

Evaluación de diferentes sustratos para inóculo de *Lentinus edodes* (Berk.) Singer (Basidiomycetes, Polyporaceae)*

Nelis BLANCO HERNÁNDEZ**, Sara HERRERA FIGUEROA**,
Roberto PONS PENABAD** y Jorge L. ORTIZ MEDINA**

ABSTRACT. The edible mushrooms can be used in the man's feeding, always being a healthy, abundant and nutritious food. Considering the disponibility of lignocelulósic wasres and the existent infrastructure in the Instituto de Ecología y Sistemática of the Ministerio de la Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente for the culture, the edible species *Lentinus edodes* (Berk.) Singer two strains (10-93 y 15-93) are evaluated in 4 supports of span, using as substrates wheat grains (*Triticum vulgare* L.), and the sawdusts of *Picea abies* (L.) Karst., *Aucoumea klaineana* Pierre and *Terminalia ivorensis* A. Chef. enriched with 20% of of wheat peel and 10% of wheat grains. The results are analyzed statistically obtaining highly significant defferences among the assayed substrates.

KEY WORDS. *Lentinus*, eatable mushroom

INTRODUCCIÓN

Lentinus edodes (Berk.) Singer ocupa el segundo lugar en la producción mundial de hongos comestibles. La tendencia generalizada al aumento de su consumo es debido a sus características culinarias y medicinales, determinadas por su delicioso sabor, agradable aroma y contenido de proteínas, que en base seca varía de 10 a 29% y contiene los 9 aminoácidos esenciales, principalmente leusina y lisina, deficitarios éstos en los granos comestibles. Se considera un alimento bajo en calorías, con contenido de carbohidratos de 47 a 78%, minerales de 2,6 a 6,5% y ricos en calcio, fósforo, hierro, sodio y potasio (Andrade, 1996; Przybylowicz y Donoghue, 1990).

Hamuro *et al.* (1974) y Tatsuziro (1974), investigadores japoneses, han certificado las propiedades de *Lentinus edodes* como antitumoral, antiviral, para la disminución del colesterol, para mejorar la circulación, bajar la presión arterial, y por poseer un alto contenido de vitamina D₂, inducido por el secado. Además contiene polisacáridos con propiedades antitumorales y anticancerígenas (Prybylowicz y Donoghue, 1990; Khan *et al.*, 1991; Fausto, 1994; Andrade, 1996). Además derivada del cultivo micelial de *Lentinus edodes*, ha sido usada eficientemente en el tratamiento contra el SIDA una sustancia llamada LEM-HT, con la propiedad de inducir la formación de interferón, controlar la reducción de linfocitos T, y estimular la actividad inmunológica de producción de anticuerpos en los

pacientes infestados (Iizuka *et al.*, 1987). También inhibe la proliferación del virus herpes simple, se ha usado como pesticida contra la infección del virus del tabaco y ha sido reportado con efecto clínico contra el virus de la hepatitis tipo B. JIS-18 es un derivado de LEM por fraccionamiento y purificación que puede ser aplicado externamente o por vía oral con la misma actividad medicinal de LEM (Koga, 1990).

En Cuba existe la disponibilidad de grandes cantidades de residuos lignocelulósicos, como resultado de la actividad agroindustrial y desechos forestales (Calvo *et al.*, 1992). Entre éstos podemos citar la paja de caña de azúcar, de arroz, rastrojo de frijol, pulpa de café y aserrines, los cuales constituyen desechos que inciden en la contaminación ambiental como resultado de su acumulación y desuso. En el presente trabajo se ensayan dos cepas de *Lentinus edodes* sobre cuatro soportes para inóculo con el objetivo de determinar la mejor variante para producir de manera masiva inóculo con el propósito de implantar en Cuba el cultivo de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos cepas de *Lentinus edodes*, depositadas en la Colección de Recursos Genéticos Fúngicos (CRGF) del Departamento de Micología del Instituto de Ecología y Sistemática del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (Tabla 1).

Tabla 1. Procedencia de las cepas de *Lentinus edodes*.

ORIGEN de la CEPA	CEPARIO DONANTE	Nº CEPARIO DONANTE	Nº CEPARIO IES
Central Bureau Voor Schimmel-cultures Bear Deft the Netherlands	Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical (INIFAT) Cuba	27-47	10-93
Japón	Departamento de Hongos, Instituto de Ecología A.C., Jalapa, México	IE-40	15-93

*Manuscrito aprobado en Marzo de 2009.

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

Para conocer el o los sustratos posibles a utilizar como inóculo en el cultivo de esta especie, se ensayaron cuatro variantes. El trigo al 100% y una humedad del 36%, que constituye uno de los granos más empleados como inóculo en el cultivo de hongos comestibles y el aserrín de tres maderas importadas que se encuentran disponibles en los aserraderos de Ciudad de la Habana: *Picea abies* (L.) Karst., *Aucoumea klaineana* Pierre y *Terminalia ivorensis* A. Chev., todos enriquecido con salvado de trigo (20%) y trigo (10%) y una humedad del 60%, según recomiendan para esta especie de hongo Mori *et al.* (1976), Andó (1976), Han *et al.* (1981), Auetragul (1984), Douglas y Royse (1986), Chang y Miles (1989) y Mata *et al.* (1990).

Los sustratos fueron envasados sin llenarlos, en frascos de boca ancha de 120 x 160 mm. Se esterilizaron dos veces en autoclave a 120°C y 1,2 atmósferas, durante una hora con un intervalo de 24 horas. Se inocularon con micelio en activo crecimiento de las cepas seleccionadas en agar-trigo-dextrosa. Se incubaron durante cinco semanas a 25°C en incubadora refrigerada Gallenkamp, a razón de cinco frascos por tratamiento. Semanalmente se midió el crecimiento micelial, tomándose como medida la altura (en cm) a que iba cubriendo el micelio en el frasco.

Tabla 2. Resultados del ANOVA bifactorial.

F. de variación	g.l.	S.C	C.M.	F
Cepas (A)	1	4410	4410	0,194n.s.
Sustrato (B)	3	1145860	381953,4	16,765***
(A x B)	3	243650	81216,66	3,565*
Error	32	729040	22782,5	
Total	39	2,02294		

Símbolos:

n.s - no significativo

** - muy significativo para $p < 0,01$

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

Sin embargo, en los soportes de inóculo a partir de materiales ricos en celulosa y lignina, de más lenta asimilación y degradación por parte del hongo debido a sus complejas estructuras, el hongo puede conservarse por mayor tiempo.

El comportamiento de ambas cepas fue similar sobre el trigo, cubriéndolo a la quinta semana. Aunque este grano se recomienda como un sustrato idóneo para la preparación de inóculo de diferentes hongos comestibles (Streeter *et al.*, 1981; Stamets y Chilton, 1983), en nuestro ensayo se observó que la mayoría de los frascos utilizados se contaminaron. La disponibilidad de nutrientes del grano, en particular carbohidratos, favorece el desarrollo de microorganismos.

Actualmente se utilizan con mayor frecuencia las mezclas de material lignocelulósico, enriquecido con cereales, fundamentalmente trigo, mijo y maíz, entre otros, en un bajo porcentaje (10-20%), para aumentar la riqueza del sustrato sin afectar el tiempo de conservación del mismo una vez colonizado por el hongo, a la vez que disminuir la contaminación por microorganismos.

Para el análisis estadístico de los datos se verificó la normalidad de los datos mediante la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov - Smirnov y la homogeneidad de varianza a través de la prueba de Bartlett.

Los datos correspondientes al crecimiento micelial de las cepas seleccionadas sobre los cuatro sustratos ensayados como posibles inóculos a la segunda semana 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.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ANOVA bifactorial (Tabla 2) señaló diferencias significativas entre los soportes y la interacción de cepas x soporte a la segunda semana de inoculación, no así entre las cepas. Resultados similares se obtuvieron en las respuestas de las cepas en análisis anteriores.

Respecto a los sustratos, mientras más rico sea el soporte de inóculo en azúcares y almidón, como ocurre en los cereales, más rápido crecerá el micelio del hongo, pero su rápida asimilación por parte del hongo (Herrera, 1992) impide su almacenamiento por un período más largo.

La prueba de Duncan (Fig. 1) mostró un solapamiento entre las medias del crecimiento micelial por los sustratos ensayados como inóculo. Como una de las causas de la variación no resultó significativa, en nuestro caso las cepas, se empleó el método de cálculo ajustado (Lerch, 1977) para formar una nueva varianza del error y elevar la seguridad de la significación. Aun así, el resultado del cálculo normal no cambió debido a las pequeñas diferencias entre los datos originales.

No obstante, en la prueba de Duncan, se distingue un grupo constituido por los sustratos de *Aucoumea klaineana* enriquecida, para las dos cepas empleadas, y de trigo sólo para la 10-93, sobre los sustratos donde el crecimiento fue más vigoroso y rápido (Tabla 3). Debe notarse, sin embargo, que el crecimiento sobre el trigo fue afectado por la contaminación ya mencionada, lo que limitó su empleo como inóculo para el cultivo. El crecimiento de ambas cepas, sobre la mezcla de *Picea abies*, fue el más lento porque al término del experimento todavía no había colonizado el sustrato.

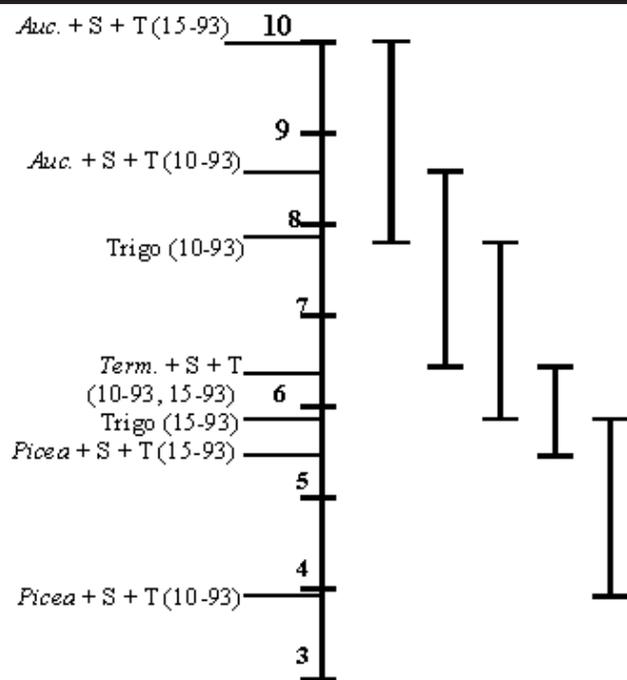


Fig. 1. Prueba de Duncan para los diferentes inóculos ensayados en las dos cepas seleccionadas.

Tabla 3. Crecimiento de las cepas 10-93 y 15-93 sobre diferentes soportes para inóculo (altura en cm).

SOPORTE / SEMANA	10-93					15-93				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Granos de Trigo	3,7	7,9	9,7	9,7	10	2,6	5,7	8,4	9,1	9,4
<i>Picea abies</i> +S+T	2,1	3,7	5,8	6,7	6,7	2	5,4	7,5	7,6	7,9
<i>Aucoumea klaineana</i> +S+T	4,2	9	9,8	10	10	4,3	10	10	10	10
<i>Terminalia ivorensis</i> +S+T	2,3	6,3	9,6	10	10	3,1	6,3	8,2	8,5	10

CONCLUSIONES

- ♦ No existen diferencias significativas entre las cepas 10-93 y 15-93 por lo que ambas pueden ser usadas en el cultivo de la especie *Lentinus edodes*.
- ♦ Las diferencias altamente significativas entre los substratos determina que no todos deben ser recomendados para su uso.
- ♦ *Aucoumea klaineana* enriquecida con 20% de salvado de trigo y 10% de trigo es la mejor combinación de substrato para inóculo.
- ♦ El trigo por su propensión a contaminarse y *Picea abies* por sus pobres resultados, no deben ser usados como inóculos.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido posible gracias al financiamiento del Programa Ramal Sistemática y Colecciones Biológicas, su conservación, mantenimiento y exhibición, del CITMA, Cuba, y del Consejo Inter-universitario de la Comunidad Francesa de Bélgica: Cooperación Universitaria para el Desarrollo (proyecto CIUF-CUD-MUCL- Cuba) así como de la Iniciativa Darwin, del Reino Unido.

REFERENCIAS

Andó, M. 1976. Fruit body formation of *Lentinus edodes* (Berk.) Singer on the artificial media. *Mush. Sci.* 9: 415-422.

- Andrade, R.L. 1996. *Taller de producción de hongos comestibles*. Instituto Tecnológico y de Estudios superiores de Monterrey, Campus Querétaro, México, (s.p.).
- Auetragul, A. 1984. The highest aspects for cultivating oak mushrooms (*Lentinus edodes*) in plastic bags. *Mushrooms newsletter for the Tropics* 6 (2): 11-15.
- Calvo, D., S. Herrera, e I. García. 1992. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en paja de arroz. *Tiempos de Ciencia*. 26: 25-27.
- Chang, S.T., y P.G. Miles. 1989. *Edible mushrooms and their cultivation*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 345 pp.
- Diehle, D.A., y D.J. Royse. 1986. Shiitake cultivation on sawdust: evaluation of selected genotypes for biological efficiency and mushroom size. *Mycologia* 78: 929-933.
- Fausto, G.S. 1994. Cultivo del hongo de encino (*Lentinus* spp.) sobre una mezcla de bagazo de maguey tequilero y de caña de azúcar. Tesis profesional para obtener el título de Licenciado en Biología, Instituto de Xalapa, México, 36 pp.
- Hamuro, J., I. Maeda, F. Fukoka, y G. Chichara. 1974. Antitumor polysaccharides, lentinan and pachymaran as immunopotentiators. *Mush. Sci.* 10 (1): 477-487.
- Han, Y.N., W.T. Useng, L.C. Chen, y S. Chang. 1981. Psychology and ecology of *Lentinus edodes* (Berk.) Singer. *Mush. Sci.* 11 (2): 623-658.
- Herrera, S. 1992. *El cultivo de Pleurotus comestible*. Apoyos Didácticos N° 23, Oaxaca, México, 62 pp.
- Iizuka, C., N. Shokukin, N. Chiba-Ken, y M. Hiroaki. 1987. *Antiaids drug extracted from Lentinus edodes*. European Patent Application N° 0 292 601 A1.
- Khan, S.M., J.H. Mirza, y M.A. Khan. 1991. Studies on Shiitake mushrooms (*Lentinus edodes* (Berk.) Pegler). En: *Science and cultivation of edible fungi*, Maher (ed). Balkema, Rotterdam, 567-572.
- Koga, J., L. Karibadal, K. Nishiku, J.F. Hyogo, I. Ohashi, Ch. Noda, H. Hirata, H. Tottori, y O. Sennan-gun. 1990. *Antiviral fraction of aqueous Lentinus edodes extract*. European Patent Application N° 0437 346 A1.
- Lerch, G. 1977. *La experimentación en las ciencias biológicas agrícolas*. Editorial Científico-Técnica, La Habana, 298-302.
- Mata, G.; D. Salmenes, y G. Guzmán. 1990. Cultivo del shiitake japonés, *Lentinus edodes* en bolsas con viruta de madera. *Rev. Mex. Mic.* 6: 245-251.
- Mori, K.; S. Fukai, y A. Zennyozzi. 1976. Hybridization of shiitake (*Lentinus edodes*) between cultivated strains of Japan and wild strains grown in Taiwan and New Guinea. *Mush. Sci.* 9 (1): 391-403.
- Przybyłowicz, P., y J. Donoghue. 1990. *Shiitake growers Handbook*. Kendal/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa, 437 pp.
- Stamets, P., y J.S. Chilton. 1983. *The mushroom cultivator*. Agarikon Press, Olympia, Washington, 41-45.
- Streeter, C.T., K.E. Conway, y W.G. Horn. 1981. Effect of *Pleurotus ostreatus* and *Erwinia carotovora* on wheat straw digestibility. *Mycologia*. 73(6): 1040-1049.
- Tatsuziro, I. 1978. *Cultivation of Lentinus edodes*. En: *The biology and cultivation of Edible Mushrooms*. Ed. S.T. Chang. Cap. 22: 461.