

Evaluación de seis cepas de *Lentinus edodes* (Berk.) Singer (Basidiomycetes) a diferentes temperaturas*

Nelis BLANCO HERNÁNDEZ** y Sara HERRERA FIGUEROA**

ABSTRACT. Mycelial growth of six strains of *Lentinus edodes*: 48-96, 55-96, 57-96, 58-96, 10-93, 15-93 were studied under 6 different temperatures: 20, 22, 25, 28, 30 and 32 °C on solid media agar-wheat. Their cultural characteristics were studied and the optimal and lethal temperatures were determined. The results showed that the strains didn't differ among them, but if among temperatures. The 25 °C temperature turned out to be the best temperature concerning for all strains. The temperature of 32 °C was lethal for the following strains: 48-96, 55-96, 10-93, and 15-93. The rest of the strains were resistant to all tested temperatures.

KEY WORDS. *Lentinus edodes*, strains, mushroom cultivation.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos, el hombre ha utilizado los hongos como alimento, algunos de estos han sido considerados delicadezas gastronómicas. Casi todos los hongos comestibles que se cultivan a escala industrial son basidiomycetes, principalmente del orden Agaricales con la excepción del género *Auricularia*. Existen más de 50 especies de hongos que potencialmente pueden ser cultivadas en el mundo (Guzmán, *et al.* 1996). De éstas, *Agaricus bisporus* (champiñón), *Lentinus edodes* (shiitake), *Volvariella volvacea* (hongo de la paja de arroz) y *Pleurotus ostreatus* (seta u ostra) son las más importantes, en dicho orden.

Lentinus edodes es una especie que ocupa el segundo lugar en la producción mundial de hongos comestibles, con 180, 000 toneladas por año, superándolo sólo el champiñón con 750, 000 toneladas. Actualmente el Japón produce más del 50% del shiitake a nivel mundial y poco a poco su cultivo se ha ido extendiendo a los E.U.A. y otros países (Farr, 1983; Chang y Miles, 1987; Guzmán, *et al.* 1993; Andrade, 1996).

En Cuba existe la disponibilidad de grandes cantidades de residuos lignocelulósicos, como resultado de la actividad agroindustrial y desechos forestales. Algunos de estos han sido utilizados por diferentes autores en otros países en el cultivo de hongos (San Antonio, 1981; Morales y Martínez-Carrera, 1990; Morales *et al.* 1991; Mata, 1992; Mata y Gaitán-Hernández, 1992; Calvo *et al.* 1992; Calvo y González, 1993; Mora, *et al.* 1993; Ortiz, *et al.* 1993). Entre éstos se puede citar la paja de caña, de arroz, rastrojo de frijol, pulpa de café y aserrines, que sólo una pequeña cantidad se aprovecha en el cultivo de *Pleurotus spp.* quedando grandes volúmenes que por su acumulación y desuso constituyen desechos que inciden en la contaminación ambiental. Con el objetivo de hacer más competitivo y diverso el cultivo de hongos comestibles en nuestro país, el presente trabajo se propone seleccionar las mejores cepas de *Lentinus edodes* conservadas en el cepario del Instituto de Ecología y Sistemática, adaptables a nuestras condiciones climáticas, para llevar a cabo su posterior cultivo a nivel de planta piloto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron, del cepario del departamento de Micología del Instituto de Ecología y Sistemática del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, las cepas de *Lentinus edodes* presentes, para un total de 6 cepas de diferentes procedencias (Tabla 1).

A partir de placas con micelio en crecimiento activo, se tomaron porciones de 7 mm de diámetro y se inocularon en la parte central de cajas Petri de 90 mm que contenían 25 ml de medio de cultivo sólido de agar-trigo-dextrosa, a razón de cinco placas por cada cepa y para cada temperatura. Se sellaron con cinta adhesiva para evitar pérdidas de agua y contaminaciones e incubaron en la oscuridad en cámaras de crecimiento Gallenkamp, bajo 8 condiciones diferentes de temperaturas: 15, 18, 20, 22, 25, 28, 30 y 32°C, durante cinco semanas. Se midió el diámetro de las colonias cada 48 horas durante 15 días, determinándose tanto las cepas de más rápido desarrollo, como la temperatura óptima y letal de cada cepa. Al término de este período se evaluó el tipo de micelio, textura y color.

Los valores del diámetro de las colonias de las seis cepas, al noveno día de inoculadas sobre medio de agar-trigo dextrosa, se procesaron mediante un análisis de varianza de clasificación bifactorial. Las diferencias entre medias se detectaron con la prueba de comparación múltiple de medias de Duncan. Se realizó, además, un análisis de agrupamiento, evaluando 18 caracteres tanto cualitativos como cuantitativos (Tabla 2). El índice de similitud utilizado fue el coeficiente de correlación taxonómica de Pearson; para la confección del dendrograma se empleó el método de ligamiento promedio no ponderado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 6 cepas ensayadas a 8 diferentes temperaturas se comportaron de la manera siguiente:

cepa 48-96. A todas las temperaturas el color del micelio fue blanco. A 15, 18, 28 y 30°C éste presentó un

*Manuscrito aprobado en Febrero del 2000.

**Instituto de Ecología y Sistemática, A.P. 8029, C.P. 10800, La Habana, Cuba.

aspecto aterciopelado y zonado. A 20 y 22°C suavemente aterciopelado y no zonado. A 25 y 32°C tenía un aspecto algodonoso, no zonado. Desarrolló un crecimiento vigoroso entre 20-25°C. El micelio cubrió el diámetro total de la placa de Petri a los 12 días a 25°C, que fue considerada su temperatura óptima. A 20 y 22°C el micelio tardó 15 días para cubrir la placa de Petri. Su crecimiento fue más lento a 32°C. En el rango de temperaturas ensayadas no se encontró su temperatura letal. Es una cepa resistente a altas temperaturas.

cepa 55-96. En todas las temperaturas el color del micelio fue blanco. A 15, 18, 20, 22 y 28°C presento un aspecto suavemente aterciopelado, más escaso hacia la periferia, ligeramente zonado. A 30°C se observó un crecimiento micelial muy compacto. Crecimiento vigoroso a 25°C y cubrió a los 15 días el diámetro de la placa Petri, considerándose esta temperatura como la temperatura óptima. El micelio en el resto de las temperaturas no llegó a cubrir el diámetro de la placa a la 5ta y última semana que duró el experimento. A 32°C no hubo crecimiento micelial aun después de ser las placas puestas a 25°C durante una semana, por lo que fue considerada como su temperatura letal.

cepa 57-96. En todas las temperaturas el color del micelio fue blanco, de aspecto aterciopelado, no zonado. El micelio cubrió el diámetro de la placa a los 13 días a 25°C, que fue considerada la temperatura óptima y a los 20°C la cubrió a los 15 días. La temperatura de 32°C fue letal para esta cepa.

cepa 58-96. En todas las temperaturas el color del micelio fue blanco. A 15, 18, 20, 22 y 28°C de aspecto suavemente aterciopelado, ligeramente zonado hacia la periferia. A 25°C el micelio fue de aspecto ligeramente algodonoso, no zonado y con un crecimiento vigoroso por lo que esta temperatura fue considerada la temperatura óptima. La cepa cubrió el diámetro total de la placa de Petri a los 15 días a 25°C. A las temperaturas de 30 y 32°C no hubo casi crecimiento micelial (1,08 y 1,36 cm a la quinta semana de sembrado). Después de 5 semanas a estas temperaturas fueron puestas a 25°C durante una semana. Al término de este tiempo las placas a 30°C tuvieron crecimiento, pero en las de 32°C no lo hubo. La temperatura de 32°C se consideró letal para la cepa.

cepa 10-93. En todas las temperaturas el micelio fue de color blanco. A 15, 18, 20 y 22°C de textura aterciopelada y no zonada. A 25, 28, 30 y 32°C se hace algodonoso, con crecimiento vigoroso hacia la periferia. La mayor velocidad de crecimiento la desarrolló a 25°C, que fue la temperatura óptima para la cepa. Cubrió totalmente las placas a los 12 días a 25°C y a los 15 días a 20 y 22°C. En todas las temperaturas restantes hubo crecimiento pero al término del experimento no habían cubierto el diámetro de las placas. En el rango de temperaturas ensayadas no se encontró su temperatura letal, es una cepa resistente a altas temperaturas.

cepa 15-93. En todas las temperaturas el micelio fue blanco, con un comportamiento muy similar a la cepa 10-93. A 15, 18, 20 y 22°C, de textura aterciopelada, no zonada. Algodonosa, no zonada a 25, 28, 30 y 32°C. Crecimiento vigoroso hacia la periferia. A los 12 días el micelio cubría la placa a la temperatura de 25°C y a los 15 días a las temperaturas de 18 y 22°C. Aunque en las restantes temperaturas siempre hubo crecimiento, no llegaron a cubrir el diámetro de la placa Petri al finalizar el experimento (5 semanas después de inoculadas). En el rango de temperaturas ensayadas no se encontró su temperatura letal, por lo que la consideramos una cepa resistente a altas temperaturas.

Para el análisis del desarrollo micelial se consideró el diámetro que alcanzaron las colonias a los nueve días de crecimiento, momento en el cual las colonias se han desarrollado lo suficiente para mostrar sus características culturales y el diámetro de la placa no constituye un límite para el crecimiento del micelio.

Teniendo en cuenta los diámetros de las colonias a diferentes temperaturas (Fig. 1), se observa que todas las cepas estudiadas alcanzan el mayor diámetro de crecimiento a los a 25°C, lo que señala a ésta como la temperatura óptima en todos los casos.

Los resultados del ANOVA bifactorial (Tabla 3) muestran diferencias altamente significativas entre las cepas, entre las temperaturas ensayadas y en la interacción entre cepas y temperaturas.

La prueba de Duncan (Fig. 2A) muestra, para la interacción cepa-temperatura, un gran solapamiento entre sus medias, independientemente de las cepas estudiadas. No obstante, puede distinguirse un primer grupo para las mayores medias donde aparecen cinco de los seis tratamientos a 25°C, lo que corrobora lo observado como temperatura óptima para las cepas en la Fig. 1.

La prueba de Duncan realizada entre las medias del diámetro alcanzado por las cepas (Fig. 2B) señala la formación de tres grupos: el primero formado por las cepas 10-93, 15-93 y 48-96, con mayores diámetros de crecimiento y por tanto las mejores velocidades de crecimiento micelial en todas las temperaturas ensayadas. Estas tres cepas se consideran además las mejor adaptadas al rango de temperaturas ensayadas, pues llegan a desarrollarse a 32°C.

El segundo grupo lo constituyen las cepas 57-96 y 55-96, que desarrollan diámetros y velocidades medias. De estos dos grupos se distingue la cepa 58-96, por presentar los menores diámetros y desarrollar las menores velocidades de crecimiento a las temperaturas experimentadas. Las cepas del segundo y tercer grupo lo forman las cepas menos adaptadas a altas temperaturas, ya que no pudieron desarrollarse a 32°C.

Para corroborar estos resultados, basándonos no sólo en los diámetros de las colonias a las temperaturas ensayadas, sino también en caracteres cualitativos y cuantitativos de las cepas, se procedió a realizar un análisis de agrupamiento. El dendrograma (Fig. 3) resultante refleja la formación de dos grupos: el primero

comprende a las cepas 10-93 y 15-93, altamente correlacionadas entre sí, y separada de ellas la cepa 48-96; el segundo grupo formado por la cepas 55-96 y 58-96, correlacionadas entre sí, y separada de ellas la 57-96.

CONCLUSIONES

- ♦ Todas las cepas ensayadas desarrollan los mayores diámetros de crecimiento micelial a 25°C, considerada como la temperatura óptima.
- ♦ La temperatura de 32°C resultó letal para las cepas 55-96, 57-96 y 58-96, mientras las cepas 10-93, 15-93 y 48-96 por crecer en todas las temperaturas ensayadas se consideran las mejores adaptadas a nuestras condiciones climáticas.
- ♦ Las cepas 10-93 y 15-93 son las mejores para nuestros fines por desarrollar las mayores velocidades de crecimiento a 25°C.

Agradecimientos. Los autores agradecen al proyecto: "Iniciativa Darwin para los hongos del Caribe" por permitir la elaboración de este trabajo en sus computadoras.

REFERENCIAS

- Andrade, R. L. 1996. *Taller de producción de hongos comestibles*. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Campus Querétaro. (sin paginación).
- Calvo, D. y D. González. 1993. Caracterización tecnológica del cultivo de *Pleurotus ostreatus*. En *IV Simposio de Botánica*, Ciudad de la Habana, *Programa y Resúmenes*, p. 71.
- Calvo, D., S. Herrera y I. García. 1992. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en paja de arroz. *Tiempos de Ciencia* 26: 25-27.
- Chang, S. T. y P. G. Miles. 1987. Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China. *Mush. J. Tropics* 7: 31-37.
- Farr, D. F. 1983. Mushroom industry: diversification with additional species in the United States. *Mycologia*. 75 (2): 351-360.
- Guzmán, G., M. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velazco, y D. Guzmán-Dávalos. 1993. *El cultivo de los hongos comestibles*. Instituto Politécnico Nacional: México, D.F. 245p.
- Mata, G. 1992. The optimum percentage of water content in the mycelial growth of *Lentinus boryanus* (Fungi, Basidiomycotina) in five different woods. *Crypt. Bot.* 2: 387-390.
- Mata, G. y R. Gailán-Hernández. 1992. Utilización de pulpa de café mezclada con viruta de madera para el crecimiento micelial de *Lentinus boryanus* y *Lentinus edodes*. *Rev. Mex. Mic.* 8: 125-129.
- Mora, V., N. Bautista, L. Acosta, L. López, D. Portugal, y E. Montiel. 1993. Cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* sobre paja de avena, de arroz y olote de maíz. En *IV Simposio de Botánica*, Ciudad de la Habana, *Programa y Resúmenes*, p. 65.
- Morales, P. y D. Martínez-Carrera. 1990. Cultivation of *Lentinula edodes* in México. *Micol. Neotrop. Apl.* 3: 13-17.
- Morales, P., D. Martínez-Carrera, y W. Martínez-Sánchez. 1991. Cultivo de shiitake sobre diversos substratos en México. *Micol. Neotrop. Apl.* 4: 75-81.
- Ortiz, J. L., S. Herrera, T. Cabrera, y N. Blanco. 1993. Producción de una cepa de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., en la planta piloto del Instituto de Ecología y Sistemática. En: *Resúmenes del IV Simposio de Botánica*, Ciudad de La Habana. p. 61.
- San Antonio, J.P. 1981. Cultivation of the Shiitake mushroom, *Lentinus edodes*. *HortScience* 16: 151-156.

Tabla 1. Procedencia de las cepas de *Lentinus edodes* estudiadas. N°.- Número.

Origen de la cepa	Cepario donante	N°. Cepario donante	N°. Cepario IES
Somycel 4055, Francia	Lab. de Fitopatología, Fac. de Ciencias Agrarias de la Nacional del COMAHUE (FCAUNC), Argentina	FCA-105	48-96
París, Francia	FCAUNC, Argentina	FCA-165	55-96
Olympia Wa, USA	FCAUNC, Argentina	FCA-185	57-96
New York, USA	FCAUNC, Argentina	FCA-193	58-96
Central Bureau Voor Schimmel-cultures Bear Deft the Netherlands	Inst. Nacional de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT) Cuba	27-47	10-93
Japón	Dpto. Hongos, Inst. Ecología, Jalapa México	IE-40	15-93

Tabla 2. Caracteres cualitativos y cuantitativos para el análisis del dendrograma.

1- Diámetro de las colonias a 15 °C, a los 9 días de inoculadas	aterciopelado (3)
2- Textura del micelio a 15 °C:	suavemente aterciopelado (2)
algodonoso (4)	compacto (1)
aterciopelado (3)	sin crecimiento (0)
suavemente aterciopelado (2)	11- Diámetro de las colonias a 28 °C, a los 9 días de inoculadas
compacto (1)	12- Textura del micelio a 28 °C:
sin crecimiento (0)	algodonoso (4)
3- Diámetro de las colonias a 18 °C, a los 9 días de inoculadas	aterciopelado (3)
4- Textura del micelio a 18 °C:	suavemente aterciopelado (2)
algodonoso (4)	compacto (1)
aterciopelado (3)	sin crecimiento (0)
suavemente aterciopelado (2)	13- Diámetro de las colonias a 30 °C, a los 9 días de inoculadas
compacto (1)	14- Textura del micelio a 30 °C:
sin crecimiento (0)	algodonoso (4)
5- Diámetro de las colonias a 20 °C, a los 9 días de inoculadas	aterciopelado (3)
6- Textura del micelio a 20 °C:	suavemente aterciopelado (2)
algodonoso (4)	compacto (1)
aterciopelado (3)	sin crecimiento (0)
suavemente aterciopelado (2)	15- Diámetro de las colonias a 32 °C, a los 9 días de inoculadas
compacto (1)	16- Textura del micelio a 32 °C:
sin crecimiento (0)	algodonoso (4)
7- Diámetro de las colonias a 22 °C, a los 9 días de inoculadas.	aterciopelado (3)
8- Textura del micelio a 22 °C:	suavemente aterciopelado (2)
algodonoso (4)	compacto (1)
aterciopelado (3)	sin crecimiento (0)
suavemente aterciopelado (2)	17- Tiempo en que cubrió las primeras placas a la temperatura de 25 °C:
compacto (1)	a los 12 días de inoculadas (1)
sin crecimiento (0)	a los 15 días de inoculadas (0)
9- Diámetro de las colonias a 25 °C, a los 9 días de inoculadas	18- Temperatura letal:
10- Textura del micelio a 25 °C:	de 32 °C (1)
algodonoso (4)	no está en el rango ensayado (0)

Tabla 3. Resultados del ANOVA bifactorial. F. (fuente de variación), g.l. (grados de libertad), S.C. (suma de cuadrado), C.M. (cuadrado medio) y F (valores de significación)

F. de variación	g.l.	S.C	C.M.	F
Cepas (A)	5	167,1748	33,43496	326,394***
Temperaturas (B)	7	775,4273	110,7753	1081,396***
(A x B)	35	48,92823	1,397949	13,647***
Error	192	19,66797	0,1024473	
Total	239	5162,88		

***- altamente significativo para $p < 0,001$

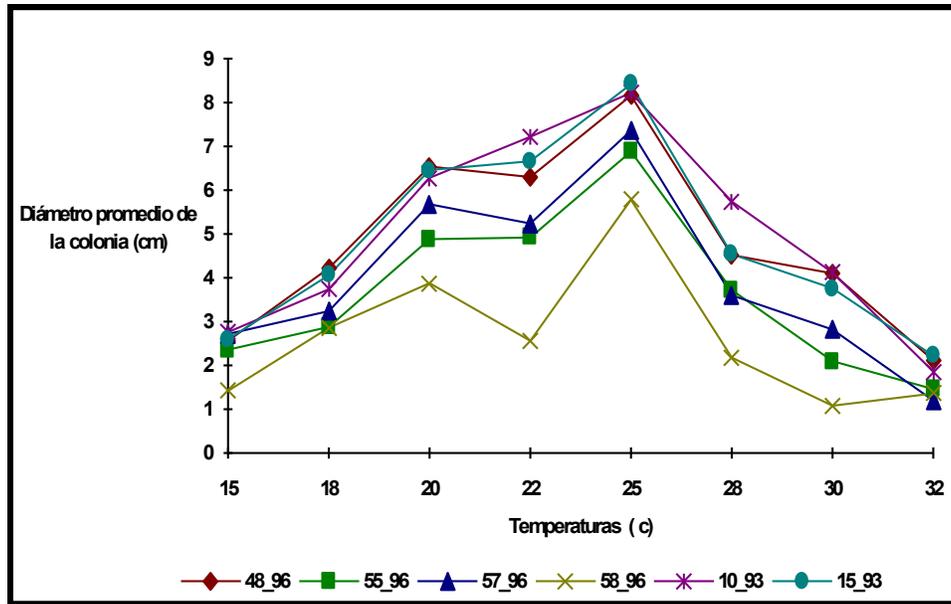


Fig. 1. Diámetro promedio de las colonias de las seis cepas de *Lentinus edodes* en agar-trigo-dextrosa a diferente temperaturas a los 9 días de inoculadas.

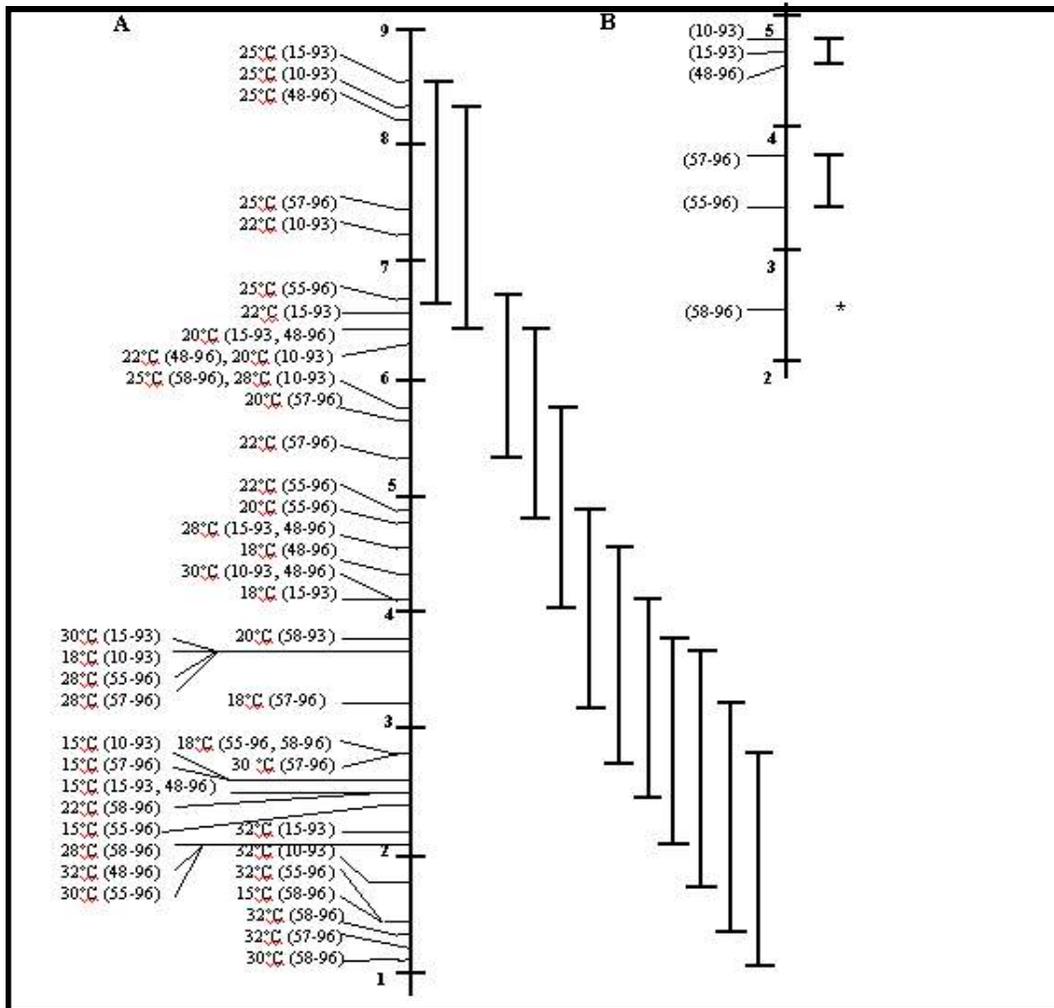


Fig. 2. Prueba de Duncan para la A) interacción y B) cepas.

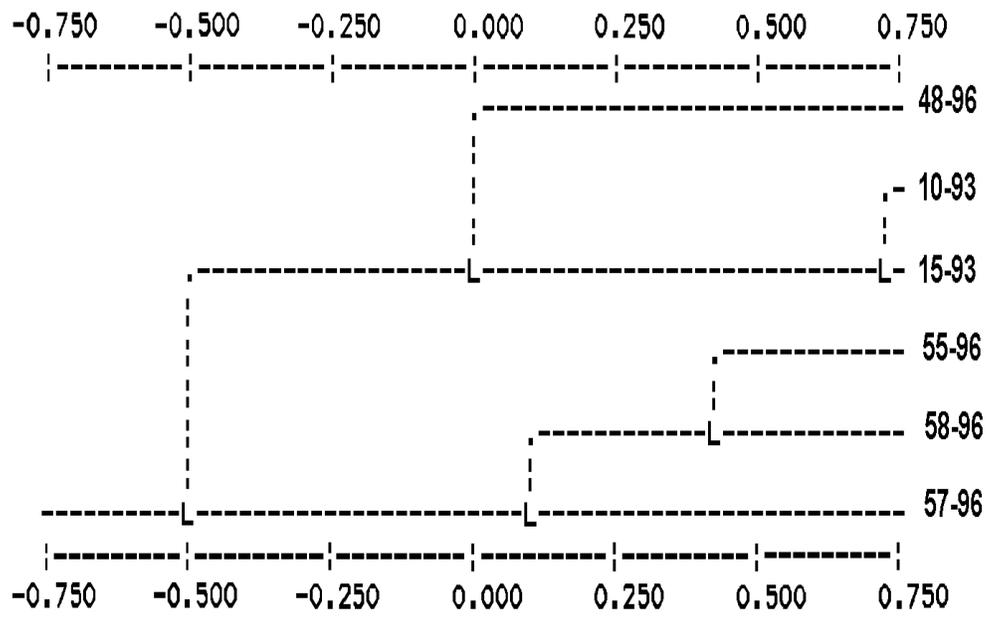


Fig. 3. Dendrograma confeccionado con las seis cepas de *Lentinus edodes* ensayadas.