

## Shiitake Mushroom Cultivation

### Part I. Shiitake

#### *Capítulo 4*

#### **Cultivo de Shiitake en Bolsas**

## CULTIVO DE SHIITAKE EN BOLSAS

**Alice W. Chen**

Hongos de Especialidad, 1730 Penfield Rd. #41, Penfield, NY 14526, EE.UU. (alicewchen@msn.com)

El shiitake (*Lentinula edodes*), un hongo para el deleite culinario y con beneficios medicinales, fue cultivado tradicionalmente sobre troncos naturales. Aunque el cultivo espontáneo de shiitake sobre troncos se descubrió en China, los granjeros japoneses han sido los principales encargados del desarrollo del cultivo del shiitake sobre troncos naturales, ya sea como ciencia o como industria. Por casi medio siglo, desde los años 40 hasta 1986, Japón fue el principal productor de shiitake en el mundo. Hacia 1983, el Japón producía el 82,8% de la producción mundial de shiitake. En 1987, ocurrió un cambio dramático en la dinámica global de la producción del shiitake. China dio alcance a Japón, por primera vez, convirtiéndose en el principal productor de shiitake en el mercado mundial, produciendo 178.800 toneladas. Lo que contribuyó principalmente a este salto cuántico en la producción de shiitake en China fue la invención del cultivo en bolsas con aserrín como sustrato. En particular, el éxito llegó con el uso de las bolsas cilíndricas con aserrín en Gutian, Fujian. El sistema Gutian se reprodujo rápidamente en muchas partes de China con adaptaciones locales (Fig. 1A). El modelo Biyang, muy conocido, es hoy una versión particular de dicho sistema (Fig. 1B). Como señaló Daniel Royse (2002), la principal autoridad actual en el cultivo de shiitake en bolsas con aserrín de la Penn State University de EE.UU. ([www.psu.edu](http://www.psu.edu)), la tendencia de la producción mundial de shiitake está inclinándose hacia el cultivo en bolsas de aserrín. La tecnología del cultivo en bolsas hace posible producir shiitake durante todo el año para cubrir las demandas del mercado.



**Figura 1.** Bolsas cilíndricas con aserrín para el cultivo de shiitake **A:** modelo Gutien **B:** modelo Biyang

## Tipos de Procesos de Cultivo de Shiitake

La Tabla 1 muestra los procesos de cultivo normalmente usados por los cultivadores de shiitake. Descripciones de otras modificaciones se pueden encontrar en Chang y Miles (2004), Chen, Arnold y Stamets (2000), y Oei (2003).

**Tabla 1.** Procesos comúnmente usados para el cultivo de shiitake

	Inoculación	Corrida del micelio	Fructificación	Bolsa	Ciclo de crecimiento
<b>Cultivo en troncos</b>	Localizada	En la naturaleza (bajo resguardo)	En la naturaleza (bajo resguardo)	Sin bolsa	Lento
<b>Cultivo en bolsas</b>					
<b>A. Cilíndricas</b> desarrollado en China/el sustrato generalmente se comprime	Localizada	En interiores (poco control ambiental)	En exteriores	Algodones o tapones de espuma (sin cámara de aire en la bolsa)	Moderado
<b>B. Bloques de aserrín</b> 5-6 kg por bolsa /desarrollado en EEUU - amarronamiento en bolsa - amarronamiento fuera de la bolsa	Completa	En interiores (control)	En interiores (control)	Micro filtro de respiración/ cámara de aire en la bolsa/ bolsas selladas	El más rápido
<b>C. Placas de aserrín</b> 15 kg por bolsa/ desarrollado en Europa	Localizada (ej. inyección de inóculo líquido)	En interiores	En interiores	Sin cámara de aire en bolsa/micro filtro y tapón de espuma	Rápido





**Figura 2.** Tipos de cultivo de shiitake **A:** Cultivo natural en troncos (EE.UU.) **B:** Troncos sintéticos de aserrín en bolsas cilíndricas (Tibet, China) **C:** Cultivo en bloques de aserrín (Fungi Perfecti, EE.UU.) **D:** Cultivo en placas de aserrín (Europa)

## Preparación de Bolsas de Aserrín para el Cultivo de Shiitake

### Selección de la cepa

Las cepas de shiitake son dependientes de la temperatura y se clasifican según la temperatura preferida durante el período de fructificación (Tabla 2). El ritmo de crecimiento durante la corrida del micelio también difiere según las diferentes cepas, resultando tanto en tiempos cortos o prolongados para la maduración micelial. Algunas cepas de corta duración requieren sólo 60 días para madurar, mientras que las de larga duración requieren 90 días. Pueden ocurrir algunas malformaciones en los hongos como consecuencia de cultivadores que intentan forzar la fructificación demasiado temprano.

**Tabla 2.** Cepas de shiitake clasificadas según la temperatura (°C) de fructificación

Cepas	China (Wu (ed), 2000)	General (Oei, 2003)	Taiwán (Chang y Miles, 2004)
De temperatura baja	<10	alrededor de 10	-
De temperatura media	10-20	10-18	10
De temperatura alta	>20	20 o >20	20
De rango amplio de temperatura	5-35 (por ejemplo, China-Stamets 2)		

Es importante que la cepa seleccionada concuerde con las necesidades específicas del cultivador. Las cepas de shiitake varían ampliamente no sólo en la temperatura de fructificación y características de maduración (temprana o tardía; tiempo de producción más corto o más largo), sino también en la selectividad del sustrato, velocidad de crecimiento, calidad del fruto (tamaño, espesor, color y fragancia, etc.), rendimientos y adaptabilidad ecológica a temperaturas extremas. Las cepas para el cultivo natural en troncos son diferentes de las cepas que se usan para el cultivo en bolsas de aserrín. En este último, las cepas que se usan para el procedimiento de amarronamiento dentro de la bolsa y fuera de la bolsa son diferentes. Desgraciadamente, han ocurrido algunas pérdidas serias en el rendimiento porque los fabricantes de inóculo han vendido nuevas cepas que producen bien en troncos naturales, pero que dan rendimientos muy bajos cuando se cultivan en aserrín. Algunas cepas se desarrollan mejor sobre sustratos de marlos de maíz, mientras otras lo hacen mejor en un sustrato de aserrín (Oei, 2003).

### Selección del sustrato

La selección de las especies de árboles para el cultivo en aserrín debe hacerse cuidadosamente. Un aserrín fresco, que no se haya puesto viejo, puede usarse para la producción de shiitake sólo si es de especies de árboles de alta calidad, como las catalogadas de grado 4, excelente, por la FAO (Oei, 1996). Ejemplos de maderas duras de hojas anchas no-aromáticas usadas normalmente son: roble (*Quercus* spp.), chincapino (*Castanopsis* spp.), charnilla (*Carpinus* spp.), ocozol (*Liquidambar* spp.), álamo (*Populus* spp.), aliso (*Alnus* spp.), mora roja (*Ostrya virginiana*), haya (*Fagus* spp.), abedul (*Betula* spp.), y sauce (*Salix* spp.). El aserrín de especies de árboles de menor calidad debe ser envejecido antes de que se pueda usar con éxito (Oei, 1996; Royse, 1997; Ting, 1998; Wu y col., 1995). Los productores, por supuesto, deben seleccionar aquellos recursos que sean baratos y localmente disponibles, y usarlos de manera apropiada. Como ejemplo, el Dr. Noel Arnold en Australia ha usado con éxito el aserrín de eucalipto fermentado para la producción de shiitake.

### Formulación del sustrato

La Tabla 3 muestra ejemplos de formulaciones de sustratos basados en aserrín que se utilizan normalmente. Se usan maderas duras no-aromáticas. Además, la utilización de pinos es un asunto de gran interés, porque es un recurso de la silvicultura fácilmente disponible. El sustrato de madera dura de pino suplementado (Tabla 3, fórmula C) fue usado con éxito por el Forestry Research Institute of New Zealand para producir shiitake con resultados satisfactorios (Stamets, 1993). También se pueden usar diferentes residuos agrícolas como ingredientes básicos alternativos<sup>1</sup>, por ejemplo la semilla de algodón, las cáscaras, los marlos de maíz, el bagazo, las pajas, y el residuo del café. La proporción de C/N del sustrato debe estar alrededor de 25 al tiempo del spawning (inoculación). Para mayor información sobre formulaciones de sustrato, los productores pueden leer a Miles y Chang (1989) y Oei (1996, pp.198, 200) y el Capítulo 4 de este libro (2005). Un sustrato con alta capacidad de retención de agua combinado con buena aeración normalmente da buenos resultados. Si el sustrato está demasiado húmedo no permitirá el flujo de aire en el sustrato. Si se junta agua en el fondo de la bolsa, el sustrato está demasiado húmedo.

**Tabla 3.** Formulación de sustratos basados en aserrín para el cultivo del shiitake

<b>Formulación A</b> (Wu, 1993)	aserrín de madera dura	100kg
	salvado de trigo o arroz	23-25kg
	yeso	2,5kg
	superfosfato de calcio	0,5kg
	sacarosa	1-1,5kg
	agua	100-140kg
<b>Formulación B</b> (Stamets, 1993, p.162)	aserrín de madera dura	100lb (o 64gal)
	virutas de madera	50lb (o 32gal)
	salvado de arroz o centeno	40lb (o 8gal)
	yeso (sulfato de calcio)	5-7lb (o 1gal)
	agua	60%
<b>Formulación C</b> (The Forestry Research Institute of New Zealand)	aserrín de pino Monterrey ( <i>Pinus radiata</i> )	6 partes
	aserrín de madera dura (haya o álamo)	3 partes
	grano (cebada)	1 parte

<sup>1</sup> Para más detalles, vea SUSTRATOS ALTERNATIVOS PARA SHIITAKE en el capítulo 4.

### Esterilización de Sustrato

El método usado para la esterilización del sustrato depende de la naturaleza de las bolsas (polipropileno o polietileno<sup>2</sup>), tamaño de la bolsa, y la naturaleza y cantidad del sustrato. Para 2-3 kg de sustrato basado en aserrín en bolsas de polipropileno, la esterilización se puede hacer en autoclave durante 2 horas a 121°C. La esterilización con presión normal también es posible, y este método se emplea normalmente en Tailandia y China. Los granjeros tailandeses generalmente utilizan tambores para la esterilización y los granjeros chinos usan hornos<sup>3</sup> (kilns).

### Producción de Shiitake mediante Cultivo en Bolsas de Aserrín

#### Spawning (inoculación)

En general, la inoculación por encima o localizada, en la que el inóculo se coloca sobre o cerca de la superficie del sustrato, se emplea en China, Asia, y Australia. En EE.UU se usa la inoculación continua o completa en la cual el inóculo se mezcla completamente con el sustrato, en bolsas termo-selladas. Las bolsas más grandes con filtros de micro-poros para la respiración, llenadas parcialmente con los sustratos, permiten la manipulación para mezclar el inóculo completamente con el sustrato por agitación mecánica o manual (Fig. 3A). Las bolsas más pequeñas con anillos en los cuellos y tapones, como aquéllas que se usan en Asia y Australia, se llenan por completo con el sustrato sin dejar espacios con aire en la bolsa. Estas bolsas pequeñas no se prestan fácilmente al procedimiento inoculación completa (Fig. 3B).

Durante el spawning, se debe tener cuidado para evitar la contaminación con mohos. No deberían contaminarse más de 5% de las bolsas. Si la contaminación por mohos está cercana a la superficie de la bolsa, es probable que haya entrado durante la inoculación. Si la contaminación ocurre en el fondo o en los laterales, se debe observar el fondo de la bolsa para ver si está sellada apropiadamente o si el plástico de la bolsa ha sido perforado. Si el moho se esparce a lo largo del sustrato, el tiempo de esterilización del sustrato podría haber sido insuficiente, o el spawn utilizado podría haber estado contaminado (Oei, 2003). Un cultivador nuevo podría tentarse de comprar sólo una cantidad pequeña de inóculo en grano para ahorrar dinero para luego multiplicarlo en grano esterilizado por él mismo. Pero, desgraciadamente a menudo ocurre que todo el lote termina contaminándose, y acaba en definitiva perdiendo dinero.



**Figura 3.** Diferentes bolsas **A:** Bolsa parcialmente llena **B:** Bolsa completamente llena

<sup>2</sup> El polipropileno es resistente al calor, por ello muy conveniente para la esterilización de alta presión. El polietileno se clasifica en dos tipos: de alta presión y de baja presión.

<sup>3</sup> Para más detalles, vea CULTIVO DE SHIITAKE EN BOLSAS EN TAILANDIA y CULTIVO DE SHIITAKE EN BOLSAS EN CHINA en el Capítulo 4.

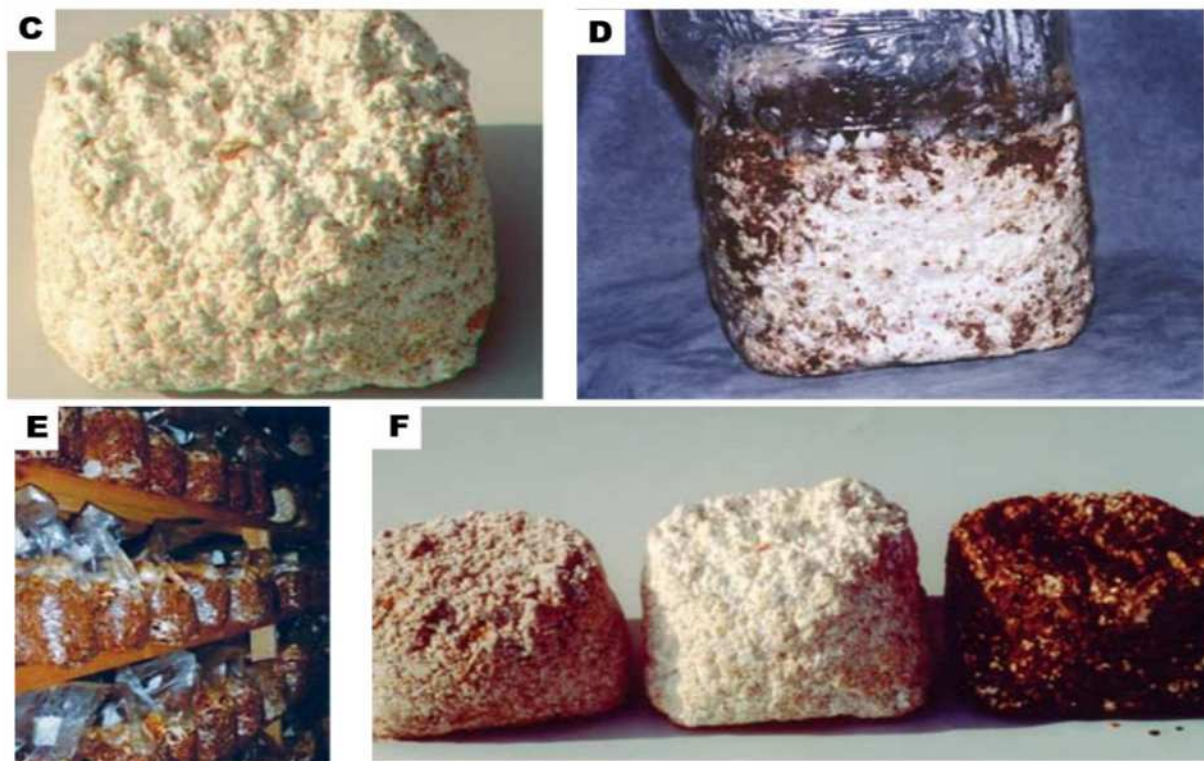
kiln: horno o cámara térmicamente aislada con un régimen de temperatura controlada.

### Corrida de micelio (crecimiento del micelio y maduración)

Todas las cepas de shiitake muestran un crecimiento micelial óptimo durante la corrida del micelio a 25°C. Generalmente, la duración de esta corrida es de 1 a 4 meses. Aunque el micelio puede crecer en la oscuridad, la exposición a la luz en las primeras tres semanas de corrida es crítica para el amarronamiento de los bloques de micelio. Algo de luz en ciclos día/noche hacia el final de la corrida micelial conducen a la inducción de los primordios. Puede ser difícil establecer el tiempo de iluminación necesario durante la corrida del micelio. Pueden usarse diferentes propuestas, como una exposición corta a la luz, por ej. 4 horas por día (Royse, 1997), o un nivel bajo de luz, 50-100 lux, a lo largo de toda la corrida (Stamets, 1993). El sustrato de shiitake puede estar colonizado totalmente por el micelio blanco, pero ello no significa que el bloque esté listo para fructificar. Todavía se requiere de una fase de maduración del micelio. El shiitake tiene una fase micelial vegetativa compleja compuesta de seis estadios.

- 1) **Colonización del micelio en el sustrato:** se producen enzimas para degradar componentes en el sustrato complejo, tales como celulosa, hemicelulosa y lignina.
- 2) **Maduración fisiológica del micelio:** el micelio deja de crecer, mientras ocurren cambios metabólicos fisiológicos.
- 3) **Formación de la cobertura micelial:** en la mayoría de las cepas se forma una cobertura espesa y blanca de micelio en la superficie del sustrato, 2-4 semanas después de la inoculación (spawning) (Fig. 4B). Esta cobertura se hace muy espesa a niveles altos de CO<sub>2</sub>.
- 4) **Estadio de “pop-corn” o palomitas de maíz:** en algunas cepas se desarrollan conglomerados de micelio que dan una superficie con bultos similares en aspecto a las palomitas de maíz (Fig. 4C). En las puntas de algunos de estos bultos se producen primordios (Fig. 4D). Sin embargo, la mayoría de los bultos abortan. Una fluctuación de temperatura y un nivel de CO<sub>2</sub> alto inducen la formación del pop corn. Algunos de estos bultos demasiado desarrollados pueden perforar la bolsa. Los bultos también pueden ser susceptibles a la contaminación por mohos. Se debe proporcionar aireación cuando se forman los bultos.
- 5) **Amarronamiento:** en el sistema americano se usan dos prácticas de cultivo diferentes: amarronamiento fuera de la bolsa o dentro de la bolsa (Fig. 4E); según se quiten las bolsas antes de producirse la pigmentación marrón (amarronamiento fuera de la bolsa) (Royse, 1997), o después (amarronamiento en la bolsa). Algunos productores retiran la bolsa cuando 1/2 a 1/3 del micelio se ha puesto marrón. El momento del retiro de la bolsa es crucial, ya que el rendimiento puede afectarse si es demasiado temprano o demasiado tarde.
- 6) **Formación de la corteza:** al aire libre, la superficie del micelio se vuelve castaño rojiza y eventualmente se forma una costra exterior protectora castaño oscura y seca que funciona como la corteza de un árbol. El sustrato interior se pone suave y húmedo como consecuencia de las actividades metabólicas fúngicas. Los productores deben saber que una corteza húmeda invita a la contaminación, y para evitarla deben mantener una H.R. de 60-70%.





**Figura 4.** Proceso de corrida del micelio **A:** Bolsas en estado de corrida del micelio (Garden City Fungi) **B:** Bloques de shiitake totalmente colonizados (Cliente de Unicorn bag) **C:** Superficie tipo pop-corn (Fungi Perfecti) **D:** Primordios formados en las puntas de los bultos (Fungi Perfecti) **E:** Amarronamiento en la bolsa (Garden City Fungi) **F:** Corrida del micelio, estadio de pop-corn, y amarronamiento (Garden City Fungi)

Para una producción exitosa de shiitake, los productores deben tener presente que la cepa elegida puede preferir un sustrato determinado y requerir una práctica de cultivo particular y un conjunto específico de factores medioambientales. Después de escoger la mejor cepa de shiitake y el sustrato, resulta vital proporcionar un ambiente óptimo para el cultivo. Sin considerar la temperatura de fructificación de cada cepa, la temperatura para la corrida del micelio de todas las cepas es de aproximadamente 25°C. Cada fase de desarrollo (corrida del micelio, iniciación de primordios, fructificación) en el cultivo de shiitake requiere un conjunto específico de parámetros de crecimiento (temperatura, humedad relativa, luz y suministro de oxígeno).

En el sistema americano de bolsas termo-selladas, el intercambio de gas tiene lugar a través de ventanas de respiración provistas con filtros micro-porosos. Tales filtros previenen la pérdida rápida de vapor de agua y la deshidratación, manteniendo húmedo el sustrato dentro de las bolsas. La humedad dentro de las bolsas selladas permanece alta (95-100% H.R.). El diseño de los filtros micro-porosos especiales hace que las bolsas estén prácticamente libres de cuidados durante el manejo de la corrida del micelio. No es necesario bajar el nivel de CO<sub>2</sub> acumulado, ya que el micelio vegetativo es tolerante a concentraciones altas (>10.000 ppm) de CO<sub>2</sub>. La humedad del ambiente no es crítica durante este período, ya que las bolsas están selladas. Los productores simplemente dejan el sustrato inoculado en las bolsas selladas bajo condiciones naturales de humedad, que puede ser tan baja como 40-50% H.R. Algunos productores usan la misma luz para la corrida del micelio que para la fructificación, pero durante la incubación apilan las bolsas una al lado de la otra para reducir el nivel de luz que llega a las bolsas (ejemplo caso 1). Otros productores mantienen un nivel de luz bajo (50-100 lux) a lo largo de la incubación (ejemplo caso 2). Para todas las cepas se mantiene una temperatura constante de aproximadamente 25°C durante la fase vegetativa, aunque como sucede en la naturaleza, una temperatura variable a veces también funciona bien.

**Inducción a la fructificación para la iniciación de primordios (Oei, 1997)**

Independientemente de la técnica específica usada, por lo menos algún cambio del ambiente es necesario para la transición de la fase vegetativa a la fase reproductiva (Tabla 4 y 5).

Cuando el micelio de shiitake está totalmente maduro, es el momento de inducir la fructificación. Las siguientes acciones promueven la fructificación:

- fluctuación de temperatura
- humedad alta
- inmersión en agua (Royse, 1997: 2-4 horas a 12°C; Stamets, 1993: 24-48 horas)
- remoción del CO<sub>2</sub>; suministro de aire fresco a través de ventilación
- choques físicos (agitación, perturbación):
  - perforar (con una aguja de metal larga) e inyectar (con agua)
  - poner los bloques boca abajo
  - golpear (los troncos naturales)

**Tabla 4.** Concepto de cambio ambiental para la activación de la formación de primordios durante la fructificación en el cultivo de shiitake

<b>Para iniciar los primordios en la fructificación:</b>	
Disminución de	1) la temperatura 2) la concentración de CO <sub>2</sub>
Aumento de	1) la intensidad de la luz 2) la humedad: humedad ambiente en el cuarto de fructificación 3) el suministro de O <sub>2</sub> : a través del aumento del flujo de aire fresco y la disminución de los niveles de CO <sub>2</sub> a través de la ventilación

Nota: Vea detalles en el manejo de los parámetros del cultivo en los casos que se dan como ejemplo.

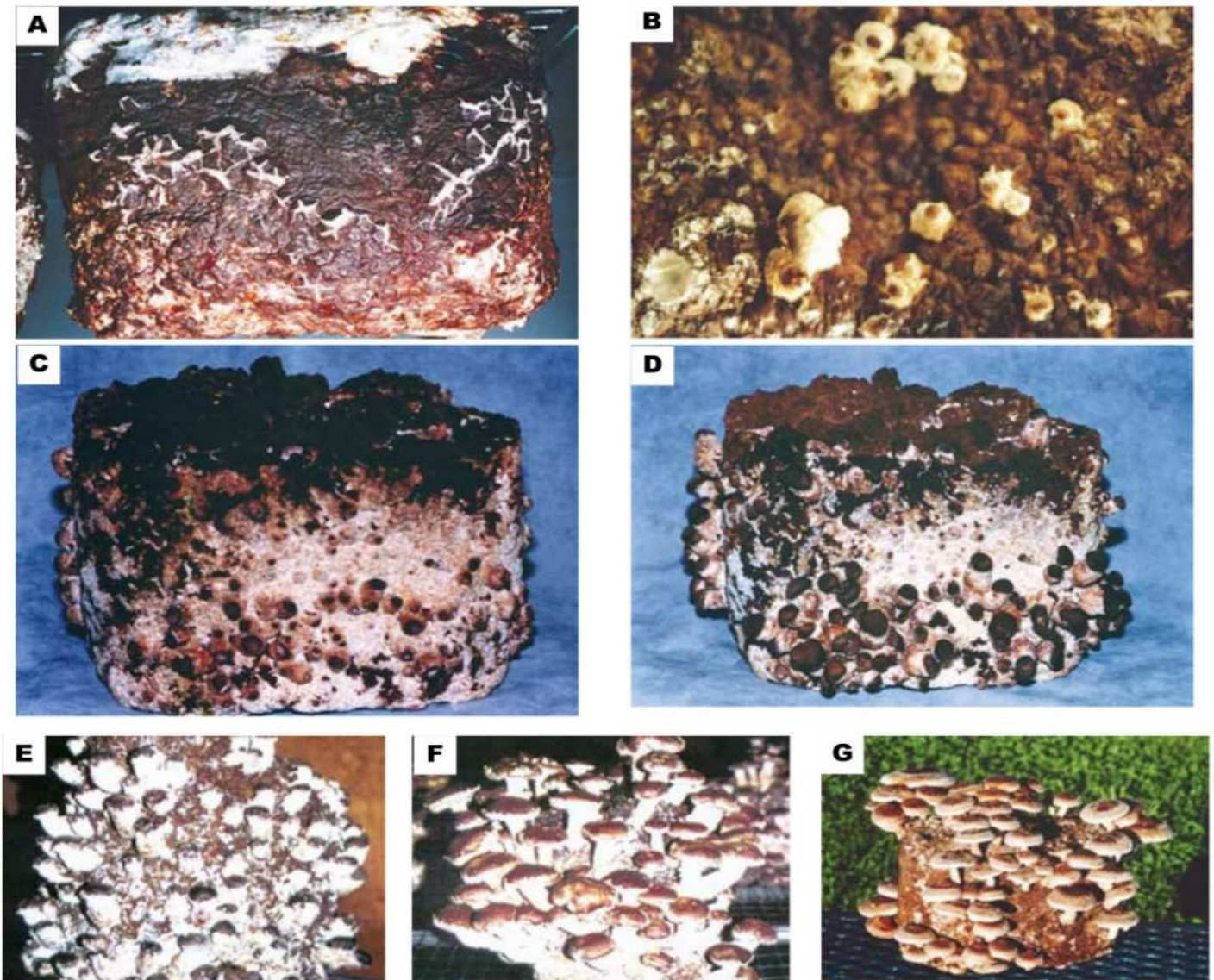
**Tabla 5.** Cómo activar la fructificación cambiando los parámetros ambientales de cultivo

1) Disminuir la temperatura (según la cepa, vea los casos ejemplo)
2) Disminuir el nivel de CO <sub>2</sub> , a <1.000 ppm, a la vez de
3) Aumentar el suministro de O <sub>2</sub> levantando la frecuencia de intercambio de aire a 4-8 por hora
4) Aumentar la humedad del ambiente a 60-80% H.R., dependiendo de la cepa y el tipo de práctica del cultivo
5) Aumentar la intensidad de la luz a 500-2.000 lux a 370-420 nm

**Desarrollo del cuerpo fructífero**

La siguiente guía ilustrada muestra las distintas fases del desarrollo en la formación del cuerpo de fructificación del shiitake en el cultivo en bolsa de aserrín.

- formación del primordio en la punta del bulto (blister) en la fase de pop-corn (Fig. 4C)
- formación de botones oscuros de hongos jóvenes (Figs. 5B, C y D)
- alargamiento de estípites (tallo) a medida que los botones aumentan de tamaño y el color se pone más claro (Figs 5E y F)
- despliegue gradual de los sombreros de los hongos, desenrollándose los bordes que estaban hacia abajo, mientras las basidiosporas se desarrollan en las laminillas fértiles bajo el sombrero del hongo



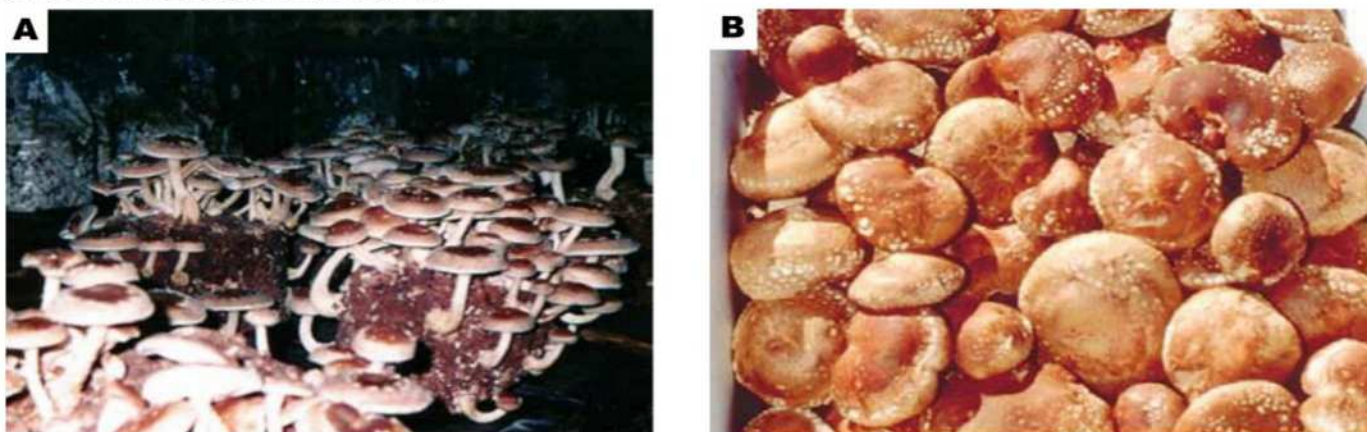
**Figura 5.** Desarrollo del cuerpo fructífero (Fungi Perfecti y otros) **A:** Rajaduras en forma de estrella formadas después de la inmersión en agua **B:** Formación de sombreros de hongo muy jóvenes **C:** Cuerpos de fructificación jóvenes y pequeños **D:** Los sombreros se agrandan, los tallos se elongan **E y F:** Desarrollo de cuerpos de fructificación **G:** Cuerpos de fructificación más claros y maduros

Una descripción detallada de las fases de desarrollo de la fructificación del shiitake se puede encontrar en otros trabajos (Chang y Miles, 2004; Chen, 2001, 2004). Durante la fructificación, generalmente se usa la fluctuación de la luz. Algunos productores mantienen la temperatura y humedad constante, mientras otros simulan a la naturaleza fluctuando la humedad y la temperatura, y esta práctica produce cosechas de mayor calidad. En Fungi Perfecti, una humedad constante y por momentos una fluctuación drástica, durante la fructificación, no sólo mejora la calidad del hongo sino también desalienta la contaminación por mohos. Varias veces al día, se permite que la humedad fluctúe entre 70-90% H.R. Los sombreros de shiitake formados bajo tales condiciones tienen una piel exterior coriácea más dura que favorece una vida comercial más prolongada (Stamets, 2000).

### Cosecha y oleadas subsecuentes

Para promover un hongo con una mejor vida comercial o de anaquel, debe bajarse la humedad a 60% durante 12 horas antes de la cosecha de shiitake. Para la técnica del amarronamiento dentro de la bolsa, el momento apropiado para la cosecha ocurre cuando el borde de los sombreros del shiitake todavía está enrollado hacia abajo (60-80% expansión del sombrero). El shiitake se cosecha a mano sosteniendo el tallo del hongo y retorciéndolo suavemente mientras se retira del bloque de sustrato. Para preparar el shiitake para los mercados, los productores cortan los restos de sustrato de los tallos y recortan los extremos si es necesario. Los remanentes de sustrato residual son vulnerables a la contaminación por mohos.

Después de la cosecha, la humedad se baja a 30-50% a 21°C durante 7-10 días para inducir un período de inactividad (Stamets, 2000). Luego los bloques de sustrato se sumergen por 12 horas para inducir la segunda oleada (flush) de hongos, y por 18 horas para el tercer flush (Royse, 2001). Las bolsas más grandes con más cantidad de sustrato (5-6 lb de sustrato húmedo) producen más, hasta 5-6 flushes de hongos. Los hongos que no se venden como shiitake fresco se secan a 60°C.



**Figura 6. A:** Abundante producción de shiitake en bloques de aserrín **B:** Shiitake cosechado

### Panorama global del cultivo sobre bloques de aserrín en EE.UU.

Una revisión del cultivo de shiitake sobre bloques de aserrín realizada por Hsu, 2003 (Tabla 6) muestra que los aproximadamente 250 productores formales de hongos exóticos en EE.UU. generalmente usan dos prácticas para el cultivo de shiitake; la de amarronamiento dentro de la bolsa y la de amarronamiento fuera de la bolsa. Durante la corrida del micelio en la fase vegetativa, el primer método mantiene los bloques de aserrín en las bolsas hasta que una costra marrón (o corteza) se forma antes de retirar las bolsas. En el segundo método, las bolsas se retiran mucho más temprano cuando los bloques con micelio maduro están todavía blancos. El estacionamiento de los bloques sin las bolsas para el amarronamiento fuera de la bolsa se hace en un cuarto de curado por aproximadamente 30 días. A continuación, los bloques se empapan (por inmersión) en agua fría para activar la formación de los primordios, fase inicial de la fructificación. Los cuerpos de fructificación se forman después de 3-4 días en el cuarto de fructificación. Para el amarronamiento dentro de las bolsas, la formación de primordios se puede inducir rociando agua o por otros medios como fluctuar la temperatura.

El procedimiento de amarronamiento dentro de las bolsas normalmente produce hongos con sombreros más carnosos, más oscuros, y más gruesos. La desventaja de este método es el ciclo de cultivo más extenso, por lo tanto se requiere más espacio de estantes. En el sistema del amarronamiento fuera de la bolsa, el cultivo tiene un ciclo de cultivo más corto. El hongo crecerá más rápido sobre sustratos bien suplementados, los que a veces están compuestos por más de 45% de nutrientes. Los shiitake producidos tienen sombreros más delgados y de un color más claro. China desarrolló cepas especiales para este tipo de cultivo. Los diferentes parámetros de crecimiento para estos dos métodos se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 6.** Revisión del cultivo de shiitake en bloques de aserrín en los EE.UU., amarronamiento dentro de la bolsa vs. fuera de la bolsa (Hsu, Lou, 2003, Unicorn, TX, EE.UU. con notas de autor \*) [www.unicornbags.com](http://www.unicornbags.com)

	<b>Amarronamiento dentro de la bolsa</b>	<b>Amarronamiento fuera de la bolsa</b>
<b>Color del bloque al retirar la bolsa *</b>	Retiro de la bolsa cuando el bloque esté marrón	Retiro de la bolsa cuando el bloque esté aún blanco
<b>Bolsa usada</b>	Unicorn tipo 3T 14	Unicorn tipo 14
<b>Peso del bloque</b>	5-6 lb	5-6 lb
<b>Mezcla del sustrato</b>	75-80% aserrín /20-25% suplementos	55-65% aserrín /35-45% suplementos (ocasionalmente > 45% suplementos)
<b>Tipo de aserrín</b>	Preferentemente roble	Preferentemente roble
<b>Tamaño del aserrín (típico)</b>	30-60 mesh (malla), 70%	30-60 mesh (malla), 70%
<b>Tamaño de la viruta</b>	5-10 mm, 30%	5-10 mm, 30%
<b>Nutrientes (salvado de trigo, de arroz, residuos de maíz, mijo, u otro grano)</b>	Localmente disponible	Localmente disponible
<b>Yeso y Sulfato de Calcio</b>	0,5-2%	0,5-2%
<b>Parámetros de crecimiento medioambientales</b>	Ver Tabla 7	
<b>Características de la corteza exterior marrón</b>	Adecuadamente formada	Bien-formada, de alta calidad
<b>Iniciación de primordios</b>	Rocío con agua, etc. * (inmersión en agua, fluctuación de temp.)	Inmersión en agua
<b>Tipo de cepa</b>	De baja temperatura	De crecimiento rápido (usualmente de cepas especiales chinas de fructificación a altas temperaturas)
<b>Fructificación</b>		Formación de hongos 3-4 días después de la inmersión en agua fría
<b>Tipo de hongo</b>	Sombrero grande, carnoso	Sombrero delgado
<b>Diámetro del hongo</b>	3 pulgadas	2-3 pulgadas
<b>Número de cosechas</b>	2-3 a 4-5 *	2-3 a 4 -, dependiendo de las condiciones del bloque, corteza marrón, etc. *
<b>Peso promedio del 1er flush</b>	4-8%	8-17%
<b>Peso promedio del 2do flush</b>	4-8%	4-8%

La elección del proceso es una decisión que depende del tipo de hongos shiitake que prefieren los consumidores en los mercados a los que se apunta. La habilidad del productor en el manejo del proceso de cultivo es otro factor importante a considerar. Si el cultivador puede reconocer la madurez fisiológica del micelio blanco de los bloques, entonces el amarronamiento fuera de la bolsa es la mejor práctica. En cambio, la maduración del sustrato en el sistema de amarronamiento dentro de la bolsa es visualmente clara, pero el ciclo de crecimiento es más largo. Deben considerarse también el espacio, el temperamento del cultivador, y la habilidad en el manejo de la higiene. Si el mercado ya tiene shiitake de calidad, con el cual los consumidores ya están familiarizados, la introducción de un nuevo producto podría ser un desafío. Normalmente se necesita de un talento de marketing especial y un esfuerzo persistente para hacer que los consumidores se interesen por nuevos productos.

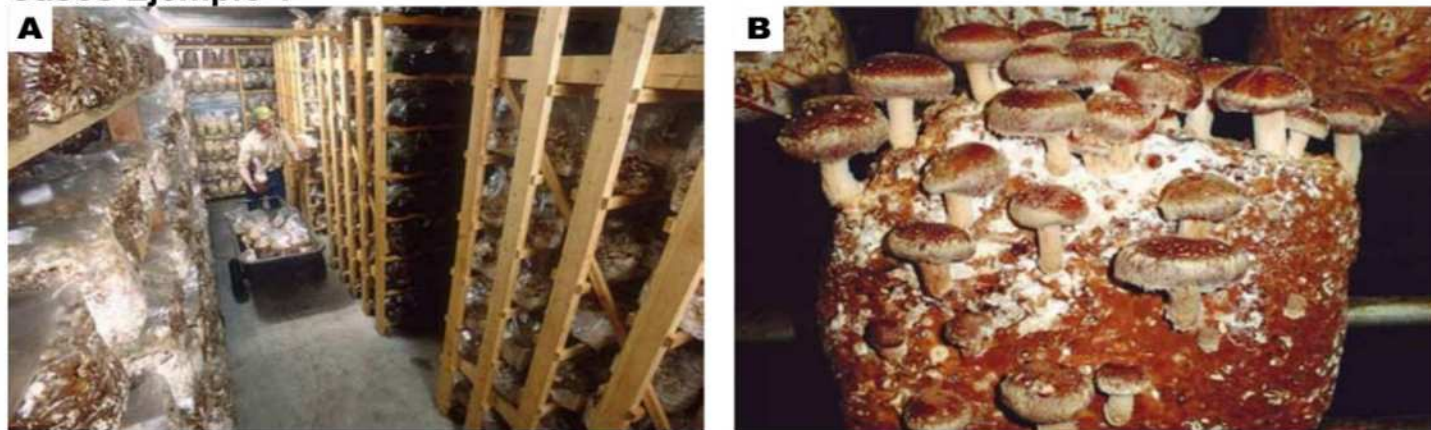
## Control Medioambiental durante el Cultivo en Bloque de Aserrín en EE.UU.

**Tabla 7.** Control ambiental durante la producción de shiitake en bloques de aserrín en los EE.UU.; amarramiento dentro de la bolsa vs. fuera de la bolsa (Hsu, Lou, 2003.) [www.unicornbags.com](http://www.unicornbags.com)

	Amarramiento dentro de la bolsa	Amarramiento fuera de la bolsa
<b>Temperatura de la corrida micelial</b>	20°C 1 mes 18°C 1 mes	20°C 15-25 días Retirar bolsa
<b>Temperatura de amarramiento</b>	Durante la incubación en bolsa	18°C 30 días
<b>Iniciación de primordios</b>	Retirar bolsa, rociado con agua, inmersión en agua, fluctuación de temp. etc.	Remojo por inmersión en agua fría
<b>CO<sub>2</sub> (durante la corrida del micelio)</b>	*Sin restricción antes de retirar la bolsa	*Sin restricción antes de retirar la bolsa/ 8.000 ppm al curado
<b>CO<sub>2</sub> (durante la fructificación)</b>	1.000 ppm o menos	1.000 ppm o menos
<b>Iluminación (durante la corrida micelial)</b>	50-100 lux antes de retirar la bolsa	50-100 lux
<b>Iluminación (durante la fructificación)</b>	500-1.000 lux después de retirar la bolsa	500-1.000 lux

\* Notas del autor: Un nivel bajo de CO<sub>2</sub> no es necesario durante la fase micelial. Vea el caso ejemplo y el texto. No hay necesidad de regular la concentración de CO<sub>2</sub>, ni de mantener la humedad alta durante la corrida del micelio. El manejo es fácil.

### Casos Ejemplo 1



**Figura 7. A:** Traslado de los bloques de shiitake **B:** Producción de shiitake en bloques de aserrín

Garden City Fungi, que es una empresa exitosa en el cultivo de shiitake y de otros hongos exóticos, en los EE.UU., proporcionó la siguiente información práctica sobre el cultivo de shiitake en bloques de aserrín mediante el amarramiento dentro de la bolsa (Glen Babcock, 2004).

**Tabla 8.** Selección de cepas de shiitake y preparación de bloques de sustrato por Garden City Fungi, Montana, EE.UU. ([www.gardencityfungi.com](http://www.gardencityfungi.com))

<b>Cepas de shiitake</b>	Duración, 60-90 días, cepas de Garden City Fungi 60 días: GCF 1011 90 días: GCF 1007 Las dos funcionan bien, producen hongos oscuros con lindas manchas en el sombrero
<b>Peso del bloque de sustrato</b>	6lb (peso húmedo)
<b>Tipo de bolsa</b>	Unicorn #14
<b>Contenido de humedad del sustrato</b>	65%
<b>Filtro micro-poroso</b>	1 por bolsa
<b>Espacio aéreo en bolsa</b>	100 pulgadas cúbicas $\pm$ = ½ de la bolsa
<b>Formulación del sustrato</b>	Aserrín de madera dura (aliso o roble) 48% Aserrín reciclado (sustrato gastado) 32% Suplemento de mijo 10% Suplemento de salvado de trigo 10%
<b>Inóculo en granos</b>	½ taza de inóculo de grano de centeno por cada 6lb de bloque de sustrato en inoculación continua (homogénea)
<b>Esterilización en autoclave</b>	400 bloques durante 6,5 horas, a 121°C

### Notas de Garden City Fungi:

**Fuente de luz:** 3.000 lux o similar por luz, 1 bombilla por cada 20 pies cuadrados de espacio de incubación. La distancia de la fuente de luz al espacio de los bloques es de aproximadamente 3-4 pies de rango de luz. Se estima que tal disposición de la iluminación da una intensidad de luz de 1.800-2.000 lux recibida por los bloques de sustrato.

**Oxígeno:** Hay un flujo continuo de aire fresco (frecuencia de intercambio de aire: 5/hora) durante la iniciación de los primordios y la fructificación.

**Amarronamiento:** Retire la bolsa cuando el amarronamiento sea completo. En la práctica, en Garden City Fungi, se inocula un lote de 400 bloques al mismo tiempo. Cuando llega el momento de abrir las bolsas, aún cuando no todos los bloques estén completamente marrones, todas las bolsas se retiran. El momento se determina cuando los bloques alcanzan el 70% o más de amarronamiento dentro de las bolsas, por experiencia previa. Tal práctica se basa en el hecho de que se necesita el espacio para empezar bloques nuevos. Los bloques de sustrato producirán hongos aún cuando ellos no estén completamente marrones al momento de retirar la bolsa, con tal de que el amarronamiento alcance el 70% o más en cada bloque. En el momento en que los bloques comiencen a fructificar, aquéllos que no estaban completamente marrones al momento del retiro de la bolsa, tendrán un amarronamiento completo. Transcurren aproximadamente 2 semanas desde el retiro de la bolsa hasta el final de la cosecha.

**Iniciación de los primordios:** Permita que el ambiente se enfríe por la noche por debajo de 10°C, y luego aumente la temperatura durante el día. Esto simula las condiciones reales en la naturaleza donde los hongos crecen en forma silvestre. Las cepas que usa Garden City Fungi no forman bien los primordios si no son sometidos a este estímulo de temperatura fresca en fluctuación diurna.

**Humedad:** La humedad fluctúa a medida que la temperatura aumenta y disminuye. Cuando la calefacción se enciende por la mañana, el aire se calienta. Al elevarse la temperatura, la humedad cae aproximadamente a 85% H.R. Una vez que la temperatura se estabiliza, la humedad vuelve a 95%. Una vez más, se simulan las condiciones naturales.

**Mercados para Garden City Fungi en EE.UU.:** Interior del Noroeste 70% / Oeste Medio 20% / California y otros estados del sur 10%

**Tabla 9.** Control ambiental de los parámetros de crecimiento en el cultivo de shiitake en bloques de aserrín, amarronamiento dentro de la bolsa (Glen Babcock, Garden City Fungi, 2004. [www.gardencityfungi.com](http://www.gardencityfungi.com))

	<b>Corrida micelial</b>	<b>Amarronamiento</b>	<b>Iniciación de primordios</b>	<b>Fructificación</b>
<b>Temperatura</b>	18-20°C constante a lo largo del día y noche	Durante la corrida del micelio en bolsa / amarronamiento adicional de 4-5 días fuera de la bolsa cuando fuera necesario	Por fluctuación de temperatura después de retirar la bolsa / Bajar temp. a 12°C por la noche	Fluctuación diaria entre 13-20°C (8 horas a 13°C/ 8 horas a 15-18°C/ 8 horas a 20°C)
<b>Luz (tubo fluorescente)</b>	10-12 horas por día, igual fuente de luz, los bloques (estrechamente apilados) reciben menos luz	Igual que para la corrida del micelio	10-12 horas por día	10-12 horas por día / 1.800-2.000 lux, estimando que los bloques (más separados entre si) reciben más luz
<b>Humedad (H.R.)</b>	No es importante ya que la bolsa está sellada / 40-50% H.R. en el edificio	Igual que para la corrida del micelio	Humedad alta generada por humidificador	85-95% todo el tiempo
<b>Suministro de oxígeno</b>	Intercambio de aire: 0-1/hora		Intercambio de aire: 5/hora	Intercambio de aire: 5/hora
<b>Nivel de CO<sub>2</sub></b>	Ningún límite	Ningún límite	<1.500 ppm	<1.500 ppm
<b>Duración</b>	60-90 días Dependiendo de la cepa, arriba de 2 meses		4-5 días desde el retiro de la bolsa a la formación de primordios muy jóvenes	2-3 oleadas 6-10 días de los primordios a la formación de hongos maduros
<b>Rendimiento</b>				2-3lb por bloque en promedio

## Ejemplo 2

**Tabla 10.** Cultivo de shiitake en bloques de aserrín en Fungi Perfecti, parámetros de crecimiento

	Corrida del micelio (normalmente amarronamiento en bolsa)	Iniciación de primordios	Formación de los cuerpos fructíferos *		Ciclo de cosecha
			Cepas de baja temp.	Cepas de temp. cálida	
<b>Temperatura</b>	21-27°C	10-16°C	10-21°C	16-27°C	Cada 2-3 semanas por 8-12 (16) semanas
<b>Luz**</b>	50-100 lux	500-2.000 lux a 370-420nm	500-2.000 lux a 370-420nm		
<b>Humedad</b>	95-100% H.R./ dentro de la bolsa sellada	95-100% H.R.	60-80% H.R.		
<b>Oxígeno a través de intercambio de aire fresco</b>	0-1 por hora	4-7 por hora	4-8 por hora		
<b>Tolerancia al CO<sub>2</sub></b>	> 10.000 ppm	<1.000 ppm	<1.000 ppm		
<b>Duración</b>	35-70 días (depende de la cepa)	5-7 días	5-8 días		

\*Las fluctuaciones dentro de los rangos de temperatura de fructificación son beneficiosos para el desarrollo de los hongos.

\*\*Niveles de luz <500 lux causan un alargamiento notable del tallo.

Fungi Perfecti ([www.fungi.com](http://www.fungi.com)), Olympia, Estado de Washington, EE.UU. (Paul Stamets, 2000), renombrado mundialmente. Normalmente usa amarronamiento dentro de la bolsa.

La humedad es alta durante la corrida del micelio dentro de la bolsa sellada. Durante la fructificación, la humedad fluctúa varias veces por día (70-90% H.R.). El shiitake requiere una humedad más baja durante la formación del cuerpo de fructificación, comparado con algunos otros hongos. Se baja la humedad a 60% H.R. por 6-12 horas previamente a la cosecha para mejorar la vida comercial.

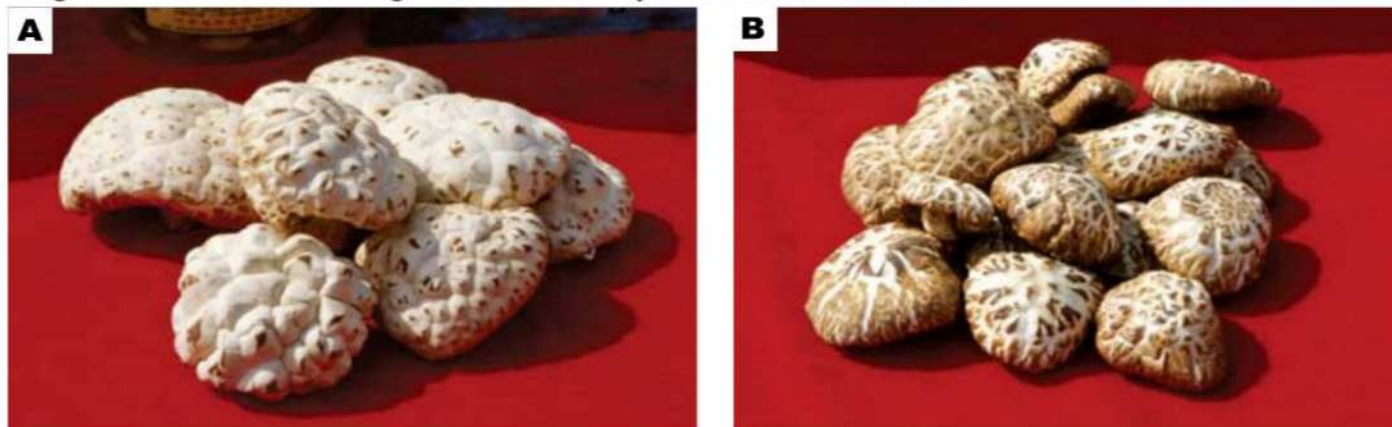
## Producción de Hua-gu, el shiitake flor

### Introducción

El Prof. Yi Huang, con quien me encontré en China en 1998, habló sobre su experiencia inolvidable de ver cientos de “shiitakes flor” surgiendo al mismo tiempo en un tronco caído cuando lo enviaron a la montaña para realizar ciertos trabajos en raíces de pastos durante la Revolución Cultural. Quedó tan impresionado por la imagen, que ahí mismo decidió convertirse en un especialista en hongos.

El hua-gu, o shiitake flor ocurre espontáneamente en la naturaleza, bajo condiciones ambientales apropiadas durante los meses fríos y secos del invierno. No es una característica de un genotipo particular y no es un rasgo genéticamente heredado. Al contrario, el hua-gu, el shiitake con un único e increíble patrón morfológico de grietas con forma de flor en el sombrero, se produce artificialmente a través de la manipulación de parámetros de

crecimiento. El hua-gu se produce a baja humedad y temperatura fría con fluctuación de ambas. El éxito en el cultivo del hua-gu puede traer un ingreso extra considerable a los productores en China. Sistemas modelos de producción de hua-gu pueden encontrarse en el condado de Gutien, provincia de Fujian y en el condado de Qingyuan, provincia de Zhejiang, en China. El hua-gu varía en calidad. El de color blanco con agrietamiento profundo y ancho y contexto grueso (parte carnosa del hongo) está al tope en la escala de calidad, mientras los hongos de color té oscuro con agrietamiento menos pronunciado se consideran inferiores.



**Figura 8.** Shiitake flor seco **A:** Calidad alta **B:** Calidad baja

### El principio de la formación del hua-gu

Durante la formación de los basidiocarpos (cuerpos fructíferos) del shiitake en condiciones de invierno o similares, cuando los pequeños botones de hongos alcanzan 2-3cm de diámetro, el aire seco y la temperatura fría fuerzan a la superficie del píleo (sombbrero) a entrar en inactividad. En semejante ambiente adverso, con fluctuaciones drásticas de temperatura y humedad diarias, se forma una superficie seca protectora en el sombrero del hongo joven. No obstante, la porción interna continúa creciendo usando el agua disponible del sustrato. Cuando las condiciones de crecimiento vuelven a ser favorables, la superficie crece a un ritmo retardado, mientras que la porción interna se desarrolla a un paso normal. Bajo estas condiciones, los botones de shiitake crecen con alternancia de inactividad y crecimiento, y con una considerable diferencia en la velocidad de crecimiento de la superficie y de la porción interna. Con el tiempo, el crecimiento rápido de la porción interna produce la ruptura de la superficie del hongo, produciendo un patrón de grietas tipo flor en la superficie del sombrero. El nombre hua-gu significa flor (hua) y hongo (gu) en chino.

### Los factores cruciales para producir hua-gu

Humedad baja, temperatura fría, fluctuaciones diarias drásticas en temperatura y humedad, luz tenue, corta exposición directa al suave sol de invierno, y aire fresco son todos conducentes a la formación de hua-gu. Se produce mejor a grandes altitudes y en las regiones del norte donde los granjeros pueden aprovechar condiciones ambientales naturales.

### Selección de cepas de shiitake para la producción de hua-gu

Los productores deben usar cepas de baja temperatura y alta calidad, que se adaptan fácilmente para crecer a temperaturas frías para la producción de hua-gu. También pueden usarse las cepas de rango medio de temperatura cercanas al límite inferior de temperatura.

**Tabla 11.** Cepas seleccionadas de *Lentinula edodes* para la formación del shiitake flor (Luo, 2004)

Cepa	Estación de cultivo	Temperatura de fructificación (°C)	Duración *
939	Otoño	8-22	120-160 días
135	Primavera	8-18	160-180 días

\* Desde la inoculación a la fructificación

Otros ejemplos de cepas aptas para la producción del hua-gu son: L-241-1, Jean-Yin #1, Yee-you #5, LCV141, Le 204, Le 13, 9101, 7402, 612, 9018, N-06. Se deben conocer muy bien las características de la cepa antes del cultivo. Para la fructificación al aire libre, el tiempo de inoculación debe coordinarse con las características de maduración para beneficiarse con el estímulo del invierno. Por ejemplo, las cepas L-241-4, 7402 y N-06 son de maduración tardía, que deben inocularse temprano durante marzo y abril, mientras Yee-you #5, 9018 y Le 204 son de maduración temprana a media y deben inocularse en mayo-junio.

### Momento oportuno para forzar al hua-gu

Es importante para los granjeros tratar al shiitake joven durante la fase apropiada de desarrollo, que es cuando los sombreros de los botones de los hongos jóvenes alcanzan 2-3cm de diámetro. Si se los trata demasiado temprano, cuando los botones de hongos tienen menos de 1,5cm de diámetro, son tan frágiles que se pueden morir por deshidratación o temperaturas heladas. Si los tratamientos se aplican demasiado tarde, cuando los botones de hongos ya tienen 3,5cm o más de diámetro, éstos no responden prontamente, y sólo se forman grietas angostas y poco profundas, normalmente cerca del borde del hongo. En Biyang, China, la mejor estación para forzar al hua-gu va de noviembre a marzo.

**Tecnología para la inducción del hua-gu** (Ting, 1994; Xu, 1998): Fructificación al aire libre en cobertizos para hongos. Someter a los botones jóvenes de shiitake, en la fase de desarrollo apropiada de 2-3cm en diámetro, a los parámetros de crecimiento como se describe en la Tabla 12.

**Tabla 12.** Forzado del hua-gu: Someter a los botones jóvenes de shiitake de 2-3cm de diámetro a los siguientes parámetros de crecimiento.

<b>Aire seco</b>	65% H.R., sin rociado de agua
<b>Temperatura fría</b>	8-12°C
<b>Óptima</b>	5-15°C
<b>Fluctuación diurna de temperatura</b>	10°C (en diferencia, deseable) Exagere la diferencia usando las coberturas solo durante el día
<b>Humedad del sustrato</b>	55% para crecimiento controlado lento; inyecte agua cuando esté demasiado seco
<b>Breve exposición al sol de invierno</b>	70% de sombra
<b>Drenaje apropiado</b>	para mantener baja la humedad
<b>Cubra el suelo con arena tosca</b>	una vez formadas las grietas en el sombrero del hongo pueden re-sellarse con nuevo crecimiento durante el tiempo lluvioso, nublado o neblinoso



Figura 9. Shiitake flor creciendo en una bolsa de aserrín

Tabla 13. Parámetros específicos de crecimiento para la formación del hua-gu (Luo, 2004)

Parámetro de crecimiento	Corrida del micelio	Iniciación de primordios	Fructificación
Humedad relativa	65-70%	85%	70%
Temperatura del aire	25°C (18-22°C si cambia el color)	18-22°C/8-12°C fluctuación día/noche	8-18°C fluctuación
Luz	Ninguna (luz solar si cambia el color)	1.000-2.000 lux	1.000-2.000 lux
Aire (ventilación)	1-2 intercambio de aire fresco por día	mantener el aire fresco	mantener el aire fresco
Duración	60-70 días	7-8 días	20-25 días

### Tres fases en la formación del hua-gu (Z. B. Yu, 1998)

Yu usa la propuesta de la Tabla 14 para forzar el hua-gu. Fase 1. Pre-acondicionamiento con temperatura fría para mantener el ritmo de crecimiento a un paso lento. Directamente exponga los botones jóvenes al aire frío fuera de las bolsas. Ésta es una fase de adaptación al ambiente severo que va a enfrentar, fase 2. Parámetros de forzado de hua-gu, fase 3. Mejorar la formación de hua-gu. Para un caso ejemplo de la formación de hua-gu en cobertizos al aire libre, refiérase a G. H. Lo (Ting, 1998). La temperatura del aire, la humedad y el diámetro del sombrero del hongo se midieron cuidadosamente y se registraron durante el proceso de la formación del hua-gu.

Tabla 14. Tres fases para forzar al hua-gu por Yu (1998)

<b>Fase 1. Pre-acondicionamiento por temperatura baja. Someter al shiitake a la fase de desarrollo apropiada (desde primordios hasta 2cm de diámetro).</b>	
Temperatura	8-12°C
Humedad	85-90% H.R. (permanece alta)
<b>Fase 2. Iniciar el forzado del hua-gu cuando los botones alcancen 2-2,5cm de diámetro.</b>	
Temperatura	15±1°C (8-18°C)
Humedad	50-67% H.R. (si es <47%, aplique niebla de agua)
Humedad del sustrato	50-55%
Fluctuación de temperatura y humedad	
<b>Fase 3. Mejorar la formación del hua-gu cuando los sombreros alcancen los 3,5cm de diámetro hasta maduración.</b>	
Temperatura	15-25°C
Humedad	55-65% H.R.



**Figura 10.** Shiitake flor A: Shiitake flor fresco B y C: Shiitake flor seco

## Conclusiones

La tendencia actual para la producción de shiitake apunta hacia el cultivo en bolsas de aserrín. El cultivo en bolsas esterilizadas está ganando popularidad, no sólo en países asiáticos como China, Taiwán, Singapur, Filipinas, Sri Lanka, y Tailandia, sino también en Nueva Zelanda, Australia, EE.UU., Canadá, Finlandia, Francia, los Países Bajos y Alemania (Oei, 2003). También es evidente un creciente interés en nuevos mercados en México, Brasil (Renato y col., 2004), Guatemala y Perú. Con los esfuerzos de MushWorld para alentar el cultivo de shiitake como medio para mitigar la pobreza, se anticipa que la producción de shiitake se expandirá aún más hacia las regiones calurosas del mundo más afectadas por la pobreza, como África y otras.

Mediante el uso del cultivo de shiitake en bolsas en lugar de troncos naturales, se pueden cosechar hongos más rápidamente, y el rendimiento es más alto. Se pueden usar muchos tipos de residuos orgánicos para producir este alimento tan valioso a través de la bio-conversión. Los hongos se pueden producir durante todo el año para suplir las demandas del mercado. El cultivo de shiitake en bolsas es comparativamente más fácil de manejar y pueden hacerlo personas jóvenes y viejas, en áreas rurales así como en distritos urbanos.

Es evidente que 1) las características y calidad del shiitake varían según la cepa, 2) se pueden usar diferentes formas para el cultivo exitoso de shiitake. Se espera que con la introducción del conocimiento práctico y las imágenes presentadas en esta revisión, los lectores se inspiren para cultivar el shiitake.

## REFERENCIAS

- Babcock, G. 2004. Reuse of substrate in specialty mushroom production. In: Romaine, Keil, Rinker and Royse, eds: *Mushroom Science XVI: Science and Cultivation of Edible Medicinal Fungi*. University Park, PA: The Pennsylvania State University Press. pp. 559-563.
- Chang, S.T. and P.G. Miles. 2004. *Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact*. 2nd ed. CRC Press.
- Chen, A.W. 2004. Growing shiitake mushrooms. In: *Mushroom Growers' Handbook 1: Oyster Mushroom Cultivation*. Seoul, Korea: MushWorld. pp 248-261.
- Chen, A.W. 2001. Cultivation of *Lentinula edodes* on synthetic logs. *Mushroom Growers' Newsletter* 10 (4): 3-9.
- Chen, A.W., N. Arnold, and P. Stamets. 2000. Shiitake cultivation systems. In: Van Griensven, ed: *Science and Cultivation of Edible Fungi*, pp. 771-778.
- Luo, X. C. 2004. Progress of xiang-gu (shiitake) cultivation in China. In: Romaine, Keil, Rinker and Royse, eds: *Mushroom Science XVI: Science and Cultivation of Edible Medicinal Fungi*. University Park, PA: The Pennsylvania State University Press. pp. 317-322
- Oei, Peter, 2003. *Lentinula edodes* (shiitake) cultivation on sterilized substrates (Hsu, Lou, 2003) on wood logs, in *Mushroom Cultivation*. 3rd ed. Leiden, the Netherlands: Backhuys. pp. 303-324, and 325-341.

- Renato, M.C. y col. 2004. Strains and substrate interaction on culinary-medicinal shiitake mushroom *Lentinula edodes* (Berk.) Singer (Agaricomycetieae) axenic sawdust cultivation in Brazil. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 6 (2): 173-180.
- Royse, D. 2002. *Cultivation of Shiitake on Natural and Synthetic Log*. University Park, PA: The Pennsylvania State University Press.
- Stamets, P. 2000. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Berkeley, CA: Ten Sped Press.
- Ting, H. G. 1994. *New Technology of High-yield and Fast Production of Shiitake*. Beijing, China: Golden Shield Press (in Chinese).
- Wu, J.L. ed. 2000. *Shiitake Production in China*. Beijing, China: Agricultural Press (in Chinese).
- Wu, S.Y., J.H. YU, Z.W. Wu, G.J. Yu, D.S. Wu, H.F. Zhun, Y.F. Wu, and J.J. Ye. 1995. The volume-growth analyses of fourteen tree species for shiitake mushroom. In: Luo, X.C. and M. Zang, eds: *The Biology and Technology of Mushroom*. Beijing, China: China Agricultural Sciencetech Press. pp. 34-39.
- Xu, Q.C. 1998. New Technology for Breeding Bi-Yang Flower Mushroom. In: Lu, M.L., K. Gao, F. Si, and M.J. Chen, eds: *Science and Cultivation of Mushrooms*. Nanjing, China: JSTC-ISMS. pp. 32-35.
- Yu, Z.B. 1998. Bi-Yang Model System for Shiitake Synthetic Log Cultivation (in Chinese).