etapa de incubación la superficie del sustrato se observa plana y blanca. La colonización ocurre en dos semanas, tiempo óptimo para que se forme la red del micelio y se produzcan estructuras de óptima calidad (40).

Entre 30 y 35 días después de la siembra los bloques presentan apariencia irregular, debido a la formación de agregados miceliales precursores de los primordios. En los 30 días siguientes, los aglomerados se tornan de color marrón y de consistencia blanda, y ejercen presión en el plástico, momento en el cual los bloques deben trasladarse a la zona de fructificación, donde se les retira la bolsa de plástico que los cubre. No obstante, en este momento ocurre una masiva evaporación de agua

desde la superficie, que exige que el bloque se mantenga en condiciones de niebla, con el 100% de humedad, hasta que se forme aproximadamente una docena de primordios (Figura 4) (8).

Después de la primera cosecha, los bloques de sustrato deben trasladarse a un cuarto aparte para que pierdan humedad durante una semana, manteniendo la temperatura del cuarto entre 20 y 21°C y bajando la humedad relativa a 30-50%. Posteriormente, los bloques se sumergen en agua a 7-14°C de temperatura, durante 48 horas; si la temperatura es mayor de 15°C, deben sumergirse durante 24 horas (8). Después de la inmersión, los bloques se llevan de nuevo a la zona de fructificación. Por lo menos una o dos veces por día, los bloques se asperjan con agua a presión y una semana después comienza la segunda cosecha.

Para el cultivo en bolsas se debe controlar la fructificación dejando sólo de 10 a 12 primordios; si hay más de doce en un bloque de 1 kg o si se desarrollan primordios debajo del plástico se afecta la calidad y la rentabilidad, debido a la proliferación de hongos de menor tamaño, lo que aumenta el costo de la cosecha (8). Al final del cultivo, los bloques tendrán entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ de su tamaño original y normalmente se verán de color marrón oscuro. En este momento puede reciclarse el sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus* spp.

1.4. Tratamiento postcosecha.

La cosecha se realiza cuando el borde del carpóforo está enrollado o cuando el sombrero se extiende entre un 60 y un 70%, estado que se considera adecuado para la comercialización en el

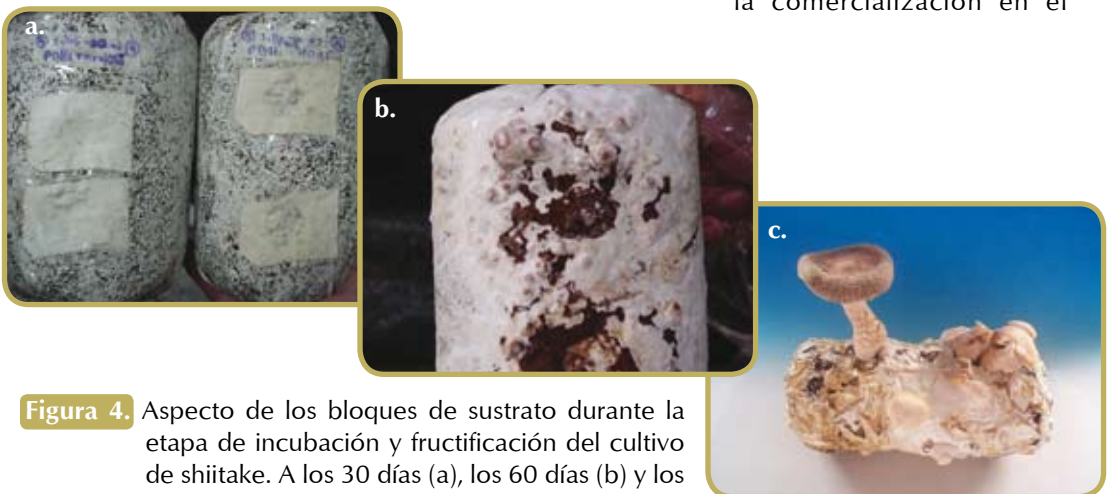


Figura 4. Aspecto de los bloques de sustrato durante la etapa de incubación y fructificación del cultivo de shiitake. A los 30 días (a), los 60 días (b) y los 90 días (c).

mercado asiático, uno de los mayores consumidores de este producto. Los hongos pueden cosecharse con la mano realizando una ligera torsión y presionando el tallo sobre el bloque de sustrato.

La forma más común de conservar estos hongos es deshidratándolos mediante liofilización, aire caliente a 60°C o exponiéndolos al sol, según los recursos del productor (5).

1.5. Valor nutritivo.

El shiitake es fuente de proteína, potasio, zinc y polisacáridos, algunos de ellos conocidos como potenciadores del sistema inmunológico (14).

El shiitake ha sido reconocido en Japón y China como un

alimento y una medicina por miles de años. De acuerdo con los registros históricos, en el año 199 A.C. al emperador japonés Chuai le fue ofrecido el shiitake por los Kyusuyu, una tribu nativa del Japón (12). Su contenido de proteína varía entre 2,22 y 2,60% en peso fresco (25,9% en peso seco), lípidos (principalmente el ácido linoleico), carbohidratos solubles en agua (0,45-0,72g/100g de peso seco), minerales (especialmente calcio) y vitaminas B2 y C (12).

Los cuerpos fructíferos tienen altas cantidades de ergosterol, provitamina que se convierte en vitamina D en presencia de luz solar. Algunos estudios demuestran que la exposición de los carpóforos a los rayos solares durante 3 horas/día incrementa los contenidos de vitamina D2 hasta en

cinco veces. El contenido de minerales depende de los sustratos de cultivo (12).

Este hongo es el segundo género comestible más cultivado en el mundo, considerado un producto exótico, más apetecido que el champiñón (*A. bisporus*), con propiedades medicinales sustentadas en un gran número de investigaciones (12). En las Tablas 1, 2 y 3 se presenta la información relacionada con el valor nutritivo de los cuerpos fructíferos del shiitake.

1.6. Propiedades medicinales.

En la medicina oriental el shiitake es considerado un alimento que activa la sangre. Es utilizado para tratar problemas de salud tanto en niños como en adultos. En

Tabla 1. Descripción nutricional de los cuerpos fructíferos del hongo shiitake.

Componente en shiitake seco	Estructura del hongo	
	Píleo o sombrero	Estipe
Cobre (µg/g)	15,4	9,1
Hierro (µg/g)	88,3	46,5
Zinc (µg/g)	-	83,0
Manganeso (µg/g)	37,2	60,9
Nitrógeno (mg/g)	37,5	14,3
Fósforo (mg/g)	10,7	13,9
Potasio (mg/g)	33,9	27,3
Sodio (mg/g)	0,2	0,5
Calcio (mg/g)	0,2	0,6
Magnesio (mg/g)	1,9	3,8

Fuente: Jones (14)

Tabla 2. Análisis bromatológico del shiitake fresco.

Componente (%)	Estructura del hongo	
	Píleo o sombrero	Estipe
Ceniza	0,9	0,6
Grasa cruda	0,2	0,1
Proteína cruda	1,9	1,7
Fibra cruda	0,9	1,6
Sacáridos	5,9	10,9

Fuente: Jones (14)

Tabla 3. Aminoácidos esenciales del shiitake.

Aminoácido	Estado del hongo			
	Micelio	Cuerpo fructífero fresco	Cuerpo fructífero seco	Cuerpo fructífero cocinado
	g/100g			
Arginina	1,25	7,00	0,648	0,089
Histidina	0,393	1,80	0,159	0,022
Leucina	1,92	7,00	0,679	0,093
Isoleucina	1,35	4,40	0,405	0,055
Lisina	0,799	3,50	0,343	0,047
Tirosina	0,81	3,50	0,323	0,044
Treonina	0,978	5,20	0,497	0,068
Metionina	0,355	1,80	0,179	0,025
Fenilalanina	1,18	5,30	0,486	0,067
Valina	1,19	5,20	0,486	0,067
Proteína (base seca)	–	–	17,50%	–

Fuente: Jones (14)

Japón, se utiliza para tratar enfermedades del corazón, úlceras, presión sanguínea, problemas de visión, alergias, hemorroides y neuralgias, entre otras (14).

Dos extractos se obtienen del shiitake con fines terapéuticos: el Extracto Micelial (LEM) y el Lentinan. Actualmente,

estas sustancias se utilizan en tratamientos médicos contra tumores en animales y humanos, mediante ingestión oral o por vía intravenosa (12). El Lentinan es un constituyente de la pared celular y se extrae tanto del micelio como de los cuerpos reproductores. Es un polisacárido de alto peso molecular en triple

estructura de hélice, que contiene solamente moléculas de glucosa (12).

Hobbs (12), presenta una revisión sobre estudios clínicos realizados en pacientes a los cuales se les suministró el hongo para el tratamiento de diferentes enfermedades y analiza los efectos

antitumorales, antivirales, inmunoregulatorios, hepatoprotectores, cardiovasculares, y su utilización en el tratamiento de infecciones bacterianas, en la prevención del cáncer y en el tratamiento del SIDA.

1.7. El shiitake como control biológico de patógenos.

El uso excesivo de pesticidas en la agricultura para el control de insectos y enfermedades tiene efectos nocivos sobre el suelo, el agua, el medio ambiente y la salud humana, por este motivo es necesario desarrollar programas de control biológico mediante la utilización de microorganismos como hongos, bacterias y virus.

En este campo, el lixiviado micelial de shiitake puede ser una alternativa para el control de bacterias fitopatógenas, debido a sus propiedades como antibiótico. En un estudio realizado por Pacumbaba *et al.*(23), se

utilizaron diferentes cepas de bacterias para evaluar en el laboratorio el efecto del lixiviado micelial de shiitake como control biológico de las mismas. Experimentaron con *Ralstonia solanacearum* que produce marchitamiento en tomate, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv *flaccumfaciens* causante de marchitamiento en frijol y soya, *Pseudomonas syringae* pv *glycinea*, *P. syringae* pv. *tabaci*, *Xanthomonas campestris* pv *glycines*, *X. campestris* pv *campestris*, *Erwinia amylovora*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*. Se observó que el lixiviado micelial de shiitake inhibe el crecimiento de estas bacterias, y que cuando es aplicado al suelo previene los síntomas de marchitamiento en tomate y frijol, en condiciones de laboratorio. Sin embargo, faltan estudios de campo para determinar si los resultados obtenidos *in vitro* son reproducibles, y así poder realizar las recomendaciones para la utilización del lixiviado

como controlador biológico de bacterias fitopatógenas.

1.8. Mercado mundial.

La producción mundial de hongos comestibles cultivados ha crecido consistentemente durante las cuatro décadas pasadas, pero la producción y el consumo se concentran principalmente en Asia, donde en 1994 representaba todavía el 69,3% de la producción mundial (24).

Una comparación de las especies de hongos cultivados en los últimos años demuestra que el abastecimiento está aumentando, especialmente el cultivo del hongo *Lentinula edodes*. Se espera que esta tendencia en la producción continúe debido, tanto a los avances en el conocimiento básico de la biología de los hongos como a la tecnología práctica asociada con su cultivo. El consumo en la China está aumentando en forma rápida y fuerte, lo que ofrece nuevas oportunidades en el mercado internacional de los hongos.

2. GANODERMA (*Ganoderma lucidum* (Wm. Curtis. Fries))

Es un hongo que recibe muchos nombres: los japoneses lo llaman Reishi o Mannetake, mientras que los chinos y coreanos, Ling Chi o Ling Zi, que en español significa, el hongo de la inmortalidad o

el poliporo panacea, siendo casi reverenciado en sus respectivos países (40).

G. lucidum es uno de los representantes poliporales más conocido por sus propiedades

medicinales. Esta especie tiene la forma de un riñón, es de textura leñosa, de 5 a 20 cm de diámetro y presenta una superficie brillante cuando está humedecido (Figura 5) (40). El cultivo artificial de

este hongo se logró con éxito en el año 1970 y a partir de 1980 se desarrolló de manera rápida, particularmente en la China (3).

2.1. Descripción de la especie.

Existen varias especies del género *Ganoderma*. Las más importantes comercialmente son: *G. curtisii*, *G. oregonense*, *G. tsugae* y *G. lucidum*. Esta última, es la de mayor interés y crece sobre robles y otras maderas duras, mientras que *G. tsugae* y *G. oregonense* crecen principalmente sobre coníferas. En el suroeste de Norteamérica, *G. tsugae* crece sobre abetos blancos (40).

El sombrero del hongo puede ser rojo pálido y algunas veces muestra tonalidades cercanas al negro; tiene poros blanquecinos en la parte inferior que al contacto se tornan de color marrón. Las áreas de crecimiento nuevo son blancas y se oscurecen de amarillo marrón a marrón-rojizo cuando el hongo llega a la madurez de cosecha, éstas se observan frecuentemente en zonas concéntricas como patrón de crecimiento. Las esporas son de color marrón-rojizo, elipsoidales, con un extremo romo, de 9 a 12 μm x 5 a 6 μm . Las esporas se dispersan desde la parte inferior del hongo,



Figura 5. Carpóforo de *Ganoderma lucidum* cultivado en subproductos de café.

recolectándose en la superficie de los sombreros. El pie es de color blanco a amarillo, y eventualmente se oscurece a marrón o negro, y está unido en el centro o de manera lateral al sombrero; es usualmente sinuoso y puede tener entre 5 y 10 cm de longitud (40).

2.2. Técnicas de cultivo de *G. lucidum*.

Para el cultivo desarrollado en condiciones de laboratorio, Stamets (40), reporta un ciclo rápido para el cual se usa una mezcla 50:50 de aserrín de madera dura, con virutas de madera, que puede contener un 5% de salvado de arroz o sorgo, y así incrementar el rendimiento. La mezcla del aserrín y las virutas de aliso/

roble, se sumerge en 15 L de agua enriquecidos con 50 ml de melaza, durante tres o cuatro días y luego se deposita en bolsas de 5 kg de capacidad, pero sólo se colocan dentro de ellas 3 kg de sustrato húmedo compactado. Luego, las bolsas se esterilizan en autoclave durante 2 horas a 15 psi y, finalmente, se incuban y se disponen para la fructificación.

Para obtener un crecimiento óptimo de *G. lucidum* deben tenerse en cuenta las condiciones de cultivo descritas en la Tabla 4.

En su ciclo de cosecha se obtienen dos recolecciones, durante un período de tiempo comprendido entre los 90 y los 120 días después de la inoculación (8).

Tabla 4. Condiciones de cultivo para obtener los óptimos de crecimiento y producción de *G. lucidum*.

Condiciones de proceso	Etapa de proceso			
	Incubación	Fructificación		
		Formación de primordios	Formación de Sombrero joven	Desarrollo del sombrero
Temperatura	21 – 27°C	18 – 24°C	21 – 27°C	21 – 27°C
Humedad relativa	95 – 100%	95 – 100%	95 – 100%	90 – 95%
Duración	10 – 20 días	14 – 28 días	14 – 28 días	60 días
[CO ₂]	Hasta 50.000 ppm	Entre 20.000 y 40.000 ppm	Entre 2.000 y 5.000 ppm	< 2.000 ppm
Cambios de aire fresco	0– 1 por hora	0-1 por hora	Como se requiera para mantener el nivel de CO ₂	Como se requiera para mantener el nivel de CO ₂
Requerimiento de luz	No requiere	4-8 horas a 200-500 lux	12 horas a 500-1.000 lux	12 horas a 750-1.500 lux

Fuente: Adaptado de Curvetto (8).

Existen dos métodos de cultivo, que son:

Cultivo en leños (15). El cultivo puede hacerse en leños largos o en leños cortos. El cultivo de Ling zhi en los leños largos es muy laborioso y la cosecha se obtiene después de un año de inoculado el hongo. Por otro lado, el cultivo sobre leños cortos demora solamente de 4 a 5 meses para la incubación del micelio y el cuerpo fructífero puede ser cosechado en el mismo año. El cultivo en leño corto es el más utilizado.

Ganoderma lucidum, es un hongo saprófito. Para su cultivo se utiliza madera seca de robles del género *Quercus*:

Quercus acutissima, *Quercus aliena* y *Quercus serrata*. Para sembrar el hongo es necesario secar los leños hasta un 40% de humedad, condición que se logra después de 40 a 60 días con secado y ventilación adecuados. La inoculación debe realizarse en un sitio limpio, libre de contaminantes. En las etapas de incubación y fructificación deben controlarse las variables medioambientales del lugar donde se desarrolla el proceso.

Son factores esenciales para el crecimiento de los hongos la temperatura, la humedad y el oxígeno. En particular, la formación de los primordios requiere una temperatura de

30°C y una humedad relativa del 95%. La luz y otros factores medioambientales pueden manipularse dependiendo del estadio de crecimiento del hongo, así:

- Incubación: el crecimiento micelial ocurre entre los 10 y los 38°C, con una temperatura de incubación óptima entre 25 y 32°C. El contenido de humedad en el sustrato de aserrín debe ser de 65-70% y el del leño del 40%. Los valores óptimos de pH deben estar entre 4,2 y 5,3. Durante el crecimiento micelial no se necesita iluminación.
- Fructificación: las fructificaciones de Ling zhi,

se desarrollan entre 20 y 34°C, con el óptimo de temperatura entre 27 y 32°C. Si la temperatura está fuera del rango de formación puede abortar el cuerpo fructífero; en particular, si la temperatura es inferior a 20°C se producen cuerpos fructíferos con sombreros deformes.

La humedad relativa en el cuarto de crecimiento debe mantenerse por encima del 90% durante la inducción de los primordios, entre el 70 y el 80% para la formación de los sombreros, y entre 30 y 40% en el estadio final del desarrollo del cuerpo fructífero. La luz requerida durante la formación y el desarrollo del cuerpo

fructífero debe estar entre 50 y 450 lux. Después de formado el sombrero debe ventilarse completamente el cuarto.

Cultivo en leños sintéticos.

Para el cultivo de *Ganoderma lucidum*, se emplea el tipo de bolsas de polipropileno descritas para shiitake, sea para la producción de ganoderma por la metodología asiática (bloque en forma de leño) o la americana (bloques cuadrados).

2.3. Manejo del cultivo.

La etapa de incubación toma entre 14 y 21 días a 24°C, y las primeras estructuras,

aparecen después de 30 ó 40 días de inoculado el sustrato. Para el día 50 los tallos se encuentran ramificados, tienen una longitud aproximada de 10 cm y emergen del sustrato (Figura 6a). En este momento deben abrirse las bolsas para favorecer la formación del sombrero y disminuir la concentración de CO₂ (~ 350 ppm), de lo contrario éste no crece. El repentino cambio en la concentración de CO₂ estimula el crecimiento del sombrero o píleo. Los sombreros se orientan hacia la luz y una indicación del crecimiento es la aparición de una banda blanquecina en el borde (Figura 6b). El tiempo de cosecha está usualmente indicado por la ausencia de este margen y la producción de esporas, de color marrón óxido, que tienden a acumularse en los sombreros (Figura 6c) (8).



Figura 6. Aspecto del desarrollo de un cultivo de *G. lucidum*. (a) 50 días después de la inoculación, (b) 80 días después, (c) 110 días después de la inoculación.

Para obtener carpóforos de *G. lucidum* de estipe corto y forma de riñón se requiere que una vez el tallo tenga una longitud de unos 5 cm, exponerlo a un ambiente con alta humedad, ventilación y luminosidad.

Estos hongos contienen usualmente un 80% de agua, 10% menos que otros hongos carnosos. Los rendimientos obtenidos en una primera cosecha pueden alcanzar un 15% de eficiencia biológica entre los 30 y los 60 días después de la emergencia del tallo, para el cultivo rápido. La segunda cosecha representa entre un 25 a un 50% de la anterior.

2.4 Tratamiento postcosecha.

Después de la cosecha no deben almacenarse los hongos en lugares húmedos, calurosos y sucios. Éstos pueden secarse al sol o en estufas a 60°C, durante 2 ó 3 días, disponiendo los cuerpos fructíferos con la parte inferior del carpóforo hacia abajo. El sobresecado deteriora la calidad del producto, debido a que la parte inferior de la superficie porosa se oscurece o se contamina con mohos (6).

2.5. Valor nutritivo de *G. lucidum*.

El carpóforo de ganoderma contiene carbohidratos (azúcares reductores y polisacáridos), aminoácidos, una pequeña cantidad de proteína e iones inorgánicos, esteroides, triterpenos, lípidos, alcaloides, aceites volátiles, riboflavina y ácido ascórbico. Analizando los iones inorgánicos, específicamente los del sombrero, se encuentra que contiene Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu y Ge. De igual forma, contiene ergosterol y proteasa ácida (12).

En extracciones de carpóforos de *G. lucidum* en agua caliente se encontró el 51% de los polisacáridos y el 5% de la proteína presentes en el cuerpo reproductor. El micelio contiene esteroides, lactones, alcaloides, polisacáridos y triterpenos (12).

En el mercado de Oriente tradicionalmente se vende seco, sin embargo se encuentra también en forma de píldoras, cápsulas y té (6).

Aunque este hongo es relativamente duro, puede usarse en algunos platos especialmente sopas, o puede prepararse en infusión (té),

con el hongo fresco, en trozos pequeños, en agua hirviendo durante 5 minutos y dejándolo en reposo durante 30 minutos(12). Las cepas amarillas generalmente son más amargas que las rojas y las negras. El sabor amargo se debe a su contenido de terpenoides (8).

2.6. Propiedades medicinales.

Los extractos de esta seta poseen efectos antivirales, debido al germanio orgánico, componente activo de *Ganoderma lucidum*. Este componente aumenta en un 50% la habilidad de la sangre para absorber el oxígeno, favorece el equilibrio del metabolismo y previene la degeneración del tejido celular. Además, *G. lucidum* reduce el porcentaje del colesterol y el excedente de grasa contenidos en la sangre, disminuye el nivel de azúcar, restaura las funciones naturales del páncreas, estabiliza las paredes celulares de los glóbulos rojos, reduce la aglutinación de las plaquetas sanguíneas, mejora las funciones del córtex y de las glándulas suprarrenales (19).

También tiene propiedades hipertensivas e hipotensivas (homeostasis), dadas por un peptido-glucano; estos compuestos tienen una actividad antitrombosis, ya que son inhibidores de la agregación plaquetaria (20). Se conocen otros estudios donde se demuestra la actividad antitumoral de las esporas de ganoderma contra el hepatoma y sarcoma 180 (17).

Existen dos clases principales de compuestos presentes en ganoderma con actividades farmacológicas, éstos son los triterpenos y los polisacáridos. Los primeros, disminuyen la presión sanguínea y son benéficos como anti-inflamatorios y como antivirales. Los polisacáridos tienen efectos estimulantes en las células sanguíneas que conllevan a la liberación de citoquinas y linfocitos, lo que explica los efectos antitumoral, hipoglicémico e inmunopotenciador. Actualmente, en diferentes investigaciones se está examinando el modo de acción específico de los diferentes compuestos aislados de los cuerpos reproductores (12).

Hobbs (12), hace una revisión sobre los estudios clínicos

realizados en pacientes a los cuales se les suministró el hongo para el tratamiento de diferentes enfermedades. En su libro analiza los efectos analgésicos, anti-alérgicos, anti-inflamatorios, antibacteriales, antioxidantes, antitumorales, antivirales, inmunoregulatorios, hepatoprotectores, al igual la utilización del hongo para el tratamiento de la bronquitis, de la presión sanguínea, así como su acción cardiotónica, expectorante y su empleo en el tratamiento del SIDA.

Este hongo se consume por vía oral, en forma de infusión o mezclado en el café (Figura 7). En el mercado internacional se consiguen sobres de café

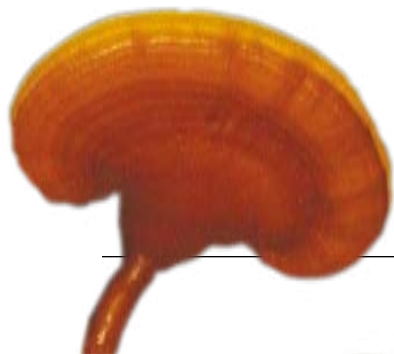
instantáneo con extracto de ganoderma.

2.7. Mercado mundial de hongos medicinales.

El mercado mundial de los hongos medicinales se ha estimado en 3,9 millardos de dólares en 1995 (de los cuales 1,6 millardos correspondieron a productos derivados de *G. lucidum*), cifras relacionadas con la producción y consumo de los hongos en el continente Asiático; no obstante, en los mercados de Europa y Estados Unidos, la demanda de éstos ha aumentado debido a sus propiedades medicinales y alimenticias (24).



Figura 7. *Ganoderma lucidum* puede consumirse en infusión con café caliente.



3. USO DE RESIDUOS AGRÍCOLAS DE LA ZONA CAFETERA PARA EL CULTIVO DE SHIITAKE Y GANODERMA.

La metodología para el cultivo de los hongos shiitake y ganoderma, difiere de la utilizada para los hongos del género *Pleurotus*, conocidos como orellanas. La diferencia radica en que las especies del género *Pleurotus* tienen la habilidad de crecer sobre un amplio rango de sustratos, con relaciones C/N que van desde 50 hasta 500 (44), lo que no sucede con los hongos medicinales evaluados en este estudio. Por tanto, para los hongos medicinales es necesario utilizar tratamientos térmicos en la fase de adecuación del sustrato con el fin de romper estructuras y eliminar microorganismos competidores, y en la etapa de prefructificación para estimular la formación de primordios.

El cultivo de los hongos medicinales comprende las siguientes etapas:

- Preparación de la semilla de siembra.
- Formulación y preparación de los sustratos.
- Esterilización de los sustratos.
- Etapa de inoculación.
- Etapa de incubación.
- Choque térmico de los sustratos ya incubados.
- Etapa de fructificación y cosecha.
- Manejo postcosecha.

3.1. Producción de la semilla de los hongos.

Para la preparación de la semilla de los hongos medicinales se utiliza la misma metodología empleada para la producción de semilla de los hongos comestibles del género *Pleurotus* spp.

La producción de la semilla de los hongos medicinales es una actividad de sumo cuidado y en su proceso se corre el riesgo de perder el material por el establecimiento de hongos competidores, por tanto, se recomienda a los pequeños productores comprarla en laboratorios comerciales que certifiquen su calidad y sanidad; pero, si los productores desean elaborarla es necesario que sigan de forma detallada los procedimientos que se describen a continuación, teniendo un especial cuidado en todo lo relacionado con las prácticas de higiene.

La **semilla inicial** se obtiene a partir de cultivos puros de los hongos, los cuales se encuentran en su fase micelial sobre diferentes tipos de agar nutritivo y crioprotectores almacenados en nitrógeno líquido a -196°C , para preservar su potencial

genético. A partir de éstos, se obtienen los cultivos de trabajo que consisten en tubos de ensayo con agar nutritivo sobre el cual se establece el hongo en su fase micelial y cuya conservación se realiza refrigerándolos a 4°C . Luego es necesario transferirlos cada 3 meses a otros tubos de ensayo con agar nutritivo fresco, que garantice la supervivencia del hongo. A esta forma de conservación se le denomina transferencia seriada y al material biológico obtenido se le denomina "cepa" (Figura 8); ésta es la forma en la que los laboratorios especializados comercializan el hongo para que los productores inicien la producción de la semilla comercial.

Una vez se adquiere la cepa, el primer paso es refrigerarla y cada 3 meses transferirla a tubos de ensayo con agar nutritivo fresco. Para ello se utilizan tubos de ensayo bien lavados y desinfectados, los cuales se llenan hasta la mitad de su volumen con el medio de cultivo caliente (preparado de acuerdo con las recomendaciones del fabricante), se tapan y luego se esterilizan a 121°C , utilizando una autoclave pequeña. Después de retirar los tubos del autoclave, éstos deben dejarse en una posición inclinada



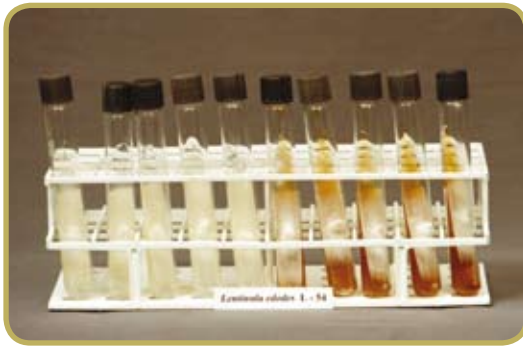


Figura 8. Cepas de *Lentinula edodes* conservadas por transferencia seriada.

para aumentar la superficie de contacto agar – micelio, y finalmente, se hace la siembra con el micelio contenido en el tubo inicial. Se recomienda que el traspaso del micelio no sea superior a 6 repiques (un año y medio como máximo). Una vez cumplido este tiempo es necesario volver a iniciar el cultivo con el material crioconservado o aislado a partir de un carpóforo sano y de excelente calidad.

La siembra del micelio debe hacerse en una cámara de flujo laminar o en su defecto, en un cuarto cerrado, completamente limpio y desinfectado, junto a mecheros de alcohol. Para la desinfección de las áreas de trabajo se utiliza el hipoclorito de sodio con una concentración del 10%, a partir de límpido comercial y cloruro de benzalconio al 5%. En lugar de límpido también puede utilizarse alcohol de 70° (alcohol antiséptico comercial).

Apartir de las cepas conservadas en los tubos de ensayo se multiplica el micelio en botellas planas, como las que se utilizan para la producción artesanal del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

Por botella se adicionan 60 ml del medio nutritivo (extracto de malta agar), que se prepara según las indicaciones de la etiqueta del producto. Posteriormente, se tapan las botellas con un tapón de algodón y luego se esterilizan a 121°C en una autoclave. Paso seguido, éstas se enfrían en posición horizontal y se siembran, teniendo las precauciones

indicadas anteriormente, con el micelio contenido en cada uno de los tubos de ensayo (un tubo contiene el micelio suficiente para sembrar 10 botellas planas). Por último, las botellas se incuban en un lugar cerrado, oscuro y desinfectado (Figura 9).

Diariamente, debe evaluarse el crecimiento micelial en los tubos de ensayo y en las botellas. También, se debe retirar y esterilizar el material contaminado para su disposición final, para evitar la contaminación cruzada y el riesgo de enfermedades respiratorias debidas a las esporas de los hongos contaminantes.



Figura 9. Multiplicación micelial de *Lentinula edodes* en botellas planas.

Cuando el micelio muestre un crecimiento mayor del 90% sobre los medios de cultivo, deben refrigerarse los tubos o las botellas por un tiempo no mayor de 3 meses, para emplearlos en la preparación de la semilla primaria.

El micelio contenido en las botellas planas se multiplica en granos de cereal (trigo, millo, sorgo, cebada, centeno, maíz o arroz) o sobre aserrines de madera, para conformar la semilla madre o semilla primaria, la cual es usada para preparar la semilla de siembra o inóculo secundario, también llamada semilla comercial.

Esta semilla se prepara en frascos de vidrio esterilizados de boca ancha y con tapa metálica la cual se perfora en su parte central, con una broca, y se sella con algodón para permitir el intercambio gaseoso. Los frascos se llenan hasta $\frac{3}{4}$ partes con cereal hidratado, con humedad entre el 40 y el 45% o con un sustrato a base de aserrín de madera dura con una humedad entre el 60 y el 65%.

Cuando se utilizan cereales, para que éstos alcancen la humedad necesaria para la obtención de la semilla madre debe lavarse el grano comercial con agua de grifo hasta retirarle el material flotante, y después escurrirlo. Al cereal limpio se le adicionan 0,5 L de agua/kg de grano inicial, y se coloca en un recipiente al

fuego hasta eliminar el agua totalmente.

Cuando la semilla madre se prepara sobre aserrines de madera es necesario conocer la humedad inicial de los materiales que forman parte del sustrato. Una formulación apropiada debe contener, en base seca, entre un 75 y un 80% de aserrín de madera dura (roble, eucalipto, tallo de café) con un tamaño de partícula inferior a 0,5 cm, salvado de trigo entre el 18 y el 25%, azúcar (1%), carbonato de calcio (1%) y la cantidad de agua que permita obtener una humedad del sustrato entre 60 y 65%.

Después de llenar los frascos, éstos se envuelven en papel y se esterilizan en una autoclave. Una vez esterilizado el sustrato, se enfrían los frascos en mesones desinfectados y se inoculan con el micelio

desarrollado en las botellas planas, las cuales deben retirarse desde el día anterior del refrigerador.

El agar con el micelio se divide en ocho trozos y cada uno se corta en otros diez trozos, con una asa estéril, y por frasco se adicionan diez trozos sobre el sustrato. Este proceso debe hacerse en una cámara de flujo laminar o junto a varios mecheros para evitar la contaminación del sustrato. El cuarto para la incubación de los frascos debe estar desinfectado, seco y oscuro.

El crecimiento micelial en la semilla madre debe evaluarse diariamente (Figura 10). Así mismo, es necesario retirar el material contaminado que puede llevarse a los lombricultivos para su tratamiento y de esta manera evitar la contaminación cruzada.



Figura 10. Semilla primaria de *Lentinula edodes* sobre aserrín de madera.

El paso siguiente es preparar la semilla de siembra, la cual se utiliza para la inoculación de los sustratos. Para la producción de 1 kilogramo de semilla se recomienda utilizar bolsas de polipropileno termorresistentes de 20 cm de ancho x 50 cm de largo y 0,20 cm de espesor. Dentro de las bolsas se adiciona 1 kg de cereal hidratado y en el extremo superior de éstas se les coloca un anillo de PVC de 3/4" de diámetro y 0,5 cm de longitud, que sirve para sostener un tapón de algodón y de esta forma permitir el intercambio gaseoso, necesario para el desarrollo micelial.

Una vez esterilizado el material, las bolsas se enfrían y se inoculan con la semilla madre a una tasa del 10% (100 gramos de semilla madre para cada bolsa de semilla de siembra). La inoculación debe hacerse en cámara de flujo laminar o junto a mecheros. Cuando el crecimiento de la masa

micelial llegue al 95 ó al 100%, deben refrigerarse las bolsas y utilizarse máximo en los 15 días siguientes (Figura 11).

3.2. Preparación de los sustratos.

El primer paso en la preparación de los sustratos consiste en determinar la cantidad de cada una de las materias primas que formarán parte de los mismos; esto se conoce con el nombre de "formulación". Por tanto, debe conocerse la caracterización bromatológica de los materiales que conformarán los sustratos y las necesidades nutricionales de las cepas de los hongos que van a cultivarse.

En la Tabla 5 se presenta la caracterización bromatológica de los subproductos de algunos cultivos de la zona cafetera que se han utilizado en la preparación de sustratos para

la producción de hongos comestibles y medicinales.

Con base en los resultados de los contenidos de carbono (C) y nitrógeno (N) de las materias primas se calcula la relación C/N, parámetro importante para la formulación de los sustratos utilizados para el cultivo de los hongos comestibles y medicinales.

El porcentaje de carbono (%C) se calcula dividiendo el contenido de materia orgánica (M.O.) entre 1,8, la cual se determina previamente con la siguiente fórmula:

$$M.O = 100 - \text{Porcentaje de cenizas.}$$

De los subproductos generados durante los procesos de cultivo, beneficio e industrialización del café, los que presentan las menores relaciones C/N son: la pulpa y la borra, con valores de 31 y 33, respectivamente.

La pulpa de café (Figura 12), es el primer producto que se obtiene después del beneficio del fruto de café y representa, en base húmeda, alrededor del 40% del peso del fruto fresco (2).

La borra de café (Figura 13), es el subproducto que se genera después de la extracción de los solubles presentes en el grano torrefacto.



Figura 11. Semilla comercial de hongos medicinales.

Tabla 5. Caracterización de las materias primas utilizadas en el cultivo de *L. edodes* y *G. lucidum*

Análisis (en peso seco)	Subproducto				
	Pulpa de café	Aserrín de tallo de café	Borra de café	Salvado de maíz	Salvado de trigo
Humedad (%)	78,56	14,20	60,01	12,20	12,60
Nitrógeno (%)	1,65	0,72	1,68	1,57	2,49
Proteína (%)	10,31	4,50	10,50	9,81	15,57
Cenizas (%)	7,61	3,53	0,61	3,50	6,14
Fibra (%)	13,15	64,54	40,47	5,51	12,21
Grasa (%)	2,17	0,40	26,32	10,83	2,34
ELN (%)	66,76	27,03	22,10	70,35	63,75
P (%)	0,12	0,06	0,02	0,68	1,28
K (%)	2,71	0,37	0,08	0,81	1,25
Ca (%)	0,37	0,40	0,08	0,01	0,12
Mg (%)	0,10	0,08	0,01	0,26	0,58
Fe (ppm)	306	750	198	132	125
Mn (ppm)	36	40	39	16	123
Zn (ppm)	18	10	10	54	94
Cu (ppm)	12	10	29	9	11
B (ppm)	23	13	5	7	6
C (%)	51,33	53,59	55,22	53,61	52,14
C/N	31	74	33	34	21
pH	4,01	5,32	4,10	6,05	6,52

Los métodos utilizados fueron:

Nitrógeno: semimicro Kjeldahl; Fósforo: colorimétrico (molibdovanadato de amonio); Potasio, Calcio, Magnesio, Hierro, Manganeso, Zinc y Cobre: espectrofotometría de absorción atómica; Boro: colorimétrico (azometina H); Proteína: Calculado (nitrógeno x 6,25); grasa: Soxhet; Fibra: Weende; Extracto Libre de Nitrógeno: calculado; pH: Potenciométrico.

Fuente: Rodríguez (32).



Figura 12. Pulpa de café.



Figura 13. Borra de café.

El aserrín del tronco del café presenta una relación C/N de 74, la cual es inferior a la que presentan la mayoría de las maderas duras, debido a que el contenido de nitrógeno en el tallo del café es superior al encontrado en otros aserrines de madera.

Los salvados de trigo y maíz se utilizan en las formulaciones como suplemento para equilibrar la relación C/N, por su alto contenido de N disponible y su facilidad de consecución en la zona cafetera; éstos presentan una relación C/N de 21 y 34, respectivamente.

La adición de compuestos de calcio al sustrato como el sulfato (CaSO_4) también conocido como yeso, y del carbonato (CaCO_3), tiene como finalidad el acondicionamiento del pH del medio y el suministro de iones Ca^{++} , los cuales desempeñan un papel importante en la estimulación del crecimiento hifal.

Royse y Sánchez (35), realizaron un estudio para determinar el porcentaje apropiado de compuestos de calcio que deben adicionarse al sustrato. Encontraron que con cantidades de CaCO_3 o CaSO_4 superiores a 0,6% se

estabiliza la producción, por lo que es importante adicionar como mínimo esta cantidad a los sustratos. Cantidades mayores de carbonato se utilizan cuando es necesario acondicionar el valor del pH del sustrato entre 4,5 y 5,5; rango apropiado para el cultivo de los hongos (31).

Teniendo en cuenta los valores C/N de las materias primas, se calculan las formulaciones que permitan tener los sustratos para el cultivo de las diferentes cepas de los hongos *L. edodes* y *G. lucidum*, con relaciones C/N entre 40 y 60, consideradas como apropiadas para su cultivo.

En la Tabla 6 se observan los porcentajes, en peso seco, de las materias primas que conformaron los sustratos evaluados para el cultivo de los hongos medicinales con el propósito de encontrar el más productivo para las diferentes cepas utilizadas.

En la Tabla 7 se establecen las cantidades de materias primas necesarias en cada formulación para obtener 100 kg de sustrato de siembra, teniendo en cuenta la humedad promedio con que se consiguen los diferentes subproductos.

El siguiente paso en la preparación del sustrato, una

vez establecida la formulación y calculadas las cantidades de materias primas necesarias, consiste en la adecuación del tamaño de la partícula de cada uno de los materiales.

Es recomendable que el tamaño de partícula de los sustratos esté entre 0,5 y 2 cm (29), debido a que con este tamaño se han encontrado los mejores rendimientos del cultivo.

La pulpa de café tiene un tamaño de partícula promedio entre 1 y 2 cm, que es apropiado para la conformación del sustrato (27). Debe utilizarse fresca, con menos de dos días de

obtenida o ensilada, tal como se indica en el Avance Técnico 313 “Ensilaje de la pulpa de café” (27), proveniente de un despulpado y un transporte sin agua (1), y prensada con el fin de disminuir la humedad hasta el 70% (Figuras 14 a y b). La borra de café puede utilizarse con el tamaño de partícula con el cual se genera.

El tallo de café debe molerse para obtener un tamaño de partícula inferior a 0,5 cm, pero superior a 0,1 cm, lo cual se logra en un desintegrador – picador, que también puede utilizarse para adecuar el tamaño de partícula de otros materiales fibrosos (Figura 15).

Tabla 6. Formulaciones de sustratos evaluados para el cultivo de los hongos *L. edodes* y *G. lucidum*.

C/N	TTO	Tallo de café (%bs)	Pulpa de café (%bs)	Borra de café (%bs)	Salvado de maíz (% bs)	Salvado de trigo (% bs)	CaCO ₃ (% bs)	CaSO ₄ (% bs)	Azúcar (% bs)
40	1	40	0	44	0	13	1	1	1
	2	28	0	50	19	0	1	1	1
	3	25	0	63	10	0	1	1	0
	4	28	35	35	0	0	1	1	0
	5	30	58	0	10	0	1	1	0
	6	30	68	0	0	0	1	1	0
50	7	58	0	30	10	0	1	1	0
	8	58	20	20	0	0	1	1	0
	9	58	30	0	10	0	1	1	0
	10	58	40	0	0	0	1	1	0
60	11	75	0	13	10	0	1	1	0
	12	75	11,5	11,5	0	0	1	1	0
	13	75	13	0	10	0	1	1	0
	14	75	23	0	0	0	1	1	0

%bs: Porcentaje en base seca.

Tabla 7. Cantidades de materiales frescos necesarios para conformar 100 kilogramos de sustrato de siembra con 62,5% de humedad en las diferentes formulaciones.

	Formulación (Kilogramos de materiales frescos)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Aserrín del tallo de café (Humedad = 15%)	17,7	12,4	11,0	12,4	13,2	13,2	25,6	25,6	25,6	25,6	33,1	33,1	33,1	33,1
Pulpa de café fresca prensada (Humedad = 70%)	0,0	0,0	0,0	43,7	72,5	85,0	0,0	25,0	37,5	50,0	0,0	14,4	16,3	28,8
Borra de café fresca (Humedad = 70%)	55,0	62,5	78,8	43,7	0,0	0,0	37,5	25,0	0,0	0,0	16,3	14,4	0,0	0,0
Salvado de trigo (Humedad = 12%)	5,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Salvado de maíz (Humedad = 12%)	0,0	8,1	4,3	0,0	4,3	0,0	4,3	0,0	4,3	0,0	4,3	0,0	4,3	0,0
Carbonato de calcio (CaCO ₃) (Humedad = 1%)	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Sulfato de calcio (CaSO ₄) (Humedad = 1%)	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38
Azúcar (Humedad = 1%)	0,38	0,38	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Agua adicionada a la mezcla (Litros)	20,7	15,9	5,1	0,0	9,2	1,2	31,8	23,6	31,9	23,6	45,5	37,3	45,5	37,3
Humedad sustrato de siembra (%)	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5
pH sustrato de siembra (unidades)	5,6	5,3	5,3	4,9	5,5	4,3	5,2	5,3	4,8	4,8	5,3	5,3	4,8	5,3
Peso del sustrato de siembra (Kg)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Rodríguez (28).

Royse y Sánchez (36), encontraron rendimientos muy similares en la producción de *L. edodes* con sustratos que

contenían aserrín de madera con tamaños de partícula en el rango entre 0,85 y 4,0 mm; pero por debajo de 0,85 mm,

el rendimiento del cultivo disminuyó.



Figura 14. Operación de prensado de la pulpa (a) aspecto de la pulpa prensada, humedad aproximada del 70% (b).



Figura 15. Obtención (a), molienda (b) y aspecto del aserrín de tallos de café (c).

El siguiente paso en la preparación de los sustratos, consiste en pesar las materias primas y posteriormente, mezclar los materiales sobre un piso de cemento o sobre un plástico si el piso es de tierra.

Primero, se extiende el subproducto de la formulación que esté en mayor cantidad y a continuación los que le siguen en peso, finalizando con el que está en la menor cantidad (Figura 16). La mezcla se realiza con una pala hasta que el material quede

homogéneo. A continuación se adiciona, de manera uniforme, agua a la mezcla de materiales y se homogeneiza el material, teniendo en cuenta que la humedad final del sustrato debe estar próxima a 62,5% (Figura 17).



Figura 16. Disposición de los materiales del sustrato.



Figura 17. Sustrato listo para ser embolsado.

El sustrato preparado se empaqueta en bolsas de polipropileno bioorientado, de calibre 2 y de 12 cm de ancho x 30 cm de largo. Las bolsas se amarran con fibra plástica en los dos extremos, simulando la forma de leños, cuando se utiliza la técnica asiática (Figura 18).

El sustrato también puede empaquetarse en bolsas rectangulares de polipropileno orientado, de 38 cm de largo x 20 cm de ancho y calibre 2, para la producción de acuerdo con la técnica americana. Estas bolsas vienen con un filtro micropórico de 3 x 3 cm, localizado a 30 cm de la base y centrado, para permitir el intercambio de aire. En este

tipo de bolsa se adicionan 2 kg de sustrato que ocupa aproximadamente el 50% de la capacidad de la bolsa, quedando un “colchón” de aire para permitir el crecimiento del micelio. Las bolsas se amarran en el extremo superior utilizando fibra plástica.

Estas bolsas pueden elaborarse de forma artesanal utilizando un sacabocados de 1” de diámetro que permita perforar el plástico de la bolsa a la altura antes descrita. Luego se tapa con un trozo de “interlón” fijado a la bolsa con cinta de enmascarar o esparadrapo delgado (Figura 19).



Figura 18. Empaque del sustrato en bolsas (técnica asiática).



Figura 19. Empaque del sustrato en bolsas con filtro (técnica americana).

Cuando se utiliza la técnica asiática, luego de amarradas las bolsas, se hacen dos perforaciones en cada cara, distribuidas uniformemente, para facilitar la inoculación e incubación. Para ello, se utiliza un sacabocados No 10 y los agujeros se tapan con esparadrapo (Figura 20).

3.3 Esterilización de los sustratos.

Una vez empacado el sustrato en las bolsas el siguiente paso es la esterilización del material. El proceso tiene dos objetivos: eliminar microorganismos competidores que interfieran con el desarrollo de los hongos

medicinales, y facilitar la absorción de los nutrimentos del sustrato por las hifas del hongo.

La esterilización puede realizarse en autoclaves (Figura 21), o en forma artesanal utilizando vapor a presión atmosférica (Figura 22).

Figura 20. Acondicionamiento de los bloques en la técnica asiática.



Figura 21. Esterilización de los sustratos en autoclave.



Figura 22. Esterilización de los sustratos utilizando vapor a presión atmosférica.

El tiempo de esterilización depende de la cantidad de material a esterilizar, de la naturaleza y contenido de humedad del sustrato, y de la presencia de aire en las bolsas.

En autoclaves pequeñas (de 20 litros) pueden esterilizarse 6 kg de sustrato, durante una hora a 121°C, mientras que en autoclaves medianas, con capacidad de 144 litros, pueden esterilizarse 24 kg de sustrato, durante tres horas a 121°C. Es importante estibar las bolsas, de tal manera que el vapor pueda circular libremente alrededor de las mismas.

Para la esterilización artesanal se utilizan ollas o recipientes metálicos. Ollas metálicas comerciales con un diámetro de 64 cm y una altura de 59,5 cm, de 190 litros, tienen una capacidad máxima de carga de 60 kg de sustrato. A cada olla es necesario adicionarle 25 litros de agua e incorporar una parrilla metálica de

9 cm de altura y un diámetro de 47,5 cm, que soporte el material y evite el contacto directo de éste con el agua que se adiciona para generar el vapor.

Es conveniente poner entre las bolsas y la parrilla una tela gruesa para evitar el contacto entre el metal y el polipropileno de la bolsa, debido a que el calor generado puede romper los bloques del sustrato (Figura 23).

Las bolsas deben estibarse verticalmente y una vez

acomodado el primer nivel, se coloca encima del mismo una segunda parrilla de 4,5 cm de altura, con su respectiva tela y sobre ésta se acomoda el segundo nivel de bolsas (Figura 24). Paso seguido, se pone a la olla una tapa con un termómetro incorporado para registrar la temperatura del vapor y se le adiciona un sobrepeso para reducir las pérdidas de vapor. Una cinta de neumático alrededor de la tapa puede hacer más eficiente el proceso térmico (Figura 25).



Figura 23. Detalle del sistema de esterilización artesanal.



Figura 24. Primer nivel de bolsas (a), segundo nivel de bolsas (b).



Figura 25. Termómetro para registrar la temperatura en sistemas a presión atmosférica.

Una vez dispuesto el material sobre una fuente de calor (estufa de gas o leña), la esterilización del sustrato toma cinco horas, contadas desde el momento en el cual la temperatura registrada en el termómetro sea igual a la temperatura de ebullición del agua a las condiciones del sitio de trabajo, que para la zona

cafetera varía entre 90 y 96°C, aproximadamente.

3.4. Etapa de Inoculación

Para realizar la siembra, se recomienda acondicionar un lugar fácil de limpiar, aislado y sin corrientes de

aire (Figura 26). También es necesario colocar sobre la mesa de inoculación un plástico a manera de mantel, desinfectado previamente con alcohol al 70%.

La semilla para la siembra debe tener un color uniforme, pues las vetas que se presentan en algunas semillas son señal

de contaminación. Además, ésta no debe tener más de 15 días de elaborada y si está conservada en nevera debe retirarse un día antes de la siembra, con el fin de que alcance la temperatura ambiente.

Si el sustrato se esterilizó en autoclave se aconseja utilizar un recipiente desinfectado para transportar el material hasta el cuarto de inoculación, y si fue

esterilizado artesanalmente, puede llevarse el recipiente hasta el cuarto de inoculación el día anterior a la siembra y dejarlo tapado. De esta forma, se enfría y se disminuyen los riesgos de contaminación por microorganismos presentes en el cuarto (Figura 27).

El operador debe utilizar delantal, tapaboca, gorro y guantes de cirugía limpios y la siembra se hace en presencia

de un mechero de alcohol encendido.

Los sustratos en forma de leño deben sembrarse utilizando un inoculador fabricado en acero inoxidable, de 30 cm de largo, con una cámara dosificadora de 3 cm de alto y 2 cm de diámetro (Figura 28). Antes de su uso, éste debe esterilizarse empacado en una bolsa de polipropileno, junto con el sustrato.



Figura 27. Material esterilizado y listo para la siembra.

Figura 26. Aspecto del cuarto de inoculación



Figura 28. Inoculador utilizado para bloques en forma de leño.

Las bolsas rectangulares se inoculan con una cuchara esterilizada previamente. Se utiliza una tasa del 3,6% (36 gramos de semilla comercial por cada kilogramo de sustrato estéril). El inoculador descrito para sustratos en forma de leño tiene capacidad de dispensar 4,5 gramos por aplicación, lo que implica realizar una doble inoculación en cada una de las perforaciones de la bolsa que contiene el sustrato (Figura 29).

Tasas de inoculación mayores facilitan el establecimiento de los hongos de interés, pero resultan costosas cuando se compra la semilla en laboratorios particulares. Sin embargo, si el mismo

productor elabora la semilla es aconsejable emplear tasas de inoculación entre el 5 y el 7,5%.

Para el caso de las bolsas rectangulares la inoculación se realiza por la parte superior de la bolsa utilizando una cuchara (Figura 30).

En el presente trabajo se evaluaron en las 14 formulaciones de sustrato (Tabla 6) tres cepas de shiitake: dos cepas chinas (L13 y L54), donadas por el Dr. S. T. Chang (Investigador Chino); una cepa coreana (L4055), donada por el Dr. Porfirio Martínez (Investigador Mexicano); y una cepa de *Ganoderma lucidum*, donada por el Dr. S. T. Chang.

3.5. Etapa de Incubación

Durante esta etapa debe facilitarse el crecimiento micelial del hongo sobre el sustrato. La incubación debe realizarse en un cuarto limpio y previamente desinfectado con solución de formol comercial al 0,3%. Posteriormente, al cuarto se le espolvorea carbonato de calcio en el piso y en los anaqueles, para reducir los riesgos de contaminación por hongos e insectos.

Es recomendable ubicar las bolsas en estanterías metálicas, plásticas o de madera (Figura 31).



Figura 30. Inoculación de bloques con forma rectangular.

Figura 29. Inoculación de bloques con forma de leño





Figura 31. Bolsas inoculadas con hongos medicinales en la etapa de incubación.

Los cuartos utilizados para la incubación y fructificación de los hongos medicinales son muy variados (Figura 32). Muchas de las construcciones existentes en las fincas pueden adaptarse como áreas de incubación y fructificación, debido a que el clima de la zona cafetera permite la utilización de cuartos de cultivo sin aislamientos térmicos, siempre y cuando el productor tenga presente las necesidades físicas de la cepa con la cual va a trabajar (luminosidad, temperatura, humedad relativa y ventilación) y la oferta ambiental del sitio seleccionado.

Dentro de las construcciones sin aislamiento térmico se pueden utilizar las denominadas construcciones pesadas, fabricadas en ladrillo o en placas de fibrocemento, con techos de fibrocemento. Estas construcciones deben utilizarse necesariamente en climas con temperaturas medias superiores a los 27°C, donde también se requieren

sistemas de ventilación forzada (ventiladores), para proveer al cultivo aire fresco durante la incubación y la fructificación.

Un segundo tipo, son las denominadas construcciones livianas, fabricadas en guadua, con paredes y techos de esterilla, plástico o telas impermeables. Cuando se utiliza plástico deben seguirse las siguientes recomendaciones:

- En zonas cálidas, con temperaturas medias mayores de 23°C, los salones de incubación y fructificación deben ser de plástico blanco (para reflexión de la luz) y tener una capa de pasto seco sobre el techo para regular la temperatura en su interior.
- En zonas frías con una temperatura media entre 12 y 18°C, los salones de incubación pueden construirse con plástico negro y los salones de fructificación en plástico transparente.

Los cuartos de construcciones livianas deben tener ventilación natural, que se logra con ventanillas inferiores forradas en malla mosquitera que permiten la entrada del aire pero evitan el ingreso de insectos, y un falso techo que permite la salida del aire.

El tamaño de los cuartos debe conservar una relación de 1m³ de volumen de cuarto por cada 34,7 kg de sustrato de cultivo.

No se recomienda realizar la etapa de fructificación en los mismos cuartos de incubación, dado que no todo el material puesto a incubar alcanza las condiciones de fructificación al mismo tiempo. Por ello, es importante dividir la construcción en un área para la incubación y otra para la fructificación; éstas áreas deben estar separadas por paredes de material, esterilla o plástico (Figura 33). No deben mezclarse en las áreas de incubación y fructificación hongos de diferentes géneros.



Figura 32. Cuartos utilizados en el cultivo de hongos medicinales.



Figura 33. Separación de las áreas de incubación y fructificación.

3.5.1. Incubación de shiitake.

La duración de esta etapa depende de la cepa utilizada y oscila entre uno y cuatro meses. En esta etapa no se requiere luz; sin embargo, la exposición a cuatro horas de luz al día, al final de la incubación estimula la formación de los primordios (5).

Es aconsejable ubicar las bolsas en estanterías cubiertas con una

cortina de plástico negro que se retira durante las horas en las que es conveniente suministrar luz a los bloques. Todas las cepas de este hongo muestran un crecimiento micelial óptimo a una temperatura de 25°C, pero también crecen de manera adecuada entre 21 y 27°C (5).

La incubación de shiitake consta de cinco fases:

crecimiento micelial, formación del abrigo micelial, formación de protuberancias de micelio, pardeamiento del abrigo micelial y ablandamiento del bloque pigmentado.

Inmediatamente después de la inoculación, el micelio empieza a crecer en el sustrato hasta colonizarlo (Figura 34). Durante esta fase las enzimas del micelio se activan

rompiendo y transformando las estructuras más complejas del sustrato (celulosa, hemicelulosa, lignina) en moléculas más simples que son absorbidas por el hongo como nutrientes para su crecimiento y propagación (5).

Durante esta etapa deben controlarse dos factores primordiales: la temperatura y el tiempo de incubación. El micelio no soporta temperaturas superiores a 28°C (10). De igual forma, las fluctuaciones de temperatura

pueden causar problemas, si las bolsas no están perfectamente selladas por las costuras, ya que se generan corrientes de aire que pueden transportar los contaminantes presentes en el ambiente, penetrando a través de las costuras de la bolsa (25).

El shiitake soporta los altos contenidos de CO₂ inducidos por su propia actividad, sin embargo, para su desarrollo hace falta oxígeno suministrado por el aire externo. En la práctica, para bajar la temperatura debe suministrarse aire suficiente

el cual además elimina el gas carbónico (10).

En esta fase la humedad relativa del cuarto de incubación debe mantenerse entre 80 y 85%, para evitar que el sustrato se reseque (10).

La segunda fase de la etapa de incubación corresponde al abrigo micelial y consiste en la formación de una capa gruesa de micelio blanco sobre la superficie del sustrato (Figura 35). Esta fase ocurre entre 30 y 45 días después de la inoculación y se favorece por las altas concentraciones de CO₂ (5).

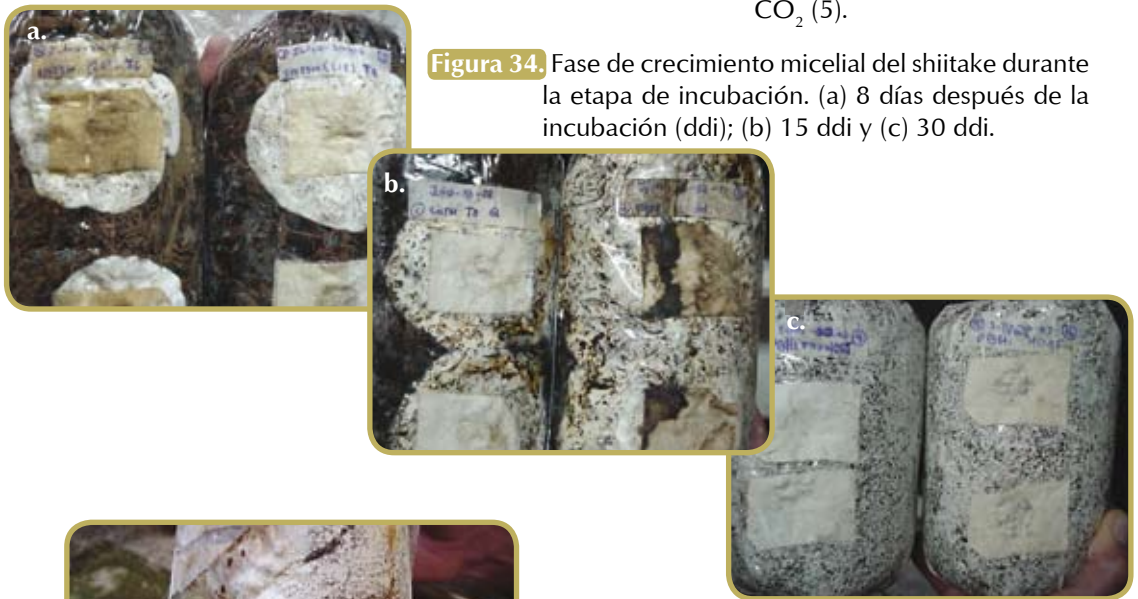


Figura 34. Fase de crecimiento micelial del shiitake durante la etapa de incubación. (a) 8 días después de la incubación (ddi); (b) 15 ddi y (c) 30 ddi.



Figura 35. Formación del abrigo micelial.

La tercera fase de la etapa de incubación corresponde a la formación de protuberancias de varios tamaños sobre la superficie del abrigo micelial, en la mayoría de las cepas (Figura 36). Los primordios aparecen en estas protuberancias; sin embargo, muchas se malogran y no generan cuerpos reproductores (5).

El tiempo de formación de las protuberancias varía con la cepa, la naturaleza del sustrato

y la temperatura de incubación. Para las cepas evaluadas en este trabajo el tiempo fluctuó entre 15 y 30 días después de la formación del abrigo. Los cambios de temperatura y las altas concentraciones de CO_2 estimulan la formación de las protuberancias. No obstante, es necesario disminuir la concentración de CO_2 dentro del bloque cuando se observan demasiadas protuberancias, haciendo cortes en la bolsa. El CO_2 afecta el tamaño de

los hongos y la calidad de la cosecha. En ningún caso debe airearse el cuarto de incubación, por que se descompensaría la concentración de CO_2 al interior de las bolsas (5).

La cuarta fase de la etapa de incubación corresponde al pardeamiento del abrigo micelial (Figura 37). Después de la pigmentación del micelio debe retirarse la bolsa que cubre el bloque. El tiempo de remoción de la bolsa es crucial,



Figura 36. Formación de protuberancias en la superficie del sustrato.



Figura 37. Pardeamiento del abrigo micelial.



debido a que los rendimientos pueden afectarse si la bolsa se retira temprana o tardíamente. Así mismo, la humedad relativa del cuarto de incubación debe mantenerse entre el 70 y el 80% para evitar la contaminación de los bloques después de retirar la bolsa. El aire aumenta el pardeamiento de los bloques por la oxidación (5).

La quinta fase de la etapa de incubación se inicia cuando los bloques se exponen al aire. El micelio cambia a café rojizo y eventualmente se forma una superficie dura, seca, café oscura con funciones similares a las de las cortezas de los árboles. El interior del sustrato comienza a ablandarse y se humedece hasta alcanzar un 80%, humedad ideal para la formación de los cuerpos fructíferos (5). En este momento debe estimularse la formación de primordios en los bloques, por medio de un choque térmico.

De las tres cepas de shiitake evaluadas, la cepa L54 tuvo el menor tiempo de incubación (60 días en los mejores sustratos), seguida de L13 (65 días) y finalmente, la cepa L4055 (120 días). Esta última se caracterizó porque adquirió un muy bajo porcentaje de pigmentación en el sustrato.

Choque Térmico. Con este proceso se busca inducir la formación de primordios, disminuyendo la temperatura de los bloques en 5°C (30).

Existen varias formas de realizar el choque térmico:

1. Sumergiendo los bloques en agua a 12°C durante dos a cuatro horas (5). Este es el método más común, ya que permite la disminución de la temperatura de los bloques y a su vez, su hidratación. En la práctica, esta temperatura se consigue adicionando trozos de hielo al agua de inmersión.
2. Nebulizando agua en los bloques (Watanabe citado por Chen) (5).
3. Haciendo fluctuar la temperatura de los bloques (5). Se consigue refrigerando los bloques (6-8°C) o exponiéndolos a las temperaturas nocturnas.

En el presente trabajo se encontraron respuestas similares en la inducción de primordios, cuando se

disminuyó la temperatura de los bloques por refrigeración y exponiéndolos al aire durante la noche. Una vez realizado el choque térmico los bloques se llevan al área de fructificación.

3.5.2. Incubación de ganoderma. Los bloques de sustrato pueden acomodarse sobre las estanterías en posición horizontal o vertical. Las estanterías deben permitir el intercambio de aire (Figura 38).

Los factores ambientales como la humedad, la luz, el oxígeno y la temperatura son claves para el desarrollo del hongo (7). El crecimiento micelial de ganoderma requiere unas condiciones ambientales muy diferentes a las que requiere el hongo para la emisión del cuerpo reproductor. Es aconsejable que la incubación ocurra en ausencia de luz



Figura 38. Disposición de los bloques de ganoderma.

para promover la formación y acumulación de reservas alimentarias para el hongo como el glicógeno y los lípidos (6).

La duración de esta etapa está limitada por la calidad de la cepa, la naturaleza del sustrato y las condiciones ambientales. Ganoderma debe incubarse entre 20 y 30°C. La humedad relativa del cuarto de incubación entre 60 y 70%. Para este hongo se alcanzan tiempos de incubación de dos meses como mínimo (Figura 39). En esta etapa no se necesita luz ni se requieren cambios de aire en el cuarto.

Para la cepa de ganoderma empleada en la presente investigación y para las formulaciones de sustratos que generaron cuerpos reproductores, el tiempo de incubación varió entre 30 y 45 días.

A partir de este momento, el tiempo en el cual adquiere la tonalidad amarilla (indicativo del inicio de la etapa de fructificación) fue variable para los diferentes sustratos (Figura 40).

Una vez adquieran la tonalidad amarilla los bloques de sustrato se llevan al cuarto

de fructificación para iniciar la etapa de desarrollo del cuerpo fructífero. Los bloques de sustrato no requieren de choque térmico.

3.6. Etapa de fructificación y cosecha.

3.6.1. Fructificación y cosecha de shiitake. La formación del basidiocarpio de shiitake comprende las siguientes fases: formación de los primordios (Figura 41), desarrollo del primordio en un hongo joven (Figura 42), elongación del estipe y crecimiento del píleo



Figura 39. Incubación de los bloques de ganoderma.

Figura 40. Bloques de ganoderma listos para iniciar fructificación.



(Figura 43), crecimiento del hongo y desarrollo de la coloración parda (Figura 44), y apertura del sombrero (punto de cosecha, cuando el borde del sombrero aún conserva su curvatura hacia el interior) (Figura 45).

Las altas concentraciones de CO_2 inhiben la formación de los primordios; por tanto, es necesario retirar el polipropileno que cubre el

sustrato una vez se encuentren los bloques en el área de fructificación (Figura 46), con el fin de exponerlos al aire. La temperatura del ambiente debe estar entre 13 y 20°C y la humedad relativa del cuarto entre 85 y 95%, para evitar la deshidratación del bloque (25).

Después de la eliminación de las bolsas, los bloques deben humedecerse abundantemente

(Figura 47). En esta etapa también es necesaria la luz, por tanto, los hongos deben iluminarse las 24 horas; en la noche pueden utilizarse lámparas tipo "luz día" (alrededor de 100-200 lux).

La temperatura afecta la velocidad de desarrollo y el número de hongos alcanzados en cada flujo de cosecha; mientras que la luz es necesaria para el desarrollo del color de los sombreros.



Figura 41. Formación de los primordios de shiitake.



Figura 42. Hongo joven.



Figura 43. Alargamiento del pie.



Figura 45. Hongos shiitake listos para ser cosechados.



Figura 44. Crecimiento del hongo shiitake.



Figura 46. Bloques sin bolsa expuestos en el cuarto de fructificación.



Figura 47. Riego de los bloques expuestos en el cuarto de fructificación.

El CO_2 generado por la actividad del micelio puede inhibir o deformar los carpóforos, por tanto, debe ingresar aire nuevo en el cuarto a razón de 50 a 70 m³ de aire nuevo/hora/tonelada de sustrato, y la humedad relativa debe alcanzar niveles entre 90 y 98%. Es recomendable para una buena distribución del aire utilizar un ducto fabricado con plástico tubular, que atraviese el cuarto por la parte central superior y que esté perforado a lo largo del mismo.

En cultivos pequeños donde el volumen ocupado por las bolsas sea menor al 5% del volumen del cuarto de incubación, una ventana permite el intercambio natural del aire. Esta debe

estar cubierta por una malla mosquitera. El aire se renueva abriendo la ventana dos o tres veces al día durante una hora cada vez.

El estadio de prefructificación dura alrededor de ocho a diez días, y los primeros hongos aparecen entre los cuatro y cinco días siguientes.

Para recolectar los hongos, es necesario reducir la humedad relativa del cuarto al 60%, entre 6 y 12 horas antes de la cosecha, con el fin de favorecer la vida de anaquel de los hongos cosechados (5).

La cosecha de los hongos se realiza manualmente, ejerciendo una fuerza de

torsión en la base del estipe del hongo para desprenderlo del bloque. De esta forma se evitan posibles contaminaciones en el sustrato sobre el área donde creció el cuerpo fructífero.

Los bloques cosechados se dejan en reposo durante 8 días en un sitio seco (Figura 48), con una humedad relativa entre 30-50% y temperatura media de 21°C.

Posteriormente, a los bloques se les realiza un segundo choque térmico, sumergiéndolos en agua durante 24 horas para estimular de nuevo la formación de primordios (Figura 49). Después, se trasladan al cuarto de fructificación para promover la segunda cosecha, que se maneja de forma idéntica a la primera (Figura 50).



Figura 48. Bloques en reposo para segunda cosecha.



Figura 49. Inmersión de los bloques en agua durante 24 horas.



Figura 50. Aspecto de los carpóforos de shiitake de segunda cosecha.

Una vez recolectada la segunda cosecha se llevan los bloques nuevamente a reposo durante una semana y se realiza un tercer choque térmico, sumergiendo los bloques en agua durante 24 a 48 horas y se continúa con el manejo del cultivo tal como se hizo para la segunda cosecha. El procedimiento se repite hasta obtener la cuarta o quinta cosecha dependiendo de la productividad de la cepa y del sustrato. El material final se dispone de acuerdo a las recomendaciones que se dan en el Capítulo 4.

La cosecha de las diferentes cepas de *L. edodes* evaluadas en el trabajo, se realizó 5 días después del choque térmico. No se observaron diferencias en la formación de primordios sobre los bloques, cuando estos se sometieron a inmersión durante 24 y 48 horas.

Los bloques de sustrato de 1 kilogramo absorben en promedio de 250 mL de agua/bloque para las diferentes cepas evaluadas y para las 14 formulaciones de sustrato, en cada choque térmico.

3.6.2. Fructificación y cosecha de ganoderma.

La formación de los cuerpos fructíferos requiere de temperaturas mayores de 20°C y una humedad relativa cercana al 95%. Las necesidades de oxígeno y de luz dependen de las diferentes etapas de crecimiento del carpóforo. Éste se desarrolla a temperaturas entre 20 y 34°C, y de manera óptima entre 27 y 32°C. Temperaturas menores a 20°C o superiores a 34°C pueden deformar los sombreros o inhibir el crecimiento (6).

El cuarto de fructificación debe mantener una humedad relativa entre 90 y 95% durante la inducción de los primordios (Figura 51), entre el 70 y 80% durante el crecimiento del estipe (Figura 52), entre el 85 y 95% durante el crecimiento del sombrero (Figura 53) y entre 50 y 60% en la etapa final de desarrollo del cuerpo reproductor (Figura 54).



Figura 51. Inducción de primordios de *G. lucidum*.





Figura 52. Crecimiento del estipe de *G. lucidum*.



Figura 53. Crecimiento del sombrero de *G. lucidum*.



Figura 54. Fase final de formación del carpóforo de *G. lucidum*.



Durante la formación del cuerpo fructífero es indispensable suministrar luz, entre 50 y 450 lux, con lámparas de luz-día o mediante ciclos día/noche; sin embargo, debe evitarse la luz directa sobre el cultivo. Intensidades de luz cercanas a 450 lux permiten obtener cuerpos reproductores con estipes cortos y crecimiento del sombrero en menor tiempo, en contraste, intensidades de luz en el rango bajo (cercano a 50 lux) permiten la elongación del pie y se requiere un tiempo mayor para la formación del sombrero (6).

En la fase final de crecimiento del hongo debe contarse con muy buena ventilación del cuarto, sobre todo si la hu-

medad relativa del cuarto es alta, de tal manera que se disminuyan la humedad relativa al 40%. En la Tabla 8 se presentan los requerimientos ambientales de ganoderma durante la etapa de fructificación.

En general, el tiempo que transcurre desde la siembra hasta la cosecha del cuerpo fructífero para el hongo ganoderma, está entre tres y cinco meses.

3.7. Evaluación de la producción.

Para evaluar la producción de las diferentes cepas de hongos medicinales sobre los diversos

sustratos, se consideraron los parámetros de precocidad, eficiencia biológica media, rendimiento medio y pérdidas del proceso.

La eficiencia biológica media se define como la media aritmética de la relación entre el peso fresco de los hongos cosechados y el peso seco del sustrato de las bolsas productivas, multiplicada por cien. Este parámetro es de gran importancia en el cultivo de los hongos, debido a que permite determinar el potencial biológico de los sustratos para producir hongos, pues en muchos casos las pérdidas de cultivo se presentan por causas externas al sustrato y al material biológico.

Tabla 8. Parámetros ambientales adecuados para el crecimiento de *G. lucidum* durante la etapa de fructificación

Condiciones de proceso	Etapa de fructificación			
	Formación de primordios	Desarrollo del estipe	Crecimiento del sombrero	Firmeza del sombrero
Temperatura	20 – 30°C	20 – 30°C	20 – 30°C	20 – 30°C
Humedad relativa	90 – 95%	70 – 80%	85 – 95%	50 – 60%
Duración	10 – 20 días	10 – 14 días	30 a 60 días de primordio a cosecha	7-10 días después de la maduración del píleo
[CO ₂]	0,1 a 0,5%	0,1 a 1%	< 0,1%	< 0,1%
Cambios de aire fresco	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂	Como sea requerido para mantener el nivel de CO ₂
Requerimiento de luz	100- 200 lux	150 - 200 lux	12 horas a 150-200 lux	12 horas a 750-1.500 lux

Fuente: Adaptado de Chen (6).

La precocidad se define como el tiempo que transcurre entre la inoculación de los sustratos y el momento en que aparecen los primeros carpóforos. Esta variable determina la duración de los ciclos de cultivo.

El rendimiento medio se define como la media aritmética de la relación entre el peso fresco de los hongos cosechados y el peso seco del sustrato de todas las bolsas sembradas, multiplicado por cien. Las pérdidas del proceso se definen como la relación entre el número de bolsas no productivas y el número total de bolsas inoculadas, multiplicado por cien. Estos dos parámetros proporcionan información sobre la rentabilidad del cultivo.

Para cada formulación y cada cepa se evaluaron 30 unidades

experimentales, cada una de las cuales estuvo conformada por un bloque de sustrato inoculado, de un kilogramo de peso (29).

3.7.1. Evaluación de la producción de shiitake. A continuación se presentan los resultados del cultivo de tres cepas de shiitake: L13, L54 y L4055, sobre 14 formulaciones de sustrato esterilizado en autoclave a 121°C o con tratamiento térmico en forma artesanal a 94,5°C.

En la Tabla 9, se presentan los resultados relacionados con los valores medios del rendimiento, la eficiencia biológica, las pérdidas de proceso y la precocidad, para la cepa L13, sólo en las formulaciones productivas en los dos procesos de esterilización.

Los tratamientos T1, T2 y T7, tuvieron mayores rendimientos medios cuando el sustrato se sometió a tratamiento térmico, que cuando se esterilizó. Para el caso del tratamiento T3, se obtuvo un mayor rendimiento medio con el sustrato esterilizado. Los rendimientos medios por encima del 50%, definido como el valor límite para el establecimiento de cultivos comerciales, se obtuvieron con las formulaciones T2 (57,6%) y T1 (49,6%), con tratamiento térmico.

El mayor rendimiento medio entre tratamientos lo tuvo el T2, (que contenía 28% de aserrín, 50% de borra y 19% de salvado de maíz), con un valor de 57,6%, en la formulación sometida a tratamiento térmico (Figura 55).

Tabla 9. Evaluación del cultivo de *L. edodes* (L13), sobre diferentes formulaciones de sustrato.

C/N	TTO	Tratamiento Térmico 94,5°C (TT)				Esterilización 121,0°C (E)			
		Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)	Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)
40	T1	49,6	49,6	74	0	40,6	40,6	85	0
	T2	57,6	57,6	76	0	26,6	26,6	72	0
	T3	30,9	30,9	80	0	40,4	40,4	75	0
50	T7	10,8	16,6	126	35	6,7	11,1	126	40

Fuente: Rodríguez, 2003 (29).



Figura 55. Carpóforos de L13 sobre la formulación del sustrato T2.

De acuerdo con la relación C/N, los mayores rendimientos para esta cepa se obtuvieron en las formulaciones de los sustratos con una relación C/N de 40 (T1, T2 y T3).

En la Tabla 10, se presentan los resultados relacionados con las variables de producción evaluadas para la cepa L54, en las formulaciones productivas sometidas tanto a tratamiento térmico como esterilizadas.

El mayor rendimiento medio entre tratamientos, lo obtuvo el tratamiento T7 (que contenía 58% de aserrín, 30% de borra y 10% de salvado de maíz), en la formulación esterilizada (Figura 56). Para las formulaciones productivas se observó que en los tratamientos T3 y T11, los rendimientos medios fueron superiores cuando el sustrato se sometió a tratamiento térmico a 94,5°C, que cuando

se esterilizó. Para el caso de los tratamientos T2 y T7 se obtuvo un mayor rendimiento medio con el sustrato esterilizado, y para T1 los rendimientos medios fueron similares en ambos casos. Para esta cepa se encontraron seis formulaciones con rendimientos medios por encima del 50%, establecido como el valor mínimo para el establecimiento de cultivos comerciales.

Tabla 10. Evaluación del cultivo de *L. edodes* (L54), sobre diferentes formulaciones de sustrato.

C/N	TTO	Tratamiento Térmico 94,5°C (TT)				Esterilización 121,0°C (E)			
		Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)	Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)
40	T1	62,8	62,8	71	0	62,4	62,4	71	0
	T2	44,7	44,7	70	0	60,3	60,3	70	0
	T3	52,0	52,0	78	0	38,0	38,0	68	0
50	T7	52,4	52,4	93	0	72,8	72,8	73	0
60	T11	17,1	28,5	101	40	9,3	18,7	100	50

Fuente: Rodríguez, 2003 (29).

Figura 56. Carpóforos de L54 sobre la formulación de sustrato 7, esterilizada.



Para esta cepa los rendimientos fueron superiores al 50% en las formulaciones con relaciones C/N de 40 y 50. De igual manera, se observó que contenidos de borra de café inferiores al 50% mezclados con contenidos de aserrín del tallo del café superiores al 28% permiten alcanzar los mayores rendimientos.

Los resultados de los valores medios de rendimiento, la eficiencia biológica, las pérdidas de proceso y la precocidad para la cepa L4055,

sólo en las formulaciones productivas se observan en la Tabla 11.

Para la cepa L4055, el mayor rendimiento medio entre tratamientos se obtuvo con el T2 (que contenía 28% de aserrín, 50% de borra y 19% de salvado de maíz) con un valor de 75,7%, en la formulación esterilizada (Figura 57). Los tratamientos T1 y T3 mostraron rendimientos medios superiores cuando el sustrato se esterilizó. Para el caso de T2, T7 y T11, los rendimientos medios fueron

similares en ambos procesos térmicos del sustrato.

Los mejores rendimientos se obtuvieron en los sustratos con una relación C/N de 40 (Tratamientos 1, 2 y 3) y dentro de esta relación, los rendimientos fueron más altos cuando la borra de café estuvo en una mayor proporción que las otras materias primas en el sustrato.

Rendimientos medios: Al comparar los rendimientos medios de las tres cepas de

Tabla 11. Valores medios de rendimiento, eficiencia biológica, pérdidas de proceso y precocidad para la cepa *L. edodes* (L4055).

C/N	TTO	Tratamiento Térmico 94,5°C (TT)				Esterilización 121,0°C (E)			
		Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)	Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)
40	T1	48,4	50,9	118	5	54,1	54,1	118	0
	T2	73,9	73,9	114	0	75,7	75,7	120	0
	T3	53,3	53,3	110	0	61,0	61,0	112	0
50	T7	22,8	22,8	139	0	24,5	24,5	112	0
60	T11	8,4	14,0	147	40	8,0	20,0	120	60

Fuente: Rodríguez (29).



Figura 57. Carpóforos de L4055 sobre la formulación 2, esterilizada.

L. edodes, en las diferentes formulaciones sometidas tanto a tratamiento térmico como a esterilización (Figura 58), se observó que las cepas L4055 y L54, cultivadas sobre las formulaciones T1, T2, T3 y T7, alcanzaron rendimientos medios superiores al 50% en el cultivo del hongo *L. edodes*. El mayor rendimiento medio se obtuvo con la cepa L4055

con el tratamiento T2(E) con un valor de 75,7%. Sin embargo, las cepas y las formulaciones que presentaron porcentajes de rendimiento medio mayores a 50%, también son adecuadas para el establecimiento de los cultivos comerciales de shiitake.

De las 14 formulaciones con las cuales se obtuvo un rendimiento igual o superior al 50%, ocho de los sustratos tuvieron un tratamiento térmico y el resto se esterilizaron. Esto muestra la homogeneidad de los tratamientos térmicos, pues en el proceso de esterilización durante tres horas se entregaron 90 Kcal/kg de sustrato y en el tratamiento

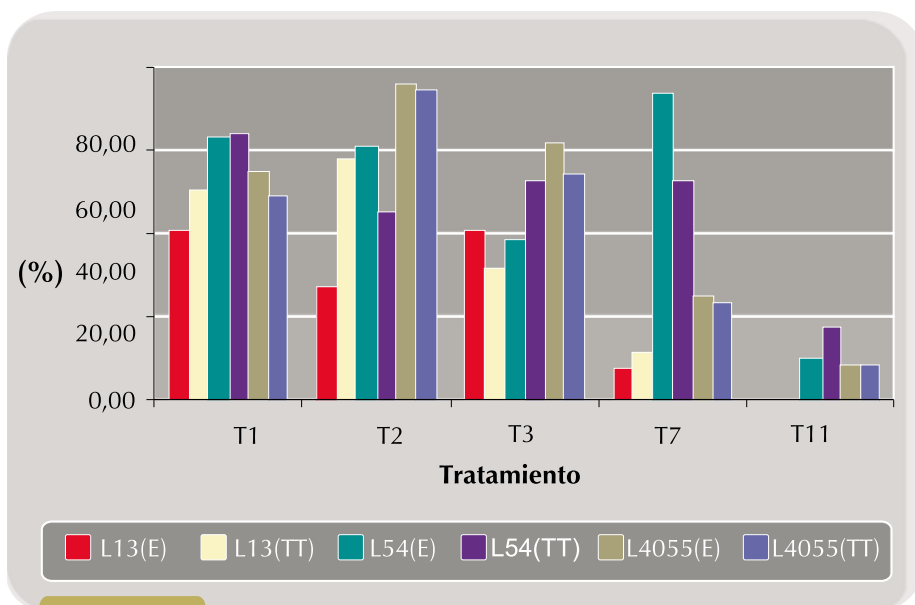


Figura 58

Rendimiento medio de las cepas de *Lentinula edodes*, con tratamiento térmico 94,5°C y esterilizadas a 121°C. Fuente: Rodríguez (29).

térmico durante un tiempo global de 9,25 horas, la cantidad de Kcal/kg, estuvo muy cercana a este valor al promediar todos los ensayos realizados (97,5 Kcal/kg, n=14, CV=14,6%)(29).

Este aspecto es de gran importancia en el cultivo artesanal de shiitake pues según los resultados obtenidos en los diferentes trabajos, puede decirse que los productores no necesitan de autoclaves para adecuar los sustratos para la siembra de los hongos medicinales.

Ninguna de las tres cepas de *L. edodes* evaluadas en los

sustratos con relaciones C/N de 60, alcanzaron rendimientos medios superiores al 50%. Esto indica que la viabilidad económica del cultivo de hongos está condicionada por la relación C/N.

Precocidad: En la Figura 59 se muestra la precocidad de las tres cepas de *L. edodes* sobre las diferentes formulaciones, manejadas con tratamiento térmico y esterilizadas.

En términos generales, los sustratos esterilizados permitieron una mayor precocidad de las cepas evaluadas, en promedio 15 días antes que las encontradas

con los sustratos sometidos a tratamiento térmico. Aunque el tiempo global del ciclo del shiitake fue similar para el cultivo en los sustratos en ambos tratamientos. Este hecho se explica por la mayor liberación de azúcares que se presenta en la esterilización que favorece los tiempos de incubación y por tanto, la formación de primordios.

Evaluación de las materias primas:

Durante la investigación se evaluó el rendimiento de cultivo en las materias primas utilizadas para la conformación de los sustratos (aserrín del tallo de café, borra y pulpa de café).

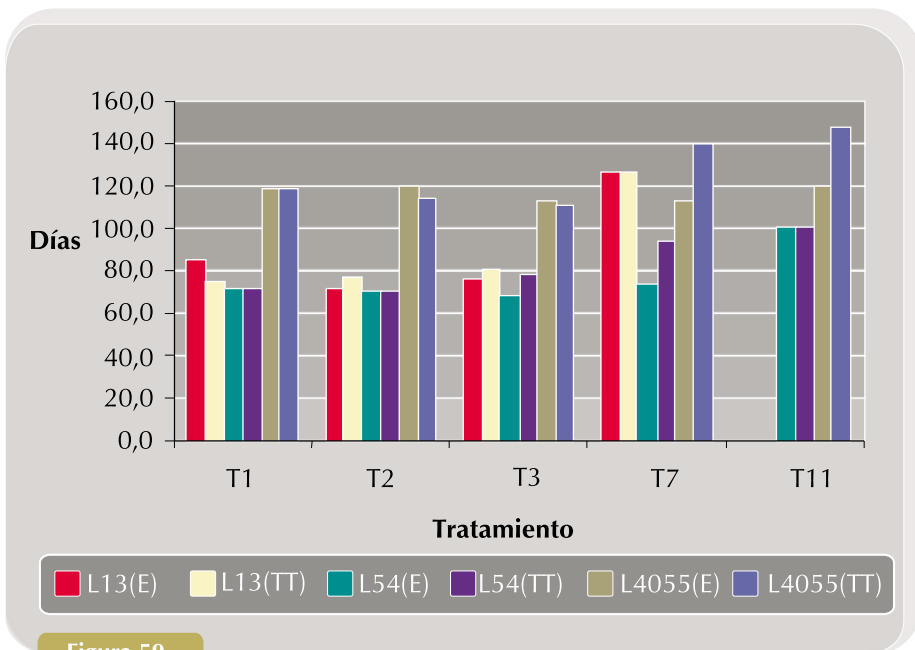


Figura 59

Precocidad de las cepas de *Lentinula edodes*, con tratamiento térmico a 94,5°C y esterilizadas a 121°C. Fuente: Rodríguez (29).

Con los bloques que contenían aserrín de tallo de café se obtuvo una eficiencia biológica media de las cepas de *L. edodes* del 17,1% con una relación C/N de 75, mientras que para la borra de café la eficiencia fue del 16,9% con una relación C/N de 31. Para el primer caso la eficiencia estuvo limitada por los bajos contenidos de nitrógeno y para el segundo, por las características físicas del sustrato, el cual fue muy denso. En la pulpa de café no se obtuvieron fructificaciones.

Zadrazil (44), afirma que sobre un sustrato de paja de cereal con una relación C/N de 100, el primer cuerpo fructífero se forma después de 109 días de incubación y puede producir 7,8% del peso seco del sustrato en el primer flujo de cosecha, lo que lleva a obtener una eficiencia cercana al 29%, si se relaciona con la materia seca de los sustratos evaluados en este trabajo. Mientras que en un sustrato de aserrín (relación C/N de 500), la formación del cuerpo fructífero toma mayor tiempo. Esto indica que la adición de componentes ricos en proteína podría reducir el tiempo de cultivo.

Comparación con otros trabajos de investigación. Con la cepa de shiitake LPB 02, Leifa *et al.* (16), reportan eficiencias biológicas medias de 85,76% sobre cascarilla de café, de 88,64% sobre borra de café y de 78,36% sobre una mezcla 1:1 de cascarilla y borra. Varón

(42), obtuvo rendimientos medios de 38,1% para el hongo *L. edodes* (L4055) sobre un sustrato conformado con borra de café, bagazo de caña y cascarilla de arroz.

Roysey Sánchez (35), utilizando un sustrato que contenía 50% de aserrín de roble americano, 28% de mijo, 11% de salvado de trigo y 11% de centeno, reportan eficiencias biológicas medias que oscilaron entre el 64,9 y el 86,4% para la cepa R26 de *L. edodes*, utilizando 0, 0,2, 0,4 y 0,6% de CaCO₃ como suplemento. De igual manera para el cultivo de shiitake, Delpech y Oliver (10), afirman que pueden obtenerse rendimientos promedios del 20% (20 kg de hongos frescos por 100 kg de sustrato sembrado), equivalentes a rendimientos del 50% si se utiliza para el cálculo el peso seco de los sustratos evaluados en este estudio.

Para la eficiencia biológica, Salmones *et al.* (38), reportan valores entre 130 y 133% con el cultivo de cepas de *L. edodes* sobre bagazo de caña, entre 83 y 98% sobre hojas de caña y entre 36 y 37% sobre coronas de piña. Estos autores no obtuvieron fructificación del hongo cuando lo sembraron en cascarilla de café. Sobre sustratos como corcho, Rui *et al.* (37), reportan eficiencias biológicas del orden del 24,8% y tiempos de proceso de 157 días cuando éste se constituyó en el único sustrato,

y eficiencias del 8% y tiempos de proceso de 104 días cuando se empleó como suplemento un 30% de salvado de trigo.

3.7.2. Evaluación del cultivo de ganoderma.

En la Tabla 12, se presentan los resultados relacionados con los valores medios de rendimiento, eficiencia biológica, pérdidas de proceso y precocidad, para el hongo *Ganoderma lucidum* sobre las formulaciones productivas, cuando éstas se sometieron tanto a tratamiento térmico como a esterilización.

Para este hongo se encontraron los mejores rendimientos medios sobre la formulación T12 sometida a tratamiento térmico (13,1%) (Figura 60), seguida de T1 esterilizada (12,07%) (Figura 61), T3 esterilizada (11,10%) (Figura 62) y finalmente, T12 esterilizada (10,81%) (Figura 63).

Ganoderma puede cultivarse sobre los subproductos del cultivo e industrialización del café que presenten una relación C/N entre 40 y 60, y contenidos de pulpa de café que no sobrepasen el 15% de la conformación del sustrato. De esta forma, se generan alternativas viables para los caficultores en el cultivo del hongo medicinal, ya que las formulaciones T12, T13 y T14, son apropiadas para productores alejados de los sitios de producción de borra, pues el contenido de ésta en el

Tabla 12. Evaluación del cultivo de *G. lucidum*, sobre diferentes formulaciones de sustrato y tratamientos de esterilización.

C/N	TTO	Tratamiento térmico 94,5°C (TT)				Esterilización 121,0°C (E)			
		Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)	Rendimiento (%)	Eficiencia biológica (%)	Precocidad (días)	Pérdidas del proceso (%)
40	T1	8,50	9,99	177	15	12,07	12,07	146	0
	T2	4,20	5,61	169	25	5,25	5,25	139	0
	T3	7,88	7,88	153	0	11,10	11,10	153	0
	T4	4,98	7,11	190	30	5,59	9,31	182	40
50	T7	4,01	6,68	129	40	7,07	7,07	120	0
	T8	6,72	9,60	149	30	3,26	10,88	207	70
60	T11	6,13	6,13	118	0	5,80	8,29	169	30
	T12	13,10	13,10	145	0	10,81	10,81	145	0
	T13	7,12	7,12	157	0	6,13	6,13	157	0
	T14	7,75	7,75	175	0	8,68	8,68	196	0

Fuente: Rodríguez, 2003 (29).

tratamiento T12 es únicamente del 11,5% y los tratamientos T13 y T14 no la tienen como componente del sustrato. Además, estas formulaciones no contienen salvado de maíz

pero sí pulpa de café, lo que las hace más económicas.

Evaluación de las materias primas. Los bloques que contenían aserrín de tallo

de café permitieron obtener unas eficiencias biológicas medias del hongo *G. lucidum* del 9,9% (C/N de 75) con una precocidad de 230 días, mientras que con la borra y la pulpa de café no se obtuvieron fructificaciones del hongo.



Figura 60. *G. lucidum* cosechado sobre T12 (TT).

A pesar de que con el aserrín del tronco del cafeto se obtuvieron eficiencias biológicas medias similares a las conseguidas en las mejores formulaciones, la precocidad de los hongos en este sustrato es tres meses más tardía, lo cual es una desventaja desde el punto de vista de la rentabilidad del cultivo.



Figura 61. *G. lucidum* cosechado sobre T1 (E).



Figura 62. *G. lucidum* cosechado sobre T3 (E).



Figura 63 *G. lucidum* cosechado sobre T12 (E).

Suplementación de las formulaciones. En ensayos realizados con algunos bloques de sustrato utilizando una formulación con 35% de aserrín del tronco del café, 35% de borra de café, 17% de salvado de trigo y 10% de cascarilla de algodón, se obtuvo una eficiencia biológica media de 16,3% y una precocidad de 180

días. Por tanto, es importante considerar la adición de cascarilla de algodón al sustrato para mejorar los rendimientos del cultivo de ganoderma (13).

Rendimiento medio: En la Figura 64 se observa que el mejor rendimiento medio con ganoderma fue de 13,1%, valor que se alcanzó con

la formulación T12 con el tratamiento térmico. Sin embargo, las formulaciones que presentaron porcentajes de rendimiento medio mayores al 5%, establecido como el valor mínimo para generar rentabilidad, también son adecuadas para el establecimiento de los cultivos comerciales de este hongo.

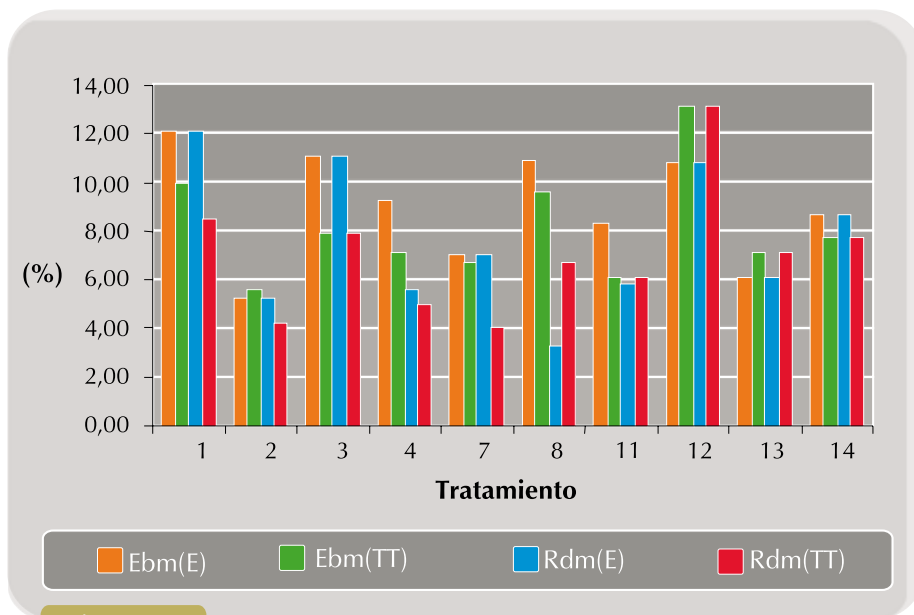


Figura 64

Eficiencia y rendimiento medio de *Ganoderma lucidum*, producido en diferentes formulaciones de sustratos, esterilizados en autoclave (E) y con tratamiento térmico (TT). Fuente: Rodríguez (29).

De las 17 formulaciones con las cuales se obtuvo el 5% de rendimiento, ocho tuvieron tratamiento térmico y las restantes se esterilizaron, resultados que muestran la homogeneidad de los tratamientos para la esterilización del material. Aspecto de gran importancia en el cultivo artesanal de *G. lucidum*, pues los productores no necesitarían de autoclaves para adecuar los sustratos.

Precocidad: En la Figura 65 se muestra la precocidad de *G. lucidum* sobre las diferentes formulaciones. Las formulaciones productivas T1,

T2, T4 y T7 mostraron una mayor precocidad del hongo en los sustratos esterilizados, mientras que con las formulaciones T8, T11 y T14 la mayor precocidad ocurrió en los sustratos con tratamiento térmico. En las formulaciones T3, T12 y T13 la precocidad de ganoderma fue similar para ambos sistemas de adecuación del sustrato.

Comparación con otros trabajos de investigación. En sustratos como el corcho, Rui *et al.* (37), reportan eficiencias biológicas en el cultivo de *G. lucidum* del orden de 0,14% y precocidades de 165 días, cuando éste fue el único sustrato empleado para el crecimiento

del hongo, y eficiencias y precocidades de 0,2% y 145 días, respectivamente, cuando se suplementó con un 30% de salvado de trigo.

Yang *et al.* (43), utilizaron grano de arroz residual de destilería mezclado con aserrín de *Acacia* para el cultivo de *G. lucidum* en bolsas de polipropileno, encontrando que con una formulación del 80% de aserrín de *Acacia* y 20% de grano residual de destilería y una humedad del 60%, se alcanzan en promedio 23,97 gramos de carpóforos secos y 2 cuerpos fructíferos por bloque. Los resultados obtenidos en la presente investigación están

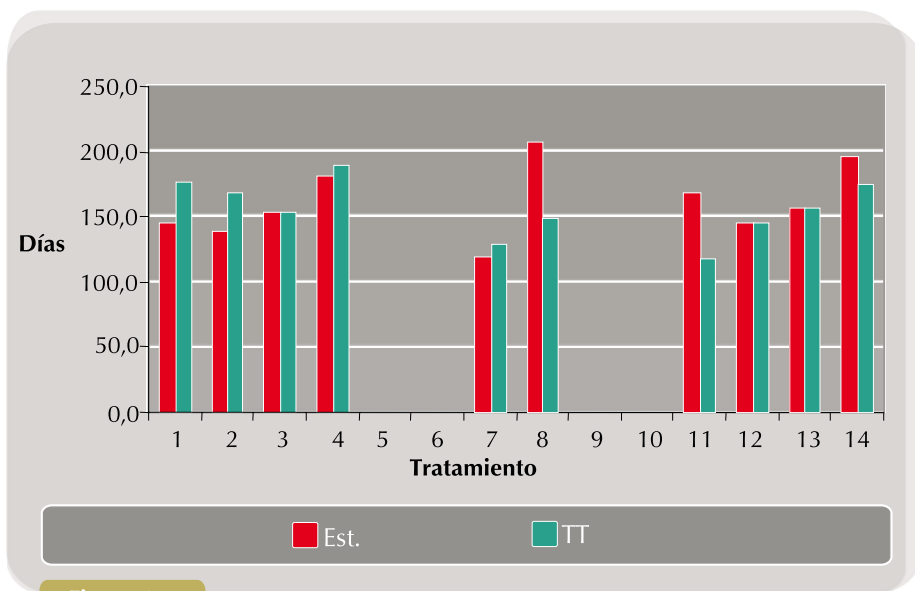


Figura 65

Precocidad de *Ganoderma lucidum* producido en diferentes formulaciones de sustratos, esterilizados en autoclave y con tratamiento térmico. Fuente: Rodríguez (29).

acordes con los reportados por estos autores, ya que el mejor tratamiento fue el T12 que contenía 78% de aserrín de tallo de café, 11,5% de pulpa de café y 11,5% de borra de café y una humedad del 59,10%, alcanzando una producción media de 18,75 gramos de carpóforos secos y 2 cuerpos fructíferos/bloque.

3.8. Manejo postcosecha.

El estado de madurez de cosecha para el shiitake se alcanza cuando los bordes del píleo muestran una ligera

inclinación hacia el interior y en el caso de ganoderma, cuando la franja de color amarillo de los bordes del píleo adquieren una coloración ocre. A los hongos recolectados se les retiró la base del estipe que contenía residuos del sustrato (Figura 66).

Una parte de los hongos de *L. edodes* se empacó en bandejas de icopor cubiertas con papel vinilpel y se refrigeraron a 4°C (Figura 67), alcanzando en promedio una vida útil de anaquel de 15 días (CV= 27,5%). La otra parte de los hongos cosechados se deshidrataron en una estufa a

40°C hasta alcanzar un peso constante, momento en el cual se empacaron en bolsas de polipropileno selladas con calor, empaque en el que los hongos conservaron su textura hasta después de un año de almacenamiento (Figura 68). Todos los carpóforos de *G. lucidum* se deshidrataron a 40°C, para su almacenamiento.

Medidas biométricas: El tamaño de los hongos es un atributo importante para su comercialización, sobre todo cuando se trata de mercados internacionales.



Figura 66. Hongos shiitake listos para empacarlos.



Figura 67. Hongos shiitake empacados en bandejas de icopor.



Figura 68. Hongos shiitake deshidratados y empacados.

En la Tabla 13 se presenta el promedio del peso de los hongos y el tamaño medio del píleo para las cepas de *L. edodes* cultivadas en las diferentes formulaciones.

En términos generales, los hongos de *L. edodes* que presentaron los mayores valores de peso medio y diámetro medio fueron los procedentes de la cepa L13 (Figura 69), seguidos de la

cepa L4055 (Figura 70) y de la cepa L54 (Figura 71). En la Figura 72 se compara el tamaño de los carpóforos obtenidos de las tres cepas de shiitake estudiadas en el presente trabajo.

Tabla 13. Medidas biométricas de las cepas de *L. edodes*, procedentes de las cepas evaluadas sobre diversas formulaciones de sustratos.

Cepa	Tratamiento	Cosecha	Peso del hongo (g)	CV (%)	Diámetro del píleo (cm)	CV (%)	n (número de datos)
L13	T1	1 ^a	86,38	19,67	13,03	11,25	16
		2 ^a	13,46	73,61	5,64	33,04	7
		3 ^a	6,56	62,28	4,56	22,25	9
		4 ^a	7,08	35,07	5,08	13,07	6
		Total	41,52	97,72	8,41	50,19	38
L54	T1	1 ^a	8,35	39,27	4,05	11,49	4
		2 ^a	7,80	46,87	4,60	22,17	4
		3 ^a	6,66	31,40	5,20	14,58	5
		4 ^a	6,88	41,18	5,00	17,73	8
		Total	7,28	38,22	4,79	18,14	21
L4055	T1	1 ^a	23,98	29,38	7,18	19,23	17
		2 ^a	42,90	31,31	10,05	14,84	11
		Total	31,41	43,27	8,30	24,05	28
L4055	T3	Total	38,48	39,81	9,17	17,84	27
L54	T7	Total	23,41	94,91	7,06	37,68	29
L4055	T7	Total	19,13	49,34	7,09	20,32	27
L54	T11	Total	10,59	50,37	5,08	19,95	21
L4055	T11	Total	21,03	48,18	7,39	24,48	14

Fuente: Rodríguez (29).



Figura 69. Carpóforos de shiitake cepa L13, de 1a, 2a y 3a cosecha.



Figura 70. Carpóforos de shiitake cepa L4055, de 1a y 2a cosecha.



Figura 71. Carpóforos de shiitake cepa L54, de 1a, 2a y 3a cosecha.



Figura 72. Carpóforos de shiitake cepas L13, L54 y L4055.

Royse y Sánchez (35), utilizando un sustrato que contenía 50% de aserrín de roble, 28% de millo, 11% de salvado de trigo y 11% de centeno, reportan pesos medios de los carpóforos entre 14,7 y 16,8 gramos, para la cepa R26 de *L. edodes*.

En la Tabla 14 se presentan los valores de las medidas biométricas para los hongos de *G. lucidum* de todas las formulaciones productivas.

De todas las formulaciones, la que permitió el desarrollo de los hongos de mayor peso

fue la T12, con un promedio del peso de los hongos de 39,8 gramos, seguida de las formulaciones T1 (30,5 g) y T14 (27,5 g). De igual manera, con la formulación T12 se presentaron los hongos con mayor diámetro medio (10 x 5,2 cm).

Tabla 14. Medidas biométricas de las cepas de *G. lucidum* , obtenidos sobre diversas formulaciones de sustratos.

Tratamiento	Pesomedio del hongo (g)	Diámetro mayor del píleo (cm)	Diámetro menor del píleo (cm)	Altura del estípite (cm)	N (Número de datos)
T1	30,48	9,32	5,36	8,00	5
CV(%)	5,18	10,33	22,33	18,62	
T2	19,60	5,42	3,94	6,80	5
CV(%)	34,97	19,59	25,98	47,81	
T3	6,76	4,38	3,78	4,66	5
CV(%)	59,14	29,03	33,74	10,69	
T4	18,96	6,74	4,14	6,02	5
CV(%)	23,79	9,18	3,66	29,98	
T7	12,48	4,74	3,80	6,16	5
CV(%)	63,23	24,17	32,18	35,39	
T8	25,27	5,83	4,64	8,94	7
CV(%)	52,86	41,64	46,84	28,60	
T11	10,65	4,70	3,56	4,84	8
CV(%)	28,78	21,40	36,23	48,31	
T12	39,81	10,02	5,16	8,15	10
CV(%)	22,49	13,46	18,41	15,89	
T13	25,16	7,08	4,42	7,16	5
CV(%)	51,64	44,39	24,49	28,62	
T14	27,54	7,48	5,36	7,46	5
CV(%)	39,62	27,94	11,47	20,71	

CV: coeficiente de variación.

Fuente: Rodríguez (29).

3.9. Análisis bromatológico y de minerales de los hongos medicinales.

En la Tabla 15, se encuentran los resultados de la caracterización bromatológica y de minerales realizada a las diferentes cepas de *L. edodes* cultivadas sobre las formulaciones T1, T2 y T3.

Para la cepa L13 el mayor contenido de proteína se obtuvo en los hongos producidos sobre la formulación T2 (19,00%), para la cepa L54 en los hongos obtenidos sobre las formulaciones T1 y T2 (18,00%) y para la cepa L4055 en los hongos que se desarrollaron sobre la formulación T1 (16,43%). Los valores de

proteína obtenidos están dentro del rango reportado por Rodríguez (31), para hongos producidos sobre subproductos de café, quien encontró valores entre 17,5 y 18,0% para los hongos obtenidos sobre la formulación T1.

Se encontró un mayor contenido de proteína en los hongos de la cepa L54

Tabla 15. Análisis bromatológico y de minerales del hongo comestible y medicinal *L. edodes*.

Determinación (% en base seca)	L13 T1	L13 T2	L13 T3	L54 T1	L54 T2	L54 T3	L4055 T1	L4055 T2
Humedad (%)	88,96	90,62	89,74	87,28	91,45	92,60	90,58	91,30
Nitrógeno (%)	4,10	4,34	3,64	4,11	4,13	3,93	3,75	3,55
Proteína (%)*	17,96	19,00	15,94	18,00	18,09	17,21	16,43	15,51
Cenizas (%)	5,79	6,16	5,20	5,45	6,81	6,88	6,13	6,10
Fibra (%)	6,95	10,24	10,09	11,15	10,73	15,34	12,78	11,33
Grasa (%)	1,63	1,77	1,89	1,77	1,99	1,73	1,58	1,88
ELN (%)	67,67	62,83	66,88	63,63	62,38	58,84	63,08	65,18
P (%)	0,80	0,90	0,70	0,90	1,0	1,0	0,80	0,80
K (%)	2,28	2,46	2,13	2,15	2,76	2,79	2,54	2,50
Ca (%)	0,06	0,07	0,05	0,06	0,06	0,07	0,06	0,05
Mg (%)	0,11	0,13	0,12	0,12	0,13	0,14	0,14	0,13
Fe (ppm)	42	46	43	38	63	63	52	56
Mn (ppm)	16	18	16	17	25	25	20	23
Zn (ppm)	111	137	128	130	124	125	135	129
Cu (ppm)	16	12	19	10	18	21	28	30
B (ppm)	6	5	5	5	8	8	5	5
pH	5,80	5,85	5,78	5,84	5,83	5,75	5,92	6,07

*Proteína calculada como $N \times 4,38$.

Los métodos empleados fueron: pH: potenciométrico 1:4; Cenizas: incineración a 475°C; N: semimicro Kjeldahl; Humedad: calentamiento en estufa a 60°C hasta peso constante; Proteína: $N \times 4,38$; K, Ca, Mg: espectrofotometría de absorción atómica; P: colorimétrico (fosfomolibdovanadato de amonio); Grasas: Soxhlet; Fibra cruda: Weende A.O.A.C.; E.L.N.: $100 - (\% \text{ grasas} + \% \text{ proteína} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ cenizas})$. Para el cálculo del C se utilizó la fórmula $C = (100 - \% \text{ cenizas}) / 1,8 (30)$.

Fuente: Rodríguez (29).

en comparación con la cepa L4055, las cuales son las más recomendables para instalar el cultivo en la zona cafetera, debido a que presentan rendimientos superiores al 50%. El contenido de proteína de la cepa L54 producida sobre las formulaciones T1 y T2 fue de 18,0%, y el de la cepa

L4055 fue del 16,4% sobre la formulación T1 y del 15,5% sobre la formulación T2.

Los valores de fibra encontrados para las diferentes cepas de shiitake fueron superiores a los reportados por Chang y Miles (4), quienes reportan valores entre 7,3 y 8,0%.

En la variable contenido de grasas se observa que la cepa L54 tuvo un mayor contenido de grasa que la L4055 (Tabla 15). Sin embargo, todas las cepas de shiitake presentaron valores de grasas entre 1,58 y 1,99%, inferiores a las reportadas por Chang y Miles (4), en el rango 4,9 a 8,0%.

En la Tabla 16 se presentan los resultados de la caracterización bromatológica y de minerales realizada para el hongo *G. lucidum* cultivado en las diferentes formulaciones de sustratos.

El mayor contenido de proteína se obtuvo en los hongos producidos en la formulación T3 (13,93%), seguido de la formulación T1 (12,96%). Estos valores de proteína están en el rango reportado por Rodríguez (31), para hongos

cultivados sobre subproductos de café (de 13,8 a 15,7%). Yang *et al.* (43), reportan valores de proteína cruda de 18,4 y 15,51% para carpóforos de *G. lucidum* sembrados sobre un sustrato a base de aserrín de *Acacia*.

Tabla 16. Análisis bromatológico y de minerales del hongo medicinal *G. lucidum*, desarrollados sobre tres formulaciones de sustratos.

Determinación (% en base seca)	T1	T2	T3
Humedad (%)	73,74	73,90	71,87
Nitrógeno (%)	2,96	2,71	3,18
*Proteína (%)	12,96	11,87	13,93
Cenizas (%)	2,75	3,50	2,64
Fibra (%)	33,58	34,23	31,37
Grasa (%)	1,74	1,27	1,70
ELN (%)	48,97	49,13	50,36
P (%)	0,60	0,70	0,60
K (%)	0,69	0,98	0,72
Ca (%)	0,16	0,24	0,17
Mg (%)	0,11	0,18	0,1
Fe (ppm)	48	55	43
Mn (ppm)	17	27	10
Zn (ppm)	266	201	94
Cu (ppm)	45	65	39
B (ppm)	4	5	2
pH	4,24	4,30	4,28

*Proteína calculada como $N \times 4,38$.

Los métodos empleados fueron: pH: potenciométrico 1:4; Cenizas: incineración a 475°C; N: semimicro Kjeldahl; Humedad: calentamiento en estufa a 60°C hasta peso constante; Proteína: $N \times 4,38$; K, Ca, Mg: espectrofotometría de absorción atómica; P: colorimétrico (fosfomolibdovanadato de amonio); Grasas: Soxhlet; Fibra cruda: Weende A.O.A.C.; E.L.N.: $100 - (\% \text{ grasas} + \% \text{ proteína} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ cenizas})$. Para el cálculo del C se utilizó la fórmula $C = (100 - \% \text{ cenizas}) / 1,8$ (30).

Fuente: Rodríguez (29).

4. TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS DEL CULTIVO

El cultivo de los hongos medicinales busca generar productos que ayuden a mantener la salud de las personas y dada su característica saprofítica, proteger el medio ambiente al evitar el impacto negativo que generarían los residuos orgánicos sólidos cuando no son aprovechados.

En la Tabla 17 se observan los resultados de la caracterización bromatológica realizada a los bloques residuales del cultivo de las cepas de shiitake L13, L54 y L4055, en las formulaciones T1, T2 y T3.

El cultivo de las diferentes cepas de *L. edodes* sobre una misma formulación tuvo un efecto similar en el sustrato residual al evaluar los contenidos de proteínas y cenizas. Los contenidos de fibra fueron mayores en los sustratos residuales de la cepa L54, seguido de la cepa L4055 y finalmente, de la cepa L13; mientras que los contenidos de grasa fueron similares en los bloques residuales de las cepas L13 y L54, e inferiores en los de la cepa L4055.

En promedio la relación C/N de los sustratos residuales

obtenidos a partir de las formulaciones con una relación C/N de 40, fue finalmente de 24, equivalente a un 60% de la relación inicial. De acuerdo con la caracterización anterior y teniendo en cuenta el alto contenido de nitrógeno presente en los residuos, estos sustratos podrían reciclarse, combinándolos con aserrín de tallo de café, para alcanzar relaciones C/N en el rango entre 40 y 60, y utilizarlos para el cultivo de hongos del género *Pleurotus* y de *Ganoderma lucidum*.

Otra alternativa de manejo de este subproducto es la lombricultura, con la cual se generan dos productos:
a b o n o

orgánico y biomasa de lombrices (9), de importancia en la agricultura sostenible.

El balance de materia para el cultivo de las diferentes cepas de shiitake sobre las diversas formulaciones productivas mostró pérdidas medias en materia seca del 45% y para ganoderma del 54%, es decir que el sustrato residual en materia seca representó para las cepas de shiitake el 55% y para ganoderma el 46% del peso inicial (29).



Tabla 17. Análisis bromatológico y de minerales de los bloques residuales del cultivo de shiitake

Determinación	Cepa L13			Cepa L54			Cepa L4055		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Humedad (%)	10,29	9,90	9,50	10,50	11,00	10,70	25,44	27,67	27,67
Nitrógeno (%)	1,90	2,32	2,20	2,08	2,28	2,13	2,10	2,07	2,22
Proteína (%)*	11,85	14,51	13,75	13,00	14,25	13,31	13,13	12,94	13,88
Cenizas (%)	7,40	7,72	7,88	8,24	6,44	7,10	8,53	6,54	7,38
Fibra (%)	26,24	29,29	24,50	30,46	34,13	36,70	29,27	27,76	26,82
Grasa (%)	0,94	1,16	1,18	0,69	1,36	1,27	0,45	0,53	0,59
ELN (%)	53,58	47,33	52,69	47,61	43,82	41,62	48,62	52,23	51,33
P (%)	0,21	0,29	0,16	0,23	0,27	0,14	0,23	0,20	0,20
K (%)	0,23	0,22	0,15	0,12	0,27	0,11	0,15	0,08	0,08
Ca (%)	2,19	1,97	2,08	2,06	1,62	1,89	2,70	1,72	2,01
Mg (%)	0,16	0,17	0,12	0,20	0,19	0,11	0,18	0,14	0,14
Fe (ppm)	675	620	820	550	620	740	790	700	620
Mn (ppm)	75	54	51	97	58	50	87	46	48
Zn (ppm)	90	88	58	81	76	79	92	89	87
Cu (ppm)	43	42	58	41	43	56	49	50	41
B (ppm)	12	17	9	10	10	8	17	17	16
pH	4,24	4,60	3,46	4,71	5,04	3,90	4,53	4,26	4,03

Los métodos empleados fueron: pH: potenciométrico 1:4; Cenizas: incineración a 475°C; N: semimicro Kjeldahl; Humedad: calentamiento en estufa a 60°C hasta peso constante; Proteína: N x 4,38; K, Ca, Mg: espectrofotometría de absorción atómica; P: colorimétrico (fosfomolibdovanadato de amonio); Grasas: Soxhlet; Fibra cruda: Weende A,O,A,C; E,L,N: 100 - (% grasas + % proteína + % fibra cruda + % cenizas), Para el cálculo del C se utilizó la fórmula $C = (100 - \% \text{ cenizas}) / 1,8$ (30).

Fuente: Rodríguez (29).

Finalmente, los bloques residuales se desmoronaron y se utilizaron como alimento para la lombriz roja (Figuras 73 y 74). El lombricompost obtenido presentó una humedad media del 69% y un pH de 6,7. Los rendimientos del proceso de lombricultura fueron del 67,7% en peso seco y por cada kilogramo de sustrato de siembra utilizado para el cultivo de hongos medicinales se obtuvieron 400 gramos de lombricompost húmedo.

Otro subproducto generado en el proceso de cultivo de los hongos es parte del estipe que se le retira al cuerpo reproductor después de la recolección. Los resultados bromatológicos de la caracterización de los tallos residuales de las diferentes cepas de *L. edodes*, se presentan en la Tabla 18.

El valor de proteína de los tallos residuales fue del 11,9%, valor significativo si se compara con el promedio

encontrado en los hongos recién cosechados que fue del 17,3%. Los contenidos de grasa y cenizas fueron muy similares a los encontrados en los hongos y el contenido de fibra fue mayor.

Los tallos residuales pueden secarse y molerse, para utilizarlos como medicina natural para consumo humano, o como suplemento en la alimentación animal.



Figura 73. Sustrato residual utilizado como alimento de la lombriz roja.



Figura 74. Lombricompost obtenido de los bloques residuales.

Tabla 18. Análisis bromatológico y de minerales de los residuos de *L. edodes*.

Determinación	Residuos de los estipes de shiitake
Humedad (%)	10,84
Nitrógeno (%)	2,72
Proteína (%)*	11,91
Cenizas (%)	6,46
Fibra (%)	17,60
Grasa (%)	1,56
ELN (%)	57,38
P (%)	0,59
K (%)	1,43
Ca (%)	0,87
Mg (%)	0,14
Fe (ppm)	349
Mn (ppm)	38
Zn (ppm)	40
Cu (ppm)	40
B (ppm)	8
pH	4,82

* Proteína calculada como $N \times 4,38$. Los métodos empleados fueron: pH: potenciométrico 1:4; Cenizas: incineración a 475°C; N: semimicro Kjeldahl; Humedad: calentamiento en estufa a 60°C hasta peso constante; Proteína: $N \times 4,38$; K, Ca, Mg: espectrofotometría de absorción atómica; P: colorimétrico (fosfomolibdovanadato de amonio); Grasas: Soxhlet; Fibra cruda: Weende A,O,A,C; E,L,N; $100 - (\% \text{ grasas} + \% \text{ proteína} + \% \text{ fibra cruda} + \% \text{ cenizas})$. Para el cálculo del C se utilizó la fórmula $C = (100 - \% \text{ cenizas}) / 1,8$ (30).

Fuente: Rodríguez (29).

5. MANEJO DE ENFERMEDADES Y PLAGAS

Los principales problemas encontrados en el cultivo de los hongos medicinales sobre residuos agrícolas de la zona cafetera estuvieron relacionados con la contaminación de

los sustratos por los hongos competidores.

La contaminación se observó, en promedio, al octavo día de realizada la siembra. Los hongos contaminantes

encontrados e identificados, de acuerdo a sus características macro y microscópicas fueron: *Trichoderma* spp. (Figura 75), *Penicillium* spp. (Figura 76), *Neurospora* spp. (Figura 77) y *Aspergillus* spp. (Figura 78).



Figura 75. Contaminación por *Trichoderma* spp.



Figura 76. Contaminación por *Penicillium* spp.



Figura 77. Contaminación por *Neurospora* spp.



Figura 78. Contaminación por *Aspergillus* spp.

Zadrazil (44), afirma que *L. edodes* es un hongo muy sensible a la presencia de microorganismos competidores. Si los microorganismos antagonistas en el sustrato no son totalmente eliminados, no se produce el crecimiento del shiitake. Es muy difícil definir la causa de la poca capacidad antagónica de shiitake, no obstante, ésta puede deberse a que la producción de antibióticos tiene un papel muy específico, por ejemplo: la cantidad de antibióticos formado por *Lentinula* es inferior a la formada por las diferentes variedades de *Pleurotus*. Pero también puede deberse a la producción de enzimas que conducen a una fuerte liberación de hidratos de carbono de los sustratos, ya que *Lentinula* puede liberar una mayor cantidad de sacáridos que las variedades de hongos *Pleurotus*; probablemente, ésta es la causa de la poca capacidad de colonización del sustrato.

La susceptibilidad y la afinidad de los microorganismos a los sustratos son los factores más determinantes en la contaminación fúngica de los cultivos de shiitake. Especies patógenas como *Verticillium* sp. y especies características de sustratos forestales y vegetales como *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. y *Neurospora* sp., se encuentran comúnmente en el cultivo de shiitake (22).

Neurospora sp., es un hongo que suele aparecer después de la esterilización del sustrato, especialmente cuando se deja el sustrato en los recipientes de esterilización durante algún tiempo después del tratamiento. Este hongo patógeno produce una gran cantidad de esporas de forma que, una vez el moho se establece en un cultivo, es difícil de eliminarlo, debido a que vuelve a infectarse rápidamente el cultivo. No existen medidas específicas para su control (11).

Son varias las causas por las cuales se presenta la contaminación en los sustratos, entre las cuales se encuentran: la calidad de la semilla de siembra, los materiales que conforman el sustrato, el tipo de bolsa empleado en el empaque del sustrato, la esterilización y las condiciones sanitarias de inoculación, incubación y fructificación.

Una semilla contaminada o con mucho tiempo de elaboración facilita el establecimiento de los microorganismos contaminantes, ya sea por ser inóculo o porque su lento crecimiento permite la colonización del sustrato por los hongos competidores.

Los materiales utilizados en la elaboración de los sustratos deben ser frescos o haber sido almacenados de forma apropiada mediante procesos de ensilado o deshidratación

realizados a tiempo. De esta forma, se evita un alto recuento microbiano en ellos, además de que se conservan sus propiedades físicas, de gran importancia para el desarrollo de los hongos medicinales.

Las bolsas utilizadas para el empaque del sustrato no deben tener sellos imperfectos, pues los poros de las costuras facilitan la penetración de los hongos del ambiente. El aserrín de madera debe tener un tamaño de partícula inferior a 0,5 cm, debido a que las partículas más grandes pueden romper las bolsas y por allí penetrar los hongos contaminantes.

En la esterilización debe tenerse cuidado con los tiempos de proceso y la cantidad de sustrato empleado, pues un desequilibrio en estos factores pueden generar sustratos subesterilizados que son susceptibles a la contaminación fúngica, o sustratos sobreesterilizados, los cuales son susceptibles a la contaminación bacteriana.

La inoculación, la incubación y la fructificación, deben realizarse en áreas limpias, previamente desinfectadas y en las cuales se evite la entrada de cucarachas, ratones o algún otro animal que pueda ocasionar daño a los bloques de sustrato. De igual manera deben controlarse las condiciones ambientales de cultivo que requieren los hongos, de acuerdo a su género,

para evitar el establecimiento de hongos indeseables.

Una vez establecidos los microorganismos contaminantes en el cultivo

es preciso retirar los bloques contaminados lejos del lugar de almacenamiento.

Se recomienda llevarlos a los lombricultivos para su procesamiento.

Si el punto de contaminación es muy pequeño es posible detener el crecimiento de los hongos competidores rociando carbonato o sal sobre el foco de crecimiento.

6. PROBLEMAS EN EL CULTIVO Y SOLUCIONES

Los principales factores abióticos que ocasionan daños en el cultivo de los hongos medicinales son la temperatura, la humedad relativa, la concentración de CO_2 en los cuartos de incubación y fructificación, y la humedad excesiva del sustrato. Estos factores por sí solos o combinados, cuando se desvían de su nivel óptimo, pueden ocasionar un crecimiento micelial pobre y por consiguiente, una cosecha escasa o la

deformación de los hongos en desarrollo o ya desarrollados, mostrando síntomas como pies elongados, sombreros pequeños o fructificación en masa (11).

Por tanto, es importante que el productor recuerde las necesidades de luz, humedad relativa, oxígeno y CO_2 , que los hongos medicinales requieren

en sus etapas de incubación y fructificación, al igual que el contenido de humedad y el pH del sustrato de cultivo, que se han descrito en el presente Boletín Técnico.

En la Tabla 19 se describen los problemas más frecuentes que se presentan en la etapa de fructificación de los hongos medicinales, sus posibles causas y la solución .



Tabla 19. Causas y soluciones de los problemas más frecuentes encontrados en la etapa de fructificación de los hongos medicinales.

Problema	Causa	Solución	
Después que el plástico de las bolsas es retirado, los hongos tardan en aparecer.	Shiitake	Los bloques incubados no han adquirido la pigmentación necesaria.	Permita que el micelio madure por más tiempo, para ello mantenga las bolsas en incubación una ó dos semanas más.
		Las protuberancias de los bloques no están blandas.	Permita que el micelio madure por lo menos una semana más.
		Insuficiente humedad.	Mantenga la humedad del cuarto entre 85 y 95%, regando con agua en nebulización.
	Ganoderma	Insuficiente ventilación.	Abra las ventanas o ductos de ventilación del cuarto.
		Insuficiente luminosidad.	Provea la iluminación adecuada para permitir la inducción de los primordios.
Los hongos son pequeños y no crecen tan grandes como se esperaba.	Shiitake y ganoderma	Semilla del hongo débil o degenerada.	Use semilla fresca y de un laboratorio confiable.
		Nutrientes insuficientes.	Incremente los suplementos en la formulación del sustrato.
		Insuficiente ventilación.	Abra las ventanas o ductos de ventilación del cuarto.
		Demasiado desarrollo de hongos a un mismo tiempo.	Permita el desarrollo de unos pocos hongos al mismo tiempo.
Los hongos presentan deformidades o detienen su crecimiento.	Shiitake	Insuficiente ventilación.	Abra las ventanas o ductos de ventilación del cuarto.
		Insuficiente humedad.	Mantenga la humedad del cuarto entre 85 y 95%,regando con agua en nebulización
	Ganoderma	Temperatura fuera del rango apropiado.	Mantenga la temperatura del cuarto de fructificación entre 20 y 34°C.
		Condiciones ambientales fuera del rango apropiado.	Mantenga la temperatura, la humedad relativa, la luminosidad y la ventilación, en los valores sugeridos para cada estadio del proceso de fructificación.
Muy pocos hongos para cosechar al mismo tiempo.	Shiitake y ganoderma	Insuficiente alimento en el sustrato.	Cambie la formulación del sustrato incrementando la suplementación.
		Semilla del hongo débil o degenerada.	Use semilla fresca y de un laboratorio confiable.
		Temperatura demasiado alta o baja.	Provea temperatura óptima para la fructificación del hongo.
Infestación por hongos competidores.	Shiitake y ganoderma	Sanidad insuficiente, hongos expuestos al medio ambiente.	Espolvoree carbonato sobre los estantes que contienen las bolsas infestadas.

7. CONCLUSIONES

1. Es posible realizar el cultivo de hongos medicinales (shiitake y ganoderma) sobre residuos agroindustriales presentes en la zona cafetera colombiana.
2. Un tiempo total de proceso de 9,25 horas para el tratamiento térmico de 60 kg de sustrato de manera artesanal, es equivalente a un proceso de esterilización en una autoclave a 121°C. Esto simplifica el proceso de cultivo de los hongos medicinales y lo hace asequible a los productores de café.
3. La fructificación de las cepas de *L. edodes* y *G. lucidum* sobre borra de café y aserrín de tallo del cafeto cuando éstos se utilizaron como único sustrato, evidencian su capacidad biológica para ser utilizados en las formulaciones como componentes principales para el cultivo de estos hongos.
4. La utilización de aserrín de tallo de café con un tamaño de partícula menor a 5 mm, evita la ruptura de las bolsas de polipropileno, disminuyendo así el riesgo de la contaminación del sustrato por hongos competidores provenientes del ambiente.
5. Se recomienda cultivar en la zona cafetera colombiana las cepas L54 y L4055 de *L. edodes*, sobre sustratos elaborados con los subproductos del cultivo e industrialización del café, formulados de manera que tengan una C/N de 40 y con un contenido en borra inferior al 50% y de aserrín del tronco del cafeto por encima del 28%.
6. La mejor señal para colocar los bloques de *L. edodes* en choque térmico, es que la textura del abrigo sea blanda. Algunas cepas no tienen reacciones de oxidación y por tanto, no ocasionan pardeamiento de los bloques (cepa L4055 y en menor grado L54).
7. El hongo medicinal *G. lucidum* puede cultivarse sobre los subproductos del cultivo e industrialización del café, con una relación C/N del sustrato en el rango 40 a 60, y con contenidos de pulpa de café inferiores al 15% en la conformación del sustrato.
8. La utilización de la pulpa de café en la conformación de los sustratos para el cultivo del hongo medicinal *G. lucidum*, es importante debido a que ésta es el principal subproducto que se genera en el proceso de beneficio del fruto y genera, si no se utiliza adecuadamente, el mayor impacto ambiental sobre el ecosistema agrícola cafetero.
9. Los hongos shiitake y ganoderma deben cultivarse en áreas separadas, debido a que las necesidades ambientales para su crecimiento son diferentes.
10. La deshidratación al sol es el método de conservación más apropiado para los hongos shiitake y ganoderma, además que facilita su utilización posterior.
11. Los numerosos estudios realizados mundialmente, evaluando las propiedades medicinales de estos hongos han determinado su potencialidad como medicinas naturales que pueden utilizarse directamente por los productores de hongos.
12. El sustrato residual del cultivo de los hongos medicinales puede emplearse como alimento de la lombriz roja y obtener de esta manera, abono orgánico para utilizarlo en la finca y biomasa de lombriz para utilizarla en alimentación animal.



8. LITERATURA CITADA

1. ÁLVAREZ G., J. Desplado de café sin agua. Avances Técnicos Cenicafé No. 164: 1-8. 1991.
2. CALLE V., H. Subproductos del café. Boletín Técnico Cenicafé No. 6: 1 - 84. 1977.
3. CHANG, S.T. Curso Internacional sobre el Cultivo de Hongos Tropicales. Chinchiná, Cenicafé, 1998. 89 p.
4. CHANG, S. T.; MILES, P.G. Edible mushrooms and their cultivation. Boca Ratón, CRC Press, 1989. 345 p.
5. CHEN, A. W. Growing *Shiitake* mushrooms. In: Mushroom growers' handbook 1. Oyster mushroom cultivation. MushWorld- Heineart Inc., Seol, Korea. 2004. 248 p.
6. CHEN, A. W. Growing *Ganoderma* mushrooms. In: Mushroom growers' handbook 1. Oyster mushroom cultivation. MushWorld- Heineart Inc., Seol, Korea. 2004. 248 p.
7. CHEN, A. W. A fresh look at an ancient mushroom *Ganoderma lucidum* (Reishi). On line Internet. Disponible en: www.mushworld.com/cultivation/Ganoderma. 2003. (Consultado en Febrero 18 del 2004).
8. CURVETTO. N. Biotecnología de hongos comestibles y medicinales. Bahía Blanca, s.e., 1999. 74 p.
9. DÁVILA, M. T.; RAMÍREZ, C. A. Lombricultura en pulpa de café. Avances Técnicos Cenicafé No. 225: 1-11. 1996.
10. DELPECH, P; OLIVIER, J.M. Champignon parfumé (ou Shiitake). Une méthode française pour sa culture. I.N.R.A. En P. H. M. - Revue Horticole, N° 305, mars de 1990. p. 25-30.
11. FLETCHER, J. T.; WHITE, P. F.; GAZE R. H. Mushrooms: pest and disease control. 2. ed. Andover (Inglaterra). Intercept Limited, 1986. 159 p.
12. HOBBS, C. Medicinal mushrooms: an exploration of tradition, healing e culture. 3. ed. Loveland, Interweave Press Inc., 1996. p. 252.
13. JARAMILLO L., C.; RODRÍGUEZ V., N; GÓMEZ C., F.A. Cultivo de hongos tropicales sobre residuos agroindustriales presentes en la zona cafetera. Chinchiná, Cenicafé. Disciplina de Química Industrial, 1999. 84 p. (Informe final experimento QIN-09-23).
14. JONES, K. *Shiitake*. The healing mushroom. Vermont, Healing Arts Press Rochester, 1995. 120 p.
15. LEE, J. H. Cultivation of reishi (*Ganoderma lucidum*). On line Internet. Disponible en: www.mushworld.com/cultivation/Ganoderma. 2003. (Consultado en febrero 18 del 2004).
16. LEIFA, F.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. Growth *Lentinus edodes* on the coffee industry residues and fruiting body production. Mushroom *Lentinula edodes* (*Shiitake*). On line Internet. Disponible en: www.mush-World.com/home/ (Consultado en agosto 6 del 2004).
17. LIU, X.; YUAN, J. P.; CHUNG, C. K.; CHEN, X. J. Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of *Ganoderma lucidum*. Cancer Letters 182 (2002).p 155-161.
18. MARTÍNEZ C., D.; MORALES, P. Reseña histórica del cultivo comercial de hongos comestibles y medicinales en Colombia. In: Micología neotropical aplicada 5: 89-95. 1992.
19. MILES, P. G.; CHANG, S. T. Biología de las setas. Fundamentos básicos y acontecimientos actuales. Bogotá, World Scientific, 1999. 206 p.
20. MIZUNO, T. Estudio de las sustancias bioactivas presentes en el hongo reishi (*Ganoderma lucidum*) y sus efectos medicinales. 1995. Universidad de Shizuoka, Japón. On line Internet. Disponible en: <http://www.geocities.com/HotSprings/Villa/1706/sustbioac.html>. (Consultado en mayo 27 del 2005).
21. MUSHROOM GROWERS' NEWSLETTER. Specialty mushrooms. On line Internet. Disponible en: <http://www.mushroomcompany.com/specialty.html>. (Consultado en febrero 18 del 2000).

22. OWEN, D.; MORRIS, L.; SHERRY, E. The effective cultivation of the *Shiitake* mushroom (*Lentinula edodes*). On line Internet. Disponible en: <http://www.udc.ie/~ofrfs/agricul/cropsci/2047.html>. (Consultado en mayo 27 del 2005).
23. PACUMBABA, R. P.; BEYL, C. A.; PACUMBABA, R. O., Jr. *Shiitake* micelial leachate suppresses growth of some bacterial species and symptoms of bacterial wilt of tomato and lima bean in vitro. Plant Disease 83:20-23. 1999.
24. PAULI, G. Diversificación en el trópico. Una propuesta para Colombia. Informe Zeri. Bogotá, Sena. 1999. 201 p.
25. PRZYBYLOWICZ, P.; DONOGHUE, J. *Shiitake* growers handbook. The art and science of mushroom cultivation. Iowa, Kendall/Hunt Publishing Company, 1988. 217 p.
26. QUIMIO, T. H.; CHANG, S. T.; ROYSE D., J. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPER. 106. Roma, FAO. 1990. 155 p.
27. RODRÍGUEZ V., N. Ensilaje de pulpa de café. Avances Técnicos Cenicafé No. 313:1-8. 2003.
28. RODRÍGUEZ V., N. Aprovechamiento de los residuos sólidos generados en el cultivo e industrialización del café para la producción de hongos comestibles y medicinales. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia, 2003. 140 p.
29. RODRÍGUEZ V., N. Investigación básica sobre el cultivo de hongos tropicales en residuos agroindustriales de la zona cafetera colombiana. Informe final. Chinchiná, Cenicafé. Disciplina de Química Industrial, 2003. 220 p.
30. RODRÍGUEZ V., N. Experimento QIN-36-01. Investigación básica en el cultivo de hongos tropicales sobre residuos agroindustriales presentes en la zona cafetera. Chinchiná, Cenicafé. Disciplina de Química Industrial, 2000. 90 p.
31. RODRÍGUEZ V., N. Informe anual de actividades 1998 - 1999. Chinchiná, Cenicafé. Disciplina de Química Industrial, 1999. 90 p.
32. RODRÍGUEZ V., N. Composición química de algunos residuos generados en la zona cafetera. Informe anual de actividades 1997-1998. Chinchiná, Cenicafé. Disciplina Química Industrial, 1998. 71 p.
33. RODRÍGUEZ V., N.; GÓMEZ, F.A. Cultive hongos comestibles en pulpa de café. Avances Técnicos Cenicafé No. 285:1-8. 2001.
34. ROYSE. D. Cultivation of *Shiitake* on natural and synthetic logs. Pennsylvania, College of Agricultural Science. Pennsylvania State Universty. 2001. p. 4-5.
35. ROYSE, D. J.; SÁNCHEZ, J. E. Influence of precipitated calcium carbonate (CaCO₃) on *Shiitake* (*Lentinula edodes*) yield and mushroom size. Bioresource Technology 90: 225-228. 2003.
36. ROYSE, D. J.; SÁNCHEZ, J. E. Influence of substrate wood-chip particle size on *Shiitake* (*Lentinula edodes*) yield. Bioresource Technology 76: 229-233. 2001.
37. RUI, H.; ROING, G.; SANCHO, P. Degradación del corcho mediante el cultivo de los hongos *Lentinus edodes* y *G. lucidum*. ACE. Revista d'Enología No. 39. Cataluña (España). On line Internet. Disponible en: www.rub.es. 1997 (Consultado en mayo 27 del 2005).
38. SALMONES, D.; MATA, G.; RAMOS, L. M.; WALISZEWSKI, K. N. Cultivation of *Shiitake* mushroom (*Lentinula edodes*), in several lignocellulosic materials originating from the subtropics. Agronomie 19 (1): 13 - 19. 1999.
39. SOO, T. S. Effective dosage of the extract of *Ganoderma lucidum* in the treatment of various ailments. On line Internet. Disponible en: <http://www.mushworld.com/cultivation/Ganoderma>. 2003. (Consultado en mayo 25 del 2005).
40. STAMETS, P. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Berkeley, Ten Speed Press, 1993. 552 p.
41. UNITED STATES. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Economics and statistics system. Mushroom Industry Repor. Albert R. Mann Library. On line Internet. Disponible en: <http://usda.mannlib.cornell.edu/dataset/specialty/94003/>. (Consultado en mayo 25 del 2000).

42. VARÓN L., M. Cultivo de hongos tropicales en residuos agroindustriales del Departamento del Tolima. Ibagué, Universidad del Tolima, 2004. 114 p.
43. YANG, F.C.; HSIE, C.; CHEN, H.M. Use of stillage grain from a rice-spirit distillery in the solid state fermentation of *Ganoderma lucidum*. Process Biochemistry 39:21-26. 2003.
44. ZADRAZIL, F. *Lentinula (=Lentinus) edodes*: physiologie et conditions de la production industrielle. Mushroom Information 10(6): 5-28. 1993.

AGRADECIMIENTOS

Los autores hacen un reconocimiento a los profesionales y auxiliares que formaron parte del equipo de investigación durante los años 1998 al 2003: Fernando A. Gómez (Bacteriólogo y Laboratorista Clínico), Ana Luz Arango (tesista de Ingeniería Industrial), Maryeimy Varón (tesista de Biología) y a los auxiliares Wilson Vargas, Humberto Ramírez y Huberto Tobón. Al apoyo de la Dra. Gloria Inés Puerta, la Dra. Esther C. Montoya, la Dra. Elena Velásquez, la Tecnóloga Química y Especialista en alimentos Beatriz Mejía, el Ing. Diego Zambrano, el Técnico Uriel López, al Dr. Gunter Pauli (Fundación Zeri) y al Dr. Mario Calderón (Ex-presidente de la Cámara de Comercio de Manizales).

Agradecimientos al Doctor S. T. Chang, Profesor Emérito de la Universidad de Hong Kong y al Dr. Porfirio Martínez (México), por el suministro de las cepas de hongos evaluadas en el presente trabajo y a Proexport por su apoyo financiero al trabajo de campo.

