

**UNIVERSIDAD PÚBLICA DE EL ALTO
ÁREA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

**EFFECTO DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO EN BASE A
INFUSIÓN DE PAPA Y MIEL DE ABEJA EN LA PRODUCCIÓN DE
MICELIO DE SHITAKE (*Lentinula edodes*) EN LA CIUDAD DE EL
ALTO**

Por:

Reyna Dania Jallasi Huasco

EL ALTO – BOLIVIA

Octubre, 2024

**UNIVERSIDAD PÚBLICA DE EL ALTO
ÁREA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**EFFECTO DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO EN BASE A INFUSIÓN DE PAPA Y
MIEL DE ABEJA EN LA PRODUCCIÓN DE MICELIO DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*)
EN LA CIUDAD DE EL ALTO**

*Tesis de Grado presentado
como requisito para optar el Título de
Ingeniera Agrónoma*

Reyna Dania Jallasi Huasco

Asesores:

Lic. Ing. Jorge Washington Guzmán Calla

Lic. Ing. Soledad Chavez Vino

Tribunal Revisor:

M. Sc. Lic. Freddy Lucio Loza De la Cruz

Ph. D. M. Sc. Lic. Ing. Rogelio Maydana Apaza

M. Sc. Lic. Ing. Luis Fernando Machicao Terrazas

Aprobada

Presidente Tribunal Examinador



DEDICATORIA:

A Dios, por darme la fuerza necesaria para seguir adelante con mis proyectos.

A mis padres: Antonia Huasco Choque y Alfredo Jallasi Mamani quienes me apoyaron a lo largo de mi vida y de mis estudios.

A mi querida amiga Ing. Miriam Rossell Ticona Condori por su amistad y apoyo que me brindo siempre.

Y a todas las personas que estuvieron apoyándome en el transcurso de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme en la vida, por ayudarme a cumplir con mis objetivos y darme la fortaleza para seguir adelante.

Al área de ciencias agrícolas, pecuarias y recursos naturales de la Universidad Pública de El Alto, carrera de ingeniería agronómica a la que debo mi formación profesional.

A mis asesores: Lic. Ing. Jorge Washington Guzmán Calla y Lic. Ing. Soledad Chavez Vино quienes me brindaron su amistad, orientación, confianza, apoyo y por su constante colaboración desinteresada, transmitiéndome sus conocimientos para la culminación de la presente investigación.

A mis tribunales: M. Sc. Lic. Freddy Lucio Loza De la Cruz, Ph. D. M. Sc. Lic. Ing. Rogelio Maydana Apaza y M. Sc. Lic. Ing. Luis Fernando Machicao Terrazas, por su apoyo, colaboración y paciencia emitidas en el presente trabajo.

Al Ing. Daniel Condori Guarachi Director de la carrera Ingeniería Agronómica de la Universidad Pública de El Alto por su constante apoyo y colaboración.

A todos los docentes de la carrera ingeniería agronómica por impartirme sus conocimientos para mi formación profesional.

A mis padres Antonia Huasco Choque y Alfredo Jallasi Mamani quienes me apoyaron para que siga adelante con mis estudios.

A mis queridos amigos Ing. Miriam Rossell Ticona Condori y Ing. Edgar Chambi Quispe por su valiosa amistad además de su apoyo incondicional y motivación para seguir adelante y por estar a mi lado en todo momento.

A mis amigas y amigos Elsa Erika (QEPD), Rossy (QEPD), Patricia Mujica, Jhanett Mayta Lic. Favio Sosa, Lic. Miriam, Vladimir Pocoaca, Ayde Limachi, Lic. Erika Cruz, Lic. Karina Verdueta, Ing. Vladimir Choque, Lic. Reina Zulema, Lic. Mónica Caviña, Noemi y Nilson quienes me brindaron su apoyo y por motivarme a seguir adelante.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TEMAS	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
ABREVIATURAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv

ÍNDICE DE TEMAS

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Planteamiento del problema.....	2
1.3. Justificación	2
1.4. Objetivos	3
1.4.1. Objetivo general.....	3
1.4.2. Objetivos específicos.....	3
1.5. Hipótesis	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Aspectos generales	4
2.2. Shiitake (<i>Lentinula edodes</i>).....	5
2.2.1. Taxonomía	5
2.3. Morfología del hongo.....	6
2.3.1. El sombrero o píleo.....	6
2.3.2. Himeneo.....	6
2.3.3. Micelio	7

2.3.4.	Pie o estípite	7
2.4.	Ciclo de vida	7
2.4.1.	Requerimientos nutricionales	8
2.4.2.	Requerimientos físicos	9
2.4.2.1.	Temperatura	9
2.4.2.2.	Potencial de Hidrogeniones (pH)	9
2.4.2.3.	Luminosidad.....	9
2.5.	Aspectos nutricionales del Shiitake	10
2.5.1.	Aspectos medicinales	10
2.5.2.	Producción comercial del Shiitake	11
2.6.	Micelio en laboratorio.....	11
2.6.1.	Fases de crecimiento del micelio	11
2.6.1.1.	Fase de latencia.....	12
2.6.1.2.	Fase exponencial.....	12
2.6.1.3.	Fase de declinación	12
2.6.1.4.	Fase estacionaria y muerte	13
2.7.	Desinfección, Asepsia, y esterilización	13
2.8.	Medio de cultivo	13
2.8.1.	Medios de cultivo, según su origen.....	14
2.8.1.1.	Naturales.....	14
2.8.1.2.	Sintéticos.....	14
2.8.1.3.	Semisintéticos.....	14
2.8.2.	Medios de cultivo, según su consistencia	15
2.8.2.1.	Líquidos.....	15
2.8.2.2.	Sólidos	15
2.8.2.3.	Semisólidos.....	15

2.8.3.	Medios de cultivo utilizados en producción micelar	16
2.8.3.1.	Medio de cultivo a base de papa.....	16
2.8.3.2.	Medio de cultivo a base de miel de abejas	16
2.9.	Aislamiento.....	17
2.9.1.	Técnicas de aislamiento	17
2.9.1.1.	Aislamiento a partir de tejido y esporas	17
2.9.1.2.	Aislamiento a partir de semilla comercial (inóculo).....	17
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1.	Localización	18
3.1.1.	Ubicación Geográfica	18
3.2.	Materiales.....	18
3.2.1.	Material biológico.....	18
3.2.2.	Materiales de laboratorio, instrumental y equipos	19
3.2.2.1.	Materiales de vidrio.....	19
3.2.2.2.	Instrumental e implementos de laboratorio	19
3.2.2.3.	Equipos de laboratorio.....	19
3.2.2.4.	Reactivos	19
3.2.2.5.	Materiales de estudio.....	19
3.2.2.6.	Materiales de gabinete	19
3.3.	Método	19
3.3.1.	Procedimiento experimental	19
3.3.1.1.	Desinfección de laboratorio	19
3.3.1.2.	Desinfección y esterilización del material de vidrio e instrumentos	20
3.3.1.3.	Obtención de material genético.....	20
3.3.1.4.	Preparación de diferentes medios de cultivo	20
3.3.1.5.	Aislamiento del inóculo en los diferentes medios de cultivo.....	21

3.3.2.	Diseño experimental	21
3.3.2.1.	Modelo lineal.....	22
3.3.3.	Factores de estudio o tratamientos en estudio	22
Factor A:	Niveles de infusión de papa.....	22
3.3.3.1.	Distribución de Tratamientos.....	22
3.3.4.	Variables de Respuesta.....	23
3.3.4.1.	Días de Prendimiento Micelar (DPM).....	23
3.3.4.2.	Crecimiento Radial del Micelio (CRM)	23
3.3.4.3.	Días de Colonización del Micelio en Cajas Petri (DCMCP).....	23
3.3.4.4.	Tasa de Crecimiento Micelar (TCM)	24
3.3.4.5.	Biomasa Micelar (BM)	24
3.3.5.	Análisis de costos parciales	24
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1.	Días de Prendimiento Micelar (DPM).....	26
4.1.1.	Prueba de medias de Duncan del Factor A en los DPM	26
4.1.2.	Prueba de medias de Duncan del Factor C en los DPM	27
4.1.3.	Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en los DPM	28
4.1.3.1.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en los DPM.....	30
4.1.3.2.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (niveles de miel) en a_3 (500 g de papa) en los DPM.....	30
4.1.4.	Prueba de medias de Dunnett de los Tratamientos con respecto al Testigo para los DPM	31
4.2.	Crecimiento Radial del Micelio (CRM)	33
4.2.1.	Prueba de medias de Duncan del Factor A en el CRM	33
4.2.2.	Prueba de medias de Duncan del Factor C en el CRM.....	34
4.2.3.	Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en el CRM.....	35

4.2.3.1.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en el CRM.....	37
4.2.3.2.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_3 (500 g de papa) en el CRM	37
4.2.4.	Prueba de medias de Dunnett de los Tratamientos con respecto al Testigo para el CRM.....	38
4.3.	Días de Colonización del Micelio en Cajas Petri (DCMCP).	40
4.3.1.	Prueba de medias de Duncan del Factor A en los DCMCP	40
4.3.2.	Prueba de medias de Duncan del Factor C en los DCMCP.....	41
4.3.3.	Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en los DCMCP.	42
4.3.3.1.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en los DCMCP.....	43
4.3.3.2.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_3 (500 g de papa) en los DCMCP.....	44
4.4.	Tasa de Crecimiento Micelar (TCM)	45
4.4.1.	Prueba de medias de Duncan del Factor A en la TCM	45
4.4.2.	Prueba de medias de Duncan del Factor C en la TCM	46
4.4.3.	Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en la TCM	47
4.4.3.1.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en la TCM.....	49
4.4.3.2.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_3 (500 g de papa) en la TCM.....	50
4.5.	Biomasa Micelar (BM)	50
4.5.1.	Prueba de medias de Duncan del Factor A en la BM.....	51
4.5.2.	Prueba de medias de Duncan del Factor C en la BM	52
4.5.3.	Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en la BM.....	53
4.5.3.1.	Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_2 (250 g de papa) en la BM	54

4.5.3.2. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a ₃ (500 g de papa) en la BM.	55
4.6. Comparación de costos parciales	56
4.6.1. Análisis de dominancia	57
5. CONCLUSIONES	59
6. RECOMENDACIONES.....	61
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
8. ANEXOS	65

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Taxonomía del Shiitake	5
Cuadro 2 Compuestos Activos del Shiitake	10
Cuadro 3 Distribución de Tratamientos.....	23
Cuadro 4 Análisis de Varianza para Días de Prendimiento Micelar	26
Cuadro 5 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) para el Factor A en los DPM	27
Cuadro 6 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) para los Niveles de Miel en los DPM.....	28
Cuadro 7 Análisis de Varianza para los Efectos Simples para los Efectos de C en A en los DPM	28
Cuadro 8 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en los DPM.....	30
Cuadro 9 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_3 (500 g de papa) del Factor A en los DPM.....	30
Cuadro 10 Prueba de Comparación de Medias de Dunnett ($Pr > 0,05$) para los tratamientos respecto al Testigo para los DPM	31
Cuadro 11 Análisis de Varianza para Crecimiento Radial del Micelio.....	33
Cuadro 12 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para el Factor A en el CRM	33
Cuadro 13 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para los Niveles de miel en el CRM.....	34
Cuadro 14 Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción del Factor A y el Factor C en el CRM	35
Cuadro 15 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en el CRM	37
Cuadro 16 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_3 (500 g de papa) del Factor A en el CRM	38

Cuadro 17 Prueba de Comparación de Medias de Dunnett ($Pr > 0,05$) para los tratamientos respecto al Testigo para el CRM	39
Cuadro 18 Análisis de Varianza para Días de Colonización del Micelio en Cajas Petri	40
Cuadro 19 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) para el Factor A en los DCMCP	40
Cuadro 20 Prueba de Comparación de Medias para los Niveles de miel en los DCMCP.	41
Cuadro 21 Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción de Niveles de Papa y Niveles de miel en los DCMCP.....	42
Cuadro 22 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en los DCMCP	44
Cuadro 23 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_3 (500 g de papa) del Factor A en los DCMCP	44
Cuadro 24 Análisis de Varianza para la Tasa de Crecimiento Micelar	45
Cuadro 25 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para el Factor A en la TCM.....	46
Cuadro 26 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para los Niveles de miel en la TCM.....	47
Cuadro 27 Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción del Factor A y el Factor C en la TCM.....	47
Cuadro 28 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en la TCM.....	49
Cuadro 29 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_3 (500 g de papa) del Factor A en la TCM.....	50
Cuadro 30 Análisis de Varianza en la Biomasa Micelar	51
Cuadro 31 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para el Factor A en la BM	51
Cuadro 32 Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para los Niveles de miel en la BM	52

Cuadro 33 Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción de Niveles de Papa y Niveles de miel en la BM	53
Cuadro 34 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_2 (2500 g de papa) del Factor A en la BM	55
Cuadro 35 Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_3 (500 g de papa) del Factor A en la BM.	55
Cuadro 36 Presupuesto Parcial para la Producción de Micelio del Hongo <i>Lentinula edodes</i> (Shiitake)	56
Cuadro 37 Análisis de Dominancia de los Tratamientos	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Partes que Conforman un Hongo	6
Figura 2 Ciclo Reproductivo de Basidiomicetos.....	7
Figura 3 Mapa geográfico de Bolivia.....	18
Figura 4 Ubicación de la Universidad Pública de El Alto	18
Figura 5 Interacción del Factor A y C en los DPM.....	29
Figura 6 Interacción de los Factores A x C en el CRM.....	36
Figura 7 Interacción de los Factores A x C en los DCMCP.....	43
Figura 8 Interacción de los Factores A x C en la TCM	48
Figura 9 Interacción de los Factores A x C para la BM	54

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 1	66
Anexo 2 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 2	67
Anexo 3 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 3	68
Anexo 4 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 4	69
Anexo 5 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 5	70
Anexo 6 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 6	71
Anexo 7 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 7	72
Anexo 8 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 8	73
Anexo 9 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 9	74
Anexo 10 Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Testigo.....	75
Anexo 11 Cálculo de ingresos obtenidos del rendimiento ajustado en 1000 ml de medio de cultivo.	76
Anexo 12 Cálculo de ingresos obtenidos de la biomasa micelar e ingresos totales de 1000 ml de medio de cultivo.	76
Anexo 13 Cálculo de Costos de Producción de Micelio del Hongo <i>Lentinula edodes</i> (shiitake).....	77
Anexo 14 Crecimiento del Micelio <i>Lentinula edodes</i> en Cajas Petri en los Diferentes Tratamientos	78

Anexo 15 Desinfección de laboratorio.....	80
Anexo 16 Desinfección y esterilización del material de vidrio e instrumentos	80
Anexo 17 Obtención de material genético	80
Anexo 18 Preparación de diferentes medios de cultivo	81

ABREVIATURAS

cm	Centímetro
cm ²	Centímetro cuadrado
Cu	Cobre
Cv	Coefficiente de variación
g	Gramo
hr	Hora
K	Potasio
Mn	Manganeso
MC	Miel de abejas y Carragenina
msnm	Metros sobre el nivel del mar
mg	Miligramo
mm	Milímetro
P	Fosforo
PMC	Papa Miel de abejas Carragenina
PDC	Papa Dextrosa Carragenina
Σ	Sumatoria
Zn	Zinc

RESUMEN

Los hongos, apreciados por su sabor y propiedades nutricionales, han sido parte de la alimentación humana desde tiempos antiguos y en la actualidad su producción ha experimentado un notable crecimiento a nivel mundial, impulsado por el aumento en la producción y consumo, en Bolivia, se vislumbra un interés creciente en los hongos como fuente de inversión y valor alimenticio, pero la producción de hongos enfrenta desafíos como la disponibilidad de micelio activado.

Es por ello que la presente investigación se centra en evaluar diferentes medios de cultivo para la producción de micelio de *Lentinula edodes* (shiitake) incubados a una temperatura de 26°C y pH de 6,3 utilizando un arreglo bifactorial mediante el uso de infusión de papa como Factor A con tres niveles (0 g, 250 g y 500 g) y miel de abejas como Factor C con tres niveles (20 g, 40 g y 60 g) y un testigo añadido conformándose de esta manera 9 tratamientos y un testigo los cuales tienen 4 repeticiones.

Al realizar el análisis estadístico se verifico que existe efectos de al menos dos Niveles de papa (250 g y 500 g) en la producción de micelio, así mismo se obtuvo que los tres Niveles de miel (20 g, 40 g y 60 g) tienen incidencia sobre la producción de micelio, de la misma manera se obtuvo que el tratamiento 7 es el más adecuado para obtener mejores resultados en cuanto a días de prendimiento micelar el cual presenta un promedio de 1 día, en cuanto al crecimiento radial del micelio se obtuvo que el tratamiento 1 es el más adecuado presentando 2,15 cm como promedio, en los días de colonización del micelio en cajas petri y para la tasa de crecimiento micelar se obtuvo que el tratamiento T8 es el más adecuado presentando un promedio de 16 días con 0,16 mg/hr para cubrir la caja petri en su totalidad, en cuanto a la biomasa micelar se obtuvo que con 500 g de papa y 60 g de miel se presentan los mejores resultados con un promedio de 200,71 mg/caja petri. Con respecto al análisis de los tratamientos con el testigo se obtuvo que el las variables de estudio días de prendimiento micelar y el crecimiento radial del micelio son significativamente diferentes al testigo, pero no son diferentes al resto de las variables de estudio.

Al analizar los costos parciales se obtuvo que el tratamiento 8 es el más factible con un costo de producción de 36,38 Bs/caja petri, lo cual indica que en cuanto a producción de micelio es necesario centrarse en los costos y beneficios obtenidos y no así en el rendimiento.

ABSTRACT

Mushrooms, appreciated for their flavor and nutritional properties, have been part of the human diet since ancient times and currently their production has experienced notable growth worldwide, driven by the increase in production and consumption, in Bolivia, there is growing interest in mushrooms as a source of investment and nutritional value, but mushroom production faces challenges such as the availability of activated mycelium.

That is why this research focuses on evaluating different culture media for the production of *Lentinula edodes* (shiitake) mycelium incubated at a temperature of 26°C and pH of 6.3 using a two-Factor Arrangement using potato infusion as Factor A with three levels (0 g, 250 g and 500 g) and bee honey as Factor C with three levels (20 g, 40 g and 60 g) and an added control, thus forming 9 treatments and a control which have 4 repetitions.

When performing the statistical analysis, it was verified that there is an effect of at least two levels of potatoes (250 g and 500 g) on the production of mycelium, and it was also found that the three levels of honey (20 g, 40 g and 60 g) have an impact. On the production of mycelium, in the same way it was obtained that treatment 7 is the most suitable to obtain better results in terms of days of micellar sprouting which presents an average of 1 day, in terms of the radial growth of the mycelium it was obtained that Treatment 1 is the most suitable, presenting 2.15 cm on average, in the days of colonization of the mycelium in petri dishes and for the micellar growth rate, it was obtained that treatment T8 is the most suitable, presenting an average of 16 days with 0.16 mg/hr to cover the petri dish in its entirety. Regarding micellar biomass, it was obtained that with 500 g of potato and 60 g of honey the best results were presented with an average of 200.71 mg/petri dish. With respect to the analysis of the treatments with the control, it was obtained that the study variables days of micellar sprouting and radial growth of the mycelium are significantly different from the control, but are not different from the rest of the study variables.

When analyzing the partial costs, it was found that treatment 8 is the most feasible with a production cost of 36.38 Bs/petri dish, which indicates that in terms of mycelium production it is necessary to focus on the costs and benefits obtained and not so in performance.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de hongos comestibles se ha incrementado considerablemente en los últimos años a nivel mundial y se prevé que la tendencia siga una línea ascendente. Como consecuencia el consumo también ha incrementado, probablemente debido a que existe un mayor conocimiento por parte del consumidor de las propiedades nutricionales y saludables de los hongos. China es el líder mundial en la producción de hongos comestibles seguida por la unión europea (Roncero, 2015).

La producción de este cultivo en Latinoamérica es relativamente nueva y poco conocida, existen algunas empresas agrícolas en México, Venezuela, Argentina y Brasil que se dedican a este rubro, pero pocas instituciones han logrado dar una capacitación adecuada. El interés comercial que se tiene sobre los hongos comestibles hoy en día, se manifiesta en algunas regiones de Bolivia, porque se ha visto en este cultivo no solamente una opción de inversión sino también que presenta un excelente valor alimenticio, actualmente el consumo de proteína en el altiplano es bajo, por lo tanto, es una alternativa nutritiva que provee de una considerable cantidad de vitaminas y proteínas, al consumidor (Vaca, 2009).

Calderón (2012), menciona que, para realizar la producción de hongos comestibles en nuestro entorno, se presentan ciertos problemas como el de la disponibilidad de micelio activado (inóculo), debido a que para obtener micelio es necesario contar con instrumental, equipo, conocimientos especializados y adaptación de la tecnología de producción, el cual hace que los costos sean elevados, además indica que en el sector agrícola es necesario realizar investigaciones dentro del campo de la biotecnología sustentable.

1.1. Antecedentes

Según López (2016), existen compañías que se dedican exclusivamente a la producción de micelio que cuentan con laboratorios, técnicos, además de equipos especializados manteniendo la calidad del producto y la pureza genética de la cepa del hongo, asimismo menciona que la producción de micelio es un negocio tan o más importante que la de producir hongos comestibles, debido a que se cuentan con productores que dependen íntegramente del micelio para su producción.

1.2. Planteamiento del problema

Los hongos comestibles son producidos desde la antigüedad por distintas culturas siendo utilizados para la alimentación debido a su agradable sabor además que se usaban para ritos religiosos, en la actualidad se producen y son comercializados no solo por su agradable sabor, sino también por su valor nutricional y propiedades medicinales. Los mayores productores de hongos comestibles en el mundo son los países de China en primer lugar y en segundo México; estos países poseen una gran cantidad de especies que son producidos y comercializados.

En Bolivia, aunque en menor escala a comparación de otros países, existen diversos productores que dependen de los ingresos económicos que obtienen de la producción y comercio de hongos comestibles, pero si bien en nuestro país existen productores que se dedican a este rubro, estos no cuentan con disponibilidad de micelio “semilla de hongos” en las cantidades necesarias que requieren para producir, por ello dependen íntegramente de la importación de micelio de empresas extranjeras los cuales venden el micelio a precios elevados lo cual dificulta a la producción de hongos de los pequeños productores, debido a este motivo existe una necesidad de buscar otras alternativas que ayuden a que los productores no dependan exclusivamente de la importación de micelio.

1.3. Justificación

La producción de hongos comestibles constituye una parte importante en los ingresos tanto de grandes como de pequeños productores y aunque en nuestro país se cuenta con disponibilidad de micelio producido por algunas universidades, este no llega a abastecer a todo productor; debido a ello los productores se ven afectados y recurren a la compra de micelio en el mercado extranjero, así mismo cabe destacar que la producción de hongos comestibles es una alternativa importante debido a que este podría cubrir las necesidades nutricionales de la población.

Es por esto que la producción de micelio en nuestro entorno será una gran alternativa favoreciendo de esta manera a los productores y de la misma manera a la agroindustria, en este sentido en el marco del planteamiento del problema mencionado el propósito de esta investigación es evaluar el efecto de diferentes medios de cultivo en base a infusión de papa y miel en la producción de micelio, de esta forma se podrá identificar los medios de cultivo de mayor eficiencia para el desarrollo del micelio. Además, esta investigación

permitirá desarrollar parámetros técnicos con el fin de establecer el proceso de obtención de micelio o cepa pura del hongo *Lentinula edodes*, (Shiitake) que será de utilidad para los productores de hongos comestibles en nuestro país, así de esta manera, no dependerán de las importaciones de micelio, ya que podrán contar con micelio que económicamente llegarán a ser más accesibles para su producción, y al mismo tiempo se podrá satisfacer las necesidades alimenticias que se presentan en la población actualmente.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes medios de cultivo en base a infusión de papa y miel de abeja en la producción de micelio de Shiitake (*Lentinula edodes*, Berk; Pegler) en la ciudad de El Alto.

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de tres niveles de infusión de papa en la producción de micelio de Shiitake (*Lentinula edodes*, Berk; Pegler).
- Estudiar el efecto de tres Niveles de miel de abeja en la producción de micelio Shiitake (*Lentinula edodes*, Berk; Pegler).
- Analizar la interacción del medio de cultivo en base a infusión de papa y miel de abeja en la producción de (*Lentinula edodes*, Berk; Pegler).
- Comparar los costos parciales de los tratamientos

1.5. Hipótesis

No existen diferencias significativas en la interacción de los medios de cultivo en base a infusión de papa y miel de abeja en la producción de micelio de Shiitake.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos generales

Los hongos han estado ligados al hombre desde tiempos inmemoriales. Los estudios realizados sobre estos organismos señalan su amplia distribución en diversos nichos ecológicos y su papel es relevante en relación con los hábitos alimenticios del hombre y por sus propiedades toxicológicas. Asimismo, han tenido y tienen también significación religiosa o artística en diversos grupos sociales (Guzmán et al., 1993).

Ardón (2007), menciona que los hongos son organismos diferentes a los del reino vegetal y animal y por lo cual pertenecen al reino fungí, poseen células eucarióticas y pared celular con quitina, son heterótrofos y carecen de clorofila.

Según Almendros (2012), desde el punto de vista ecológico, los hongos son importantes debido a que son descomponedores y recicladores de materia orgánica, asimismo poseen gran capacidad de adaptación desarrollándose en diferentes medios o superficies; además también tienen gran importancia en la alimentación, medicina y la industria.

Chang y Miles (2004), mencionan que la producción y el consumo de hongos comestibles funcionales y medicinales a nivel global es una actividad que representa gran relevancia en lo social, económico y ecológico. Asimismo, Boa (2005), indica que los hongos comestibles tienen un valor importante en la vida de muchas personas desde el punto de vista económico.

“El sector productor de hongos comestibles puede ser concebido como agroindustria, como industria de base biotecnológica o como industria alimentaria, con un gran potencial para explotar debido a su valor alimenticio, ecológico, científico tecnológico, socioeconómico y cultural” (Galvis y Perea, 2006).

El champiñón y las setas son alimentos con unas propiedades nutricionales muy apreciadas. Destaca el bajo aporte calórico que tienen debido a su gran contenido en agua (80%-90%), entre 26-35 kcal por cada 100 gramos. Además, son una buena fuente de proteínas con una composición en aminoácidos más parecida a la proteína animal que a la vegetal, siendo el complemento ideal para dietas vegetarianas. Su alto contenido en fibra y bajo aporte graso son características deseables para una alimentación saludable, (Roncero, 2015).

2.2. Shiitake (*Lentinula edodes*)

El hongo conocido como Shiitake, cuyo nombre científico es *Lentinula edodes*, es una especie originaria del continente asiático y se le puede encontrar de manera silvestre en China, Japón, Corea, Taiwán, Tailandia, Nepal, Birmania, Borneo Filipinas y Nueva Guinea. El nombre Shiitake es un vocablo japonés que se deriva de dos palabras: “shii”, árbol en que crece esta especie (*Catanopsis cuspidata*), y “take” que significa hongo (Mata et al., 2020).

Arreaga y Torres (2016), indican que el Shiitake es un hongo saprofito que se encarga de degradar sustratos leñosos con lignina recalcitrante que es difícil de degradar y debido a esta capacidad es que actualmente para su producción se utilizan leños y aserrines para poder cultivarlo, además mencionan que este hongo tiene innumerables aplicaciones en la gastronomía asiática debido a su sabor único y delicioso, con textura suave y blando al paladar lo cual lo hace apto para distintas preparaciones culinarias.

2.2.1. Taxonomía

Pegler (1983), indica que la clasificación taxonómica del hongo Shiitake (*Lentinula edodes*) (Berk) es el que se muestra a continuación en el Cuadro 1:

Cuadro 1
Taxonomía del Shiitake

Reino:	<i>Fungi</i>
División:	<i>Eumycota</i>
Subdivisión:	<i>Basidiomycota</i>
Clase:	<i>Homobasidiomycetes</i>
Orden:	<i>Agaricales</i>
Familia:	<i>Tricholomataceae</i>
Género:	<i>Lentinula</i>
Especie:	<i>edodes</i> (Berk) Pegler.

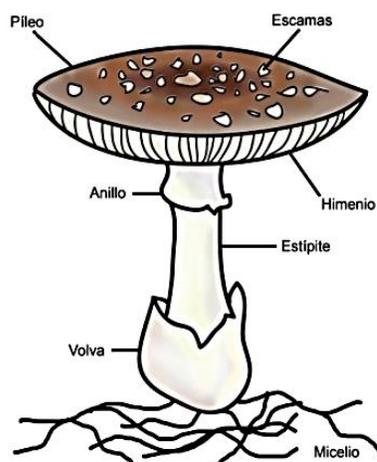
Fuente: Pegler (1983).

2.3. Morfología del hongo

Las principales partes que conforman una seta o carpóforo de un basidiomiceto son: el píleo (sombrero), himenio, anillo, estípite (pie) y volva. Aunque es normal encontrarse con algunas setas que no tienen todas estas partes (Salazar, 2016).

Figura 1

Partes que Conforman un Hongo



Fuente: Salazar (2016).

2.3.1. El sombrero o píleo

Mide generalmente entre 5 y 12 cm, aunque puede llegar a alcanzar los 20 cm de diámetro; tiene una superficie convexa que llega a ser casi plana con el tiempo. La cutícula es de color claro hacia los bordes y pardo oscuro hacia el centro, inicialmente lisa, aunque luego se rompe en escamas de forma y tamaño variable. Internamente (contexto) es compacto, carnoso correoso, de color claro o pardo cerca de la cutícula, firme. Su sabor es agrio y presenta olor ligero (Lira, 2019).

2.3.2. Himeneo

El himeneo está situado en la parte inferior del sombrero. Está formado por numerosas laminillas dispuestas a manera de radios, las láminas son blancas o ligeramente pardas y tienden a oscurecerse o a adquirir manchas amarillentas con el tiempo. Son

moderadamente anchas, con bordes lisos o con irregularidades, sin llegar a ser completamente dentadas, (Lira, 2019).

2.3.3. Micelio

“Entre las laminillas se encuentran millones de esporas, que cuando germinan, dan lugar a unos hilos filamentosos o hifas, que constituyen el micelio o blanco del champiñón” (Barbado, 2003).

2.3.4. Pie o estípite

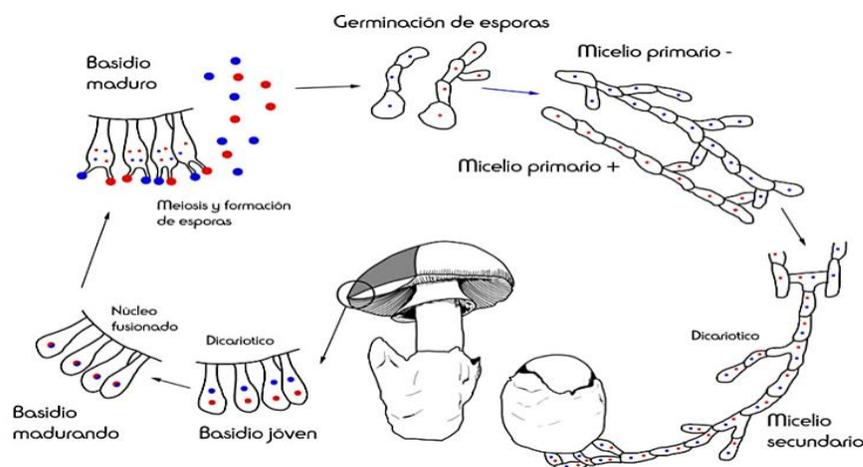
El estípite o pie mide entre 3 y 5 cm de largo y hasta 13 mm de ancho, es uniforme o ligeramente más ancho hacia la base. Su consistencia es sólida y fibrosa, y su superficie es delgada, con un anillo efímero en el tercio más distal y formado por los restos del velo. La coloración es similar a la del sombrero (Lira, 2019).

2.4. Ciclo de vida

Según Lechner et al. (2018), los hongos al igual que todos los seres vivos, los hongos nacen, crecen, se reproducen y mueren. La célula que da origen a una hifa se denomina espora, las hifas van creciendo y ramificándose hasta conformar el micelio del hongo. Además, el hongo puede formar también esporas por medio de la reproducción asexual (conidios), que puede ocurrir tanto en el micelio primario como en el secundario.

Figura 2

Ciclo Reproductivo de Basidiomicetos



Fuente: ("Grupo Micológico del Alto Aragón," 2016)

Cuando se encuentran dos micelios primarios compatibles se fusionan creando un micelio dicariótico secundario. Estos micelios se desarrollarán y crearán el cuerpo fructífero (seta), el micelio secundario se encargará de formar las estructuras reproductivas (basidio) en la zona del himenio del basidiocarpo (parte fértil de la seta). En el basidio los dos núcleos, uno de cada micelio se fusionan, posteriormente sufre una meiosis originando nuevos núcleos, de cada uno se desarrollará una basidiospora, cuando maduren se desprenderán de los basidios y podrán germinar continuando con el ciclo reproductivo, ("Grupo Micológico del Alto Aragón," 2016)

2.4.1. Requerimientos nutricionales

La mayoría de los hongos son nutricionalmente poco exigentes y desarrollan en medios sencillos que contengan hidratos de carbono como fuente de carbono (glucosa, maltosa, sacarosa, almidón, celulosa), sales de nitrógeno inorgánico o peptonas, como fuente de nitrógeno y pequeñas cantidades de oligoelementos (Fe, Mg, P, K, Zn, Cu, Mn y Mo), (Checa y Mansilla, 2020).

Arias et al. (2008), menciona que dentro de su ciclo de vida un hongo puede llegar a liberar dos billones de esporas, las cuales son su medio de reproducción y de subsistencia a través del tiempo. Sin embargo, para que estas esporas se puedan convertir en nuevos hongos, deben encontrar unas condiciones nutricionales específicas que permitan su desarrollo, entre las cuales están:

- **Oxígeno:** debido a su condición de organismo aeróbico, los hongos requieren de oxígeno para su metabolismo.
- **Carbono:** los hongos emplean una variedad de compuestos orgánicos para sus requerimientos de carbono. Estos compuestos le proporcionan a él la energía para desarrollar sus actividades metabólicas.
- **Nitrógeno:** los hongos requieren de este para convertirlo en proteínas, purinas y pirimidinas y para el componente de la pared celular.
- **Sulfuro:** es un elemento estructural en algunos productos secundarios del metabolismo siendo el más conocido la penicilina antibiótica.
- **Fósforo:** es importante para el movimiento de materiales a través de las membranas.
- **Potasio:** su papel es de cofactor en algunos sistemas de enzimas y su requerimiento es suplido por el medio.

- **Magnesio:** es requerido por los hongos para la activación de los sistemas de enzimas

2.4.2. Requerimientos físicos

2.4.2.1. Temperatura

Según Arias et al. (2008), el crecimiento en las diferentes etapas de producción de hongo pueden variarse entre un rango de 14°C y 40°C.

Mata *et al.* (2020), mencionan que, al realizar el aislamiento del hongo Shiitake, este debe incubarse en una temperatura de 25°C y en condiciones de oscuridad. Al respecto, demostró que con una temperatura constante de 25°C, el micelio de Shiitake puede desarrollarse sin inconvenientes que afecten su crecimiento.

2.4.2.2. Potencial de Hidrogeniones (pH)

Roussos y Perraud-Gaime (1996), citado por Vaca (2009) indica que los hongos filamentosos crecen en medios preferiblemente con acidez debido a que estos pueden tolerar un pH de 2.5 a 7.5.

Al respecto Arenas (2018), menciona que el hongo Shiitake tiene mejores rendimientos en cuanto al crecimiento cuando el pH es ácido entre rangos de 6.5 y 6.8, asimismo indican que un pH de 6 y 6.3 que es ligeramente ácido ayuda al crecimiento y al mismo tiempo ayuda a inhibir el desarrollo de microorganismos no deseados.

2.4.2.3. Luminosidad

Ríos y Ruiz (1993), demostraron que el crecimiento del micelio vegetativo en *Pleurotus ostreatus*, es abundante si este se encuentra sometido a total oscuridad, en cambio sí es sometido a luz natural influye negativamente en el desarrollo del micelio.

Chen (2005) y Rodríguez et al. (2006), indican que la exposición directa de los micelios de Shiitake a la luz es perjudicial porque inhibe el crecimiento micelar, debido a que son organismos que no realizan fotosíntesis, además mencionan que el micelio cultivado en la oscuridad es mejor debido a que se tiene un buen crecimiento y crece de 3 a 4 veces más que si se encontrara bajo luz.

2.5. Aspectos nutricionales del Shiitake

El Shiitake es una buena fuente de vitaminas entre las que destaca el complejo B, principalmente las vitaminas B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina) y B12 (cobalamina), ácido fólico, así como la vitamina C y D. También aporta cantidades significativas de minerales como el calcio, fósforo, hierro, sodio, magnesio, zinc y potasio. Además, el Shiitake contiene casi todos los aminoácidos esenciales para la buena nutrición del cuerpo humano con cantidades especialmente abundantes de alanina, arginina lisina y leucina, mientras que la metionina, la histidina y fenilalanina son menos abundantes, (Mata et al., 2020). Tarquino y Unibio (2011), indican que según *Mushroom Biology* el valor nutricional de Shiitake por cada 100 gr se encuentra 39 calorías, 15-35% proteínas, menos de 1gr de colesterol, 7,3 g de carbohidratos, 8 g de fibra, 5 mg de Rivoflamina, 5,5 mg de niacina y alto contenido en vitamina D y B12, además mencionan que el contenido proteico de las carnes de res, cerdo y pollo son de 30% en comparación con estos productos el Shiitake es similar en proteína y bajo en calorías, siendo entonces este hongo una opción alimenticia completa y saludable.

2.5.1. Aspectos medicinales

El Shiitake es considerado un excelente alimento funcional que proporciona beneficios a la salud y ayuda a prevenir o aliviar enfermedades si se consume regularmente dentro de la dieta. Sus propiedades medicinales se han popularizado comercializando suplementos alimenticios para reducir la hipertensión y tratar enfermedades cardiovasculares, la diabetes, el cáncer, y la artritis, (Martínez-Carrera et al., 2004).

Cuadro 2

Compuestos Activos del Shiitake

Compuesto	Grupo Funcional	Bioacción
Eritadenina	Derivado acíclico de la adenosina	Hipolipidémico, reduce los niveles de colesterol en la sangre por excreción
Lentinan	Polisacárido	Antibacterial, antiviral, inmunoactivo
Emitanina	Polisacárido	Inmunoactivo
Quitina	Ácidos nucleicos	Antiviral
Ergosterol	Triterpeno	Provitamina d-2

Fuente: Rivera et al. (2017)

2.5.2. Producción comercial del Shiitake

Rivera et al. (2017), menciona que el Shiitake (*Lentinula edodes*) es conocido por sus atributos nutricionales y sensoriales además de que es el segundo hongo más producido en el mundo después del champiñón blanco (*Agaricus bisporus*), al respecto Mata et al. (2020), mencionan que recientemente el Shiitake se ha convertido en la especie que más se cultiva en el mundo con aproximadamente el 22% del total de producción de hongos, desplazando de esta manera al champiñón blanco (*Agaricus bisporus*) que tiene un total de producción de 15%.

2.6. Micelio en laboratorio

“El micelio que se desarrolla en la naturaleza es una masa algodonosa multicelular con crecimiento irregular, sin embargo, su desarrollo es distinto en condiciones de laboratorio, el cual generalmente crece en forma circular en un medio sólido artificial” (M. López, 2016).

Según Rodríguez y Jaramillo (2005), una vez que el micelio se desarrolla en medio de cultivo nutritivo a ese material biológico obtenido se le denomina cepa. Así mismo Mata et al. (2020), indican que un cultivo puro de la especie que es de nuestro interés puede ser definida como “cepa” y este dará inicio a todo el proceso para producir hongos, además menciona que al micelio en el laboratorio es necesario brindarle condiciones adecuadas, por ello se requiere medios de cultivo que contengan nutrientes que permitan su desarrollo.

2.6.1. Fases de crecimiento del micelio

Al respecto Barba y López (2017), indican que el micelio de hongos comestibles se puede encontrar en dos fases una fase vegetativa y otra fase reproductiva; en la fase vegetativa se puede observar los filamentos blancos similares a una telaraña del micelio ya sea en madera, hojarasca u otros cuya función es la de captar alimento mediante la colonización la cual puede tener una forma circular similar a lo obtenido en laboratorio en una caja petri, en la fase reproductiva el micelio que depende obligatoriamente de la primera fase vegetativa para formar cuerpos fructíferos o fructificaciones cuya función es la producción de setas.

Bajo este entendido las fases de crecimiento del micelio vegetativo presenta según Ardón (2007), diferentes fases las cuales son:

2.6.1.1. Fase de latencia

Esta fase se presenta inmediatamente después de que el hongo ha sido inoculado en un medio apropiado para su crecimiento. Es una etapa de adaptación en la que no hay crecimiento aparente, sino más bien síntesis de los componentes celulares necesarios para iniciar la elongación celular. Si el hongo fue dañado durante la siembra, en esta etapa de latencia sintetizará pared celular y preparará puntos de crecimiento. La duración de la fase de latencia es muy variable y depende del tipo y del estado fisiológico del hongo, así como del tipo de sustrato y de las condiciones de cultivo. La fase de latencia se minimiza o aún puede ser suprimida si un hongo es re-inoculado, a partir de una colonia que crece en fase exponencial, a otro medio de características similares (composición, pH, temperatura). La fase de latencia puede sin embargo presentarse aún en estas condiciones si el hongo es maltratado durante la siembra, (Ardón, 2007).

2.6.1.2. Fase exponencial

Esta fase es alcanzada cuando un hongo crece en medio líquido, después de que se ha adaptado al medio de cultivo y está en capacidad de aprovechar al máximo las condiciones que éste le ofrece. Durante esta etapa el hongo alcanzará la tasa de crecimiento máxima que el sustrato sobre el que crece le permite. La tasa de crecimiento es una característica importante de cada hongo, que varía con las condiciones del medio y que sirve para hacer comparaciones o predicciones entre cepas cuando crecen en diferentes sustratos. La adición de complementos al sustrato tiene como consecuencia en muchos casos, un mejoramiento de la tasa de crecimiento, (Ardón, 2007).

2.6.1.3. Fase de declinación

Esta fase se presenta cuando la acumulación de los desechos del metabolismo del hongo alcanza niveles que se vuelven tóxicos para el crecimiento o porque alguno de los nutrientes escasea o se terminan. En estas condiciones la tasa de crecimiento máxima no puede ser mantenida y empieza generalmente a disminuir de manera paulatina. Dadas las condiciones adversas del medio durante la declinación, es relativamente frecuente que un organismo pierda algunas capacidades o modifique otras por mutación. Esto explica por qué la resiembra continua o sistemática de un organismo en un medio de cultivo, sobre todo sintético, puede conducir rápidamente al agotamiento de la cepa o a la pérdida de la misma, (Ardón, 2007).

2.6.1.4. Fase estacionaria y muerte

La fase estacionaria es el punto un metabolismo celular de mantenimiento. Durante esta etapa aún hay consumo de glucosa y otros nutrientes. En hongo en esta fase es aún capaz de reiniciar crecimiento si es resembrado en un medio propicio, aunque tendrá un período de latencia más o menos largo según las condiciones. Durante la fase estacionaria empiezan a aparecer diversos tipos de enzimas autolíticas que conducen a la muerte del hongo, (Ardón, 2007).

2.7. Desinfección, Asepsia, y esterilización

Rodríguez et al. (2006), indican que para tener éxito en la producción de semilla comercial de hongos se debe contar con cultivo libre de contaminantes, debido a ello es necesario desinfectar el área de cultivo con hipoclorito al 10%, al respecto Gaitán-Hernández et al. (2006), menciona que estos contaminantes son hongos del género *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Mycogone* y *Coprinus*, además de bacterias y levaduras que invaden y evitan el crecimiento micelar. Durante los trabajos con microorganismos, específicamente hongos, es necesario y fundamental trabajar con mucha asepsia, debido a que es indispensable el mantenimiento de los cultivos puros. Por lo tanto, es conveniente que luego de lavar todo el material de vidrio, éste sea enjuagado dos veces con agua, para eliminar todo residuo de detergente antes de ser esterilizado (Cañedo y Ames, 2004).

La esterilización es un proceso importante, el cual permite la destrucción de todo microorganismo, por la transferencia de calor a través del vapor, es importante cumplir con la temperatura, la presión indicada y el tiempo requerido (Barba y López, 2017) , de la misma manera Rodríguez et al. (2006), indica que los materiales tanto de vidrio y acero que se utilizaran deben ser esterilizados, esto puede realizarse por calor mediante una estufa a 160°C por 3 horas y también puede realizarse la esterilización por vapor mediante la utilización de un autoclave a 121°C durante 30 minutos.

2.8. Medio de cultivo

El medio de cultivo es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua, usualmente incluye sales inorgánicas, carbohidratos, vitaminas y aminoácidos. A menudo se denomina medio basal y puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento y ocasionalmente con otras sustancias y gelificando generalmente con agar, también se

pueden encontrar variantes de acuerdo a la etapa de propagación, específicamente para la multiplicación (Sandoval, 2001).

“Los medios utilizados en micología deben contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo y reproducción de los hongos (carbono, nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, etc.)” (Cañedo y Ames, 2004). Según López y Torres (2006) el medio de cultivo es una solución o un sustrato en el cual se desarrollan microorganismos, así mismo indica que en laboratorio para elaborar un medio de cultivo se debe inocular “sembrar” los microorganismos sobre un medio en el que puedan desarrollarse y multiplicarse para obtener colonias.

2.8.1. Medios de cultivo, según su origen.

2.8.1.1. Naturales

Están constituidos por sustancias complejas de origen animal o vegetal y usualmente se complementan con el añadido de minerales y otras sustancias. No se conocen todos los componentes del medio de cultivo, ni las cantidades exactas en que están presentes. Este tipo de medio es el ideal para cuando simplemente se pretende obtener un buen crecimiento microbiológico, ya que su confección es fácil y rápida (Basta pesar una cierta cantidad del extracto desecado, suministrado por casas comerciales, disolverlo en agua y esterilizar en autoclave), (Santambrosio et al., 2009)

2.8.1.2. Sintéticos

Son aquellos que contienen en su composición exclusivamente sustancias químicas conocidas y disueltas en agua destilada en proporciones determinadas, resultando un medio de composición perfectamente definida, (Casado et al., 2012). Al respecto López y Torres (2006), indican que los medios sintéticos son medios que tienen una composición química definida y se utilizan para obtener resultados reproducibles

2.8.1.3. Semisintéticos

Según Casado et al. (2012), algunos microorganismos son exigentes para desarrollarse en ciertos medios sintéticos debido a que no contienen compuestos necesarios para su desarrollo y por lo tanto para que los microorganismos se desarrollen es necesario la incorporación de sustancias o extractos orgánicos que aportan factores de crecimiento en

el medio de cultivo estos compuestos podrían ser: extracto de levadura, extracto de tejidos entre otros. Denominado medio semisintético, llevan algunas sustancias químicas cuya naturaleza y cantidad se conoce, junto con sustancias de naturaleza y composición indefinida, (Santambrosio et al., 2009).

2.8.2. Medios de cultivo, según su consistencia

2.8.2.1. Líquidos

No contienen ningún agente gelificante, por lo que los microorganismos crecen por todo el medio. El crecimiento en este tipo de medios es más rápido puesto que la movilidad permite acceder de una forma más fácil a los nutrientes, (Barrero, 2016). Al respecto Santambrosio et al. (2009), menciona que los medios líquidos por lo general se denominan caldos debido a que contienen nutrientes disueltos en agua, lo cual permite obtener suspensiones con una cantidad mayor de microorganismos.

2.8.2.2. Sólidos

Se preparan a través de medios líquidos agregándoles un agente gelificante. Los más utilizados con la gelatina y el agar. La gelatina es una proteína animal obtenida de los huesos. Tiene la limitación de que es hidrolizada por muchas bacterias y porque su punto de fusión es bajo. El agar agar es un polímero de azúcares obtenido de algas marinas. Es una molécula insoluble en agua fría pero soluble en agua caliente. Una solución de 1,5 % forma un gel firme entre 32 y 39 °C, (Cerra et al., 2013). Según Barrero (2016), los medios sólidos tienen una parte gelificante de aproximadamente 1,5% el crecimiento de los microorganismos se desarrolla en la superficie del medio y estos pueden ser depositados en placas petri o tubos de ensayo.

2.8.2.3. Semisólidos

Barrero (2016), indica que los medios semisólidos son medios que contienen una porción de agar que pueden contener un gelificante inferior a 0,5% además de que se utilizan para pruebas bioquímicas y de movilidad. Se preparan a partir de los medios líquidos agregándoles un agente solidificante en una proporción menor que para preparar medios sólidos. Uno de sus principales usos es para la investigación de la movilidad de los microorganismos (Casado et al., 2012).

2.8.3. Medios de cultivo utilizados en producción micelar

2.8.3.1. Medio de cultivo a base de papa

Caro (2019), indica que el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar aporta elementos nutricionales necesarios para que los hongos se desarrollen, debido a la combinación de la infusión de papa con glucosa que proporciona energía, mientras el agar brinda consistencia al medio, por otra parte Pinchao (2010), menciona que la papa tiene vitaminas B1, B3 y B6, y otros minerales como potasio, fósforo y magnesio, así como folato, ácido patogénico y riboflavina, además la infusión de este tiene altos contenidos de vitamina C. Mata *et al.* (2020), mencionan que los medios de cultivo más comunes para realizar son PDA (Papa, Dextrosa, Agar) y el EMA (extracto de malta y agar), así mismo indican que en el desarrollo micelar del hongo Shiitake con respecto al aspecto del micelio este debe tener forma algodonosa, de color blanco, con crecimiento rápido de aproximadamente 15 días.

De la misma manera Suárez (2010), indica que los hongos *Lentinula edodes* y *Pleurotus pulmonarius* con el medio de cultivo PDA tienen un crecimiento rápido, con forma simétrica, invadiendo la caja petri en un periodo de tiempo corto en comparación a otros medios, además determinó que si bien el crecimiento micelar en PDA es rápido este es poco denso y menos abundante a comparación de otras especies. Vaca (2009), indica que, en cuanto al desarrollo del micelio de champiñón de las variedades *Agaricus campestris* y *Agaricus bisporus* los medios de cultivo de TSC (Triguillo, Sacarosa y Carragenina) y PSC (Papa, Sacarosa y Carragenina) son adecuados debido a que los resultados que obtuvo demostraron que se puede obtener micelio espeso, compacto de aspecto vigoroso.

2.8.3.2. Medio de cultivo a base de miel de abejas

García (2019), indica que al utilizar como base miel de abeja para el crecimiento del micelio de la seta de cardo (*Pleurotus eryngii*), obtuvo que la miel es eficaz para el crecimiento del micelio tanto en medio líquido como en medio sólido, además menciona que es factible utilizar miel de abejas en un 3% a 6% y como medio gelificante el agar-agar 15 gramos por litro. Fattori y Chavarrías (2014), indican que la miel está constituida principalmente por hidratos de carbono (glucosa y fructosa), y en proporciones menores por minerales (potasio, sodio, calcio, magnesio, manganeso, cobre, zinc, hierro, azufre, fósforo, silicio y cloruro) y materia nitrogenada y ácidos orgánicos, además que posee actividad antimicrobiana debido a su contenido de azúcares y pH bajo.

2.9. Aislamiento

Cañedo y Ames (2004), indican que el aislamiento o siembra de hongos consiste dejar crecer un determinado hongo, colocando una pizca del hongo seleccionado en un medio de cultivo, acidificarlo solo si hace falta, para que pueda desarrollarse y esporular. Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano. Luego de sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento del o los microorganismos de interés, (Checa y Mansilla, 2020).

2.9.1. Técnicas de aislamiento

2.9.1.1. Aislamiento a partir de tejido y esporas

Según Gaitán-Hernández *et al.* (2006), al micelio de un hongo (forma algodonosa) que se desarrolla sobre un medio de cultivo nutritivo se le llama cepa. Su aislamiento en laboratorio se puede realizar por medio de tejido (fragmento del hongo) o por medio de esporas.

2.9.1.2. Aislamiento a partir de semilla comercial (inóculo)

Según Cortijo *et al.* (2011), el inóculo es la masa de un microorganismo que se utiliza para realizar la siembra en un medio de cultivo, además menciona que para transferir el inóculo a un medio de cultivo sintético se debe realizar con proximidad de la llama de un mechero e incubar a temperatura adecuada y tiempo necesario para su crecimiento. A. López (2007), menciona que la inoculación micelar en cajas petri es un proceso donde se transfiere el micelio a un medio de cultivo sólido. Asimismo, indica que la inoculación en cajas petri se trabaja dentro de una cámara de flujo laminar, en condiciones asépticas además del uso de alcohol al 70%, donde la inoculación se realiza colocando un grano de sorgo (inóculo) en una caja petri con medio de cultivo sintético. Al respecto UNAM (2017), indica que el mejor método para la obtención y aislamiento de cepas de buena calidad es a partir de semilla comercial, debido a que este no presenta contaminación y el tiempo de aparición del micelio es corto a comparación de otras técnicas de aislamiento.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

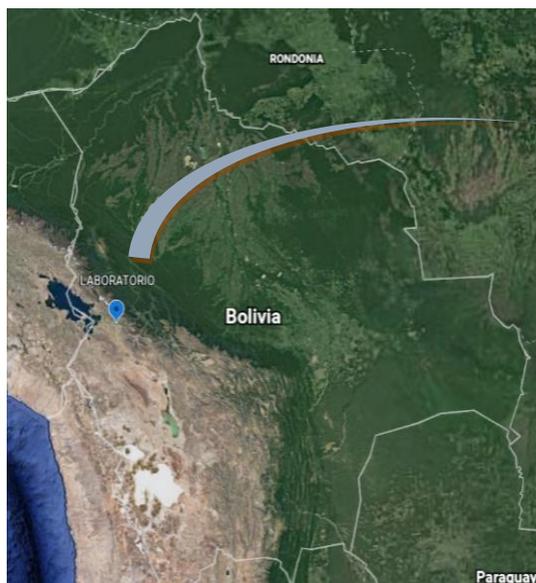
3.1. Localización

3.1.1. Ubicación Geográfica

La presente investigación se realizó en ambientes del Laboratorio perteneciente a la carrera de Agronomía de la Universidad Pública de El Alto, ubicada en la ciudad de El Alto del Departamento de La Paz, ubicada geográficamente en 16°29'30.51" latitud Sur 68°11'37.35" latitud Oeste, a una altitud de 4055 m.s.n.m, ("Google Earth ", 2021).

Figura 3

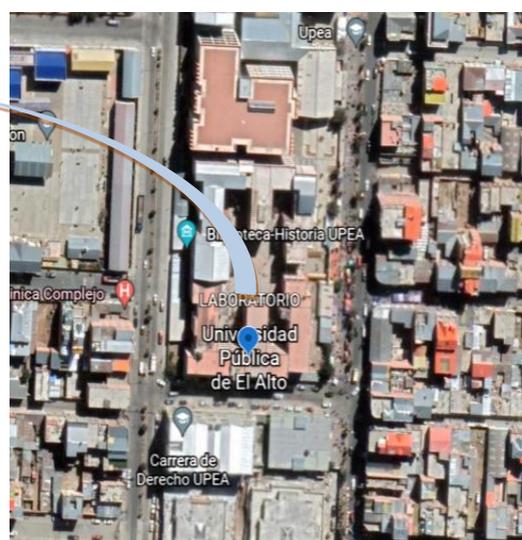
Mapa geográfico de Bolivia



Fuente: Google Earth (2021)

Figura 4

Ubicación de la Universidad Pública de El Alto



Fuente: Google Earth (2021)

3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

El material biológico que se utilizó para el trabajo de investigación fue inóculo secundario del hongo comestible Shiitake (*Lentinula edodes*, Berk; Pegler), procedente del laboratorio de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Mayor de San Simón ubicada en el departamento de Cochabamba.

3.2.2. Materiales de laboratorio, instrumental y equipos

3.2.2.1. Materiales de vidrio

Pipetas graduadas, probetas, cajas petri, vaso de precipitación, matraz erlenmeyer, frascos

3.2.2.2. Instrumental e implementos de laboratorio

Pinzas, mechero de alcohol, algodón, plastifilm, papel madera, hilo cáñamo, pulverizador, venda de gaza.

3.2.2.3. Equipos de laboratorio

Autoclave, balanza analítica, cámara de flujo laminar, incubadora, pH- metro, Agitador magnético.

3.2.2.4. Reactivos

Agua destilada-estéril, alcohol etílico, hipoclorito de sodio, carragenina.

3.2.2.5. Materiales de estudio

Papa, miel, dextrosa (azúcar).

3.2.2.6. Materiales de gabinete

Cámara fotográfica, Laptop.

3.3. Método

3.3.1. Procedimiento experimental

El proceso experimental se llevó a cabo realizando una serie de actividades como: desinfección de los ambientes del laboratorio, desinfección y esterilización de materiales preparación de medios de cultivo además del aislamiento o siembra se Shiitake.

3.3.1.1. Desinfección de laboratorio

Para realizar la introducción del material genético se debe contar con un medio aséptico en el cual se pueda trabajar, de esta manera se procedió a realizar la desinfección del laboratorio limpiando las paredes, piso y la superficie en donde se trabajó, todo este procedimiento se realizó utilizando jabón líquido e hipoclorito de sodio.

3.3.1.2. Desinfección y esterilización del material de vidrio e instrumentos

Todo el material de vidrio y material metálico fue lavado con detergente comercial concentrado y enjuagado dos veces, las cajas petri se empaquetaron en papel madera y fueron sujetados con hilo cáñamo, así mismo los demás materiales se esterilizaron en autoclave a una temperatura de 121° C y 1 atmosfera de presión durante 20 minutos. Por otro lado, en el área de siembra dentro de la cámara de flujo laminar se introdujo materiales como: pinzas, cajas petri, algodón, plastifilm, mechero de alcohol, además de frascos y pulverizador con alcohol al 70%, los cuales fueron expuestos a rayos ultravioleta durante 15 minutos.

3.3.1.3. Obtención de material genético

El inóculo secundario en grano de sorgo de Shiitake (*Lentinula edodes*, Berk; Pegler), se adquirió del laboratorio de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Mayor de San Simón (UMSS) ubicada en el departamento de Cochabamba.

3.3.1.4. Preparación de diferentes medios de cultivo

La preparación de los diferentes medios de cultivo se realizó mediante la siguiente composición:

a) Medio de cultivo Miel de abejas y Carragenina (MC): compuesto por 20 g, 40 g y 60 g de miel de abejas y 12 g de carragenina.

Para la preparación del medio de cultivo MC, se procedió a medir la cantidad de miel necesaria con una pipeta graduada y en un vaso de precipitación con 1000 ml de agua destilada estéril se mezcló hasta que este se disuelva completamente luego se introdujo la solución en un matraz erlenmeyer, seguidamente se midió el pH hasta obtener el pH requerido de 6.3, luego se introdujo a la solución 12 g de carragenina, posteriormente se llevó el matraz erlenmeyer al agitador magnético para que la mezcla se homogenice.

b) Medio de cultivo Papa, Miel de abejas y Carragenina (PMC): compuesto por papa 250 g, 500 g de papa, 20 g, 40 g y 60 g de miel de abejas e y 12 g de carragenina.

Para la preparación del medio de cultivo PMC, se procedió a pelar, cortar y pesar la cantidad de papa necesaria, en un vaso precipitado se hizo hervir la papa cortada en 500 ml de agua destilada estéril por 30 minutos, posterior a ello con un tamiz se filtró y se reservó el agua hervida de papa (infusión de papa), luego en otro vaso precipitado con 500 ml de agua destilada estéril se introdujo miel en la cantidad requerida, se mezcló hasta que

se disuelva completamente, posterior a ello se incorporó la mezcla con el agua de papa que se reservó, la solución se vertió en un matraz erlenmeyer a continuación se midió el pH, se reguló el pH con NaOH 0,1 N (para aumentar el pH) y HCL 0,1 N (para reducir el pH) hasta obtener un pH de 6.3, al terminar este proceso se introdujo en el matraz 12 g de carragenina, posteriormente se llevó el matraz al agitador magnético para que la solución sea homogénea.

c) Medio de cultivo Papa Dextrosa Carragenina (PDC): compuesto por 250 g de papa, 20 g de dextrosa (azúcar) y 12 g de carragenina.

La preparación del medio de cultivo PDC, se realizó al pelar, cortar y pesar 250 g de papa, en un vaso precipitado luego se hizo hervir la papa cortada en 500 ml de agua destilada estéril por 30 minutos, posterior a ello con un tamiz se filtró y se reservó el agua hervida de papa, luego en otro vaso precipitado con 500 ml de agua destilada estéril se introdujo 20 g de dextrosa (azúcar), se mezcló hasta que se disuelva completamente, posterior a ello se incorporó la mezcla con el agua de papa que se reservó, la solución se vertió en un matraz erlenmeyer, se midió el pH, hasta obtener el pH requerido de 6.3, al terminar este proceso se introdujo en el matraz 12 g de carragenina y se llevó al agitador magnético.

Las soluciones MC, PMC y PDC una vez que ya fueron homogeneizadas se llevaron al autoclave con una temperatura de 121 °C y una atmósfera de presión (1,5 atm) por un lapso de 20 minutos. Una vez realizado el autoclavado de los medios de cultivo MC, PMC y PDC estos se llevaron a la cámara de flujo laminar, donde se vertió los medios de cultivo en cajas petri de vidrio estériles.

3.3.1.5. Aislamiento del inóculo en los diferentes medios de cultivo

El aislamiento se realizó colocando un grano de sorgo inoculado en la parte central de la caja petri con medio nutritivo ya mencionados, este procedimiento se lo realizó en un ambiente aséptico dentro de una cámara de flujo laminar, terminado ya el aislamiento estos fueron sellados con plastifilm y rotulados con su correspondiente tratamiento posterior a ello fueron incubados a una temperatura 26°C.

3.3.2. Diseño experimental

Se utilizó un arreglo bifactorial en diseño completamente al azar con testigo añadido, y el análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SAS versión 9.4 y el programa estadístico InfoStat.

3.3.2.1. Modelo lineal

$$Y_{ikn} = \mu + \alpha_i + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{ik} + \varepsilon_{n(ik)}$$

Y_{ikn} = Observación cualquiera

μ = Media general

α_i = Efecto del i-ésimo nivel Factor A (Niveles de infusión de papa)

γ_k = Efecto del k-ésimo Factor C (Niveles de miel)

$(\alpha\gamma)_{ik}$ = Interacción entre del i-ésimo nivel del Factor A (Niveles de infusión de papa) con el k-ésimo nivel del Factor C (Niveles de miel)

$\varepsilon_{n(ik)}$ = Error experimental

3.3.3. Factores de estudio o tratamientos en estudio

Factor A: Niveles de infusión de papa

a_1 = 0 g de papa

a_2 = 250 g de papa

a_3 = 500 g de papa

Factor C: Niveles de miel

c_1 = 20 g de miel

c_2 = 40 g de miel

c_3 = 60 g de miel

Testigo = (250 g de papa - 20 g de dextrosa)

3.3.3.1. Distribución de Tratamientos

En el Cuadro 3 se detallan la distribución de tratamientos:

Cuadro 3
Distribución de Tratamientos

Tratamiento	Combinación	Medios de Cultivo
T1=	a₁C₁	0 g de papa - 20 g de miel
T2=	a₁C₂	0 g de papa - 40 g de miel
T3=	a₁C₃	0 g de papa - 60 g de miel
T4=	a₂C₁	250 g de papa - 20 g de miel
T5=	a₂C₂	250 g de papa - 40 g de miel
T6=	a₂C₃	250 g de papa - 60 g de miel
T7	a₃C₁	500 g de papa - 20 g de miel
T8=	a₃C₂	500 g de papa - 40 g de miel
T9=	a₃C₃	500 g de papa - 60 g de miel
Testigo=		250 g de papa - 20 g de dextrosa

Fuente: Elaboración Propia

3.3.4. Variables de Respuesta

3.3.4.1. Días de Prendimiento Micelar (DPM)

Se determinaron los días que tardó en formarse las primeras hifas del micelio en los diferentes medios de cultivo.

3.3.4.2. Crecimiento Radial del Micelio (CRM)

Se determino el Crecimiento Radial del Micelio (CRM) marcando el reverso de las cajas petri con una cruz con las orientaciones de Norte, Sur, Este y Oeste sobre un papel milimetrado, el cual permitió obtener un promedio para calcular el radio del micelio en centímetros, estos datos se obtuvieron pasados los 8 días después de la siembra.

3.3.4.3. Días de Colonización del Micelio en Cajas Petri (DCMCP)

Se tomo en cuenta los días que tardo el micelio en cubrir la superficie total de las cajas petri con los diferentes medios de cultivo.

3.3.4.4. Tasa de Crecimiento Micelar (TCM)

La tasa de crecimiento micelar se determinó una vez obtenido los radios de los micelios formados con el método de medida lineal en centímetros (cm), además del tiempo transcurrido en horas, esto mediante la siguiente formula:

Con estos datos se calculó el área de avance micelial en centímetros cuadrados (cm²).

$$\text{Área} = \pi \times \text{radio}^2 = \text{cm}^2$$

Para calcular la tasa de crecimiento micelial se utilizó la siguiente formula:

$$TCM = \frac{\text{Área}(\text{cm}^2)}{\text{Tiempo}(\text{hrs})} = \frac{\text{cm}^2}{\text{hora}}$$

3.3.4.5. Biomasa Micelar (BM)

Se determinó la biomasa micelar (mg/caja petri), realizando la separación del micelio con el medio de cultivo, luego se procedió a colocar el micelio en sobres manila previamente pesado y posteriormente se realizó el secado, hasta obtener el peso constante del micelio que determino la biomasa.

3.3.5. Análisis de costos parciales

Se realizo un análisis de costos parciales siguiendo las recomendaciones del CIMMYT (1988), sobre la producción de micelio de *Lentinula edodes*, considerando los insumos que son necesarios en el laboratorio, materia prima (inóculo), mano de obra y otros.

- **Rendimiento Medio:** el rendimiento medio se obtuvo sumando la biomasa (mg/caja petri) sobre el número repeticiones que se usó en los tratamientos.

$$\text{Rendimiento Medio} = \frac{\sum \text{de rendimientos de cajas petri de un tratamiento (mg/caja petri)}}{\text{número de cajas petri de un tratamiento}}$$

- **Rendimiento Ajustado:** el rendimiento ajustado de cada tratamiento se tomó en cuenta reduciendo cierto porcentaje, en este caso se ajustó con un 10% en cada tratamiento para reflejar la diferencia entre el rendimiento medio y el que se podría lograr en laboratorio.

- **Beneficio Bruto:** el beneficio bruto se calculó multiplicando el rendimiento ajustado por el precio del producto (caja petri).

$$BB=RA*PP$$

Donde:

BB= Beneficio Bruto (Bs/caja petri)

RA= Rendimiento Ajustado (mg/caja petri)

PP= Precio del Producto (Bs/caja petri)

- **Costos de Variación:** este cálculo se realizó para estimar la cantidad de gastos que fueron utilizados en cada uno de los tratamientos.
- **Beneficio Neto:** el beneficio neto se calculó restando el beneficio bruto de los costos de variación.

$$BN=BB*CV$$

Donde:

BN= Beneficio Neto (Bs/caja petri)

BB= Beneficio Bruto (Bs/caja petri)

CV= Costos de Variación (Bs)

- **Costos de producción:** los costos de producción se calcularon para estimar la cantidad de gastos que se realizó para cada caja petri.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la investigación se obtuvieron mediante diferentes métodos y procedimientos experimentales los cuales se describen a continuación:

4.1. Días de Prendimiento Micelar (DPM)

En el Cuadro 4 de análisis de varianza para los Días de Prendimiento Micelar, se obtuvo un coeficiente de variación de 6,95% el cual indica que los datos son confiables debido a que se encuentra dentro del rango óptimo menor al 30%.

Cuadro 4

Análisis de Varianza para Días de Prendimiento Micelar

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
A (Niveles de papa)	9,56	2	4,78	47,80	0,000	**
C (Niveles de Miel)	13,56	2	6,78	67,80	0,000	**
Factor A * Factor C	96,44	4	24,11	241,10	0,000	**
Tratamientos *Testigo	1,34	1	1,34	13,44	0,001	*
Error	3,00	30	0,10			
Total	123,9	39				

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración propia

$CV = 6,95\%$

En el análisis de varianza para los días de prendimiento micelar se observa que se tienen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en los niveles de papa (Factor A) y niveles de Miel (Factor C), asimismo se observa que existe diferencias altamente significativas entre la interacción del Factor A (niveles de papa) y el Factor C (niveles de miel) de la misma manera se observa que la interacción entre Factores A y C comparado con el testigo (250 g de papa y 20 g de miel) es significativo.

4.1.1. Prueba de medias de Duncan del Factor A en los DPM

Mediante los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 4 se puede observar que existen diferencias altamente significativas en el Factor A (Niveles de papa) por lo cual se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan el cual refleja las diferencias entre los niveles de miel.

Cuadro 5

Prueba de Comparación de Medias de Duncan (Pr>0,05) para el Factor A en los DPM

Niveles de papa	Promedio Días	Duncan (Pr>0,05)
a ₁ = 0 g de papa	5	A
a ₃ = 500 g de papa	4	B
a ₂ = 250 g de papa	4	B

Fuente: Elaboración Propia

Mediante la prueba de Duncan para el efecto del Factor A (Niveles de papa), se muestra que no existen diferencias significativas entre los niveles a₃(500 g de papa) y a₂(250 g de papa) los cuales presentan un promedio de 4 días en ambos tratamientos, por otro lado, se encontraron diferencias significativas entre los niveles de a₁(0 g de papa) y a₃(500 g de papa) que tienen 5 días y 4 días respectivamente, así mismo se puede evidenciar que existe diferencias altamente significativas entre a₁(0 g de papa) y a₂(250 g de papa) que tienen 5 días y 4 días respectivamente. Según los datos obtenidos se puede aseverar que los niveles a₂ y a₃ presentan resultados similares debido a que el micelio como indica Ardón (2007) en los primeros días ha ingresado a una fase de latencia en el que no existe crecimiento aparente, por lo que asimila de igual manera los componentes que contiene la papa en ambos niveles, además que como indica Vaca (2009) el medio de cultivo que contiene 400 g de papa presenta 2 días promedio de prendimiento del hongo *Agaricus sp* el cual representa menores tiempos que podrían deberse al contenido de almidón y proteínas asimilables que contiene la papa que es de fácil acceso para los microorganismos, por otro lado con el nivel a₁ al no contener componentes que ofrece la papa hace que esté presente un periodo más tardío prolongando la fase de latencia. Suárez (2010) señala que el extracto de papa contiene nutrientes, además de proporcionar almidón, minerales y cierta cantidad de lignina que ayudan al desarrollo de los hongos, en este entendido se puede asumir que, dependiendo del tipo de hongo, la fase y la concentración que se utilice el prendimiento puede variar presentando diferentes resultados.

4.1.2. Prueba de medias de Duncan del Factor C en los DPM

Por medio de los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 4 se puede observar que existen diferencias significativas en el Factor C (Niveles de miel) por lo cual se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan el cual refleja las diferencias entre los niveles de miel.

Cuadro 6

Prueba de Comparación de Medias de Duncan (Pr>0,05) para los Niveles de Miel en los DPM

Niveles de miel	Promedio Días	Duncan (Pr>0,05)
c ₃ = 60 g de miel	5	A
c ₂ = 40 g de miel	4	B
c ₁ = 20 g de miel	3	C

Fuente: Elaboración Propia

Mediante la prueba de Duncan se puede evidenciar que para el efecto del Factor C (Niveles de miel) del cuadro 6 existen diferencias entre los niveles de c₃ (60 g de miel), c₂ (40 g de miel) y c₁ (20 g de miel), con promedios de 5 días, 4 días y 3 días respectivamente, tales resultados podrían deberse a que en el prendimiento micelar en concentraciones de los niveles c₁ y c₂ el micelio aprovecha fácilmente los nutrientes que la miel posee haciendo de esta manera que la fase de latencia sea menor, en cambio al tener una mayor concentración (c₃) de miel este no podría ser fácilmente asimilable, en este entendido los datos obtenidos reflejan un resultado diferente a lo obtenido por Vaca (2009), que indica que el medio de cultivo que contiene 80 g de miel presenta un resultado de 3,4 días en el prendimiento micelar de *Agaricus sp*, sin embargo también se debe tomar en cuenta que al tratarse de dos géneros diferentes de hongos estos muestran diferente comportamiento en el prendimiento, por lo que se puede afirmar que con 20 g de miel el micelio de shiitake puede activar mecanismos fisiológicos necesarios para su prendimiento. Al respecto Vilchez et al. (2019) indican que la miel de abeja por su contenido de azúcares simples es útil como fuente de energía, además de contener aminoácidos y otros compuestos ayudan a la fácil asimilación para que los microorganismos puedan desarrollarse en el agar con miel.

4.1.3. Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en los DPM

Cuadro 7

Análisis de Varianza para los Efectos Simples para los Efectos de C en A en los DPM

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
C (a₁)	10,66	2	5,09	53,33	<.0001	**
C (a₂)	0,67	2	0,33	3,33	0,05	ns
C (a₃)	98,67	2	49,33	493,33	<.0001	**
Error	3,00	27	0,11			

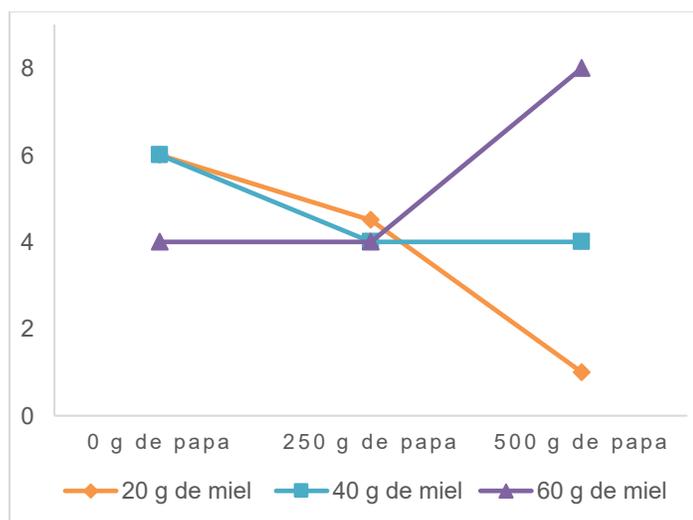
*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración Propia

El análisis de efectos simples del cuadro 7 indica que existen diferencias altamente significativas para el efecto simple de $C(a_1)$ que corresponde a los niveles de miel en el nivel a_1 (0 g de papa), así mismo se encontró diferencias altamente significativas para el efecto simple $C(a_3)$ que corresponde a los niveles de miel en el nivel a_3 (60 g de miel), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los efectos simples de $C(a_2)$ que corresponde a los niveles de miel para a_2 (40 g de miel).

Figura 5

Interacción del Factor A y C en los DPM



Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a la figura 5 se observa que el tratamiento 7 (500 g de papa-20 g de miel) presenta un mejor resultado debido a que se tiene un menor número de días en el prendimiento micelar, debido a que no se cuenta con investigaciones similares no se puede corroborar los resultados que se obtuvieron sin embargo como indica Suárez (2010) la papa contiene nutrientes, almidón, minerales y cierta cantidad de lignina por otro lado la miel como mencionan Vilchez et al. (2019) por su contenido de azúcares proporciona energía, aminoácidos y otros compuestos para su fácil asimilación, lo que podría reflejar que en el prendimiento micelar de shiitake es necesario compuestos nutritivos que ayuden a su desarrollo para que puedan ser fácilmente asimilados y estos actúen como potenciadores para el prendimiento micelar. Por otro lado, también se puede observar que la combinación de los niveles de papa con los niveles de miel son diferentes y en otros casos su comportamiento es similar, debido a ello se realizó la prueba de efectos simples de Duncan para que los datos sean corroborados estadísticamente.

4.1.3.1. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en los DPM

La prueba de Duncan para el efecto simple de los DPM en el nivel 0 de papa con respecto a los tres niveles de miel muestran los siguientes resultados:

Cuadro 8

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en los DPM

Tratamientos	Promedio Días	n	Duncan (Pr>0,05)
$c_1(a_1)$	6	4	A
$c_2(a_1)$	6	4	A
$c_3(a_1)$	4	4	B

Fuente: Elaboración propia

La prueba de Duncan para los efectos simples del Factor C en a_1 (cuadro 8) muestra que el nivel c_1 (20 g de miel) y c_2 (40 g de miel) no son estadísticamente diferentes, sin embargo presentan diferencias estadísticas con respecto al nivel c_3 (60 g de miel), en cuanto a los tratamientos 1 y 2 se puede indicar que presentan el mismo efecto debido los tratamientos solo cuentan con los componentes que ofrece la miel y no así con los componentes de la papa, respecto al tratamiento 3 si bien no presenta los componentes de la papa al presentar mayor cantidad de miel este es aprovechado por el micelio por lo que lo hace optimo.

4.1.3.2. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (niveles de miel) en a_3 (500 g de papa) en los DPM

Mediante la prueba de Duncan para el efecto simple de los DPM en el nivel de 500 g de papa con respecto a los tres niveles de miel muestran los siguientes resultados:

Cuadro 9

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_3 (500 g de papa) del Factor A en los DPM

Tratamientos	Promedio Días	n	Duncan (Pr>0,05)
$c_3(a_3)$	8	4	A
$c_2(a_3)$	4	4	B
$c_1(a_3)$	1	4	C

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a la prueba de Duncan para los efectos simples del Factor C en a_1 (cuadro 8) se puede evidenciar que el nivel c_1 (20 g de miel), el nivel c_2 (40 g de miel) y el nivel c_3 (60 g de miel), son estadísticamente diferentes debido a ello se puede indicar que con respecto al tratamiento 9 al contener un mayor contenido de papa y mayor contenido de miel (500 g de papa - 60 g de miel) presenta una lenta adaptación por parte del micelio, el tratamiento 8 al contener un mayor contenido de papa y contenido medio de miel (500 g de papa - 40 g de miel) presenta una adaptación aceptable comparable al tratamiento 3 (cuadro 8) sin embargo el tratamiento 7 que presenta mayor contenido de papa y menor contenido de miel (500 g de papa - 20 g de miel) con un promedio de crecimiento de 1 día es el que mejor adaptación presentó por lo que se puede mencionar que el tratamiento 7 es el más indicado para el prendimiento micelar.

4.1.4. Prueba de medias de Dunnett de los Tratamientos con respecto al Testigo para los DPM

Según los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 4 se puede observar que existen diferencias significativas de los tratamientos con respecto al Testigo por lo cual se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Dunnett.

Cuadro 10

Prueba de Comparación de Medias de Dunnett ($Pr > 0,05$) para los tratamientos respecto al Testigo para los DPM

Tratamientos	Grupo de control	Comparación de promedios		Diferencia de medias	Dunnett	
		Tratamientos	Testigo		p=valor	Sig (5%)
T1	Testigo	6	4	2	0,63	*
T2	Testigo	6	4	2	0,63	*
T3	Testigo	4	4	0	0,63	ns
T4	Testigo	4,5	4	0,5	0,63	ns
T5	Testigo	4	4	0	0,63	ns
T6	Testigo	4	4	0	0,63	ns
T7	Testigo	1	4	-3	0,63	ns
T8	Testigo	4	4	0	0,63	ns
T9	Testigo	8	4	4	0,63	*

*= Significativo al 5% ns= no significativo

Fuente: Elaboración propia

Según el cuadro 10 mediante la prueba de Dunnett se puede evidenciar que los tratamientos T1(0 g de papa y 20 g de miel) con promedio de 6 días, T2(0 g de papa y 40 g de miel) con promedio de 6 días y T9 (500 g de papa y 60 g de miel) con promedio de 8 días, son significativamente diferentes al Testigo (250 g de papa y 20 g de dextrosa) que tiene un promedio de 4 días, en el caso del Tratamiento 1 y el tratamiento 2 los resultados obtenidos si bien son significativamente diferentes al testigo estos tienen mayor cantidad de días lo cual podría deberse a que los tratamientos poseen solo miel y en este entendido a consecuencia de que se cuenta con poca disponibilidad de compuestos estos no son aprovechados satisfactoriamente por el micelio lo cual hace que el prendimiento sea más lento prolongando la fase de latencia por lo que y tal como indican Cañedo y Ames (2004) "el micelio debe utilizar nutrientes suficientes para asegurar su desarrollo", debido a ello el testigo al estar compuesto por papa-dextrosa cuenta con mayor disponibilidad de componentes necesarios, cabe indicar que esta combinación es recomendada por diferentes autores como Mata et al. (2020) que indican que la papa con dextrosa es la combinación adecuada y más recomendable para la producción de micelio. Con respecto al Tratamiento 9 los resultados obtenidos muestran un mayor número de días de prendimiento a comparación del Testigo, este resultado podría deberse a que en caso del tratamiento 9 este posee una alta concentración de compuestos nutritivos los cuales no podrían ser fácilmente asimilados inicialmente.

Por otra parte, se puede evidenciar que no se encontraron diferencias significativas entre el testigo con los tratamientos T3 (0 g de papa y 60 g de miel), T4 (250 g de papa y 20 g de miel), T5 (250 g de papa y 40 g de miel), T6 (250 g de papa y 60 g de miel), y el T8 (500 g de papa y 40 g de miel), por lo que en este entendido se puede indicar que los tratamientos T3, T4, T5, T6, T8 y el testigo al presentar un promedio de 4 días no son diferentes, sin embargo, debido a que no presenta un menor promedio de días este no es adecuado en el prendimiento micelar. En cuanto al T7 (500 g de papa y 20 g de miel) a comparación del testigo se puede observar que de la misma manera que los tratamientos T3, T4, T5, T6, T8 no presenta diferencias significativas debido a que la diferencia entre la medias es negativo lo que hace que el resultado en la prueba de Dunnett sea no significativo, sin embargo se debe tomar en cuenta que al comparar los promedios del T7 con promedio de 1 día presentan una diferencia con el testigo el cual tiene un promedio de 4 días, lo cual hace que el T7 sea el más óptimo para obtener un menor rango en días de prendimiento micelar, tal y como se demuestra en el cuadro 9.

4.2. Crecimiento Radial del Micelio (CRM)

El crecimiento radial del micelio (CRM) se midió una vez que el micelio paso por la fase de latencia por lo que mediante el análisis de varianza se obtuvo el coeficiente de variación de 10,20% lo cual indica que los datos son confiables para su análisis por ser menor al 30%.

Cuadro 11

Análisis de Varianza para Crecimiento Radial del Micelio

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
A (Niveles de papa)	0,72	2	0,36	12,00	0,0001	*
C (Niveles de Miel)	1,50	2	0,75	25,00	<.0001	**
Factor A * Factor C	4,93	4	1,23	41,00	<.0001	**
Tratamientos *Testigo	0,31	1	0,31	11,15	0,0023	*
Error	0,84	30	0,03			
Total	8,30	39				

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración propia

$CV = 10,20\%$

Según el análisis de varianza del cuadro 11 se observa que el crecimiento radial del micelio tiene diferencias significativas ($P < 0.05$) en el Factor A (Niveles de papa) y los tratamientos con el testigo, asimismo se observa que existe diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en el Factor C (Niveles de miel) y la interacción del Factor A el Factor C.

4.2.1. Prueba de medias de Duncan del Factor A en el CRM

Según los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 11 se puede observar que existen diferencias significativas en el Factor A (Niveles de papa) por lo que se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan.

Cuadro 12

Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para el Factor A en el CRM

Niveles de papa	Promedio cm	Duncan ($Pr > 0,05$)
$a_2 = 250$ g de papa	1,83	A
$a_1 = 0$ g de papa	1,70	A
$a_3 = 500$ g de papa	1,48	B

Fuente: Elaboración Propia

En el Cuadro 12 se puede verificar que mediante la prueba de Duncan para el efecto del Factor A (Niveles de papa) se puede evidenciar que no existen diferencias significativas entre los niveles a_2 (250 g de papa) y a_1 (0 g de papa) con un promedio en crecimiento de 1,83 cm y 1,70 cm respectivamente, por otra parte, se puede observar que se encontraron diferencias significativas entre a_2 (250 g de papa) y a_3 (500 g de papa) así mismo se observa que existe diferencias significativas entre los niveles a_1 (0 g de papa) y a_3 (500 g de papa). Según los resultados obtenidos se puede aseverar que en el crecimiento radial del micelio una vez que paso por la fase de latencia los niveles a_2 y a_1 que no presentan diferencias debido a que el micelio aprovecha los compuestos nutritivos que presenta el medio que sean más fácilmente asimilables ingresando de esta manera a la fase exponencial en donde el micelio crecerá adaptándose al medio, al respecto se puede indicar que los resultados obtenidos se encuentran próximos al trabajo realizado por Vaca (2009), quien indica que al analizar diferentes medios de cultivo el medio que contiene 400 g de papa obtuvo un crecimiento radial de 2,93 cm el cual podría deberse a que papa contiene sustancias nutritivas las cuales ayudan a obtener un micelio espeso y compacto con aspecto vigoroso. Por otro lado, el micelio con el nivel a_3 presenta un crecimiento lento al no ser fácilmente asimilable en un inicio por lo que al utilizarse una mayor concentración podría reflejarse en un menor crecimiento radial, estos resultados podrían deberse a que el micelio tiene una respuesta de adaptación diferente.

4.2.2. Prueba de medias de Duncan del Factor C en el CRM

Por medio de los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 11 se puede observar que existen diferencias significativas para el efecto del Factor C (Niveles de miel) debido a ello se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan con un nivel de 5% de efectividad, lo cual conlleva que los resultados son confiables y debido a ello actúan de forma independiente.

Cuadro 13

Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para los Niveles de miel en el CRM

Niveles de miel	Promedio cm	Duncan ($Pr > 0,05$)
$c_2 = 40$ g de miel	1,94	A
$c_3 = 60$ g de miel	1,62	B
$c_1 = 20$ g de miel	1,45	B

Fuente: Elaboración Propia

Según el cuadro 13 mediante la prueba de Duncan para el efecto del Factor C (Niveles de miel) muestra que existe diferencias significativas entre los niveles c_2 (40 g de miel) y c_3 (60 g de miel) con promedios en crecimiento de 1,94 cm y 1,62 cm respectivamente, así mismo se puede observar que existe diferencias significativas entre c_2 (40 g de miel) y c_1 (20 g de miel), por otro lado, se muestra que no existe diferencias significativas entre el nivel c_3 (60 g de miel) y c_1 (20 g de miel). Mediante los datos obtenidos se puede aseverar que para el crecimiento radial el nivel c_2 (40 g de miel) es óptimo para obtener un crecimiento de 1,94 cm en caja petri en promedio, estos resultados podrían deberse a que el micelio tiene una mayor capacidad de crecimiento debido a la respuesta que presenta en la fase exponencial en el que los medios que contengan concentraciones de miel son fácilmente asimilados por los compuestos que ayudan a favorecer el crecimiento aspecto que es corroborado por Vaca (2009) que indica que al realizar el estudio de diferentes medios de cultivo en el hongo *Agaricus sp*, el medio que tiene miel de abeja contiene azúcares como fructosa, sacarosa, glucosa y entre otros que favorecen el crecimiento micelial ya que es una fuente de carbono que es más asimilable permitiendo un aspecto denso y tupido mientras que en otros mostraba un aspecto tenue y delgado. Por otra parte, con respecto a los niveles c_3 y c_1 que son los que representan mayor y menor concentración de miel respectivamente los resultados son similares debido a que el micelio con el nivel c_3 aun no asimila rápidamente los componentes y con respecto al nivel c_1 se puede mencionar que el micelio aprovecho los componentes de la miel para el prendimiento haciendo que su crecimiento sea lento.

4.2.3. Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en el CRM

Cuadro 14

Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción del Factor A y el Factor C en el CRM

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
C (a₁)	2,99	2	1,49	52,44	<.0001	**
C (a₂)	0,16	2	0,08	2,72	0.083	ns
C (a₃)	2,41	2	1,21	42,30	<.0001	**
Error	0,71	27	0,03			

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

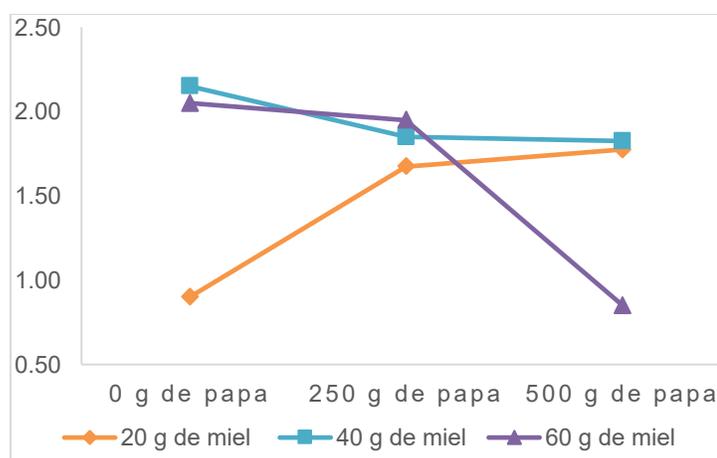
Fuente: Elaboración Propia

En el análisis de varianza (cuadro 14) se observan diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para la interacción de 0 g de papa con respecto y 500 g de papa a los diferentes

Niveles de miel, pero no existen diferencias significativas con respecto a la interacción de 250 g de papa con los Niveles de miel. Por tanto, para 0 g de papa se pueden seleccionar cualquiera de los tres Niveles de miel (20 g, 40 g y 60 g), estos resultados pueden reflejarse de esta manera debido a que el micelio cuenta con nutrientes necesarios para su desarrollo fisiológico que obtiene de la miel. Para el nivel de 250 g de papa no se encontraron diferencias significativas entre los Niveles de miel por tanto para este nivel se pueden recomendar cualquier nivel de Miel. Para el nivel de 500 g de papa se pueden seleccionar tanto 20 g, 40 g y 60 g, para obtener buenos resultados en el crecimiento radial.

Figura 6

Interacción de los Factores A x C en el CRM



Fuente: Elaboración propia

En la figura 6 para los efectos simples para el crecimiento radial del micelio se observa que el tratamiento 2 (0 g de papa-40 g de miel) y el tratamiento 3 (0 g de papa-60 g de miel) presentan mejores resultados debido a que estos tienen un mayor crecimiento radial a comparación de los otros tratamientos, en este entendido se puede verificar que los medios de cultivo al no presentar compuestos nutritivos que tiene la papa tienen un mayor crecimiento radial por lo que se puede mencionar que este resultado podría deberse a que el micelio se desarrolla más rápidamente sobre medios que tienen compuestos de fácil acceso aspecto que es corroborado por Vaca (2009), quien indica que el micelio con medio compuesto por miel y extracto de levadura de cerveza este presenta un crecimiento más lento debido a que la sacarosa se agota y provoca la síntesis de enzimas podría retrasar el crecimiento, bajo este entendido y para verificar el análisis para cada tratamiento se realizó la prueba de efectos simples de Duncan para que los datos sean corroborados.

4.2.3.1. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en el CRM

La comparación de medias de Duncan para el efecto simple en el crecimiento radial del micelio en el nivel 0 g de papa con respecto a los tres Niveles de miel se muestran los siguientes resultados:

Cuadro 15

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en el CRM

Tratamientos	Promedio cm	n	Duncan (Pr>0,05)
$c_2(a_1)$	2,15	4	A
$c_3(a_1)$	2,05	4	A
$c_1(a_1)$	0,90	4	B

Fuente: Elaboración Propia

Por medio de la prueba de Duncan (cuadro 15) para los efectos simples del Factor C en a_1 se muestra que el nivel c_2 (40 g de miel) y el nivel c_3 (60 g de miel) son estadísticamente iguales sin embargo con respecto al nivel c_1 (20 g de miel) muestra que existen diferencias significativas, en este entendido en base al resultado obtenido se puede afirmar que el tratamiento 2 que consiste en la combinación de 0 g de papa con 40 g de miel tienen un efecto similar al tratamiento 3 el cual presenta 0 g de papa con 60 g de miel debido a que ambos tratamientos al presentar solo miel son fácilmente asimilados por el micelio y por lo tanto favorecen a su crecimiento con promedios de 2,15 cm y 2,05 cm respectivamente, por otro lado con respecto al tratamiento 1 el cual presenta 0 g de papa y 20 g de miel el crecimiento es inferior esto podría deberse a que este tratamiento presenta menor contenido de miel y al contener 0 g papa este no tendría los componentes necesarios para su crecimiento adecuado, por ello su esta combinación no es conveniente para el crecimiento radial in vitro del micelio shiitake producido en laboratorio.

4.2.3.2. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_3 (500 g de papa) en el CRM

La comparación de medias de Duncan para el efecto simple en el crecimiento radial del micelio en el nivel 500 g de papa con respecto a los tres Niveles de miel se muestran los siguientes resultados:

Cuadro 16

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a₃(500 g de papa) del Factor A en el CRM

Tratamientos	Promedio cm	n	Duncan (Pr>0,05)
c₂(a₃)	1,82	4	A
c₃(a₃)	1,78	4	A
c₁(a₃)	0,85	4	B

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro 16 se puede observar la prueba de Duncan para los efectos simples del Factor C con respecto a c₃ (500 g de papa) que muestra que el nivel c₁(20 g de miel) es estadísticamente diferente a los niveles c₂(40 g de miel) y c₃(60 g de miel). En función a este resultado se puede indicar que el tratamiento 8 que consiste en la combinación de 500 g de papa con 40 g de miel con promedio de 1,82 cm y el tratamiento 9 con una combinación de 500 g de papa con 60 g de miel con promedio de 1,78 cm no son significativamente diferentes debido a que estos tratamientos presentan mayor contenido miel que ya ha demostrado ser asimilable por lo que se puede indicar que el micelio posterior al prendimiento micelar se ha adaptado al medio de cultivo que contiene la combinación de papa y miel y por ello tiene mayor capacidad de absorción de nutrientes, con respecto al tratamiento 7 el cual presenta una combinación de 500 g de papa con 20 g de miel este podría presentar un menor crecimiento debido a que el micelio presenta menores cantidades de miel, por lo que esta combinación no es conveniente para el crecimiento radial in vitro micelio de shiitake en producido en laboratorio, por lo tanto el tratamiento 8 y el tratamiento 9 son los que mejor resultados presentan, presentando mejor respuesta en la fase exponencial del micelio vegetativo.

4.2.4. Prueba de medias de Dunnett de los Tratamientos con respecto al Testigo para el CRM

En base a los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 11 se puede observar que existen diferencias significativas de los nueve tratamientos con respecto al Testigo por lo cual se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Dunnett con un nivel de significancia del 5% el cual refleja las diferencias de los 9 tratamientos con el Testigo, estos datos reflejaran las diferencias de cada tratamiento comparado con el testigo.

Cuadro 17

Prueba de Comparación de Medias de Dunnett ($Pr > 0,05$) para los tratamientos respecto al Testigo para el CRM

Tratamientos	Grupo de control	Comparación de promedios		Diferencia de medias	Dunnett	
		Tratamientos	Testigo		p=valor	Sig (5%)
T1	Testigo	0,90	1,38	-0,48	0,34	ns
T2	Testigo	2,15	1,38	0,78	0,34	*
T3	Testigo	2,05	1,38	0,68	0,34	*
T4	Testigo	1,68	1,38	0,30	0,34	ns
T5	Testigo	1,85	1,38	0,48	0,34	*
T6	Testigo	1,95	1,38	0,58	0,34	*
T7	Testigo	1,78	1,38	0,40	0,34	*
T8	Testigo	1,83	1,38	0,45	0,34	*
T9	Testigo	0,85	1,38	-0,53	0,34	ns

*= Significativo al 5% ns= no significativo

Fuente: Elaboración propia

Mediante la prueba de Dunnett del cuadro 17 se puede evidenciar que los tratamientos T1 (0 g de papa y 20 g de miel) con promedio de 0,9 cm, T4 (250 g de papa y 20 g de miel) con promedio de 1,68 cm y T9 (500 g de papa y 60 g de miel) con promedio de 0,85 cm, son significativamente diferentes al Testigo (250 g de papa y 20 g de azúcar) con promedio de 1,38 cm. En el caso de tratamientos 2 y 3 como indican Cañedo y Ames (2004) los resultados obtenidos podrían deberse a que el micelio con 40 g de miel y 60 g de miel ya obtiene los nutrientes suficientes que aseguran su desarrollo y por ello son superiores al testigo que contienen dos compuestos (papa-dextrosa) dato que es corroborado por Vaca (2009) que indica que debido a que la síntesis de enzimas el micelio podría retrasar su crecimiento, en el caso de los tratamientos 5, 6, 7 y 8 los resultados son mayores a comparación del testigo por lo que se puede indicar que la combinación de la papa con la miel son combinaciones aceptables siendo óptimas y superiores al testigo que no contiene miel. Por otro, no se encontraron diferencias significativas entre el Testigo con los tratamientos T1 (0 g de papa y 20 g de miel), T4 (250 g de papa y 20 g de miel), T9 (500 g de papa y 60 g de miel). Por tanto, se puede aseverar que al menos 6 Tratamientos (que presentan mejores resultados) son diferentes con respecto al testigo en el crecimiento radial del micelio.

4.3. Días de Colonización del Micelio en Cajas Petri (DCMCP).

Mediante el análisis de varianza se puede observar que se obtuvo un coeficiente de variación de 5,19% lo cual indica que los datos son confiables debido a que no es menor a 30% del índice de confiabilidad.

Cuadro 18

Análisis de Varianza para Días de Colonización del Micelio en Cajas Petri

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
A (Niveles de papa)	228,67	2	114,33	106,85	<.0001	**
C (Niveles de miel)	40,67	2	20,33	19,00	<.0001	**
Factor A * Factor C	392,67	4	98,17	91,75	<.0001	**
Tratamientos *Testigo	3,60	1	3,60	3,38	0,761	ns
Error	32,00	30	1,07			
Total	697,60	39				

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= no significativo

Fuente: Elaboración Propia

$CV = 5,19\%$

En el cuadro 18 se puede observar que existen diferencias altamente significativas ($Pr > 0,01$) entre los factores A (Niveles de papa) y C (Niveles de miel) asimismo se observa que existe diferencias altamente significativas entre la interacción del Factor A y el Factor C, en cambio, se puede observar que no existen diferencias significativas en la interacción los Factores A y C con relación al testigo.

4.3.1. Prueba de medias de Duncan del Factor A en los DCMCP

Por medio de los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 18 que muestran que existen diferencias significativas en el Factor A (Niveles de papa) se procedió a realizar la prueba de Duncan que se muestra a continuación:

Cuadro 19

Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) para el Factor A en los DCMCP

Niveles de papa	Promedio Días	Duncan ($Pr > 0,05$)
$a_1 = 0$ g de papa	23	A
$a_3 = 500$ g de papa	20	B
$a_2 = 250$ g de papa	17	C

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro 19 se puede evidenciar que para el efecto del Factor A (Niveles de papa) se muestra que existen diferencias entre los niveles de a_1 (0 g de papa), a_3 (500 g de papa) y a_2 (250 g de papa), con promedios de 23 días, 20 días y 17 días respectivamente. Según los datos obtenidos se puede aseverar que los resultados obtenidos podrían deberse a que los medios que contienen papa tienen una mejor respuesta en cuanto a la asimilación por parte del micelio de shiitake aspecto que es corroborado por Suarez (2010) el cual indica que el medio de cultivo que contiene papa es el más óptimo debido a que la cepa de *Lentinula edodes* tiene una mejor asimilación a este medio a comparación a otros medios así mismo señala que este comportamiento puede deberse a que cada cepa tiene un comportamiento diferente, de la misma manera Rojas et al. (2022) indican que los medios de cultivo que contienen papa presentan un crecimiento total en la caja petri a los 16 días como promedio, por tanto, según los datos obtenidos se puede mencionar que los resultados obtenidos son comparables a lo obtenido por Rojas et al. (2022) demostrando así que con el nivel de a_2 (250 g de papa) con promedio de 17 días es óptimo para finalizar la fase exponencial.

4.3.2. Prueba de medias de Duncan del Factor C en los DCMCP.

Por medio de los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 18 se puede observar que existen diferencias significativas en el Factor C (Niveles de miel) por lo cual se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan el cual refleja las diferencias entre los Niveles de miel.

Cuadro 20

Prueba de Comparación de Medias para los Niveles de miel en los DCMCP

Niveles de miel	Promedio Días	Duncan (Pr>0,05)
c_3 = 60 g de miel	21	A
c_1 = 20 g de miel	21	A
c_2 = 40 g de miel	18	B

Fuente: Elaboración Propia

La prueba de Duncan del cuadro 20 para el efecto en el Factor C (Niveles de miel), muestra que no existen diferencias significativas entre los niveles c_3 (60 g de miel) y c_1 (20 g de miel) con un promedio de 21 días en ambos niveles, sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre los niveles de c_3 (60 g de miel) y c_2 (40 g de miel) y así mismo se

encontraron diferencias significativas entre c_1 (20 g de miel) y c_2 (40 g de miel). Mediante estos resultados se puede aseverar que el nivel c_3 y el nivel c_1 son significativamente similares debido que el comportamiento del micelio es diferente en menor cantidad de miel el micelio ya no cuenta con los nutrientes necesarios para su rápido desarrollo lo cual retrasaría su crecimiento y por otro lado con 60 g de miel el micelio podría asimilar más lentamente los nutrientes o incluso perder cierta capacidad en la absorción de nutrientes en sus diferentes fases, dato que es corroborado por Ardón (2007) que menciona que en la fase de declinación los hongos alcanzan niveles lindantes para el crecimiento debido a la falta de nutrientes el cual no puede ser mantenida y puede disminuir paulatinamente, así mismo indica que por las condiciones donde se desarrolla el hongo este podría perder cierta capacidad en su desarrollo. Por otra parte Vilchez et al. (2019) indican que el uso de la miel de abeja ha demostrado ser óptimo como alternativa en el uso para el desarrollo y aislamiento de microorganismos diferenciador oxidativo fermentador de los carbohidratos.

4.3.3. Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en los DCMCP.

Cuadro 21

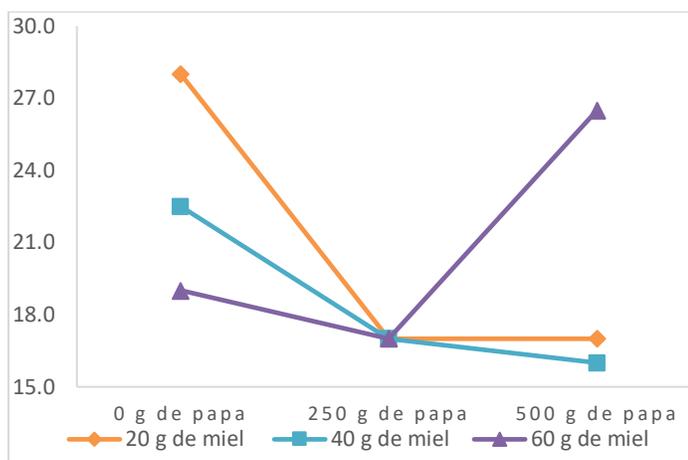
Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción de Niveles de Papa y Niveles de miel en los DCMCP

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
C (a₁)	139,18	2,00	69,59	63,07	<.0001	**
C (a₂)	3,37E-29	2,00	1,68E-29	0,00	1,000	ns
C (a₃)	268,67	2,00	134,33	121,74	<.0001	**
Error	32,00	27,00	1,19			

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración Propia

De acuerdo al análisis de varianza del cuadro 21, se puede observar que existen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para la interacción del Factor C con el nivel a_1 (0 g de papa) y para la interacción del Factor C con el nivel a_3 (500 g de papa), por otro lado, se puede observar que no existe interacción entre el del Factor C con el nivel a_2 (250 g de papa). Por lo tanto, se puede aseverar que la interacción de 0 g y 500 g de papa con respecto a los diferentes Niveles de miel son significativamente diferentes, así mismo se puede observar que no existen diferencias significativas con respecto a la interacción de 250 g de papa con los Niveles de miel.

Figura 7*Interacción de los Factores A x C en los DCMCP*

Fuente: Elaboración Propia

De acuerdo a la figura 7 se observa que el tratamiento 8 (500 g de papa- 40 g de miel) y el tratamiento 7 (500 g de papa-40 g de miel) son los más adecuados debido a que presentan un menor número de días de colonización micelar en cajas petri lo cual es conveniente en la obtención del micelio en cajas petri, estos resultados podrían deberse a que el micelio ya se ha adaptado al medio de cultivo además de que realizó una síntesis de los componentes que este contiene finalizando así su fase exponencial, este dato es corroborado por Ardón (2007), que indica que en la fase exponencial una vez que el hongo se ha adaptado al medio de cultivo este se encuentra en su máxima capacidad para aprovechar todas las condiciones que el medio le ofrece para posteriormente ingresar a la fase de declinación donde su desarrollo empieza a disminuir de manera paulatina, lo que podría hacer que el micelio pierda algunas capacidades o se modifique, es por ello que la resiembra continua o sistemática en del micelio en medios de cultivo es de importancia para evitar la pérdida del material genético (cepa), una vez obtenidos los resultados estos fueron corroborados estadísticamente por lo cual se realizó la prueba de Duncan.

4.3.3.1. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en los DCMCP

De acuerdo a la prueba de comparación de medias de Duncan para el efecto simple de los días de colonización del micelio en cajas petri en el nivel 0 de papa con respecto a los tres Niveles de miel muestran los siguientes resultados:

Cuadro 22

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a₁(0 g de papa) del Factor A en los DCMCP

Tratamientos	Promedio Días	n	Duncan (Pr>0,05)
c ₁ (a ₁)	28	4	A
c ₂ (a ₁)	22	4	B
c ₃ (a ₁)	19	4	C

Fuente: Elaboración Propia

Conforme al cuadro 22 la prueba de Duncan para los efectos simples del Factor C con respecto al nivel a₁(0 g de papa) se puede observar que los tres Niveles de miel (20 g 40 g y 60 g) son estadísticamente diferentes. En tal sentido se puede indicar existe diferencias en los tres tratamientos debido a que con el tratamiento 3 el micelio obtiene mayor cantidad de nutrientes y con los tratamientos 1 y 2 el micelio ya ha aprovechado los componentes que el medio de cultivo le ofrece prolongando su crecimiento debido a la falta de nutrientes.

4.3.3.2. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a₃(500 g de papa) en los DCMCP.

Mediante la prueba de Duncan para el efecto simple de los DCMCP en el nivel de 500 g de papa con respecto a los tres niveles de miel muestran los siguientes resultados:

Cuadro 23

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a₃(500 g de papa) del Factor A en los DCMCP

Tratamientos	Promedio Días	n	Duncan (Pr>0,05)
c ₃ (a ₃)	27	4	A
c ₁ (a ₃)	17	4	B
c ₂ (a ₃)	16	4	B

Fuente: Elaboración Propia

La prueba de Duncan para los efectos simples de Factor C con respecto al nivel a₃(500 g de papa) del cuadro 23 se puede observar que los niveles c₁(20 g de miel) y c₂(40 g de miel) no son diferentes, sin embargo, son diferentes al nivel c₃(60 g de miel), por lo que se puede indicar que los tratamientos 7 y 8 presentan efectos similares debido a que tanto la papa como la miel son asimilados por el micelio lo cual, por otro lado, con el tratamiento 9 por su alto contenido de papa y miel podrían no ser tan fácilmente asimilados por el micelio.

4.4. Tasa de Crecimiento Micelar (TCM)

Para evaluar la tasa de crecimiento micelar se tomaron en cuenta el área y la cantidad de días en los que el micelio invadió completamente la caja petri, a través del cuadro 24 se puede observar el análisis de varianza para la TCM el cual refleja que existen diferencias significativas así mismo se observa que el coeficiente de variación es de 5,48 % el cual indica que los datos son confiables y se encuentran dentro del rango óptimo menor al 30%.

Cuadro 24

Análisis de Varianza para la Tasa de Crecimiento Micelar

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
A (Niveles de papa)	0,010	2	0,010	169,49	0,0000	**
C (Niveles de miel)	0,002	2	0,001	14,75	0,0000	**
Factor A * Factor C	0,020	4	0,004	71,19	0,0000	**
Tratamientos *Testigo	2,80E-07	1	2,80E-07	0,19	0,6662	ns
Error	1,80E-03	30	5,90E-05			
Total	0,03	39				

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: elaboración propia

$CV = 5,48\%$

Mediante el análisis de varianza del cuadro 24 se puede evidenciar que existe diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para el Factor A (Niveles de papa), así mismo se observa que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) para el Factor C (Niveles de miel), de la misma manera puede observarse que existe diferencias altamente significativas para la interacción de los Factores A y C, en cambio para la interacción de los Factores (A y C) con respecto al testigo no existen diferencias significativas. Por tanto, se asume que existe un efecto de los Niveles de miel sobre la tasa de crecimiento micelar.

4.4.1. Prueba de medias de Duncan del Factor A en la TCM

Por medio de los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 24 que muestran las diferencias significativas en el Factor A (Niveles de papa) se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan el cual refleja los resultados obtenidos.

Cuadro 25

Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para el Factor A en la TCM

Niveles de papa	Promedio cm ² /hr	Duncan ($Pr > 0,05$)
a ₂ = 250 g de papa	0,16	A
a ₃ = 500 g de papa	0,14	B
a ₁ = 0 g de papa	0,12	C

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro 25 se puede observar la prueba de Duncan donde se puede evidenciar que para el efecto del Factor A (Niveles de papa) se muestra que existen diferencias entre los niveles de a₂ (250 g de papa) y a₃ (500 g de papa), con promedios de 0,16 cm²/hr y 0,14 cm²/hr, de la misma manera se puede apreciar que existen diferencias significativas entre a₂ (250 g de papa) y a₁ (0 g de papa) y diferencias significativas entre a₃ (500 g de papa) y a₁ (0 g de papa) con un promedio de 0,14 cm²/hr y 0,12 cm²/hr respectivamente, estos resultados podrían deberse a que el micelio dependiendo de los compuestos que obtiene de los medios de cultivo presentara un comportamiento diferente debido a la adaptación y asimilación de los componentes que presentan los medios, es por ello que se puede indicar que el medio de cultivo al poseer 250 g de papa y 500 g de papa influye sobre su desarrollo, este dato es corroborado por Ardón (2007) quien indica que por lo general las cepas de los hongos dependiendo del medio de cultivo en la fase exponencial se comportan de manera diferente, lo cual puede afectar en la tasa de crecimiento además de su morfología y otros aspectos, también indica que la tasa de crecimiento es una característica importante de cada hongo que varía según las condiciones que el hongo se encuentra y que sirve para realizar comparaciones cuando las cepas crecen en diferentes medios. De la misma manera Angulo et al. (2022) indican que al realizar diferentes pruebas el medio de cultivo que contiene papa evidencio mayor tasa de crecimiento con 0,33 mm/día⁻¹ en relación de otros medios que no contienen papa, lo cual confirma que los medios de cultivo deben poseer de manera necesaria compuestos que el micelio pueda aprovechar para adaptarse y posteriormente desarrollarse.

4.4.2. Prueba de medias de Duncan del Factor C en la TCM

Por medio del análisis de varianza del cuadro 24 que muestran las diferencias significativas en el Factor C (Niveles de miel) se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan el cual refleja los siguientes resultados:

Cuadro 26

Prueba de Comparación de Medias de Duncan (Pr>0,05) Para los Niveles de miel en la TCM

Niveles de miel	Promedio cm ² /hr	Duncan (Pr>0,05)
c ₂ = 40 g de miel	0,15	A
c ₁ = 20 g de miel	0,14	B
c ₃ = 60 g de miel	0,13	B

Fuente: Elaboración Propia

Según el cuadro 26 mediante la prueba de Duncan para el efecto del Factor C(Niveles de miel) se puede evidenciar que no existe diferencias significativas entre los niveles c₁(20 g de miel) y c₃(60 g de miel) con promedios de 0,14cm²/hr y 0,13cm²/hr respectivamente, así mismo se puede observar que existe diferencias significativas entre c₂(40 g de miel) con los niveles c₁ y c₃, en base a estos resultados se puede indicar que el medio de cultivo con el nivel c₂ es el más óptimo debido a que el micelio presenta mayor adaptación a comparación de los niveles c₁ y c₃ que son significativamente iguales el cual podría deberse a que el micelio con el nivel c₁ ya ha alcanzado su máxima capacidad de crecimiento, en cambio con el nivel c₃ aún continua aprovechando los componentes que el medio posee, al respecto Rios et al. (2010) indican que en medios que contienen sacarosa (azúcar) en hongos del género *Pleurotus* obtuvo resultados de hasta 0,03 cm/hr, por lo que se puede aseverar que con el nivel c₂(40 g de miel) a comparación del uso de sacarosa se puede obtener una tasa de crecimiento micelar de 0,15cm²/hr en caja petri, lo cual demuestra que con 40 g de miel se pueden obtener resultados que óptimos para obtener un crecimiento adecuado.

4.4.3. Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en la TCM

Cuadro 27

Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción del Factor A y el Factor C en la TCM

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
C (a₁)	0,006	2	0.003033	51,27	<.0001	**
C (a₂)	2,43E-32	2	1,21E-32	0,00	1,00	ns
C (a₃)	0,012	2	0,006	104,37	<.0001	**
Error	1,63E-03	27	6,1E-05			

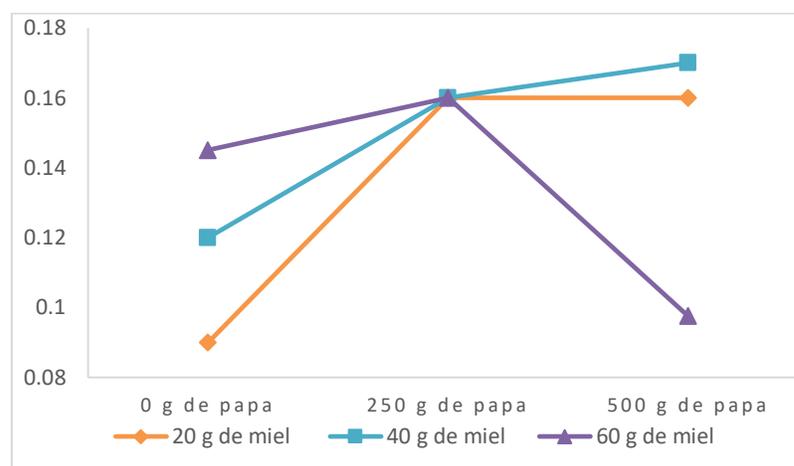
*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro 27 de análisis de varianza para la interacción del Factor A (Niveles de papa) y Factor C (Niveles de miel) se observa que existen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para los tres Niveles de miel (20 g, 40 g y 60 g) con respecto al nivel a_1 (0 g de papa), lo que indica que los Niveles de miel actúan de forma dependiente del nivel a_1 para el desarrollo en la tasa de crecimiento micelar. Por otra parte, se observa que en la interacción del Factor C (Niveles de miel) con el nivel a_2 (250 g de papa) no existen diferencias significativas, por lo que se es conveniente utilizar cualquier nivel de miel. Para a_3 (500 g de papa) se puede seleccionar entre los tres Niveles de miel (20 g, 40 g y 60 g) para obtener resultados favorables en la tasa de crecimiento radial, en base a estos resultados se procedió a realizar el análisis de efectos simples que se muestran a continuación:

Figura 8

Interacción de los Factores A x C en la TCM



Fuente: Elaboración Propia

La figura 8 muestra el comportamiento del tratamiento 8 (500 g de papa – 40 g de miel) y el tratamiento 7 (500 g de papa – 20 g de miel) son los que presentan mejores resultados a comparación de los otros tratamientos, debido a que no se cuenta con investigaciones similares no se puede corroborar los resultados que se obtuvieron sin embargo como indica Ardón (2007) los hongos en la fase exponencial tienen un comportamiento diferente dependiendo del medio de cultivo en el que se encuentra, lo cual puede afectar en la tasa de crecimiento por lo que, los tratamientos 8 y 7 al contener papa y miel son fácilmente asimilados por el micelio, asimismo se puede observar que en las diferentes combinaciones este presenta en algunos casos comportamientos similares y en otros

casos comportamientos diferentes por lo que para tener datos más exactos se procedió a realizar el análisis de medias mediante la prueba de Duncan con significancia al 5% para efectos simples el cual se muestra en el cuadro 28 y en el cuadro 29.

4.4.3.1. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a_1 (0 g de papa) en la TCM

La comparación de medias de Duncan para el efecto simple en la tasa de crecimiento micelar en el nivel 0 g de papa con respecto a los tres Niveles de miel se muestran los siguientes resultados:

Cuadro 28

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a_1 (0 g de papa) del Factor A en la TCM.

Tratamientos	Promedio cm ² /hr	n	Duncan (Pr>0,05)
$c_3(a_1)$	0,14	4	A
$c_2(a_1)$	0,12	4	B
$c_1(a_1)$	0,09	4	C

Fuente: Elaboración Propia

De acuerdo a la prueba de Duncan del cuadro 28 para los efectos simples del Factor C con respecto al nivel a_1 (0 g de papa) se puede observar que existen diferencias significativas entre los niveles c_3 (60 g de miel) y c_2 (40 g de miel), de la misma manera se muestra que existen diferencias entre los niveles c_2 (40 g de miel) y c_1 (20 g de miel), en base a este resultado se puede indicar que el tratamiento 3 que contiene 0 g de papa y 60 g de miel es el más indicado puesto que presenta mejores resultados con un promedio de 0,14 cm²/hr que podría deberse a que el medio aún cuenta con compuestos nutritivos que ayudan a su desarrollo en cambio con el tratamiento 1 (0 g de papa - 20 g de miel) y el tratamiento 2 (0 g de papa - 40 g de miel) el micelio ya habría aprovechado todos los compuestos que estos medios de cultivo poseen y al no contener otros compuestos asimilables el micelio pasa a fase de declinación en donde los nutrientes escasean o se terminan lo cual hace que el crecimiento sea detenido o empiece a disminuir paulatinamente, por lo que en caso de no utilizar algún otro compuesto que sea combinado en el medio de cultivo la mejor opción a utilizar es el nivel c_3 (60 g de miel).

4.4.3.2. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a₃(500 g de papa) en la TCM

La prueba de Duncan para el efecto simple de tasa de crecimiento micelar en el nivel 0 de papa con respecto a los tres Niveles de miel muestran los siguientes resultados:

Cuadro 29

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a₃(500 g de papa) del Factor A en la TCM.

Tratamientos	Promedio cm ² /hr	n	Duncan (Pr>0,05)
c ₂ (a ₃)	0,17	4	A
c ₁ (a ₃)	0,16	4	B
c ₃ (a ₃)	0,10	4	B

Fuente: Elaboración Propia

Mediante la prueba de Duncan del cuadro 29 para los efectos simples de C(a₃) muestra que el nivel c₂(40 g de miel) y c₁(20 g de miel) no son significativamente diferentes, por otra parte, existen diferencias estadísticamente diferentes entre c₂(40 g de miel) y c₃(60 g de miel), y los niveles c₁(20 g de miel) y c₃(60 g de miel). En este entendido se puede indicar que el tratamiento 7 (500 g de papa – 20 g de miel) y el tratamiento 9 (500 g de papa – 60 g de miel) no presentan diferencias significativas debido a que el micelio con el tratamiento 7 ya no cuenta con la composición nutritiva de la miel debido a que este ha terminado entrando a la fase de declinación y en cambio con el tratamiento 9 el micelio aun aprovecha los componentes que el medio de cultivo ofrece continuando con la fase exponencial en donde el hongo aún se encuentra en capacidad de aprovechar al máximo las condiciones que este ofrece, por lo que se puede indicar que la combinación de papa con miel en un porcentaje de 500 g de papa con 20 g de miel es óptimo para obtener un crecimiento constante del micelio.

4.5. Biomasa Micelar (BM)

Se hizo la determinación de la biomasa del micelio utilizando el peso en seco del micelio por cada unidad experimental, los datos fueron tomados y calculados al finalizar la colonización del micelio en las cajas petri, mediante el análisis de varianza se puede observar que se obtuvo un coeficiente de variación de 8,09% lo cual indica que los datos son confiables para su análisis debido a que es menor que el rango de 30%.

Cuadro 30
Análisis de Varianza en la Biomasa Micelar

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
A (Niveles de papa)	47195,9	2	23597,95	217,31	0,000	**
C (Niveles de miel)	4929	2	2464,5	22,70	0,000	**
Factor A * Factor C	3399,25	4	849,81	7,83	0,000	**
Tratamientos *Testigo	167,5	1	167,5	1,54	0,2239	ns
Error	3257,58	30	108,59			
Total	58949,23	39				

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración propia

CV = 8,09%

En el cuadro 30 se puede apreciar que existen diferencias altamente significativas ($Pr > 0,01$) en el Factor A (Niveles de papa), así también existen diferencias altamente significativas ($Pr > 0,01$) en el Factor C (Niveles de miel) asimismo se puede apreciar que existen diferencias altamente significativas ($Pr > 0,01$) para la interacción de los Factores, por otro lado, se puede apreciar que no existe diferencias significativas al realizar el análisis de comparación de los Factores A y B contra el testigo (250 g de papa y 20 g de azúcar).

4.5.1. Prueba de medias de Duncan del Factor A en la BM

Según los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 30 que muestran las diferencias significativas en el Factor A (Niveles de papa) se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan el cual refleja los resultados obtenidos.

Cuadro 31

Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para el Factor A en la BM

Niveles de papa	Promedio mg/caja petri	Duncan ($Pr > 0,05$)
$a_3 = 500$ g de papa	173,91	A
$a_2 = 250$ g de papa	125,37	B
$a_1 = 0$ g de papa	85,37	C

Fuente: Elaboración Propia

La prueba de Duncan del cuadro 31 para el efecto del Factor A (Niveles de papa) muestra que existe diferencias significativas entre los niveles a_3 (500 g de papa), a_2 (250 g de papa) y a_1 (0 g de papa) con rendimientos de 173,91 mg/caja petri, 125,37 mg/caja petri y 85mg/caja petri respectivamente. Por lo que se puede aseverar que los Niveles de papa afectan al rendimiento de biomasa del micelio en caso del nivel a_3 los resultados podrían deberse a la composición del medio que presenta mayores cantidades de nutrientes de que contienen la papa los cuales son aprovechados por el micelio para su desarrollo vigoroso, así mismo en caso del nivel a_2 se podría indicar que por su composición el micelio aprovecha los compuestos que el medio posee, estos datos son corroborados por Sánchez y Mata (2012) que indican que al analizar diferentes medios de cultivo para la obtención de biomasa micelar obtuvieron como resultados que el medio de cultivo sintético que contenía papa obtuvo resultados de 164,3 mg/caja petri lo cual muestra los medios de cultivo que poseen papa son óptimos para ser utilizados en la producción de biomasa micelar del shiitake, en el caso del nivel a_3 por los resultados obtenidos se puede indicar que por los resultados este no es factible en la producción de micelio y por tanto se puede indicar que en base a los promedios obtenidos la incorporación de 500 g de papa y 250 g de papa en medios de cultivos son factibles en la producción de biomasa micelar.

4.5.2. Prueba de medias de Duncan del Factor C en la BM

Mediante los resultados obtenidos en el análisis de varianza del cuadro 30 que muestran las diferencias significativas en el Factor C (Niveles de miel) se procedió a realizar la comparación de medias mediante la prueba de Duncan.

Cuadro 32

Prueba de Comparación de Medias de Duncan ($Pr > 0,05$) Para los Niveles de miel en la BM

Niveles de papa	Promedio mg/caja petri	Duncan ($Pr > 0,05$)
$c_3 = 60$ g de miel	140,92	A
$c_2 = 40$ g de miel	130,87	B
$c_1 = 20$ g de miel	112,65	C

Fuente: Elaboración Propia

La prueba de Duncan del cuadro 32 para el efecto del Factor C (Niveles de miel) muestra que existe diferencias estadísticamente significativas entre los niveles c_3 (60 g de miel), c_2 (40 g de miel) y c_1 (20 g de miel) con rendimientos de 140,92 mg/caja petri, 130,87 mg/caja

petri y 112,65 mg/caja petri respectivamente, tales resultados podrían deberse a que en caso del nivel c_3 y el nivel c_2 el micelio aún continúa en la fase exponencial por lo que este se encuentra aprovechando al máximo las condiciones que le rodea, los resultados obtenidos son comparables a los presentados por Sánchez y Mata (2012) indican que al realizar el análisis de diferentes medios de cultivo en la producción de biomasa de shiitake encontraron diferentes rangos entre los medios de cultivo los cuales presentan resultados de 186 mg/caja petri hasta 360 mg/caja petri y con respecto al nivel c_1 se podría indicar que si bien el promedio obtenido es inferior a los otros niveles este aun continúa siendo factible en la producción de micelio lo cual podría deberse a que con 20 g de miel el micelio ya ha aprovechado todos los componentes que el medio de cultivo poseía entrando en la fase de declinación, al respecto Vaca (2009), indica a que al utilizar 80 g de miel en la obtención de biomasa micelar del hongo *Agaricus campestris* y de *Agaricus bisporus* obtuvo resultados de 320 mg/caja petri y 890 mg/caja petri, bajo este entendido se puede indicar que la miel en concentraciones de 60 g y 40 g con promedios de 140,32 mg/ caja petri y 130,87 mg/caja petri son factibles en medios de cultivo y dependiendo del tipo de hongo este presentara diferentes resultados.

4.5.3. Análisis de varianza de efectos simples para la interacción del Factor A y el Factor C en la BM

Cuadro 33

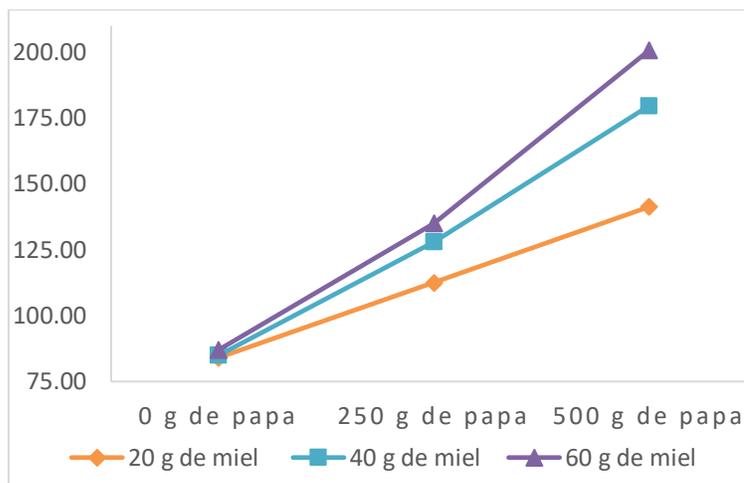
Análisis de Varianza de Efectos Simples para la Interacción de Niveles de Papa y Niveles de miel en la BM

FV	SC	gl	CM	Fc	Pr > F	Sig (5%)
C (a₁)	18,81	2	9,40	0,09	0,917	ns
C (a₂)	1052,47	2	526,23	4,85	0,015	*
C (a₃)	7256,98	2	3628,49	33,42	<.0001	**
Error	3157,58	27	116,95			

*= Significativo al 5% **= Altamente Significativo al 1% ns= No significativo

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro 31 de análisis de varianza para la interacción de efectos simples del Factor A (Niveles de papa) y del Factor C (Niveles de miel) se observa que no existen diferencias significativas en C(a₁) (20 g, 40 g y 60 g) con respecto a los tres Niveles de papa (0 g, 250 g y 500 g) lo que indica que los Niveles de miel actúan de forma dependiente del nivel a₁ para el desarrollo en la biomasa micelar.

Figura 9*Interacción de los Factores A x C para la BM*

Fuente: Elaboración Propia

De acuerdo a la figura 26 el efecto simple para la biomasa micelar se puede observar que el tratamiento 9 y el tratamiento 8 son los que tienen mejores resultados debido a que presentan mayor cantidad de biomasa micelar a comparación de los otros tratamientos, estos resultados podrían deberse a que el micelio en la fase exponencial como indica Ardón (2007) ya se encuentran en su máxima capacidad lo cual hace que aproveche todos los compuestos que los medios de cultivo presentan y por otro lado en la fase de declinación el micelio ya ha alcanzado metabolizado todos los compuestos que el medio posee para posteriormente pasar a la fase estacionaria o muerte donde el crecimiento cesa debido a que no consume glucosa y otros nutrientes, por otro lado como indican Sánchez y Mata (2012) el medio de cultivo que presenta papa es óptimo debido a que se obtienen mejores resultados a comparación de otros medios. Vaca (2009), indica que al realizar el análisis de diferentes medios de cultivo obtuvo que la miel actúa sobre biomasa micelar y dependiendo del hongo estos presentarían diferentes resultados, en este entendido, para que los datos sean corroborados estadísticamente se realizó la prueba de Duncan para analizar los efectos simples de los factores.

4.5.3.1. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a₂(250 g de papa) en la BM

La comparación de medias de Duncan para el efecto simple en la biomasa micelar se observan siguientes resultados:

Cuadro 34

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a₂(2500 g de papa) del Factor A en la BM

Tratamientos	Promedio mg/caja petri	n	Duncan (Pr>0,05)
c ₃ (a ₂)	134,99	4	A
c ₂ (a ₂)	127,95	4	A
c ₁ (a ₂)	112,56	4	B

Fuente: Elaboración Propia

Mediante el cuadro 34 la prueba de Duncan para los efectos simples del Factor C con respecto al nivel a₂(250 g de papa) se puede verificar que el nivel c₃(60 g de miel) es similar estadísticamente al nivel c₂(40 g de miel) pero es diferente al nivel c₁(20 g de miel). En base a este resultado se puede aseverar que los tratamientos 6 (250 g de papa -60 g de miel) y el tratamiento 5 (250 g de papa – 40 g de miel) con promedios de 134,99 mg/caja petri y 127,95 mg/caja petri respectivamente no son significativamente diferentes debido a que durante se desarrolló en la fase exponencial estos medios de cultivo presentaron de la misma manera asimilación y absorción de nutrientes para obtención de la biomasa micelar, sin embargo con el tratamiento 5 posterior al llenado de la caja petri este por su composición ingreso en la fase de latencia haciendo que este ya no muestre mayor desarrollo micelar en cambio con el tratamiento 6 que está compuesto por mayor concentración de nutrientes el micelio continuo con la fase exponencial demostrando de esta manera que en cuanto a la producción de biomasa los medios de cultivo que contienen papa y miel sean óptimos.

4.5.3.2. Comparación de medias de Duncan para efectos simples del Factor C (Niveles de miel) en a₃(500 g de papa) en la BM.

La comparación de medias de Duncan para el efecto simple en la biomasa micelar se observan siguientes resultados:

Cuadro 35

Prueba de Comparación de Duncan para Efectos Simples Factor C en el Nivel a₃(500 g de papa) del Factor A en la BM.

Tratamientos	Promedio mg/caja petri	n	Duncan (Pr>0,05)
c ₃ (a ₃)	200,71	4	A
c ₂ (a ₃)	179,69	4	B
c ₁ (a ₃)	141,31	4	C

Fuente: Elaboración Propia

Mediante la prueba de Duncan para los efectos simples del Factor C (Niveles de miel) con respecto al nivel a_3 (500 g de papa) en el cuadro 35 se muestra que el nivel c_3 (60 g de miel), c_2 (40 g de miel) y c_1 (20 g de miel) son estadísticamente diferentes. En base a este resultado se puede indicar que con respecto al tratamiento 9 (500 g de papa – 60 g de miel) con promedio de 200,71 mg/caja petri el cual contiene mayores concentraciones de compuestos nutritivos los resultados obtenidos se deben a que el micelio hasta los 27 días (cuando lleno la caja petri) aún continua en la fase exponencial, aprovechando así lo requerido para su desarrollo de biomasa generando de esta manera un mayor promedio en mg, sin embargo debido al prolongado periodo de tiempo que este conlleva para su desarrollo este implica que no sea factible, con respecto al tratamiento 8 (500 g de papa – 40 g de miel) con promedio de 170,69 mg/caja petri y el tratamiento 7 (500 g de papa - 20 g de miel) con promedio de 141,31 mg/caja petri se puede indicar que los resultados obtenidos se deben a que estos ya han pasado a la fase de declinación en donde los compuestos nutritivos escasean sin embargo considerando el periodo de tiempo en el que colonizaron la caja petri (16 y 17 días que se muestra en el cuadro 23) estos son los más factibles para ser la mejor alternativa para la producción de biomasa micelar de shiitake.

4.6. Comparación de costos parciales

El análisis de costos parciales se realizó mediante la obtención de micelio de shiitake siguiendo las recomendaciones del CIMMYT (1988), considerando los insumos que son necesarios en el laboratorio como materia prima (inóculo), mano de obra y otros gastos. Este análisis permitirá recomendar el mejor tratamiento el cual se utilizará para mejorar ingresos económicos que sean factibles para la producción de micelio en laboratorio.

Cuadro 36

*Presupuesto Parcial para la Producción de Micelio del Hongo *Lentinula edodes* (Shiitake)*

Tratamientos	BM (mg/caja)	RM (Cajas)	RMA 10% (Cajas)	BB (Bs)	CV (Bs)	BN (Bs)
T1	84,07	40	36	1.859,30	1.543,25	316,05
T2	84,97	40	36	1.862,52	1.564,45	298,07
T3	87,06	40	36	1.870,06	1.455,65	414,41
T4	112,56	40	36	1.961,86	1.463,15	498,71
T5	127,95	40	36	2.017,25	1.464,35	552,90
T6	134,99	40	36	2.042,61	1.465,55	577,06

T7	141,31	40	36	2.065,37	1.464,05	601,32
T8	179,69	40	36	2.203,54	1.455,25	748,29
T9	200,71	40	36	2.279,21	1.566,45	712,76
Testigo	134,97	40	36	2.042,52	1.482,05	560,47

Fuente: Elaboración Propia

En el análisis económico del cuadro 34 se puede observar que existe diferentes columnas entre los que se encuentran los tratamientos, Biomasa Micelar (BM), Rendimiento Medio (RM), Rendimiento Medio Ajustado (RMA), Beneficio Bruto (BB), Costos de Variación (CV) y Beneficio Neto (BN), los cuales fueron empleados para obtener la mejor alternativa en costos y beneficios de los tratamientos empleados. En este entendido mediante el Rendimiento medio (que se obtuvo al preparar un litro de medio de cultivo para 40 cajas petri) se pudo calcular el Rendimiento Ajustado con una pérdida del 10% el cual se describe con exactitud en el **Anexo 12** debido a que como indica CIMMYT (1988) el rendimiento medio debe ser reducido en un porcentaje debido a que se podrían presentar ciertos inconvenientes durante los ensayos experimentales.

En cuanto al Beneficio Bruto se calculó mediante la multiplicación del Rendimiento Ajustado y se tomó como referencia el precio de venta en placa petri de la empresa brasileña ART-COGUMELLOS (2024) el cual tiene un costo de 43,24 Bs (35,00 Reales) que contiene micelio de *Lentinula edodes* (Shiitake).

Los Costos de Variación muestran los gastos que se realizó para cada tratamiento en el que se tomó en cuenta el material biológico, materiales de vidrio, instrumental, implementos y equipos de laboratorio, así como también los reactivos, mano de obra y los materiales de estudio utilizados en los ensayos experimentales. Una vez obtenido el Beneficio Bruto y los Costos de Variación se obtuvo los beneficios netos el cual se usa para calcular las tasas marginales de retorno al capital mediante el análisis de dominancia que se muestra a continuación:

4.6.1. Análisis de dominancia

Según (CIMMYT (1988)) el análisis de dominancia se realiza ordenando los costos que varían de menores a mayores, y es dominado aquel beneficio neto que tenga menores beneficios y mayores costos que varían.

Cuadro 37
Análisis de Dominancia de los Tratamientos

Tratamientos	Costos que varían	Beneficios Netos	Dominancia
	(Bs/caja petri)	(Bs/caja petri)	
T8	1.455,25	748,29	*
T3	1.455,65	414,41	D
T4	1.463,15	498,71	D
T7	1.464,05	601,32	D
T5	1.464,35	552,90	D
T6	1.465,55	577,06	D
Testigo	1.482,05	560,47	D
T1	1.543,25	316,05	D
T2	1.564,45	298,07	D
T9	1.566,45	712,76	D

*=No Dominado D=Dominado

Fuente: Elaboración Propia

En el cuadro 35 mediante el análisis de dominancia se puede observar que el tratamiento T8 (a_3C_2) que corresponde al nivel a_3 (500 g de papa) y a_2 (40 g de miel) es considerado no dominado debido a que tiene un costo variable bajo y un beneficio alto, con respecto a los demás tratamientos se puede indicar que son considerados dominados debido a que tienen un costo variable alto y un beneficio neto bajo a comparación del tratamiento T8.

Por lo que en cuanto a la producción de micelio de Shiitake se recomienda el uso del T8 debido a que con este tratamiento se obtendrá Bs.748,29 (setecientos cuarenta y ocho 29/100 bolivianos) cuando la producción tenga un costo variable de Bs.1.455,25 (mil cuatrocientos cincuenta y cinco 25/100 bolivianos).

Debido a que en su mayoría los tratamientos incluyendo el testigo son dominados y solo el tratamiento T8 es el único no dominado no se realizó el análisis de la tasa de retorno marginal debido a que si se intentase hallar el beneficio neto marginal los resultados serian negativos y no se cumpliría con lo establecido para elaborar la curva de beneficios netos los cuales deben ser siempre positivos. Con estos resultados se puede verificar que para aumentar los ingresos en cuanto a producción de micelio shiitake es necesario centrarse en los beneficios netos y no así en los rendimientos de los tratamientos.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y según los resultados obtenidos en el presente estudio, nos permite sustentar las siguientes conclusiones:

- Los medios de cultivo que contienen papa actúan de forma independiente siempre y cuando sean utilizados en una concentración de 250 g obteniendo de esta manera 4 días en el prendimiento micelar, 1,83 cm² en el crecimiento radial, 17 días para la colonización micelar en cajas petri y una tasa de crecimiento micelar de 0,16 mg/hr como promedio. Por otro lado, en cuanto a la biomasa micelar el mejor promedio se obtiene utilizando 500 g de papa el cual presento 173,91 mg/caja petri. Con relación a la forma y aspecto, aunque no es una variable que se haya tomado en cuenta para su evaluación se puede observar en el anexo 14 que las cajas petri de los tratamientos T1, T2 y T3 (los cuales no contienen infusión de papa) presentan una forma circular sin embargo no presentan un aspecto vigoroso a comparación de los otros tratamientos lo cual demuestra que los medios de cultivo solidos (compuestos por un medio gelificante) deben contener necesariamente compuestos que contienen nutritivos que contiene la papa que son asimilables y necesarios para el micelio.
- Con respecto al análisis de la miel se pudo evidenciar que con 20 g de miel se pueden activar los mecanismos fisiológicos del micelio lo cual conlleva a que en los días de prendimiento micelar se obtenga 3 días como promedio para su prendimiento, en cuanto al crecimiento radial del micelio con un promedio de 1,83 cm², los días de colonización de micelio con un promedio de 17 días y tasa de crecimiento micelar con promedio de 0,15 mg/hr se puede aseverar que la concentración de 40 g de miel es óptimo para su desarrollo, en cambio para la biomasa micelar que presento un promedio de 140,92 mg/caja petri se puede indicar que la concentración de 60 g de miel es óptimo, sin embargo cabe destacar que si bien estos resultados reflejan promedios favorables se debe tomar en cuenta que el micelio que es aislado en medios de cultivo solidos necesariamente necesitan de otros compuestos para desarrollarse.
- En cuanto a la interacción entre los Niveles de papa y los Niveles de miel se evidencio que en los días de prendimiento micelar se obtienen mejores resultados al realizar la combinación de 500 g de papa y 20 g de miel el cual presenta un promedio de 1 día el cual demuestra que la fase de latencia dependiendo de la concentración utilizada puede

ser menor siendo este un aspecto importante y favorable para obtener en menor tiempo el micelio en cajas petri, en el crecimiento radial del micelio se obtendrá un mejor resultado al realizar la combinación de 0 g de papa con 60 g de miel que presenta 2,15 cm² en promedio siendo este resultado mejor a lo obtenido si solo se usara papa o miel de forma independiente. En cuanto a los días de colonización del micelio en cajas petri y en la tasa de crecimiento micelar se obtuvo que la combinación de 500 g de papa con 40 g de miel presenta resultados de 16 días y 0,16 mg/hr son similares a los obtenidos si no se realizara una combinación de los factores, sin embargo, al tomar en cuenta la biomasa micelar se puede observar que combinando 500 g de papa y 60 g de miel se obtiene un promedio de 200,71 mg/caja petri el cual es importante en cuanto a costos de producción.

- Debido a que diferentes autores mencionan que el medio de cultivo compuesto por 250 g de papa y 20 g de dextrosa (azúcar) es el más indicado para la producción micelar en cajas petri se realizó una comparación con este medio de cultivo así de esta manera en la presente investigación se tomó en cuenta la composición del medio (250 g de papa – 20 g de dextrosa) como un tratamiento denominado Testigo y se pudo evidenciar que al menos dos variables de estudio presentan diferencias significativas por lo que mediante diferentes pruebas se pudo evidenciar que en los días de prendimiento micelar los tratamientos T1, (6 días) T2 (6 días) y T9 (8 días) son diferentes al Testigo (4 días), debido a que presentan mayor cantidad de días, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos T3, T4, T5, T6 y T8 que presentaban promedios de 4 días similares al testigo sin embargo con el T7 si bien no es significativamente diferente al testigo debido a que en la diferencia de medias el resultado es negativo se debe tomar en cuenta que al realizar la comparación de medias el T7 al presentar el promedio de 1 día presenta diferencias con el testigo que presenta 4 días de promedio, por lo que se concluye que al menos tres de los nueve tratamientos son diferentes al Testigo. Referente al crecimiento radial del micelio se puede indicar que los tratamientos T1, T4 y T9 no son significativamente diferentes al testigo debido a que sus promedios son similares, sin embargo, el testigo con un promedio de 1,38 cm es significativamente diferente a los tratamientos T2, T3, T5, T6, T7 y T8 con promedios de 2,15 cm, 2,05 cm, 1,85 cm, 1,95 cm, 1,78 cm y 1,83 cm, debido a que su resultado es inferior por lo que se puede indicar que al menos 6 tratamientos presentan mejores resultados y son diferentes al Testigo.

6. RECOMENDACIONES

En base a los objetivos, resultados y conclusiones del presente trabajo, se pueden formular las siguientes recomendaciones:

- A través del presente trabajo de investigación y los análisis realizados se recomienda que si se desea realizar el medio de cultivo que contiene solo papa se utilice la concentración de 250 g y 500 g de papa y en caso del medio de cultivo que posea solo miel se recomienda utilizar 40 g y 60 g debido a que demostraron ser los más factibles
- Por otro lado, de realizar la combinación de papa con miel resultados que demostraron ser más factibles se recomienda realizar la combinación de 500 g de papa con miel 40 g y 60 g para obtener mayor cantidad de micelio (biomasa micelar). Cabe recalcar que en cuanto a costos es necesario centrarse en los beneficios que se obtiene y debido a ello se recomienda usar 500 g de papa combinado con 40 g para obtener costos factibles para la producción micelar de *Lentinula edodes* (shiitake) como se demuestra en el cuadro 37.
- Continuar con los estudios sobre la combinación y el uso de diferentes niveles de papa y miel en el desarrollo del micelio en cajas petri del hongo shiitake
- Realizar trabajos de investigación en que estén enfocados en otras concentraciones de papa y de miel, para otros tipos de hongos comestibles, así como también la incorporación de otros objetos de estudio.
- Realizar investigaciones con otros extractos que contengan otros compuestos naturales para el desarrollo micelar del shiitake para tener mayores alternativas de producción micelar.
- Debido a que la producción de micelio cuenta con diferentes etapas para su producción en caso del Shiitake se recomienda llevar la presente investigación a la siguiente etapa para identificar los sustratos (cereales) para la producción de semilla o spawn.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almendros, A. (2012). *Estudio de la implantación de una granja de producción de Shiitakes (Lentinula edodes) en Costa Rica "Las Mellizas"*. Universidad Politécnica de Catalunya, Costa Rica.
- Angulo, F., Mamani, B., y Nova, M. (2022). Crecimiento in vitro de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) en diferentes medios de cultivo. 9.
- Ardón, C. (2007). *La producción de los hongos*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Arenas, G. (2018). *Determinación del sustrato de mayor eficiencia para el cultivo de shiitake (Lentinula edodes) a partir de residuos agrícolas a escala de laboratorio* Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga Bucaramanga.
- Arias, G., Gutiérrez, C., y Ospina, C. (2008). *Propuesta del cultivo de hongo Pleurotus y Lentinula edodes a partir de la biomasa del café en las fincas cafeteras de manizales para el fortalecimiento de los programas de desarrollo alternativo*. Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/4096/409634349003.pdf>
- Arreaga, E., y Torres, P. (2016). *Estudio de las propiedades alimenticias del hongo Shiitake (Lentinula edodes) y sus aplicaciones en la gastronomía ecuatoriana* Universidad de Guayaquil, Guayaquil-Ecuador.
- ART-COGUMELOS. (2024). Placa petri – *Lentinula edodes* (shiitake). from <https://artcogumelos.com.br/produto/placa-petri-lentinula-edodes-shiitake/>
- Barba, J., y López, J. (2017). *Guía práctica para el cultivo de Setas*. México Universidad Autónoma Metropolitana.
- Barbado, J. L. (2003). *Hongos Comestibles*: Editorial Albatros.
- Barrero, L. (2016). *Microbiología clínica*. España: Universidad Europea de Madrid.
- Boa, E. (2005). *Los hongos silvestres comestibles-Perspectiva global de su uso e importancia para la población* FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación).
- Calderón, L. (2012). *Desarrollo micelial del hongo comestible shiitake (Lentinula edodes) utilizando medios de crecimiento en base a paja de cebada suplementada*. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Cañedo, V., y Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*: Centro Internacional de la Papa (CIP).
- Caro, C. (2019). Agar Papa Dextrosa. *Academia*, 3.
- Casado, C., Torrico, G., y Medina, M. (2012). Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. 42.
- Cerra, H., Fernández, M., Horak, C., Lagomarsino, M., Torno, G., y Zarankin, E. (2013). *Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos*. Buenos Aires-Argentina: División de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos Subcomisión de Buenas Prácticas.
- CIMMYT. (1988). *La formulación de recomendaciones a partir de datos agronómicos: Un manual metodológico de evaluación económica.*, México D.F.
- Cortijo, K., Gamboa, W., Taboada, Y., y Villaca, W. (2011). *Medios de cultivo, siembra aislamiento, técnica aséptica y transferencia de microorganismos* (pp. 17). Retrieved from https://es.slideshare.net/ruddymin/microbiologia-5?next_slideshow=1
- Chang, S.-T., y Miles, P. (2004). *Mushroomms: Cultivation, nutritional value medicinal effect environmental impact*

- Chavarrías, M. (2014). Miel contra patógenos. *EROSKI Consumer*. from <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/miel-contra-patogenos.html>
- Checa, S., y Mansilla, C. (2020). *Microbiología General Siembra, aislamiento e identificación de microorganismos* (pp. 24). Retrieved from https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/202403/mod_resource/content/1/2020%20TP2%20BIOQ%20Y%20LCTA.pdf
- Chen, A. (2005). *¿Qué es el shiitake?* MusWorld (Ed.) (pp. 15). Retrieved from <http://www.hongoscomestiblesymedicinales.com/P/P/shiitake/capitulo%201%20pag.1-15.pdf>
- Fattori, S. (2014). *“La Miel” Propiedades, Composición y Análisis Físico- Químico* Argentina Universidad de Buenos Aires
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez, R., y Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas aislamiento, siembra y producción*. Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz, México.
- Galvis, N., y Perea, I. (2006). *Beneficios de la comercialización del hongo comestible Pleurotus ostreatus, producido sobre desechos agroindustriales como alternativa de biocomercio, en Santiago de Cali* Universidad Autónoma de Occidente, Colombia.
- García, L. (2019). Medio sencillo de cultivo para micelio II. España.
- . Google Earth (2021). Retrieved from <https://earth.google.com/web/@-16.49171956,-68.19361263,4054.92595545a,198.69527818d,35y,0h,0t,0r>
- Grupo Micológico del Alto Aragón. (2016). *Iniciación a la micología*, 24.
- Guzmán, G., Mata, G., Salmones, D., Soto-Velazco, C., y Guzmán-Dávalos, L. (1993). El cultivo de los hongos comestibles (pp. 258). Xalapa, Veracruz Mexico: Instituto Politécnico Nacional-Dirección de Bibliotecas y Publicaciones, Tresguerras.
- Lechner, B., Rugolo, M., y Mallerman, J. (2018). *Hongos comestibles: El cultivo de Flammulina velutipes (enokitake)*: EUDEBA.
- Lira, C. (2019). Shiitake: propiedades, características, hábitat, reproducción., from <https://www.lifeder.com/propiedades-shiitake/>.
- López, y Torres, C. (2006). *Medios de Cultivo* Universidad Nacional del Nordeste
- López, A. (2007). *Manual de Producción de Micelio de Hongos Comestibles*. Veracruz, México: Instituto de Genética Forestal- Universidad Veracruzana.
- López, M. (2016). *Manual de producción de micelio de hongos comestibles.*, Universidad Veracruzana Xalapa, Veracruz, México
- Martínez-Carrera, D., Sobal, M., Porfirio Morales, Martínez, W., Martínez, M., y Mayett, Y. (2004). *Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana*. México: Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, Biotecnología de Hongos Comestibles.
- Mata, G., Hernandez, R. G.-., y Salmones, D. (2020). *El cultivo del shiitake: Tecnología e innovación de la producción de un alimento y medicina ancestral*. Xalapa, Veracruz, México.
- Pegler, D. (1983). *Dictionary of the Fungi*. Wallingford: CAB International.
- Pinchao, M. (2010). *“Métodos de cocción en seco de la papa como alternativa para conservar su valor nutritivo”*. Universidad Técnica del Norte Ibarra-Ecuador.
- Ríos, M., Hoyos, J., y Mosquera, S. (2010). Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n2/v8n2a12.pdf>, 10.
- Ríos, R., y Ruiz, L. (1993). Aislamiento y cultivo del hongo comestible *Pleurotus afin ostreatus* (jacq. ex Fr) Kumm en Tingo Maria. *Folia Amazonica*, 5, 5-14.
- Rivera, O., Albarracín, W., y Lares, M. (2017). Componentes Bioactivos del Shiitake (*Lentinula edodes* Berk. Pegler) y su impacto en la salud *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* (pp. 67-71).

- Rodríguez, N., Araque, M., y Perdomo, F. (2006). *Producción de los hongos comestibles Orellanas y Shiitake*. Colombia.
- Rodríguez, N., y Jaramillo, C. (2005). *Cultivo de hongos medicinales en residuos agrícolas de la zona cafetera* Colombia Gerencia técnica programa de investigación científica Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" Cenicafé.
- Rojas, F., Claros, M., y Ortuño, N. (2022). Evaluación de medios de cultivo y sustratos para la producción de inóculo de hongos comestibles, 169-174.
- Roncero, I. (2015). *Propiedades nutricionales y saludables de los hongos* España: Centro Tecnológico de Investigación del Champiñón de La Rioja (CTICH)
- Roussos, S., y Perraud-Gaime, I. (1996). *Fisiología y bioquímica de microorganismos utilizados en procesos de fermentación en medio sólido*. (Traducido por Dr. Enrique Galindo, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México ed.). Francia: Laboratorio de Biotecnología PMC, Centre ORSTOM.
- Salazar, V. (2016). Manual de Micología Básica from <https://www.researchgate.net/publication/333774015>
- Sánchez, J., y Mata, G. (2012). *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica* (P. edición Ed.). Tapachula, Chiapas, Mexico: El Colegio de la Frontera Sur Carretera Antiguo Aeropuerto S/N.
- Sandoval, J. (2001). *Biotecnología aplicada para la micropropagación de banano y plátano. Manual Básico*.
- Santambrosio, E., Ortega, M., y Garibaldi, P. (2009). "Preparación de medios de cultivo". Universidad Tecnológica Nacional, Argentina Retrieved from https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practi_col.pdf
- Suárez, C. (2010). *Obtención in vitro de micelio de hongos comestibles, shiitake (Lentinula edodes) y orellanas (Pleurotus ostreatus y Pleurotus pulmonarius) a partir de aislamientos de cuerpos fructíferos, para la producción de semilla*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá-Colombia.
- Tarquino, J., y Unibio, S. (2011). *Plan de mercadeo estrategia de lanzamiento de natural setas en la ciudad bogota*. Universidad Minuto de Dios Bogota.
- UNAM. (2017). ¿Qué hongo con las setas? , from <https://cupdf.com/document/que-hongo-con-las-setas.html>
- Vaca, L. (2009). *Efecto de la composición de diferentes medios de cultivo y sustratos en la reproducción de micelios y semilla de hongos comestibles (Agaricus sp. y Agaricus bisporus)*. Universidad Mayor de San Andrés La Paz – Bolivia
- Vilchez, H., Cervantes, L., y Inocente, M. (2019). Uso de la miel de *Apis mellifera* en agar base para diferenciar cepas bacterianas con característica oxidativa-fermentadora. *Ars Pharmaceutica*.

8. ANEXOS

Anexo 1**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 1**

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Plastifilm	Pieza	1	10,00	10,00
10	Papel madera	Pieza	10	2,00	20,00
11	Hilo cañamo	Metro	10	2,00	20,00
12	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
13	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
14	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
15	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
16	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
17	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
18	Incubadora	Días	28	10,00	80,00
19	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
20	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
21	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
22	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
23	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
24	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
25	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
26	Miel	Gramos	20	0,06	1,20
MANO DE OBRA					
27	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
28	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
				TOTAL=	1.543,25

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 2**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 2**

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Plastifilm	Pieza	1	10,00	10,00
10	Papel madera	Pieza	10	2,00	20,00
11	Hilo cañamo	Metro	10	2,00	20,00
12	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
13	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
14	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
15	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
16	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
17	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
18	Incubadora	Días	23	10,00	230,00
19	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
20	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
21	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
22	Jabón liquido	Pieza	1	10,00	10,00
23	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
24	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
25	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
26	Miel	Gramos	40	0,06	2,40
MANO DE OBRA					
27	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
28	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
TOTAL=					1.494,45

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 3**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 3**

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Plastifilm	Pieza	1	10,00	10,00
10	Papel madera	Pieza	10	2,00	20,00
11	Hilo cañamo	Metro	10	2,00	20,00
12	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
13	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
14	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
15	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
16	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
17	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	19	10,00	190,00
19	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
20	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
21	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
22	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
23	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
24	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
25	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
26	Miel	Gramos	60	0,06	3,60
MANO DE OBRA					
27	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
28	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
TOTAL=					1.455,65

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 4**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 4**

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	17	10,00	170,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	250	0,0036	0,90
29	Miel	Gramos	20	0,06	1,20
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
TOTAL=					1.463,15

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 5**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 5**

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	17	10,00	170,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	250	0,0036	0,90
29	Miel	Gramos	40	0,06	2,40
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
TOTAL=					1.464,35

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 6**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 6**

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	17	10,00	170,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón liquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	250	0,0036	0,90
29	Miel	Gramos	60	0,06	3,60
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
				TOTAL=	1.465,55

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 7**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 7**

N°	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	17	10,00	170,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	500	0,0036	1,80
29	Miel	Gramos	20	0,06	1,20
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
				TOTAL=	1.464,05

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 8**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 8**

N°	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	16	10,00	160,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	500	0,0036	1,80
29	Miel	Gramos	40	0,06	2,40
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
TOTAL=					1.455,25

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 9**Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Tratamiento 9**

N°	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	27	10,00	270,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón liquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	500	0,0036	1,80
29	Miel	Gramos	60	0,06	3,60
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
				TOTAL=	1566,45

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 10*Costo de Producción para la Preparación de 1000 ml de Medio de Cultivo para el Testigo*

Nº	Descripción	Unidad de medida	Cantidad	P/U	Total, Bs
MATERIAL BIOLÓGICO					
1	Inóculo secundario de Shiitake	Gramos	5,00	0,75	3,75
MATERIAL DE VIDRIO					
2	Pipeta graduada	Pieza	1	15,00	15,00
3	Probeta de 1000ml	Pieza	1	100,00	100,00
4	Cajas petri	Pieza	40	12,00	480,00
5	Vaso de precipitación de 1000 ml	Pieza	1	70,00	70,00
6	Matraz erlenmeyer de 1000 ml	Pieza	1	150,00	150,00
INSTRUMENTAL E IMPLEMENTOS DE LABORATORIO					
7	Pinzas	Pieza	1	15,00	15,00
8	Mechero de alcohol	Pieza	1	25,00	25,00
9	Tamiz	Pieza	1	10,00	10,00
10	Plastifilm	Pieza	10	2,00	20,00
11	Papel madera	Metro	10	2,00	20,00
12	Hilo cañamo	Pieza	2	7,00	14,00
13	Cuchillo	Pieza	1	15,00	15,00
14	Algodón (50 gramos)	Pieza	2	7,00	14,00
15	Venda de gasa	Pieza	1	11,00	11,00
16	Pulverizador	Pieza	1	5,00	5,00
EQUIPOS DE LABORATORIO					
17	Autoclave	Días	1	10,00	10,00
18	Balanza analítica	Días	1	10,00	10,00
19	Cámara de flujo laminar	Días	1	10,00	10,00
20	Incubadora	Días	19	10,00	190,00
21	pH- metro	Días	1	10,00	10,00
22	Agitador magnético	Días	1	10,00	10,00
REACTIVOS					
23	Agua destilada-estéril	Litro	2	4,00	8,00
24	Jabón líquido	Pieza	1	10,00	10,00
25	Alcohol	Litro	1	10,00	10,00
26	Hipoclorito de sodio	Pieza	1	3,50	3,50
27	Carragenina	Gramos	12	0,15	1,80
MATERIALES DE ESTUDIO					
28	Papa	Gramos	250	0,0036	0,90
29	Azúcar	Gramos	20	0,01	0,10
MANO DE OBRA					
30	Preparación de medios	Hora	8	15,00	120,00
31	Aislamiento de micelio	Hora	8	15,00	120,00
TOTAL=					1.482,05

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 11

Cálculo de ingresos obtenidos del rendimiento ajustado en 1000 ml de medio de cultivo.

Descripción	Unidad	Tratamientos									Testigo
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	
Producción	caja	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Perdida del 10%	caja	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Rendimiento ajustado	caja	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36
Precio del producto	Bs	51,65	51,74	51,95	54,50	56,03	56,74	57,37	61,21	63,31	56,74
Total	Bs	1.859,30	1.862,52	1.870,06	1.961,86	2.017,25	2.042,61	2.065,37	2.203,54	2.279,21	2.042,52

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 12

Cálculo de ingresos obtenidos de la biomasa micelar e ingresos totales de 1000 ml de medio de cultivo.

Descripción	Unidad	Tratamientos									Testigo
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	
Biomasa micelar	mg/caja	84,07	84,97	87,06	112,56	127,95	134,99	141,31	179,69	200,71	134,97
Precio en mg	Bs	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Precio total del micelio	Bs	8,41	8,50	8,71	11,26	12,79	13,50	14,13	17,97	20,07	13,50
Precio de caja petri	Bs	43,24	43,24	43,24	43,24	43,24	43,24	43,24	43,24	43,24	43,24
Precio total de caja petri	Bs	51,65	51,74	51,95	54,50	56,03	56,74	57,37	61,21	63,31	56,74

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 13

Cálculo de Costos de Producción de Micelio del Hongo Lentinula edodes (shiitake)

Descripción	Unidad	Tratamientos									
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	Testigo
Costos de variación	Bs	1.543,25	1.494,45	1.455,65	1.463,15	1.464,35	1.465,55	1.464,05	1.455,25	1.566,45	1.482,05
Beneficios netos	Bs	316,05	368,07	414,41	498,71	552,90	577,06	601,32	748,29	712,76	560,47
Costos de producción	Bs	38,58	37,36	36,39	36,58	36,61	36,64	36,60	36,38	39,16	37,05

Fuente: Elaboración Propia

Anexo 14

Crecimiento del Micelio Lentinula edodes en Cajas Petri en los Diferentes Tratamientos



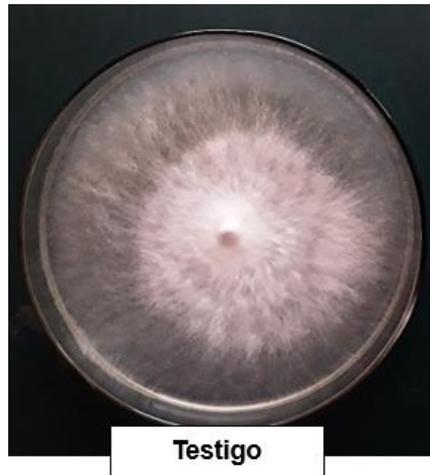
Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Anexo 15*Desinfección de laboratorio**Limpieza y Desinfección de Paredes*

Fuente: Elaboración propia

Limpieza y Desinfección de la Superficie

Fuente: Elaboración propia

Anexo 16*Desinfección y esterilización del material de vidrio e instrumentos**Lavado de Material e Instrumental*

Fuente: Elaboración propia

Autoclavado de Material e Instrumental

Fuente: Elaboración propia

Flujo Laminar con Materiales de Vidrio e Instrumental

Fuente: Elaboración propia

Anexo 17*Obtención de material genético**Inóculo Secundario de Sorgo de Shiitake*

Fuente: Elaboración propia

Anexo 18*Preparación de diferentes medios de cultivo**Aforado de Agua Destilada*

Fuente: Elaboración propia

Filtrado de la Infusión de Papa

Fuente: Elaboración propia

Incorporación de componentes

Fuente: Elaboración propia

Medición de pH

Fuente: Elaboración propia

Incorporación de Carragenina

Fuente: Elaboración propia

Medio de Cultivo en el Agitador

Fuente: Elaboración propia

Medios de Cultivo en el Autoclave

Fuente: Elaboración propia

Medios de Cultivo en Cajas Petri

Fuente: Elaboración propia

Incubación del Shiitake en los Medios de Cultivo

Fuente: Elaboración propia