

PRODUCCIÓN DE *Lentinula edodes* EN CONDICIONES AMBIENTALES DEL MUNICIPIO DE QUIBDÓ, DEPARTAMENTO DEL CHOCÓ, COLOMBIA

Lentinula edodes PRODUCTION UNDER ENVIRONMENTAL CONDITIONS IN QUIBDÓ MUNICIPALITY, CHOCÓ, COLOMBIA

JOSÉ ALEXANDER BONILLA FLÓREZ¹, ALICIA RÍOS HURTADO¹, HENRY HERNÁN MEDINA ARROYO²

RESUMEN

Objetivo: El objetivo de este trabajo fue estandarizar una metodología que permita la producción del hongo *Lentinula edodes* en condiciones naturales y ambientales en el municipio de Quibdó en el departamento del Chocó, Colombia, utilizando sustratos orgánicos regionales.

Metodología: Se evaluó una cepa viable de *Lentinula edodes* (Shiitake), a partir de dos medios de cultivo: Malta-Agar-Sacarosa (MAS) y Papa-Agar-Sacarosa (PAS). La semilla se obtuvo empleando como medio de soporte, aserrín de maderas varias y alpiste en proporción 2:1. Para la producción de cuerpos fructíferos se utilizaron tres sustratos orgánicos: aserrín (A), aserrín: hoja de maíz: residuos de leguminosas (B) y aserrín: hojas de plátano: residuos de leguminosas (C).

Resultados: Los mejores resultados se presentaron en PAS, con un índice promedio de crecimiento micelial de 1.16, mientras que MAS presentó un crecimiento de 0.94, valor considerado normal para la obtención de micelio en presencia o ausencia de luz; los análisis estadísticos para ($p < 0.05$) muestran que no hay diferencia significativa entre los medios de cultivo empleados. La activación del micelio en la semilla se observó el tercer día, después de la inoculación, proceso que termina el día 30 con la colonización del cien por ciento del medio de soporte; el índice promedio de crecimiento micelial en esta fase del proceso fue de 1.31. El tiempo de colonización en los diferentes sustratos osciló entre 50 a 60 días aproximadamente, asimismo, los índices promedios de crecimiento micelial para A, B y C fueron, 0.8, 2.1 y 0.53, los análisis estadísticos para ($p < 0.05$) muestran que existe diferencia significativa para los sustratos utilizados.

Conclusión: La aptitud de los sustratos para el cultivo se evaluó a partir de la relación C/N (carbono/nitrógeno), siendo (247.55 A, 92.20 B y 83.80 C). Por cada 500 gramos de peso húmedo de sustrato se obtuvieron en promedio 136.2 gramos de seta, lo que corresponde a una eficiencia biológica de 37%.

Palabras clave: Shiitake; Producción; Medios de cultivo; Micelio; Semilla; Índice de crecimiento micelial; Sustratos; Setas.

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to standardize a methodology for the production of mushroom *Lentinula edodes* in natural and environmental conditions in the municipality of Quibdó in the department of Chocó, Colombia, using regional organic substrates.

Methodology: It was evaluate one viable strains from *Lentinula edodes* (Shiitake), based on two culture medias: Malta-Agar-Sacarosa (MAS) and Papa-Agar-Sacarosa (PAS). The seed was obtained by using as support sawdust from different kind of woods and birdseeds in proportion 2:1. in the fruit bodies production were used three organic substrates: sawdust (A), sawdust, leaves from corn on the cob, leguminous waste (B); and sawdust, leaves from banana trees, leguminous waste (C).

Results: The best results were acquired from PAS with a mycelium growth of 1.16 average indices, while the MAS registered a growth of 0.94, amount considered normal, in order to obtain mycelium in the presence or absence of light, the statistic analyses for ($p < 0.05$) show that between the culture medias used do not exist significative difference. The mycelium activation was evident at the third day, after the inoculation process which finishes with the colonization of the one hundred per cent of the support media; the mycelium growth average indices in this stage was 1.31. the colonization time in the different kind of substrates fluctuate between 50 and 60 days approximately, likewise, the mycelium growth average indices for (A, B an C) were, 0.8, 2.1 and 0.53, the statistic analyses for ($p < 0.05$) show which exists significative difference for the used substrates.

1. Grupo de Investigación Valoración y Aprovechamiento de la Biodiversidad, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia. e-mail: jabf1978@yahoo.es aliriosh@yahoo.es
2. Grupo de Investigación Ciencia Animal y Recursos Agroforestales, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia. e-mail: hehemear@yahoo.com

Fecha de recibido: Septiembre 19, 2010

Fecha de aprobación: Marzo 15, 2011

Conclusions: The potential of the substrates for the cultivation was evaluated taking into account the relation N/C (Carbono/Nitrogeno) obtaining as results (247.55 A, 92.20 B and 83.80 C). Per each 500 gram of humid weight from substrate were obtained 136.2 strains gram in average which corresponds to a biological efficiency of 37%.

Keywords: Shiitake; Production; Culture media; Mycelium; Seed; Mycelium growth indices; Substrates; Strains.

INTRODUCCIÓN

El departamento del Chocó, por sus condiciones medioambientales especiales, caracterizadas por alta pluviosidad, humedad relativa y temperatura, se convierte en hábitat ideal para el crecimiento en condiciones naturales de hongos setas con diferentes usos, ya sean estos alimenticios, comestibles, medicinales o indicadores de calidad ambiental, lo que ha sido estudiado y evaluado en especies como: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor caju*, *Pleurotus djamor*, *Ganoderma lucidum*, *Auricularia aurícula*, *Lentinus crinitus*, *Schizophyllum commune* entre otras. *Lentinula edodes*, es una especie introducida; su textura, cualidades nutricionales y medicinales han permitido en los últimos años su cultivo que se ha ido extendiendo a Europa y Estados Unidos (Chang y Miles 1999).

Cerca de 6'160,800 toneladas métricas por año es la producción mundial de hongos setas entre comestibles y medicinales, el crecimiento anual de la producción, se calcula en 5%. La especie que más se consume sigue siendo el champiñón común, seguido por shiitake (*Lentinula edodes*) y el hongo Ostra (*Pleurotus spp*) (Medina y Cisterna 2005).

Lentinula edodes es un hongo xilófago, muy apreciado para el consumo como alimento, carnoso, grande, con perfil nutritivo bueno y beneficios medicinales científicamente demostrados; posee aminoácidos como *Leucina* y *Lisina*, deficientes en muchos alimentos; es además excelente fuente de vitamina B12 (Leatham 1982).

En las últimas dos décadas, científicos han aislado de este hongo, sustancias que pueden jugar un papel en la cura y prevención de enfermedades del corazón y algunos tipos de cáncer (Leatham 1982). Para su producción se pueden utilizar restos de cosecha (fríjol, cebada, maíz y polvillo de arroz), restos de cultivos industriales (bagazo de caña, cáscara de café, entre otros) y restos agroindustriales como el aserrín de diferentes especies madereras (*Amburana cearensis*, *Brosimum sp.*, *Cedrella sp.*, *Cedrelinga cate-naeformis*, *Eucaliptus sp.*, *Hura crepitans*, *Ormosia sp.*, y *Swietenia macrophylla*, entre otras). Estos sustratos se embolsan y esterilizan antes de ser inoculados con micelio de *L. edodes* crecido en granos de trigo (Herrera 2005). De manera similar, Ortiz y López (2004) manifiestan que el cultivo del Shiitake se realiza esterilizando el sustrato, compuesto comúnmente por aserrín de encino combinado con algún producto rico en nitrógeno como el salvado de trigo o arroz.

La actividad de producir este alimento se ha propuesto como una alternativa para solucionar problemas de seguridad alimentaria, constituyéndose en una forma de aprovechamiento de residuos orgánicos, que por su mala disposición causan contaminación al medio ambiente. Esto constituye un emprendimiento productivo rentable e interesante para incrementar la producción de un alimento de aceptable valor proteico (Castillo 2008; Medina 2006).

El propósito este trabajo fue estandarizar una metodología que permita la producción del hongo *Lentinula edodes* en condiciones naturales y ambientales del municipio de Quibdó en el departamento del Chocó, Colombia, utilizando sustratos orgánicos regionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio. Los trabajos

se realizaron en el laboratorio de Producción Limpia y Agroindustria de la Universidad Tecnológica del Chocó «Diego Luis Córdoba», ubicada en el área urbana del municipio de Quibdó, cabecera municipal y capital del departamento del Chocó, región natural de la costa pacífica colombiana a 43 msnm, sobre la margen derecha del río Atrato. Las variables ambientales como temperatura, humedad relativa, evaporación y precipitación registran valores de 28°C, 88%, 985.7 mm/año y entre 5500 y 10,000 mm anuales, respectivamente. El trabajo se realizó en cuatro etapas:

Primera etapa: Obtención de micelio. La cepa de *Lentinula edodes* fue reproducida (replicada) en dos medios de cultivo: Malta-Agar-Sacarosa (MAS) y Papa-Agar-Sacarosa (PAS), utilizando la metodología reportada por Ríos *et al.* (2002). La incubación se realizó en condiciones de luz y oscuridad (24 horas al día para ambas condiciones) a temperatura variable entre 21°C y 26°C ± 1°C, se tomaron registros diarios durante 18 días. El crecimiento se determinó a través de escala de colonización preestablecida, comprendida entre 0 y 3 según lo reportado por Ríos *et al.* (2002); esta comprendió mediciones con un pie de Rey graduado a las cajas de Petri que contenían el micelio; se comparó el valor de la escala con la densidad observada del micelio (baja, regular, alta y muy alta), color, forma de crecimiento y comportamiento de la cepa.

Segunda etapa: Preparación de la semilla o cultivo madre. Se utilizó como sustrato mezcla de aserrín de varias maderas y alpiste en proporción de 2:1. El aserrín se obtuvo en los aserraderos de la región, en donde se encuentra en abundantes cantidades; debido a la mala disposición que se le da, en muchos casos este material es causante de contaminación ambiental en ríos y quebradas. También se utilizaron bolsas de polipropileno de 250 g, anillos de PVC y motas de algodón.

El alpiste se lavó y se dejó en remojo durante una hora aproximadamente, una vez transcurrido este tiempo se mezcló con el aserrín. Después se adicionó agua hasta obtener un sustrato homogéneo en humedad. Este se empacó en bolsas de polipropileno de 250g, se pesaron, se colocó un anillo de PVC en la parte superior de cada bolsa y se taparon con una mota de algodón. El material se esterilizó en un autoclave que se cerró herméticamente, revisando la válvula de presión, a una temperatura superior a los 100°C y con una presión de 15 lb durante un tiempo de 60 minutos.

Inoculación e incubación. Se tomó de las cajas de Petri una porción del micelio de 1cm², con una pinza de siembra; esta porción se colocó en la parte superior de la bolsa que contenía el material ya esterilizado (semilla), se cerró con el anillo de PVC y se tapó con una mota de algodón, luego se llevó la semilla al cuarto oscuro para que iniciara su proceso de incubación. Este procedimiento se realizó en un lugar acondicionado especialmente para este proceso. La incubación se efectuó en un cuarto oscuro, con las condiciones adecuadas para tal efecto, dichas condiciones incluyeron limpieza de las paredes y el piso con hipoclorito. En este lugar se llevó a cabo diariamente la toma de registro para descartar cualquier contaminación o en su efecto para evaluar el progreso de la colonización.

Tercera etapa: Composición proximal de los sustratos orgánicos. Se utilizaron tres sustratos orgánicos para el cultivo de la seta así:

- Un sustrato orgánico puro «aserrín de maderas varias» (A).
- Sustrato mezcla «aserrín: hoja de maíz: residuos de leguminosas, en proporción 60:30:10» (B).
- Sustrato mezcla «aserrín: hoja de plátano: residuos de leguminosas, en proporción 60:30:10» (C).

Los análisis proximales realizados a los sustratos

orgánicos se efectuaron por triplicado mediante digestión del material en una mezcla de ácido nítrico y perclórico sobre material en base seca; se reportó el contenido de humedad, lignina, celulosa, macro y micro nutrientes presentes en las muestras; en todos los casos, las técnicas que se emplearon corresponden a las descritas en las respectivas normas ICONTEC (1998) y AOAC (1995).

Cuarta etapa: Obtención de cuerpos fructíferos. Las muestras de estudio (A, B y C) las constituyeron 22 bolsas de 500 g en cada uno de los tres sustratos. Las materias primas que se utilizaron como sustratos, se molieron, luego se les estabilizó la humedad, se homogenizó, se pesó, se empacó en bolsas de polipropileno, estas se taparon con motas de algodón y un anillo de PVC, y posteriormente fueron esterilizadas. Los sustratos se esterilizaron en autoclave durante 30 minutos a 15 lb de presión. Las bolsas se inocularon (sembrado) con la respectiva semilla certificada, producida y conservada asépticamente en el laboratorio de Producción Limpia y Agroindustria de la Universidad Tecnológica del Chocó. En este procedimiento, se utilizan 10 gramos de semilla para 500 gramos de sustrato, además, en la inoculación se consideraron condiciones asépticas. Luego, las bolsas se incubaron en cuarto oscuro (temperatura entre 24°C y 28°C y humedad relativa de 90-95%), se hicieron revisiones diarias y registros de observación en las respectivas tablas.

Una vez se terminó el proceso de incubación, se trasladaron las bolsas a la caseta de fructificación. Estas se sumergieron en agua fría para promover el desarrollo de cuerpos fructíferos según lo recomendado por Tokimoto (2005) y posteriormente se roció agua dependiendo de las condiciones ambientales de acuerdo con Royse (1985). Al iniciar el proceso de fructificación, en el que se hizo evidente la aparición de los primordios, se retiró la bolsa de plástico. La co-

secha se inició una vez que las setas alcanzaron el tamaño ideal para su corte. Cuando las setas alcanzaron la madurez deseada, se cortaron en la base del pie con un bisturí, teniendo el cuidado de no cortar el micelio o parte profunda de la seta, luego se pesaron, se midieron, se observaron las características físicas, se empacaron y almacenaron en refrigeración, con el fin de conservarlas.

Análisis estadístico. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño completamente aleatorizado con un factor fijo y balanceado. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Además del análisis de varianza se efectuó la prueba de diferencia de medias de Duncan; el programa con el que se analizó la información fue Statgraphic plus 5.0. Las variables de respuesta estudiadas fueron: índice de crecimiento micelial para obtención de cepas, semillas y sustratos; eficiencia biológica, número de primordios y gramos de setas para los sustratos.

RESULTADOS

Obtención de micelio haciendo uso del cultivo de tejido. La colonización del micelio se observó entre el cuarto y sexto día. El índice de crecimiento micelial promedio en luz y oscuridad fue de 1.16 y el tiempo del micelio en invadir completamente en *PAS* y *MAS* fue de 12 días.

Incubación y medición del crecimiento micelial. En cuanto a los medios de cultivo los mejores resultados se obtuvieron en *PAS*, con un índice promedio de colonización de 1.16; el medio *MAS*, presentó un índice de crecimiento óptimo (0.94), lo que está dentro de los promedios normales tanto en luz como en oscuridad. El análisis estadístico no muestra diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de *PAS* y *MAS* (Tabla 1).

Obtención de la semilla. La activación prome-

Tabla 1
Índice de crecimiento micelial promedio y tiempo de colonización
en medios de cultivo para *Lentinula edodes*

Medios de cultivo	Día de inicio de colonización	Día final de colonización	Índice promedio de crecimiento micelial
PAS	6	18	1,16
MAS	4	18	0,94

dio del micelio se observó al tercer día, colonizando totalmente el día 30, el índice de colonización fue de 1.31, el micelio se observó de forma densa.

Inoculación e incubación. Se inocularon 28 bolsas de las cuales 18 colonizaron completamente sin ningún problema de contaminación. El valor medio para el índice de colonización del micelio en cuarto oscuro para la producción de semilla fue 1.03 y el CV=0.6%.

Caracterización de sustratos orgánicos. La caracterización realizada a las mezclas permitió determinar la aptitud para el cultivo. Poseen un importante contenido de carbono, para A, B y C respectivamente, al igual que un contenido considerable de lignina y celulosa imprescindibles en el crecimiento de la seta, se detectaron cantidades considerables de macro y micro nutrientes necesarios para el cultivo de la seta. Los valores de pH están en los rangos en que crecen estas especies de setas; para el sustrato B en 6.73 y sustrato C en 7.51. Los valores de lignina y celulosa se encuentran dentro de los rangos normales en las mezclas (Tabla 2).

Obtención de cuerpos fructíferos. El tiempo de colonización en los diferentes sustratos oscila entre 50 a 60 días aproximadamente. Los índices de crecimiento micelial en cuarto oscuro para *Lentinula edodes* en los sustratos A, B y C, fueron 0.79, 2.07 y 0.53 respectivamente. El análisis estadístico mediante la prueba de Duncan presentó diferencia estadísticamente significati-

va entre los sustratos A, B y C, con un mayor valor para el sustrato B respecto al índice promedio de crecimiento micelial (Tabla 3). La mayor y única producción promedio en gramos de seta se obtuvo en la mezcla B; por cada 500 gramos de peso húmedo de sustrato se obtuvieron en promedio 136.2 gramos de seta, lo que corresponde a una eficiencia biológica de 37%. De acuerdo con lo anterior se pueden recoger seis a siete cosechas.

La prueba estadística muestra diferencia significativa entre los tratamientos A, B y C, donde el mejor promedio se presentó en el tratamiento B con 2.452 g de seta producida y con 37% de eficiencia biológica (Tabla 3).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, la colonización del micelio se observó entre el cuarto y sexto día, lo que coincide con lo informado por Chang y Miles (1999), que indican este período en el crecimiento micelial de basidiomicetos aislados; el micelio crece en forma circular de adentro hacia fuera, es de color blanquecino.

Respecto a la caracterización de los sustratos orgánicos, presentan macro y micro elementos esenciales para el crecimiento de *Lentinula edodes*. Jennings (1995) afirma que minerales tales como magnesio, calcio, hierro, cobre, manganeso, zinc y a menudo molibdeno, se requieren para el crecimiento de hongos setas en cualquier sustrato. Los valores de pH para los

Tabla 2
Caracterización de sustratos orgánicos utilizados en la producción de *Lentinula edodes*

Parámetro analizado	Sustratos		
	Aserrín A	Aserrín: hoja de maíz: residuos de leguminosas B	Aserrín: hoja de plátano: residuos de leguminosas C
1. Macroelementos			
Carbono	41.17	48.5	46.7
Nitrógeno %	1.16	0.53	0.57
Fósforo %	0.01	0.15	0.04
Azufre	0.01	0.02	0.04
Calcio %	0.25	0.34	1.71
Magnesio %	0.04	0.10	0.15
Potasio %	0.01	0.73	0.58
2. Microelementos			
Hierro (ppm)	64.00	86.00	151.00
Manganeso (ppm)	61.00	21.00	22.00
Cobre (ppm)	4.00	39.00	39.00
Zinc (ppm)	3.00	12.00	12.00
Boro (ppm)	6.00	21.00	19.00
3. Bromatológicos			
Lignina	27.95	18.16	18.63
Celulosa	47.66	33.10	29.32
Humedad	85.00	57.09	63.78
4. Relación C/N	247.55	92.20	83.80
5. pH	6.50	6.75	7.54

Tabla 3
Incubación y Fructificación de la seta en sustratos de estudio

Seta/Sustrato	Fructificación				
	Día inicio colonización sustrato	Día final colonización sustrato	Peso en g	Eficiencia biológica en %	Número de cosechas
<i>Lentinula edodes</i>					
(A)	2	51	0	0	0
(B)	2	60	2452	37	7
(C)	5	65	0	0	0

sustratos utilizados están en los rangos en que crecen estas especies de setas; para el sustrato B en 6.73 y sustrato C en 7.51; Chang y Miles (1999) reportan pH de crecimiento en los rangos comprendidos entre cinco y ocho; al igual que Alberto *et al.* (2003) quienes afirman que los sustratos artificiales requieren un contenido de

humedad de 60-65 % y un pH entre 5.5-6.0.

En la obtención de cuerpos fructíferos, el tiempo de colonización en los diferentes sustratos oscila entre 50 a 60 días aproximadamente, lo que se relaciona con lo reportado por Alberto *et al.* (2003), quienes precisan que la duración de la incubación

para *Lentinula edodes* está entre 30 a 120 días, y Medina y Cisterna (2004) informan 45 a 60 para el mismo proceso. Pedreros (2007), utilizando como sustrato aserrín amarillo y aserrín de roble alcanzó un tiempo de colonización de 65.1 y 52.8 días, resultados que son coherentes con los alcanzados en este trabajo. Es importante evaluar el tiempo de colonización del sustrato como un indicativo de la rapidez para metabolizar el alimento por parte del hongo, además, el tipo de formulación de los tratamientos afecta el tiempo de colonización Villegas *et al.* (2007).

La eficiencia biológica encontrada en este trabajo fue de 37%, que es superior a la alcanzada por Bernabé *et al.* (2006) en cáscara de cacahuete (13.5% EB) e inferior a la reportada por Mata y Savoie (1998) en paja de trigo (59.2% EB), Morales y Martínez (1990) en subproductos forestales cercanos al 50% de EB y Pedreros (2007) en aserrín amarillo (66.9% de EB) y aserrín de roble (83.6% EB). Mata y Savoie (1998) manifiestan que aunque se use el mismo sustrato, la eficiencia biológica varía dependiendo de las condiciones del cultivo. Asimismo, debe tenerse en cuenta que las condiciones tales como cepas, temperatura y humedad proporcionadas durante el cultivo son diferentes en cada experimento.

CONCLUSIONES

El medio de cultivo más eficiente en la réplica de *Lentinula edodes* en condiciones ambientales del municipio de Quibdó fue *PAS*, no obstante, el medio *MAS*, presentó un crecimiento óptimo, lo que está dentro de los promedios normales.

En producción de semilla de *Lentinula edodes*, la activación del micelio inicia el día tercero después de la siembra del inóculo de cultivo madre y la colonización el día 30; el índice de colonización es de 1.31, proceso en el que se utilizó como medio de soporte aserrín y alpiste en proporción 2:1.

Las mezclas de los sustratos poseen un importante contenido de carbono (41.17, 48.5 y 46.7, A, B y C) al igual que un contenido considerable de lignina y celulosa imprescindibles en el crecimiento de la seta *Lentinula edodes*.

Los sustratos que se emplearon poseen cantidades considerables de macro y micronutrientes necesarios para el cultivo de la seta en estudio.

El tiempo de colonización en los sustratos A, B y C, fue de 60 días aproximadamente, los índices de crecimiento micelial en cuarto oscuro para *Lentinula edodes* en los mismos fue 0.79, 2.07 y 0.53 respectivamente.

Por cada 500 gramos de peso húmedo de sustrato B, se obtuvo en promedio 136.2 gramos de seta; lo que corresponde a una eficiencia biológica de 37%.

Estadísticamente el mejor resultado promedio fue el del tratamiento B con 2452 g de seta producida

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Departamento Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (COLCIENCIAS) y al Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA), la financiación del proyecto «Estudio de conservación y establecimiento de un cultivo comercial de hongos comestibles».

LITERATURA CITADA

- Alberto EB, Lechner A, Sannazzaro, Uhart M. 2003. *Cultivo de hongos comestibles. Requerimientos básicos para el cultivo del hongo comestible Lentinula edodes (Shiitake)*. Laboratorio de Micología y Cultivo de Hongos Comestibles y Medicinales. México. 55 p. (En línea). 2011 (Acceso 23 de abril) URL <http://www.iib.unsam.edu.ar/IIB-INTECH/html/laboratorios/micologia/shiitake.html>
- AOAC. 1995. *Official methods of analysis association of official analytical chemist*. 16th ed. Washington, DC:

- Ed. Arlington. p. 108.
- Bernabé T, Mata G, Cayetano M, Gutiérrez G. 2006. Cultivo experimental del hongo Shiitake, *Lentinula edodes*, sobre dos subproductos agrícolas en Guerrero, México. *Rev Mex Micol*. 23: 63-8.
- Castillo C. 2008. Estudio comparativo de tres sustratos para la producción de Shiitake *Lentinus edodes* Sing. (Berg) en Yahuarcocha, Imbabura. Tesis de Ingeniera Agropecuaria. (En línea) 2010 (Acceso 20 de abril). URL <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/192/2/03%20AGP%2067%20DOCUMENTO%20FINAL.pdf>
- Chang ST, Miles GP. 1999. *Biología de las setas. Fundamentos básicos y acontecimientos actuales*. México, DF: Instituto ZERI para América Latina. 98 p.
- Herrera AP. 2005. Cultivo de *Lentinula edodes* (Shiitake) en la UNALM. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina. 57 p. (En línea) 2007 (Acceso 20 de abril) URL <http://www.lamolina.edu.pe/investigacion/investigacion/htm/iberoeka/Poster%20hongos%20>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). 1998.
- Jennings D. 1995. *The physiology of fungal nutrition*. Cambridge: Cambridge University Press. 89 p.
- Leatham GF. 1982. Cultivation of Shiitake, the Japanese forest mushroom, on logs: a potential industry for the United States. *Forest Prod J*. 32 (8): 29-53.
- Mata G, Savoie J. 1998. Extracellular enzyme activities in six *Lentinula edodes* strains during cultivation in wheat straw. *World J Microbiol Biotechnol*. 14: 513-9.
- Medina HH. 2006. *Estandarización de un método para cultivo en sustratos orgánicos de la seta comestible Pleurotus djamur en el municipio de Quibdó, Chocó, Colombia*. (Tesis Ingeniero Agroforestal). Quibdó: Facultad de Ingenierías, Universidad Tecnológica del Chocó. 65 p.
- Medina R, Cisterna C. 2004. *Hongos medicinales cultivo comestibles*. Artículos silvoagropecuarios. Santiago: MICOTEC. (En línea) 2007 (Acceso 20 de abril) URL <http://www.ofertasagricolas.cl/articulos/articulo/46>
- Medina R, Cisterna C. 2005. *Servicio y capacitación en el cultivo de hongos comestibles*. Santiago: MICOTEC. (En línea) 2007 (Acceso 20 de abril) URL <http://www.micotec.cl/medicinales.html>.
- Morales D, Martínez C. 1990. Cultivation de *Lentinula edodes* in México. *Micol Neotrop Aplicada*. 3: 13-7.
- Ortiz J, López E. 2004. Algunos ensayos del cultivo del Shiitake mediante la desinfección de un sustrato no convencional por inmersión en tambos con agua caliente en la granja «setas cultivadas xalatlaco». México (En línea) 2007 (Acceso 20 de abril) URL http://www.setascultivadas.com/2004articulo_agosto.html.
- Pedrerros J. 2007. *Evaluación del crecimiento y producción de Lentinula edodes (Shiitake), en residuos agroindustriales*. (Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de microbiólogo industrial). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. 109 p.
- Ríos A, Medina M, Torres M, Barrios L, Mosquera H. 2002. Obtención de micelio y semilla para la producción de las setas *Pleurotus Sajor Caju* y *Ganoderma lucidum* en el municipio de Quibdó. *Revista institucional de la Universidad Tecnológica del Chocó* 15 (1): 9-14
- Royse DJ. 1985. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. *Rev Mycol*. 77 (5): 756-62.
- Tokimoto K. 2005. Cultivo de Shiitake en troncos. (En línea) 2010 (Acceso 20 de abril) URL <http://www.hongoscomestibleslatinoamerica.com/P/P/shiitake/capitulo%203%20pag.60-78.pdf>
- Villegas V, Pérez A, Arredondo A. 2007. Evaluación de la producción del hongo *Lentinula edodes* Pegler en bloques sintéticos a base de residuos agroindustriales. *Ing Cien*. 3(6): 23-39.