

**Centro de Investigación en Alimentación  
y Desarrollo, A.C.**

**EFECTO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL SUSTRATO  
SOBRE LA PRODUCCIÓN DE *Lentinula edodes***

**POR:**

**ALDO HIRAM GUTIERREZ SALDAÑA**

Tesis aprobada por la  
**COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS  
DE ORIGEN VEGETAL**

Como Requisito Parcial para Obtener el Grado de  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**Hermosillo, Sonora.**


**Septiembre del 2005**

## APROBACIÓN


Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Aldo Hiram Gutiérrez Saldaña, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. Martín Esqueda Valle  
Director de Tesis



Dr. Ana María Calderón de la Barca



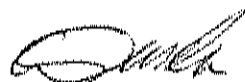
Dr. Rigoberto Gaitán Hernández

M. en C. Alfonso Sánchez Villegas

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos a CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de la tesis.



Dr. Alfonso Gardea Béjar  
Director General

## DEDICATORIA

*A mis hijas Tania Carolina y Karen Andrea  
Por ser lo que son y ayudarme a ser lo que soy.  
A mi esposa (Tania) con gran cariño, admiración y amor.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. por aceptarme y apoyarme en su programa de Maestría en Ciencias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado para la realización de esta maestría. Por permitir que el alumno se preocupe de su maestría y no de cuestiones económicas.

Al Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, por las facilidades brindadas para la realización de esta tesis; así como a todos sus integrantes por su colaboración y aportaciones hechas en los diferentes seminarios.

Al Instituto de Ecología de Xalapa, Veracruz, por facilitar sus instalaciones para parte del experimental y la realización de una estancia en las mismas.

Al Dr. Martín Esqueda mi más sincero agradecimiento por su apoyo infinito, por ser además de director de tesis, un buen amigo.

A los miembros de mi comité de tesis, Dr. Rigoberto Gaitán Hernández, Dra. Ana María Calderón de la Barca, M. en C. Miguel Beltrán García y M. en C. Alfonso Sánchez Villegas, por sus consejos e intervenciones durante el desarrollo de este trabajo, parte fundamental para que esto concluyera satisfactoriamente.

Al personal académico de CIAD, por brindar su tiempo y espacio, así como parte de sus conocimientos durante esta breve estadía.

Gracias a Alfonso Sánchez, por ser de gran ayuda, no solo en conseguir lo necesario para la tesis, sino también en cuestiones fuera de ella.

Al Dr. Reginaldo Báez, M. en C. Isabel Grijalva y M. en C. Rosalba Troncoso, por las facilidades otorgadas para el uso de sus laboratorios y equipos.

Gracias a Rosalía Pérez Merlo (Instituto de Ecología), Rene Valenzuela y Alberto Sánchez por su colaboración y apoyo brindado para la realización del experimental. A Erika Javier, Marco Antonio González y Cintia Espinosa, un agradecimiento especial, por hacer más fácil el desarrollo de esta tesis y por su confianza mostrada.

A los integrantes del laboratorio de Biotecnología de Hongos, Amparo Meza, Andrés Ochoa, Citlalli Harris, Alfonso Sánchez y Alberto Estrada, así como a Antonio Orozco y Javier Ojeda, por hacer de este laboratorio un lugar agradable y lleno de buenos amigos. A Norma Ferrer por apoyarme y aguantarme este tiempo.

A todos los compañeros de maestría dentro y fuera de mi generación, un verdadero placer fue el conocerles.

A los integrantes de la Unidad de Micología experimental, del Departamento de Hongos del Instituto de Ecología de Xalapa Veracruz, por su apoyo y hacer que la estancia fuera mucho más agradable. Rosalía, Carlos, Fanny, Norberto, Guadalupe, Ángeles, gracias por siempre.

A mis padres por darme las bases y el cariño necesario para que todo esto fuera posible y a mi suegra Herlinda Gadea por su gran apoyo, es comfortable saber que se cuenta con el respaldo de todos ustedes.

Y por último, y no por ello menos importante, mi más grande agradecimiento, cariño y amor, para Tania, por ser una esposa admirable y brindarme no solo su apoyo y confianza, sino también esos dos retoños que tan felices nos han hecho. Mi eterno agradecimiento

Aldo Hiram

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	ix
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>RESUMEN</b> .....	xii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>ANTECEDENTES</b> .....	3
Generalidades de <i>Lentinula edodes</i> .....	3
Composición de <i>Lentinula edodes</i> .....	5
Componentes Nutricios .....	5
Componentes Medicinales .....	6
Relación Componentes del Hongo-Sustrato .....	7
Producción de <i>Lentinula edodes</i> .....	8
Cultivo de <i>Lentinula edodes</i> .....	9
Método Tradicional .....	9
Método Moderno .....	10
Cultivo en Residuos Agroindustriales .....	11
Factores que Influyen en el Crecimiento y Fructificación de <i>Lentinula edodes</i> .....	13
Factores Ambientales .....	13
Temperatura .....	13
Humedad .....	14
Aireación.....	15

	<b>Pág.</b>
Luz .....	15
pH .....	16
Factores Nutricionales .....	16
Carbono .....	17
Nitrógeno .....	17
Vitaminas .....	18
Minerales y elementos traza .....	18
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
Objetivo General.....	20
Objetivos Específicos.....	20
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>21</b>
Cepas.....	21
Inóculo.....	21
Sustrato .....	22
Incubación.....	22
Fructificación.....	22
Cosecha.....	23
Análisis Proximal.....	23
Determinación de Calorías Totales (Valor Energético).....	24
Análisis de la Composición de Sustratos .....	24
Diseño Experimental y Análisis Estadístico .....	24



	<b>Pág.</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	26
Producción de <i>L. edodes</i> .....	26
Composición Química de los Sustratos.....	35
Humedad .....	35
Minerales .....	37
Extracto Etéreo.....	39
Proteína Cruda .....	39
Fibra .....	42
Relación Carbono-Nitrógeno .....	49
Fenoles Totales.....	51
Azúcares Totales.....	51
<b>CONCLUSIONES</b> .....	55
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	56

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Distribución de la producción total de hongos frescos (g) durante tres cosechas de <i>Lentinula edodes</i> en madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT) . . . . .	28
2	Patrón de producción de hongos de <i>Lentinula edodes</i> por grupos de tamaño obtenidos en madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT) . . . . .	29
3	Productividad obtenida de <i>Lentinula edodes</i> en los sustratos de madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT) . . . . .	33
4	Composición proximal de los cuerpos fructíferos de <i>Lentinula edodes</i> obtenidos de madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT) . . . . .	34
5	Porcentaje de humedad en madera de vid y pajas de trigo y cebada antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	36
6	Porcentaje de minerales totales en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	38
7	Contenido de grasas (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	40
8	Contenido de proteínas (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	41
9	Contenido de Fibra Detergente Neutro (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	44

<b>Cuadro</b>		<b>Pág.</b>
10	Contenido de hemicelulosa (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	45
11	Contenido de celulosa (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	46
12	Contenido de lignina (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	47
13	Relación C:N en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	50
14	Contenido de fenoles totales (milimoles/L) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	52
15	Contenido de azúcares totales (mg/g) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
<b>1</b>	Morfología de <i>Lentinula edodes</i> . Aspecto general de las fructificaciones del hongo . . . . .	4
<b>2</b>	Desarrollo del cultivo de <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	32

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Morfología de <i>Lentinula edodes</i> . Aspecto general de las fructificaciones del hongo . . . . .	4
2	Desarrollo del cultivo de <i>Lentinula edodes</i> . . . . .	32

## RESUMEN

Con la finalidad de obtener sustratos alternativos para el cultivo de *Lentinula edodes*, el cual ocupa el segundo lugar a nivel mundial dentro de los hongos comestibles cultivados, se evaluó la producción de cuatro cepas mediante una fermentación sólida (FS) de madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT). Se determinó la eficiencia biológica (EB), la composición bromatológica y el valor energético de los cuerpos fructíferos, así como los cambios químicos en los sustratos después de la cosecha. El promedio de días para la aparición de primordios fue de 39, 48 y 50 para la MV, PC y PT, respectivamente. La EB fluctuó de 37.02% (PT) a 93.25% (MV). La mayor tasa de producción se observó en PC (1.17) y la más baja en PT (0.39). El rendimiento varió desde un 10.35% en PT a 37.46% en MV. El contenido de proteína, grasa, carbohidratos, minerales y valor energético de los cuerpos fructíferos fue similar al registrado con el sustrato convencional (encino).

Posterior a la FS, el contenido de cenizas aumentó más de un 300% en MV y PC, con una correlación positiva entre la mineralización y la EB en PC ( $r^2=0.83$ ) e inversamente proporcional en MV ( $r^2=-0.66$ ). Así mismo, la relación C:N inicial, el contenido final de fenoles y la FDN inicial de los sustratos mostraron una correlación positiva con la EB. La concentración inicial de hemicelulosa, celulosa y lignina varió entre los sustratos ( $p<0.05$ ); después de la FS, la hemicelulosa disminuyó en todos los sustratos, con una correlación positiva en MV entre el decremento y la EB ( $r^2=0.87$ ), mientras que en PC y PT no se observó asociación. La composición química del sustrato debido a la FS por *Lentinula edodes* varió dependiendo de la cepa, la disponibilidad de las diversas fracciones y los cambios ocurridos durante la digestión y crecimiento del hongo. Con los resultados anteriores se establece que es factible la utilización de MV, PC y PT para el cultivo de *Lentinula edodes*.

## INTRODUCCIÓN

*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler, comúnmente conocido como shiitake o xian-gu, es una especie asiática que se distribuye principalmente en Japón, China y Corea. Es una especie saprobia, por lo que se le ha encontrado creciendo en árboles caídos o agonizantes de hoja ancha, particularmente *Castanopsis cuspidata* y *Quercus* sp. (Stamets, 1993; Hobbs, 1995).

Entre los hongos comestibles que se cultivan a escala mundial, *Lentinula edodes* ocupa el segundo lugar (Chang y Miles, 2004). Se produce intensamente en el extremo oriente (Manzi, 1976), principalmente en China, siendo el mayor exportador y consumidor del mundo. Otros países que se encuentran entre los grandes productores son Japón, Corea y Taiwán (Abe, 1989; Chang, 2002). Además, la producción comercial de este hongo tiene un gran potencial en diversas regiones del mundo (Dare et al., 1988).

Actualmente, China domina el mercado mundial de este hongo, debido principalmente al uso exitoso del cultivo en aserrín, incrementando constantemente su producción en las últimas décadas. En 1991 produjo 380,000 ton de shiitake, mientras que en el 2002 se estimó en ca 2 millones de ton (Chang, 2002; Luo, 2004). La producción de *L. edodes* se ha ido extendiendo poco a poco a otros países. En 1991, Estados Unidos generó 2,200 ton de shiitake fresco, equivalente a ca \$16.3 millones de dólares y en 1995-96 se incrementó a 2,800 ton (Pacumbaba y Pacumbaba, 1999) y en 1999 a 3,941 ton, este aumento se debió, en parte, al empleo de mejores sistemas de producción y a una mayor demanda por parte de los consumidores (Royse y Sánchez, 2000).

En Latinoamérica se produjeron en el 2002 ca 870 ton de shiitake, siendo Brasil el principal productor (92%), seguido por México (3.45%) (Lahman y Rinker, 2004). En este último, el principal productor comercial se localiza en

Jalisco (Hongos La Montaña). Se cultiva además de manera muy limitada en la Sierra de Soconusco en Chiapas y en forma experimental en varios institutos y universidades del país (Guzmán *et al.*, 1993).

El interés comercial por shiitake ha aumentado en los últimos años, motivado principalmente por los altos valores adquiridos en el mercado internacional y al incremento de la importación de hongos secos por algunos países. Lo anterior no solo debido a su excelente aroma, sabor y características nutritivas, sino también por sus propiedades medicinales. Estas son atribuidas sobre todo a la presencia de polisacáridos estructurales, a saber, quitina,  $\beta$ -D-glucanos y heteropolisacáridos, así como a la eritadenina y terpenoides (Wasser y Weis, 1999).

Tradicionalmente *L. edodes* se ha cultivado sobre troncos de maderas duras, principalmente de encino. Sin embargo este sistema de cultivo representa una limitante y un peligro potencial para el medio ambiente, debido al lento crecimiento y sobreaprovechamiento a que está sujeto el encino, poniendo en riesgo las poblaciones de este importante elemento forestal (Przybylowicz y Donoghue, 1990; Sobata y Nall, 1994). Por otro lado, se ha observado que la composición química de los basidiomas varía significativamente de acuerdo con la naturaleza del sustrato de cultivo (Smith *et al.*, 2002).

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se evaluó la eficiencia de bioconversión de *Lentinula edodes* en madera de vid y pajas de trigo y cebada, como sustratos de residuos lignocelulósicos alternativos para el cultivo de shiitake. Así también, se correlacionó la composición química del sustrato con la producción y contenido de los cuerpos fructíferos.



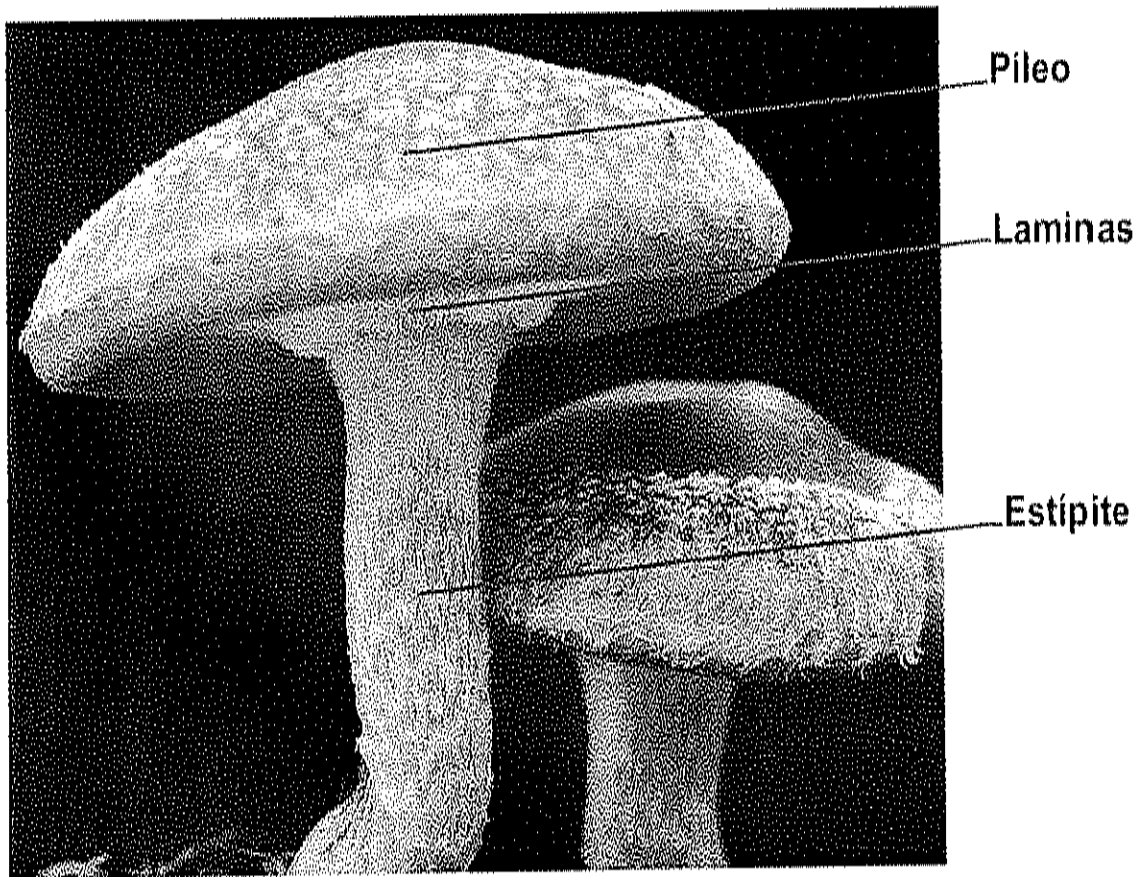
## ANTECEDENTES

### Generalidades de *Lentinula edodes*

*Lentinula edodes* es un hongo de pudrición blanca que actúa en la descomposición de la madera de troncos muertos (Diehle y Royse, 1986; Mata *et al.*, 2001). Degrada selectivamente la lignina y la celulosa (D'annibale *et al.*, 1996; Morais *et al.*, 2000). Además, es un colonizador primario de la madera e inmediatamente compite o desplaza parcial o completamente a otros hongos saprobios en la misma área (Guevara-Guerrero *et al.*, 2000; Morais *et al.*, 2000).

La clasificación taxonómica de shiitake según Kirk *et al.* (2001), es: Reino: Fungi; División: Basidiomycota; Clase: Basidiomycetes; Orden: Agaricales; Familia: Marasmiaceae; Género: *Lentinula*; Especie: *edodes*. Este género consta actualmente de cinco especies, todas lignícolas y de distribución tropical. Stamets (1993), menciona que *Lentinula* fue creado originalmente por Earle a principios de 1900 y retomado por Pegler en los 70's.

Shiitake posee un pileo de convexo a extendido, con un diámetro promedio de 5 a 20 cm, tacto de fieltro y cubierto de fibrillas, de pardo grisáceo a marrón rojizo, con escamas triangulares a aeroladas. Presenta láminas blanquecinas que se manchan frecuentemente de color café rojizo, adnadas o anexo sinuadas pero generalmente libres, denticuladas. Las esporas son blancas, cilíndricas-elipsoides, de pared delgada, hialinas y lisas. Los basidios son de 30-31.5 x 5.8  $\mu\text{m}$ , tetraspóricos, hialinos. Tiene estipe sólido, duro y subcoriáceo, con escamas muy grandes, fibrilosas y lanudas, una zona anular cubierta de fibrillas y base ahusada. Su pulpa es como de corcho, de color blanco (Figura 1) (Gaitán-Hernández, 1999; Keizer, 2000).



**Figura 1.** Morfología de *Lentinula edodes*. Aspecto general de las fructificaciones del hongo

### Composición de *Lentinula edodes*

En muchas culturas orientales, los hongos son vistos como un grupo de alimentos único, que poseen atributos especiales promotores de la salud. En estas culturas, shiitake ha sido considerado como un elixir de la vida y es una parte integral de la dieta. En las culturas occidentales, los hongos son valorados por su sabor, pero son usados principalmente como aderezo. Se ha encontrado que shiitake contiene un número importante de nutrientes. En investigaciones científicas recientes se han aislado muchos compuestos de *L. edodes*, evidenciándose su efectividad como promotores de la salud (Tokimoto y Komatsu, 1978; Przybylowicz y Donoghue, 1988).

#### **Componentes Nutricios**

La composición que posee shiitake es excelente, ya que contiene proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas, minerales y lípidos. En general, la cantidad de proteína de los carpóforos es elevada y fluctúa de 13 a 35% del peso seco. De esta porción, alrededor del 39% es de aminoácidos esenciales, representados principalmente por lisina y arginina (Hobbs, 1995; Longvah y Deosthale, 1998; Morais *et al.*, 2000).

Shiitake posee entre el 67 y 79% de carbohidratos. La fibra que es un ingrediente importante para una dieta balanceada, se ha encontrado desde el 6 al 15% en las fructificaciones del hongo. Su contenido de grasa es bajo, variando del 0.5-5%, lo que representa una ventaja desde el punto de vista de la salud. Los lípidos presentes son el ácido oleico y linoleico, que constituyen el 73 a 77% de las grasas totales (Stamets, 1993; Hobbs, 1995; Longvah y Deosthale, 1998; Morais *et al.*, 2000), siendo sus principales fosfolípidos la fosfatidiletanolamina y cardiolipina (Feofilova *et al.*, 1998).

Además este hongo contiene vitamina C y altas cantidades de ergosterol (873-4,381 IU/100 g de peso seco), provitamina que en presencia de la luz solar se convierte en vitamina D, así como niacina (55 mg/100 g), tiamina (7.8 mg/100 g) y riboflavina (5.0 mg/100 g). El contenido de minerales es de 3.5 a 6.5%, con potasio, fósforo y calcio, como los principales (Pettipher, 1988; Stamets, 1993; Hobbs, 1995).

### **Componentes Medicinales**

Algunas de las propiedades medicinales de shiitake son los efectos antitumorales y anticancerígenos y la reducción de los niveles sanguíneos de colesterol y lípidos (Hobbs, 1995; Morais *et al.*, 2000). Además ejerce un efecto benéfico contra la presión arterial alta, afecciones del hígado, las infecciones por *Candida*, gripes y resfriados frecuentes y alergias medioambientales. Es inductor de la formación de interferón, potencia el sistema inmunológico e incluso hay investigación clínica en su efecto sobre el SIDA, síndrome de fatiga crónica y herpes (Regés, 1999). También parece combatir la inflamación bronquial y regular la incontinencia urinaria (Hobbs, 1995). Por otro lado, shiitake contiene sustancias de varios tipos, muy valiosas en la elaboración de suplementos dietarios, bebidas saludables y saborizantes (Kues y Liu, 2000; Lomberh *et al.*, 2002).

Entre el 60 y 70% de las drogas actualmente utilizadas en occidente, se derivan de plantas u hongos. Se ha aislado y purificado un amplio número de compuestos biológicamente activos de shiitake. Algunas de estas sustancias tienen más de un efecto, presentando en ocasiones sinergismo entre ellas y con otros compuestos inactivos del hongo. Los más estudiados en *L. edodes* son lentinan, LEM (micelio) y eritadina, entre otros (Przybylowicz y Donoghue, 1988; Wasser y Weis, 1999).

### Relación Componentes del Hongo-Sustrato

En un intento por desarrollar métodos más eficientes y confiables para la producción de shiitake, se han propuesto varios medios como óptimos para su cosecha y algunos de éstos demuestran que es un hongo extremadamente difícil (Diehle y Royse, 1986; Tan y Moore, 1992). *Lentinula edodes*, así como otros hongos que crecen en materiales lignocelulósicos tales como la madera o la paja, excretan una mezcla de enzimas hidrolíticas y oxidantes que despolimerizan los componentes del sustrato. La actividad de estas enzimas depende de la composición del sustrato y de las condiciones ambientales (Morais *et al.*, 2000).

Los constituyentes del hongo se verán ampliamente influenciados por la utilización de diferentes cepas, sustratos y por la etapa de desarrollo en que se encuentra el organismo. Además, el cultivo y manejo poscosecha afectan el contenido de compuestos biológicamente activos (Song *et al.*, 1989; Brauer *et al.*, 2002; Matilla *et al.*, 2002). Domondon *et al.* (2004), mencionan que la suplementación del sustrato de cultivo influye en la composición química y valor nutricional de *Pleurotus*. Además, suplementos ricos en nitrógeno influyen en la producción y el tamaño de shiitake.

Smith *et al.* (2002), encontraron que la composición química de las fructificaciones del hongo son un reflejo del contenido del sustrato e ingredientes suplementados. Además, que el material lignocelulósico utilizado como base para el cultivo variará considerablemente su constitución según su origen, ya sea que proceda de actividades agrícolas o silvícolas, lo que influirá en el producto final.

Hoy en día, gran parte de la investigación en muchos de los hongos con utilidad nutricional y/o farmacológica, está enfocada al desarrollo de estrategias de cultivo que faciliten la recuperación de compuestos de interés. Es por ello que la

adopción de prácticas modernas de fermentación y/o cultivo puede coadyuvar a la generación de mayores producciones, así como representar ciertas ventajas. Por ejemplo, un incremento en la velocidad de crecimiento repercutirá en una reducción en el tiempo de producción. La optimización de la composición del medio y condiciones físicoquímicas, permitirán la regulación del metabolismo del hongo y el mejoramiento de la obtención de elementos específicos, así como la posibilidad de diseñar variaciones en los productos finales (Smith *et al.*, 2002). Por ello, resulta importante conocer cuáles son las condiciones en las que se está obteniendo la producción y los factores que afectan el desarrollo del hongo de interés.

#### Producción de *Lentinula edodes*

El cultivo de hongos es una actividad de gran importancia económica para la industria biotecnológica, que en las últimas décadas ha expandido su mercado por todo el mundo (Kues y Liu, 2000). Ha resultado en una trascendental industria para algunos países asiáticos (Dare *et al.*, 1988), convirtiéndose en las últimas décadas en un sector multimillonario (Leatham, 1985).

La producción comercial de hongos se ha incrementado más de 21 veces en los últimos 30 años, de 350, 000 ton en 1965 a cerca de 7.5 millones de ton en el 2000. La mayor parte obtenida de tres especies: *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus* spp., las cuales han presentado un cambio considerable en los últimos años en cuanto al porcentaje que ocupan con respecto al total. Shiitake mostró un incremento de casi 400% de 1987 (314,000 ton) a 1997 (1'564,000 ton), alcanzando el 14.4% y el 25.4% de la producción total de hongos, respectivamente (Royse, 2001; Lahman y Rinker, 2004).

En México, el cultivo comercial de hongos se ha estimado en 38,708 ton/año, incluyendo *Agaricus* (94.3%), *Pleurotus* (5.6%) y *Lentinula edodes* (0.1%). A nivel Latinoamérica ocupa el primer lugar de producción en champiñón y setas, y el segundo en cuanto a shiitake. El valor económico fue de ca 100 millones de dólares en 2002, con cerca de 20,000 trabajadores dedicados directa e indirectamente con esta actividad.

### Cultivo de *Lentinula edodes*

Aunque existen cientos de hongos comestibles, la mayoría desarrollándose de manera silvestre, son pocos los que pueden producirse a gran escala (Ito, 1985). Actualmente, *Lentinula edodes* se cultiva con dos métodos: a) en troncos, que es el sistema tradicional y b) en bolsas plásticas con partículas lignocelulósicas (virutas o aserrín) (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

#### **Método Tradicional**

Tradicionalmente, se inocula el micelio en troncos de madera dura. Las especies de árboles adecuadas son las fagáceas como el shii, el castaño, el carpe y algunas otras menos comunes, pero principalmente los encinos. Los troncos son colocados en camas, las cuales son ubicadas a la intemperie, donde por años, el hongo fructifica durante los periodos fríos y lluviosos (Ito, 1985; Kozak y Krawczyk, 1993).

A finales del siglo XIX se desarrolló un método que utiliza pequeñas piezas o taquetes de madera de encino colonizados con el hongo. La inoculación se realiza haciendo agujeros en los troncos con un taladro, donde

se insertan los taquetes con la ayuda de un martillo, y por lo general el agujero se tapa con cera caliente para prevenir la desecación del micelio (Ito, 1985; Royse, 1997).

El desarrollo vegetativo del hongo tarda en general de 6 a 9 meses, dependiendo de las condiciones ambientales y otras variables. Después de este periodo, los troncos se transfieren a un área de cultivo más fría y húmeda donde se acomodan de manera adecuada para la cosecha. La producción se da principalmente en la primavera y el otoño, durante tres a seis años. El método tradicional tiene la ventaja de que se puede realizar con infraestructura relativamente sencilla y la inversión económica es baja. Sin embargo, su producción depende de los eventos climáticos y el ciclo completo es muy largo, lo que hace que no sea muy interesante para los países occidentales (Ito, 1985; Royse, 1997).

### **Método Moderno**

Actualmente, el método de cultivo intensivo que se emplea en la producción comercial de shiitake. Este consiste en la utilización de medios sintéticos que tienen aserrín como ingrediente base (principalmente encino) y puede complementarse con porciones del 10 al 40% de otros ingredientes nutritivos. Al sustrato que se utilizará, se le agrega agua para elevar el contenido de humedad alrededor del 60% y se coloca en bolsas de plástico para ser esterilizado en autoclave a 121-125°C. Una vez enfriado se inocula con micelio de shiitake en una relación del 3 al 10% del peso húmedo del sustrato (Pettipher, 1988; Donoghue y Denison, 1995; Royse, 1997; Fomina *et al.*, 1999; Leifa *et al.*, 2000; Philippoussis *et al.*, 2002).



Cada una de las etapas del cultivo que se den después de la inoculación durará cierto tiempo, el cual dependerá de la cepa, el sustrato y las condiciones en que se esté desarrollando (Morais *et al.*, 2000). Una vez que se ha dado el crecimiento micelial, las bolsas son retiradas y al madurar el micelio, los bloques de sustrato se cubren de un velo café. Posteriormente se da el desarrollo de primordios, manipulándose su maduración mediante la combinación de factores ambientales tales como luz, humedad relativa, aireación y temperatura (Przybylowics y Donoghue, 1988; Song *et al.*, 1991).

Algunas de las ventajas que ofrece el método moderno de cultivo, son la obtención de mayores producciones en menos tiempo (del 75-145% de eficiencia biológica en 4-6 meses) (Diehle y Royse, 1986; Chang y Miles, 2004). Además, se disminuyen los riesgos de contaminación y desecación del sustrato en ciertas etapas del proceso (Donoghue y Denison, 1995). Otra de las ventajas, es la posibilidad de utilizar desechos agrícolas y la de producir durante todo el año. Las principales desventajas que este sistema implica, son los costos elevados de instalación, el alto consumo de energía y la contaminación de los sustratos con mohos. Requiere además de experiencia en el manejo de la tecnología del mismo, por el tipo de instrumental que se utiliza (Guzmán *et al.*, 1993; Mata *et al.*, 2002).

### Cultivo en Residuos Agroindustriales

Cada año, a través de la fotosíntesis, se producen cerca de 155 billones de toneladas de materia orgánica sobre la superficie del planeta. Sin embargo, la mayoría de ésta, no se utiliza directamente por hombres ni animales, convirtiéndose en ocasiones en fuente de contaminación ambiental (Jaramillo *et al.*, 2004). Durante el desarrollo de las actividades productivas agrícolas e

industriales, se crean grandes cantidades de desechos que, por lo general, son considerados subproductos carentes de importancia económica y por ende subutilizados (Salmones *et al.*, 1999; Sánchez y Royse, 2002).

Dentro de la amplia gama de estos subproductos predominan los de naturaleza lignocelulósica, siendo de los más abundantes en el planeta. Este tipo de desechos está integrado principalmente por esquilmos agrícolas (pajas y rastrojos), subproductos agroindustriales (bagazos y pulpas) y de la industria forestal (virutas y aserrín) (Gaitán-Hernández, 1999; Sánchez y Royse, 2002).

Los materiales lignocelulósicos son difíciles de digerir, debido a las fuertes uniones físicas y químicas entre los carbohidratos y la lignina, una sustancia polimérica compleja que protege a los polisacáridos de las paredes celulares de la hidrólisis microbiana, lo que dificulta su aprovechamiento. Ciertos hongos tienen la propiedad de metabolizar este tipo de compuestos, *Lentinula edodes* entre ellos, mediante la producción de enzimas hidrolíticas y oxidativas, capaces de convertir los compuestos lignocelulósicos en moléculas más sencillas que puedan ser asimiladas y convertidas en energía biológica (Morais *et al.*, 2000; Pereira *et al.*, 2003).

La producción de *L. edodes* y de muchos otros hongos comestibles, tiene un impacto favorable en el ámbito agroindustrial, debido a que disminuye los gastos para el manejo de desechos generados por dicho sector. Así mismo, la utilización de estos biodesechos disminuye los costos de producción, dependiendo de la región geográfica, debido a que se pueden utilizar cepas de shiitake que resulten adecuadas para dichos sustratos y las diversas temperaturas imperantes en esas áreas de cultivo.

En México, el cultivo experimental de shiitake se ha desarrollado empleando virutas, *v.g.*, *Carpinus*, *Bursera*, *Alnus* y *Eliocarpus* (Mata *et al.*, 1990; Morales y Martínez-Carrera, 1991; Morales *et al.*, 1991), inclusive pulpa de café y bagazo de caña (Mata y Gaitán-Hernández; Mata y Gaitán-

Hernández, 1994; Salmones *et al.*, 1999). Aunque la disponibilidad de algunos de estos sustratos es un factor limitante, existen otros residuos lignocelulósicos como pajas de diversos cereales y madera de vid. Las 26,000 has cultivadas de uva en México generan al año ca 250,000 ton de material de poda. Por otra parte, la superficie cultivada de cebada y trigo es de 383,000 y 560,000 has, generándose ca 0.7 y 2.7 millones de toneladas de residuos de paja, respectivamente (FAO, 2004); siendo ampliamente utilizadas en el cultivo de *Agaricus bisporus* y *Pleurotus* spp. Por el contrario el uso de la madera de vid, con gran potencial para la producción de setas (Sánchez *et al.*, 2002), es prácticamente nulo.

#### Factores que Influyen en el Crecimiento y Fructificación de *Lentinula edodes*

Algunos de los parámetros que deben tomarse en cuenta en el cultivo de hongos son: temperatura, pH, humedad, aireación, luz y las características del sustrato (Morais *et al.*, 2000; Sánchez y Royse, 2002). El óptimo desarrollo del hongo se presentará sólo si hay coincidencia de todos estos factores (Stamets, 1993). Es importante tomar en cuenta que aunque las condiciones de cultivo influyen en la morfología de los cuerpos fructíferos, cada cepa tiene sus características particulares (Ito, 1985).

#### **Factores Ambientales**

Temperatura. El control de la temperatura es un factor fundamental, ya que regula buena parte del metabolismo del hongo. Es frecuente que las

temperaturas óptimas de crecimiento micelial y de fructificación sean diferentes (Sánchez y Royse, 2002). En la etapa micelial es un elemento primordial para obtener una producción de calidad. Se considera que la temperatura óptima para shiitake es alrededor de los 25°C (Chang y Miles, 2004).

Una vez que se ha dado la maduración del micelio, es necesario disminuir la temperatura ambiental para el inicio de las fructificaciones. Ello influirá en la velocidad de crecimiento, firmeza y calidad de la cosecha. Durante la etapa de fructificación se recomienda una temperatura entre los 15 y 20°C (Dare *et al.*, 1988; Song *et al.* 1991; Stamets, 1993; Donoghue y Denison, 1995).

Humedad. Para el crecimiento de los hongos, tanto en la naturaleza como en los cultivados, se requiere una humedad adecuada, ya que ésta afecta la disponibilidad de nutrientes. El contenido de humedad no sólo depende de la especie de hongo que se cultiva, sino también del tipo de sustrato utilizado. Se estima que un 30% de humedad permite la degradación fúngica. Específicamente *Lentinula edodes*, en su papel como degradador de madera, necesita de altos contenidos de humedad. Sin embargo, a niveles excesivos se vuelve una limitante para la respiración del hongo (Abe, 1989; Badham, 1989; Sánchez y Royse, 2002).

Los cuerpos fructíferos de los hongos están formados por un alto contenido de agua y su estructura hifal no les permite retener la humedad en condiciones adversas. Por ello es necesario un balance adecuado entre la humedad ambiental y el contenido de humedad del hongo, para evitar que tanto el sustrato como los cuerpos fructíferos se deshidraten. En general los hongos son muy susceptibles a las variaciones en la humedad relativa (Sánchez y Royse, 2002).

En el cultivo de shiitake en troncos sintéticos, la humedad es uno de los factores más importantes a tomar en cuenta. Para la fase de fructificación se recomienda una humedad relativa mayor al 85% y un contenido de humedad en el sustrato entre 55 y 68% (Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Aireación. La ventilación del área de cultivo ayudará a disminuir la humedad de la superficie de los hongos, elevar las concentraciones de oxígeno y a reducir los niveles de CO<sub>2</sub> y otros gases metabólicos (Stamets, 1993). En general, los requerimientos de oxígeno variarán según el estado fisiológico en el que se encuentre el hongo. Si la concentración de CO<sub>2</sub> es muy elevada (6000 ppm), el crecimiento micelial se intensificará. Sin embargo, a niveles entre 4000 y 6000 ppm se inhibirá completamente la formación de primordios. Con concentraciones de CO<sub>2</sub> entre 2000 y 4000 ppm los carpóforos crecerán anormales, con el estípite muy alargado y el pileo no alcanzará su tamaño natural. Se consideran óptimos los niveles de CO<sub>2</sub> menores a 2000 ppm para la etapa de fructificación. Para shiitake se considera benéfica y deseable una concentración de CO<sub>2</sub> que no sobrepase las 1000 ppm durante el desarrollo de primordios y fructificación (Przybylowicz y Donoghue, 1988; Stamets, 1993).

Luz. Este factor es esencial para la fructificación del shiitake, así como para obtener hongos con morfología y pigmentación normal (Morais *et al.*, 2000). Si la luz no es adecuada, ocurre un alargamiento del tallo y malformación del pileo. Si es demasiado intensa podría alterar la pigmentación del hongo en vías de desarrollo. Idealmente un sustrato inoculado, debe ser incubado en oscuridad y exponerse a la luz sólo después de que el micelio ha cubierto totalmente el bloque (Stamets, 1993). Aunque Przybylowicz y Donoghue (1988), sugieren exposiciones durante 20 min/día. Se aconseja emplear luz natural pero si fuera indispensable proporcionar iluminación artificial, ésta debe ser luz

blanca. Tokimoto y Komatsu (1978) y Stamets (1993) recomiendan entre 500 y 2000 lux a 370-420 nm.

pH. El crecimiento fúngico es influenciado de varias maneras por el pH, ya que interviene directamente en las reacciones entre la madera y las enzimas degradadoras de los hongos. El pH del sustrato es importante para la nutrición del hongo, ya que afecta la solubilidad de los compuestos y por lo tanto, determina su disponibilidad. En general se requiere un pH ligeramente ácido o neutro (Przybylowicz y Donoghue, 1988). Un medio demasiado ácido o alcalino abate el crecimiento del micelio y favorece la aparición de ciertos competidores, por lo que éste debe encontrarse dentro de ciertos límites (Stamets, 1993). En particular para *Lentinula edodes*, un pH de 4.7 a 5 permite un buen desarrollo y valores menores a éstos lo limitan (Przybylowicz y Donoghue, 1988; Lomberh *et al.*, 2002).

### **Factores Nutricionales**

La calidad y cantidad de una cosecha de shiitake sobre un medio dado, está en función de la disponibilidad de nutrientes. Como todos los organismos vivos, los hongos requieren de fuentes de carbono y nitrógeno, ciertas vitaminas esenciales, minerales y elementos traza. Todos estos componentes deben estar disponibles en cantidades suficientes y en las proporciones correctas para que el hongo pueda sintetizar sus metabolitos y tomar la energía que necesite. Los medios usados para cultivar shiitake también pueden contener otros factores que influyen en su desarrollo como son algunos extractos tóxicos de las maderas (Leatham y Leonard, 1989; Sánchez y Royse, 2002)

Carbono. Las fuentes de carbono son requeridas por los hongos como recurso energético para su metabolismo y construcción de la biomasa celular. Los principales componentes de las maderas son la celulosa, hemicelulosa y lignina, siendo la celulosa la principal fuente de carbono para los hongos. La lignina es un compuesto difícil de biodegradar y reduce la disponibilidad de otros polímeros por medio de restricciones físicas, las cuales puede deshacer shiitake (Leatham y Leonard, 1989; Sánchez y Royse, 2002; López *et al.*, 2002,). Además compuestos fenólicos derivados de la lignina promueven el crecimiento micelial del género *Lentinula* (Beltrán-García *et al.*, 2001).

La fuente de carbono más accesible para shiitake y organismos competidores son los azúcares libres, almidón, pectinas y hemicelulosas (Leatham y Leonard, 1989; Przybylowicz y Donoghue, 1988). Según Rossi *et al.* (2003), se requiere una buena fuente de azúcares para incrementar la actividad lignocelulósica de los hongos. El contenido de lípidos parece tener un papel importante en el proceso morfogénico de shiitake y según el tipo presente promoverá o limitará la utilización de otros. Se ha visto que el oleico estimula de manera positiva el desarrollo de *L. edodes* (Song *et al.*, 1989).

Nitrógeno. Los hongos son organismos ricos en proteína, es por ello que su producción está directamente unida a la concentración de nitrógeno del medio. Las principales fuentes de nitrógeno se obtienen a partir de la degradación de los aminoácidos, peptona, caseína, urea o por medio de sulfatos y nitratos de amonio, sodio, potasio y calcio. Un aumento en la cantidad de nitrógeno incrementa la producción. Sin embargo se deben evitar cargas altas de nitrógeno, ya que se inhibe la fructificación. Esto puede deberse a que un exceso de nitrógeno cambia el pH del sustrato, favoreciendo el crecimiento de microorganismos competidores. Se han recomendado niveles de 0.5% como

óptimos para obtener las mayores producciones (Leatham y Leonard, 1989; Przybylowicz y Donoghue, 1988).

Vitaminas. Las vitaminas son factores de crecimiento orgánicos producidos y requeridos en pequeñas cantidades por los organismos vivos para su crecimiento y reproducción. Según algunos autores los basidiomicetes requieren la agregación de tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) para su óptimo desarrollo, con una concentración favorable de 100 µg/L durante el crecimiento micelial (Leatham y Leonard, 1989; Przybylowicz y Donoghue, 1988). Boyle (1998), menciona que comúnmente el sustrato cubre los requerimientos mínimos del hongo y no son necesarias las suplementaciones de vitaminas al medio.

Minerales y elementos traza. Las maderas, granos y otros materiales orgánicos usados para el cultivo de shiitake, son a menudo relativamente pobres en minerales y elementos traza. Entre los minerales y elementos traza más importantes para el crecimiento de los hongos están el hierro, cobre, magnesio, sodio, potasio, calcio, manganeso, cobalto, níquel, azufre y fósforo (Tokimoto y Komatsu, 1978; Leatham y Leonard, 1989). Leatham y Stahmann (1989), encontraron que el crecimiento y desarrollo de *L. edodes* es fuertemente afectado por la concentración de minerales. La concentración de calcio es una de las que mayores efectos tiene sobre el desarrollo. Ciertos elementos traza como hierro, cobre, cobalto o níquel, requeridos a niveles bajos pueden ser tóxicos si se adicionan en cantidades elevadas (Leatham y Leonard, 1989).



## JUSTIFICACIÓN

El precio elevado que ha adquirido shiitake en el mercado internacional y el incremento de la importación de hongos secos por algunos países, han motivado el interés comercial por este hongo. Además es un hongo sumamente atractivo no solo debido a su excelente aroma, sabor y características nutritivas, sino también por sus propiedades medicinales. La búsqueda de nuevos antitumorales y de otras sustancias medicinales a partir de hongos, ha venido tomando un gran interés en la comunidad científica durante las últimas dos décadas. Un gran número de compuestos derivados de sustancias celulares, así como de metabolitos secundarios se han aislado de los Basidiomicetes. Se ha demostrado su efecto en el sistema inmune y que pueden ser utilizados para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades (Jong y Birmingham, 1993).

Actualmente el sustrato más utilizado para el cultivo comercial de shiitake es el encino, lo que representa una limitante y un peligro potencial para el medio ambiente. Esto debido al lento crecimiento y sobreaprovechamiento que esta especie presenta, lo que pone en riesgo las poblaciones de este importante elemento forestal. Por ello se han buscado sustratos alternativos como los desechos de poda de vid, en los que se han obtenido buenos resultados (Fragoso *et al.*, 2004). Así mismo se han encontrado cepas capaces de crecer sobre pajas que por su abundancia y regeneración, pudieran ser otra alternativa al uso del encino.

Sin embargo, es necesario mantener estándares de calidad en los sistemas productivos del shiitake. Más aún si la producción está encaminada a la obtención de alimentos para consumo humano. Por lo que es necesario conocer el efecto de la composición química del sustrato en la producción del hongo y cómo influirá sobre el contenido proximal de los cuerpos fructíferos.

## HIPÓTESIS

- ♣ La composición química de la madera de vid y pajas de trigo y cebada afectan la producción y el contenido proximal de *Lentinula edodes*.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

- ♣ Analizar el efecto de la composición química de la madera de vid y pajas de trigo y cebada sobre la producción y contenido proximal de los carpóforos de *Lentinula edodes*.

### Objetivos Específicos

- ♣ Determinar la eficiencia biológica, tasa de producción, rendimiento y bioconversión de las cepas de *Lentinula edodes* cultivadas sobre madera de vid y pajas de trigo y cebada.
- ♣ Determinar los cambios cuantitativos (humedad, proteína, grasas, minerales, relación C:N, fenoles, azúcares totales y fibra) en la composición química de pajas de trigo y cebada y madera de vid, por efecto de la fermentación sólida de *Lentinula edodes*.
- ♣ Analizar el contenido de humedad, cenizas, grasas y proteínas en los carpóforos de *Lentinula edodes*.
- ♣ Correlacionar el contenido de los sustratos con la composición proximal y producción del hongo.

## METODOLOGÍA

### Cepas

Las cuatro cepas de *Lentinula edodes* evaluadas en el presente estudio fueron las siguientes: la CS.2 de Fungi Perfecti, EUA, la IBUG-17 donada por Ruth de León de la Planta Piloto de Hongos Comestibles y Medicinales de Guatemala, y las cepas V084 y S610 (cepas comerciales Somycel, EUA), donadas por Jean Michel Savoie de la Station de Recherches sur les Champignons (INRA) de Francia. Las cepas se encuentran depositadas en el Cepario de Hongos del Instituto de Ecología, Unidad Xalapa, Veracruz, México, con el registro IE-105, IE-123, IE-245 e IE-247, respectivamente. Las cepas se mantuvieron en extracto de malta agar (EMA) (BIOXON, EUA) a 25°C.

### Inóculo

Semillas de mijo (*Panicum mileaceum* L.), ajustadas ca 55% de humedad, se mezclaron (88.5%) con polvo de pulpa de café (8.8%), CaSO<sub>4</sub> (1.3%) y peat moss (1.3%). Los porcentajes son en base seca. El inóculo alcanzó un contenido de humedad final del 70%. Se colocaron 250 g (peso fresco) de esta mezcla en bolsas plásticas y se esterilizaron por 1.5 h a 121°C. La mezcla estéril se inoculó con 1 cm<sup>2</sup> de EMA con micelio de *L. edodes* de cada una de la cepas y se incubaron en oscuridad durante 15 días a 25 ± 1°C. Para obtener inóculo adicional, se prepararon nuevas bolsas con la mezcla estéril y se inocularon con el primero, anteriormente desarrollado.

### Sustrato

Para la producción de hongos se utilizó la madera de la poda de vid (*Vitis vinifera* L.) (MV), paja de cebada (*Hordeum vulgare* L.) (PC) y paja de trigo (*Triticum aestivum* L.) (PT). Los sustratos se trituraron con una picadora de forraje eléctrica, a un tamaño de partícula de 5 a 8 cm de longitud; éstos se hidrataron por separado, en un contenedor durante 12 h. Una vez transcurrido el tiempo, los residuos agrícolas se drenaron, alcanzando un 60, 73 y 75% de humedad, respectivamente. En bolsas de polipropileno de 19.5 x 48 cm con un filtro microporo, se colocaron 1.2 kg de sustrato húmedo y esterilizaron 1.5 h a 121°C. Una vez enfriadas se sembraron utilizando un 5% (w/w) de inóculo.

### Incubación

El crecimiento del micelio en el sustrato se llevó a cabo en un cuarto oscuro con una temperatura controlada de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . El desarrollo vegetativo se siguió con observaciones directas.

### Fructificación

Una vez que *L. edodes* creció sobre el sustrato, las muestras se transfirieron a un cuarto de producción con condiciones favorables de fructificación, en donde la bolsa de polipropileno fue removida. La humedad relativa se mantuvo entre 85 y 90%, para minimizar la pérdida de la misma en los sustratos y la temperatura del aire a  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se utilizó recirculación de aire para enfriamiento, aireación y mantenimiento bajo del nivel de  $\text{CO}_2$  (<1200 ppm). Se proporcionó un fotoperiodo de 12 h con iluminación de 350 lux con lámparas de

luz de día para favorecer la fructificación y obtener cuerpos fructíferos con una morfología y pigmentación normales.

### Cosecha

El corte de los hongos se realizó en la base del estípote en su etapa madura. La madurez se determinó al exponer sus láminas, con el margen del píleo totalmente extendido. Los datos de producción se evaluaron con base a la eficiencia biológica (EB) (relación de los hongos frescos / el peso seco del sustrato, expresado en porcentaje), tasa de producción (TP) (relación de la EB / el número total de días de producción, a partir de la inoculación) y rendimiento (R) (peso fresco de los hongos cosechados / peso fresco de sustrato, expresado en porcentaje). Además, se consideró el tamaño de los hongos producidos, según el diámetro del píleo: grupo 1 (G1) < 5 cm, grupo 2 (G2) de 5 a 9.9 cm y grupo 3 (G3) de 10 a 15 cm, el número de cosechas y periodo de producción. La bioconversión se determinó por la pérdida de peso seco del sustrato después de la cosecha de hongos.

### Análisis Proximal

Para conocer la composición química de los carpóforos de *Lentinula edodes* se realizó un análisis bromatológico: humedad (AOAC 4.1.03, método 934.01) minerales totales (AOAC 4.1.10, método 942.05), grasa cruda (AOAC 4.5.01, método 920.39) y proteína cruda (N x 4.38) por el método de combustión en el equipo Leco FP-528 (AOAC 4.2.08, método 934.01) (AOAC, 2000). Los carbohidratos disponibles se calcularon por diferencia. Se tomaron hongos únicamente de la primera cosecha para el análisis.

### Determinación de Calorías Totales (Valor Energético)

La energía se calculó con base en la materia seca según la ecuación de Lau (1982):  $\text{Kcal}/100 \text{ g} = 2.62 \times (\% \text{ de proteínas}) + 4.2 \times (\% \text{ de carbohidratos}) + 8.37 \times (\% \text{ de grasas})$ .

### Análisis de la Composición de Sustratos

Se tomaron muestras de cinco etapas dentro del ciclo del cultivo las cuales fueron: 1) Tiempo cero (el sustrato sin inocular con shiitake); 2) 8 días de inoculado; 3) Primordios (al aparecer los primeros primordios); 4) Primera Cosecha y 5) Residuo Final (el sustrato restante después del cultivo). El análisis bromatológico se realizó siguiendo la metodología anteriormente descrita para los cuerpos fructíferos (AOAC, 1990). La fibra detergente neutro (NDF), hemicelulosa, celulosa y lignina se determinaron por la técnica de Goering y Van-Soest (1970). El contenido de fenoles totales se cuantificó de acuerdo a Box (1983) y los azúcares totales por el método colorimétrico del Fenol- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Dubois *et al.*, 1956). El valor de la relación C:N se obtuvo según lo descrito por Sánchez y Royse (2002), donde  $\text{C:N} = \% \text{C} / \% \text{N}$ , siendo  $\text{C} (\%) = 0.58 \times \text{materia orgánica} (\%)$ .

### Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se prepararon 6 muestras x 4 cepas x 3 sustratos (N= 72 bolsas en total). A los valores de análisis proximal y composición de sustratos se les aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Se analizaron los carpóforos de cuatro cepas de *L. edodes* cultivados en tres sustratos; para cenizas y grasas

se emplearon tres repeticiones; para proteínas y humedad, dos repeticiones. En la composición de los sustratos para cenizas, grasa cruda, humedad, azúcares y fenoles totales se emplearon tres repeticiones; para proteína cruda y las fracciones de fibra (fibra detergente neutro, hemicelulosa, celulosa y lignina), dos repeticiones. A los valores de producción también se les aplicó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial; se emplearon seis repeticiones por tratamiento. Se realizó un análisis de varianza de dos vías a todos los valores obtenidos y en los casos en que existió diferencia significativa se aplicó una comparación de medias según la prueba de rango múltiple de Duncan ( $p < 0.05$ ), para lo cual se utilizó el paquete estadístico SAS versión 8.02 (1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Producción de *Lentinula edodes*

En el Cuadro 1 se observa el efecto de los sustratos en el inicio del desarrollo de los primordios de *Lentinula edodes*, así como el período de producción (PP). El promedio de días para la aparición de primordios fue de 39, 48 y 50 para la MV, PC y PT, respectivamente. Con excepción de la cepa IE-245, el PP tuvo un comportamiento similar en MV, presentándose en un tiempo corto. En las pajas de cereales fue superior, pero muy similar entre ellas, con un promedio de 40 d. En los tres sustratos, la IE-245 tardó menos en iniciar la fructificación con un promedio de 31 d, mientras que para el resto, el promedio fluctuó entre 43 (IE-123) y 57 d (IE-247). La MV fue el mejor sustrato para la IE-245, por el inicio temprano de primordios (28 d). En este residuo, IE-105, IE-123 y IE-247 mostraron el PP más corto, 6, 14 y 11 d, respectivamente. Aunque la producción en las pajas de cereales empezó considerablemente más tarde que en MV, ésta se mantuvo un tiempo mayor.

La producción total de hongos frescos varió de 369.9 (PT-IE-247) a 2691.4 g (MV-IE-245). El número de cosechas obtenidas para IE-245 e IE-247 en los sustratos probados, fue de 3 y 2 respectivamente; mientras que para las cepas IE-105 e IE-123, fluctuaron de 1 a 3 y de 2 a 3, respectivamente. La distribución de la producción presentó un patrón similar en cada uno de los sustratos, obteniéndose más del 70% del total en la primera cosecha (>76 en PC, >80 en PT y >71% en MV) (Cuadro 1).

Los hongos fueron de tres grupos de tamaño, con excepción de la cepa IE-247 en PT, que produjo sólo talla G3. La producción predominante correspondió a G2. En MV y PC, en promedio, el tamaño mejor representado fue el G2, mientras que en PT fue el G3. La mayor presencia de G3 en MV fue con IE-247 (66.27%), en PC por la IE-105 (40.19%) y en PT con IE-247 (100%).



La suma del porcentaje promedio de los grupos 2 y 3, obtenido de todas las cepas para cada sustrato, representó más del 86% de la producción en MV, mientras que en la PC y PT fue 74 y 83%, respectivamente (Cuadro 2).

La EB promedio en MV, osciló de 44.61% (IE-247) a 93.25% (IE-245), con un promedio de 59.32% (Cuadro 3); sin diferencia estadística en tres cepas de las cuatro evaluadas. En PC la mayor EB se logró, también, con la cepa IE-247 (88.60%), sin diferencia con el resto de las cepas. En PT la mejor EB fue con la IE-245 (78.48%), con una diferencia significativa a las otras tres, las cuales fueron estadísticamente iguales ( $p > 0.05$ ). La más alta EB promedio por sustrato se manifestó en PC (77.6%), con diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) a la obtenida en MV y PT.

La TP promedio en MV osciló de 0.77 (IE-247) a 1.07% (IE-105), con el mayor valor promedio (0.95%), sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) a PC (0.94%), pero sí con PT (0.66%). En MV, las cuatro cepas se comportaron semejante. En PC la más alta TP se observó con la cepa IE-247 (1.17%), siendo similar con el resto de las cepas ( $p > 0.05$ ). En PT, IE-245 presentó la mayor TP (1.05%), estadísticamente igual a la IE-105 e IE-123 (Cuadro 3). El R más alto obtenido en MV fue de 37.46% (IE-245), en PC de 22.23% (IE-247) y en PT de 21.86% (IE-245), sin una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las dos últimas cepas. El R promedio en MV superó a la PC y PT ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 3).

Mata *et al.* (1998), cultivaron la cepa IE-247 en PT con peat moss, pasteurizada a 65 °C durante 24 h y citaron una EB de 38 a 44%. En este trabajo se encontró una EB de 37.02%; sin embargo, esta cepa en MV tuvo una EB de 44.61% y en PC de 88.60%. Savoie *et al.* (2000) obtuvieron una EB de ca 60% con IE-247 y PT pasteurizada, superior a la obtenida en el presente estudio. Sin embargo este valor es menor a lo alcanzado en MV y PC. Recientemente Gaitán-Hernández y Mata (2004), registraron una EB de 46.9% para IE-245 y de 50% con IE-247, en PT pasteurizada por inmersión en agua caliente.

**Cuadro 1.** Distribución de la producción total de hongos frescos (g) durante tres cosechas de *Lentinula edodes* en madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT).

Cepa	Sustrato	PI <sup>a)</sup>	PP <sup>b)</sup>	Número de cosechas	Peso total (g) <sup>c)</sup>	Distribución de la producción por cosecha (%)		
						1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
IE-105	MV	38	6	1	1368.5	100.00		
	PC	57	28	2	961.2	89.97	10.03	
	PT	61	40	3	844.5	85.18	13.66	1.16
IE-123	MV	41	14	2	1501.9	99.18	0.82	
	PC	47	43	3	1150.7	76.45	15.85	7.70
	PT	41	30	2	676.9	97.72	2.28	
IE-245	MV	28	69	3	2691.4	71.30	19.00	9.70
	PC	36	46	3	1215.2	79.16	18.60	2.24
	PT	29	55	3	1829.6	80.17	13.35	6.48
IE-247	MV	48	11	2	1073.1	95.71	4.29	
	PC	53	34	2	1329.1	89.91	10.09	
	PT	70	38	2	369.9	86.94	13.06	

<sup>a)</sup> Periodo de incubación (días transcurridos para la formación de primordios). <sup>b)</sup> Periodo de producción, a partir de la formación de primordios hasta la última cosecha. <sup>c)</sup> Peso fresco de los hongos obtenidos de seis muestras de 1.2 kg (peso húmedo).

**Cuadro 2.** Patrón de producción de hongos de *Lentinula edodes* por grupos de tamaño obtenidos en madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT).

Cepa	Sustrato	Distribución de la producción por grupos de tamaño (%) <sup>a)</sup>		
		G1	G2	G3
IE-105	MV	12.72	55.07	32.21
	PC	4.12	55.69	40.19
	PT	6.56	29.90	63.54
IE-125	MV	27.50	60.53	11.97
	PC	15.01	62.59	22.40
	PT	5.29	68.87	25.84
IE-245	MV	8.96	54.00	37.04
	PC	37.45	59.37	3.19
	PT	55.11	42.81	2.08
IE-247	MV	3.96	29.77	66.27
	PC	47.00	49.56	3.44
	PT			100.00

<sup>a)</sup> Grupos de tamaño de acuerdo al diámetro del pilleo: grupo 1 (G1) <5 cm; grupo 2 (G2) de 5 a 9.9 cm; grupo 3 (G3) de 10 a 15 cm.

Las EB más altas en MV (93.25%), PC (88.60%) y PT (78.48 %) se encontraron dentro de los valores citados en trabajos previos (18 a 130%), en donde han utilizado aserrín suplementado y sustratos alternativos como residuos de caña de azúcar y de café (Morales y Martínez-Carrera, 1991; Morales *et al.*, 1991; Mata y Gaitán-Hernández, 1994; Salmones *et al.*, 1999; Gaitán-Hernández y Mata, 2004; Royse, 1996). Morais *et al.* (2000), usaron el aserrín de madera de castaño (*Castanea* sp.) suplementado y estéril, logrando una EB de 18.9 a 59.5%. La suplementación del aserrín de encino con mijo, fibra de trigo, harina de soya y/o extracto de levadura aumentó la EB de shiitake (Royse, 1985). Philippoussis *et al.* (2002), observaron en la paja de trigo un crecimiento micelial y fructificación similar al aserrín de encino. El crecimiento tendió a relacionarse con el contenido de nitrógeno y la salinidad del sustrato.

Las tasas de producción promedio en MV (0.95 %), PC (0.94%), PT (0.66%), se consideran aceptables, comparándolas con las citadas por Royse (1985), para shiitake en sustratos de aserrín enriquecidos y estériles (0.29 a 0.79%) en cultivos convencionales. Delpech y Olivier (1991), obtuvieron rendimientos con la cepa IE-247 de 11.9 a 15.9%, utilizando paja de trigo suplementada y pasteurizada con vapor a 60°C por 24 h. En nuestro estudio el rendimiento con esta cepa fue 17.96 (MV), 22.23 (PC) y 10.35% (PT). Los R más altos se alcanzaron con IE-245 en MV (37.46%) y PT (21.86%) e IE-247 en PC (22.23%), coinciden o son superiores a los encontrados por Kilpatrick *et al.* (2000), en paja de trigo estéril (5 a 31%) suplementada con salvado de trigo y mijo.

La biodegradación fue en promedio de 33.08, 38.51 y 41.74% para MV, PT y PC, respectivamente. Aunque los cereales tuvieron los valores más altos, de acuerdo a la EB, TP y R, la asimilación fue más eficiente en MV. Las dos cepas más productivas presentaron una alta biodegradación, la IE-245 en MV (34.19%) y PT (63.84%) y la IE-247 en PC (52.56%). En general, con base en la

EB, TP, R y número de cosechas obtenidas, los mejores sustratos fueron MV y PC, y en cuanto a cepas la IE-245 e IE-247 (Cuadro 1,3).

Los cuerpos fructíferos producidos por las cepas en los tres sustratos evaluados, presentaron un desarrollo y morfología normales (Figura 2). El contenido de proteína fue relevante, en particular en la cepa IE-105, en los tres sustratos evaluados, superó al contenido de proteína registrado para esta misma cepa por Salmones *et al.* (1999), empleando sustratos esterilizados (Cuadro 4). Los valores coinciden también con los citados para shiitake (10 a 17%) por Crisan y Sands (1978).

Los contenidos de minerales, proteína y grasa cruda fueron similares con los registrados por Morais *et al.* (2000), en hongos cultivados sobre viruta de madera estéril. La grasa osciló de 1.82 a 2.76% en base seca. Los hongos se consideran como un alimento sano, debido a que una gran proporción de sus ácidos grasos son insaturados, destacando el ácido linoleico por su alto contenido. Los carbohidratos variaron de 75.13 a 82.22%, superior a *Agaricus* sp. (59.9%) y similar a *Pleurotus* spp. (74%) (Mendivil *et al.*, 2001). Los cuerpos fructíferos de shiitake son una fuente importante de metabolitos secundarios útiles para el hombre, con actividad inmunológica, antimicrobiana y antifúngica como lentinan y lentionina (Hatvani, 2001). Así mismo, produce inhibidores de proteinasas farmacéuticamente útiles (Odumi *et al.*, 1999). Este proceso de bioconversión ofrece una alternativa alimenticia, ya que la fructificación del hongo contiene altos porcentajes de carbohidratos y proteínas totales, siendo su valor nutricional equivalente al frijol (Brisko *et al.*, 2002).

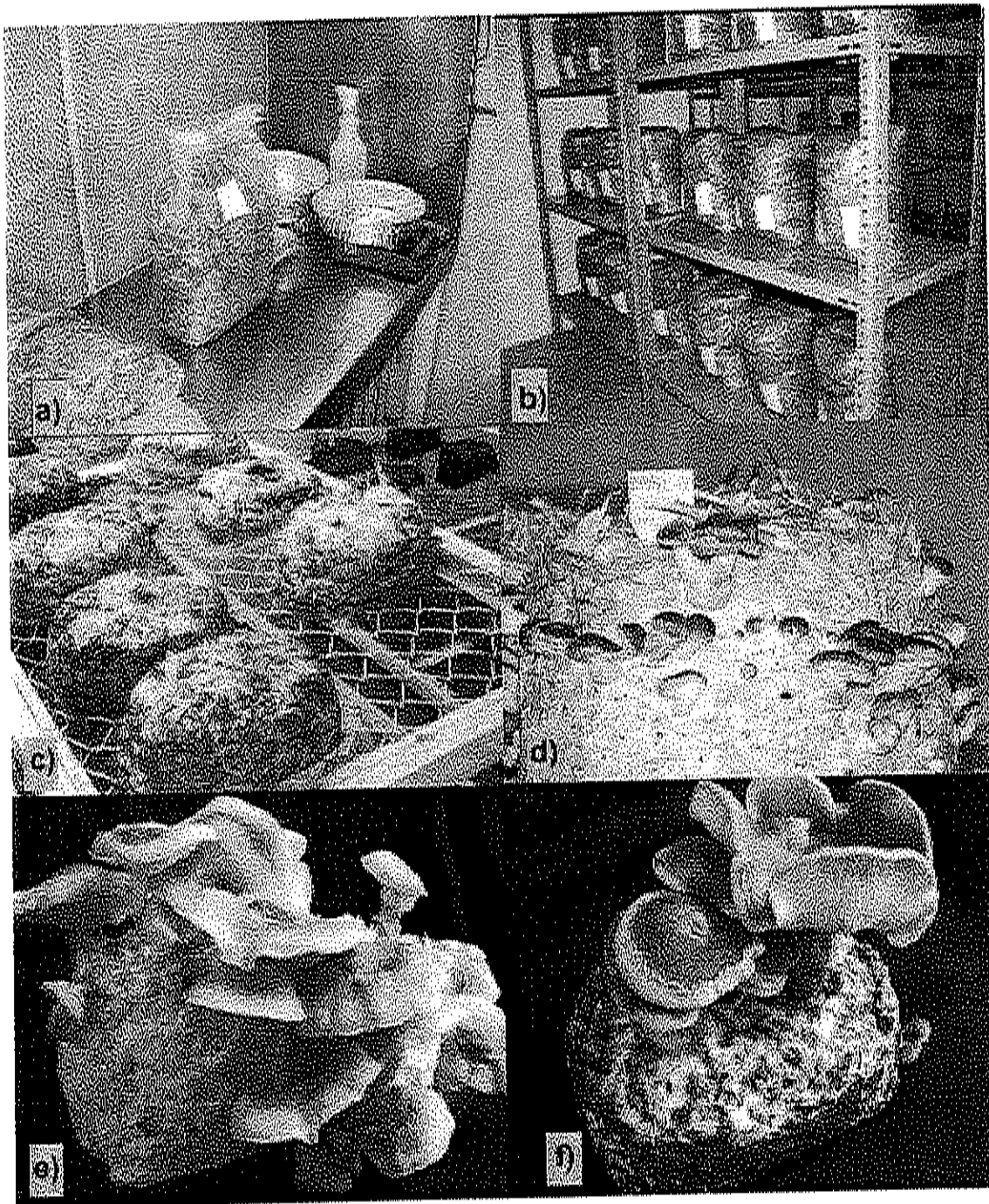


Figura 2. Desarrollo del cultivo de *Lentinula edodes*: a) inoculación, b) fase de incubación; c) y d) aparición de primordios; e) y f) producción obtenida.

**Cuadro 3.** Productividad obtenida de *Lentinula edodes* en los sustratos de madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT).

Sustrato	Cepa	EB <sup>a)</sup>	TP <sup>b)</sup>	R <sup>c)</sup>
MV	IE-105	47.41 ± 7.02 <sup>CD-d)</sup>	1.07 ± 0.12 <sup>AB</sup>	19.09 ± 2.81 <sup>BE</sup>
	IE-123	52.04 ± 12.83 <sup>B-D</sup>	1.03 ± 0.37 <sup>AB</sup>	20.94 ± 5.14 <sup>BC</sup>
	IE-245	93.25 ± 23.80 <sup>A</sup>	0.95 ± 0.23 <sup>A-C</sup>	37.46 ± 9.54 <sup>A</sup>
	IE-247	44.61 ± 11.25 <sup>D</sup>	0.77 ± 0.09 <sup>A-C</sup>	17.96 ± 4.51 <sup>BE</sup>
<b>Promedio</b>	<b>59.32 ± 13.72<sup>B</sup></b>	<b>0.95 ± 0.20<sup>A</sup></b>	<b>23.86 ± 5.5<sup>A</sup></b>	
PC	IE-105	64.08 ± 4.56 <sup>A-D</sup>	0.76 ± 0.36 <sup>A-C</sup>	16.10 ± 10.64 <sup>BE</sup>
	IE-123	76.71 ± 21.82 <sup>A-C</sup>	0.87 ± 0.12 <sup>A-C</sup>	19.26 ± 5.45 <sup>BE</sup>
	IE-245	81.01 ± 20.78 <sup>AB</sup>	0.97 ± 0.30 <sup>A-C</sup>	20.33 ± 5.19 <sup>B-D</sup>
	IE-247	88.60 ± 49.29 <sup>A</sup>	1.17 ± 1.04 <sup>A</sup>	22.23 ± 12.32 <sup>B</sup>
<b>Promedio</b>	<b>77.6 ± 24.11<sup>A</sup></b>	<b>0.94 ± 0.45<sup>A</sup></b>	<b>19.48 ± 8.4<sup>B</sup></b>	
PT	IE-105	42.26 ± 10.29 <sup>D</sup>	0.48 ± 0.22 <sup>BC</sup>	11.81 ± 2.85 <sup>C-E</sup>
	IE-123	40.65 ± 12.74 <sup>D</sup>	0.73 ± 0.44 <sup>A-C</sup>	11.30 ± 3.53 <sup>DE</sup>
	IE-245	78.48 ± 10.09 <sup>A-C</sup>	1.05 ± 0.51 <sup>AB</sup>	21.86 ± 2.80 <sup>B</sup>
	IE-247	37.02 ± 10.99 <sup>D</sup>	0.39 ± 0.17 <sup>C</sup>	10.35 ± 3.05 <sup>E</sup>
<b>Promedio</b>	<b>49.60 ± 10.80<sup>B</sup></b>	<b>0.66 ± 0.33<sup>B</sup></b>	<b>13.83 ± 3.05<sup>C</sup></b>	

a) Eficiencia biológica (%); b) Tasa de producción (%); c) Rendimiento (%) (peso fresco de los hongos cosechados / 1200 g de sustrato fresco x 100). d) Los valores son medias ± DE de seis réplicas. Medias en una columna con diferentes superíndices en cada una de las cepas de los tres sustratos y sólo entre los promedios son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ , Duncan).

**Cuadro 4.** Composición proximal de los cuerpos fructíferos de *Lentinula edodes* obtenidos de madera de vid (MV), paja de cebada (PC) y paja de trigo (PT).

Cepa	Sustrato	H <sup>a)</sup>	C <sup>b)</sup>	GC <sup>c)</sup>	PC <sup>d)</sup>	CH <sup>e)</sup>	VE <sup>f)</sup>
IE-105	MV	91.69±0.3 <sup>AB</sup>	5.40±0.1 <sup>C</sup>	2.15±0.1 <sup>C</sup>	17.19±0.3 <sup>A</sup>	75.26±0.1 <sup>F</sup>	379.09±2.6 <sup>D</sup>
	PC	93.08±0.0 <sup>A</sup>	5.89±0.0 <sup>B</sup>	2.17±0.1 <sup>BC</sup>	16.83±0.2 <sup>A</sup>	75.13±0.1 <sup>F</sup>	377.78±2.3 <sup>D</sup>
	PT	91.85±2.2 <sup>AB</sup>	6.08±0.1 <sup>A</sup>	2.02±0.0 <sup>DE</sup>	16.12±0.2 <sup>B</sup>	75.81±0.1 <sup>F</sup>	377.48±2.0 <sup>D</sup>
IE-123	MV	90.41±0.0 <sup>AB</sup>	5.00±0.1 <sup>E</sup>	1.93±0.0 <sup>EF</sup>	14.77±0.0 <sup>DE</sup>	78.33±0.0 <sup>CD</sup>	383.84±0.4 <sup>B-D</sup>
	PC	89.92±2.3 <sup>B</sup>	5.32±0.1 <sup>C</sup>	2.27±0.1 <sup>B</sup>	16.85±0.2 <sup>A</sup>	75.62±0.4 <sup>F</sup>	380.76±4.2 <sup>CD</sup>
	PT	91.14±0.0 <sup>AB</sup>	5.22±0.0 <sup>D</sup>	1.91±0.1 <sup>EF</sup>	13.87±0.2 <sup>F</sup>	78.94±0.2 <sup>BC</sup>	383.91±2.9 <sup>B-D</sup>
IE-245	MV	86.46±0.0 <sup>C</sup>	3.57±0.0 <sup>G</sup>	1.82±0.0 <sup>F</sup>	12.37±0.7 <sup>G</sup>	82.22±0.7 <sup>A</sup>	392.95±6.9 <sup>A</sup>
	PC	91.43±0.0 <sup>AB</sup>	5.19±0.1 <sup>D</sup>	1.95±0.1 <sup>E</sup>	15.15±0.3 <sup>CD</sup>	77.68±0.3 <sup>D</sup>	382.30±3.8 <sup>B-D</sup>
	PT	91.47±2.1 <sup>AB</sup>	6.07±0.0 <sup>A</sup>	2.76±0.1 <sup>A</sup>	14.51±0.2 <sup>E-F</sup>	76.68±0.3 <sup>E</sup>	383.14±3.5 <sup>B-D</sup>
IE-247	MV	86.68±0.0 <sup>C</sup>	3.36±0.0 <sup>H</sup>	1.91±0.0 <sup>EF</sup>	15.14±0.4 <sup>CD</sup>	79.55±0.4 <sup>B</sup>	389.90±4.6 <sup>AB</sup>
	PC	92.20±0.0 <sup>AB</sup>	5.37±0.1 <sup>C</sup>	2.22±0.0 <sup>CB</sup>	15.65±0.2 <sup>BC</sup>	76.76±0.2 <sup>E</sup>	382.00±1.9 <sup>B-D</sup>
	PT	92.02±0.4 <sup>AB</sup>	4.25±0.0 <sup>F</sup>	2.12±0.1 <sup>CD</sup>	14.38±0.2 <sup>EF</sup>	79.20±0.1 <sup>B</sup>	388.05±2.2 <sup>A-C</sup>

a) Humedad; b) Cenizas; c) Grasa cruda; d) Proteína cruda [Nx4.38(kcal)]; e) Carbohidratos; f) Valor energético [Kcal/100 g = 2.62 x (% de proteínas) + 4.2 x (% de carbohidratos) + 8.37 x (% de grasas)]; g) Los valores son medias ± DE de tres réplicas (ceniza, grasa) y dos réplicas para el resto. Medias en una columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ , Duncan). Todos los valores están representados como porcentaje de materia seca, excepto la humedad (porcentaje de peso fresco).



## Composición Química de los Sustratos

### **Humedad**

En el Cuadro 5 se presenta el contenido de humedad en los residuos a través de las diferentes etapas analizadas. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los bloques utilizados a lo largo de las etapas, observándose que el contenido de humedad a los 8 días fue mayor que en el resto de las etapas. Esto pudiera deberse a que el sustrato está aún confinado en su bolsa de cultivo, mientras que la disminución de humedad en las etapas subsecuentes, ocurriría porque las bolsas son retiradas de los bloques de cultivo, aunado a la absorción de agua que realiza el hongo. El contenido final de humedad, tanto en la PT (5.30-7.84%) como de PC (5.25-6.69%) fue mayor al del testigo, mientras que en MV (5.07-7.38%) en general fue menor al valor inicial.

El contenido de humedad del sustrato, del ambiente y los factores que afectan el contenido de agua del hongo, como la concentración de sales y la presión osmótica, son críticos durante todas las fases de crecimiento del hongo. Shiitake requiere abundante agua, esto es debido a su alto contenido de humedad, a la falta de una cutícula cerosa protectora y al hecho de que deben transportar los alimentos a través de la película líquida fina que los conecta con su fuente del alimento (Leatham y Leonard, 1989; Badham, 1989). Es por ello, que el contenido de humedad en el sustrato debe ser la adecuada para que el hongo pueda acceder a los nutrientes, pero que no sea muy elevado como para convertirse en un factor que limite la aireación. De ahí la importancia de utilizar un sustrato óptimo, que permita retener la humedad en cantidades apropiadas.

El tamaño de partícula del sustrato influirá directamente en su capacidad para retener humedad, pudiéndose mejorar con la suplementación del mismo

**Cuadro 5.** Contenido de humedad (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	7.02 ± 0.20 <sup>E-G</sup>	5.19 ± 0.90 <sup>G</sup>	4.62 ± 0.16 <sup>G</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	8.71 ± 0.07 <sup>A</sup>	7.89 ± 0.22 <sup>A</sup>	7.58 ± 0.13 <sup>B</sup>
	IE-123	8.69 ± 0.25 <sup>A</sup>	7.47 ± 0.11 <sup>C</sup>	7.68 ± 0.09 <sup>AB</sup>
	IE-245	8.53 ± 0.12 <sup>AB</sup>	7.23 ± 0.18 <sup>C</sup>	8.04 ± 0.19 <sup>A</sup>
	IE-247	8.46 ± 0.18 <sup>AB</sup>	7.94 ± 0.33 <sup>A</sup>	7.38 ± 0.19 <sup>B</sup>
Primordios	IE-105	4.82 ± 0.28 <sup>I</sup>	5.81 ± 0.17 <sup>F</sup>	6.66 ± 0.07 <sup>C</sup>
	IE-123	8.76 ± 0.16 <sup>A</sup>	6.89 ± 0.15 <sup>D</sup>	5.64 ± 0.34 <sup>E</sup>
	IE-245	7.78 ± 0.22 <sup>D</sup>	5.94 ± 0.13 <sup>EF</sup>	4.79 ± 0.51 <sup>G</sup>
	IE-247	8.19 ± 0.19 <sup>CB</sup>	6.09 ± 0.23 <sup>EF</sup>	5.46 ± 0.23 <sup>E</sup>
Primera Cosecha	IE-105	6.92 ± 0.14 <sup>FG</sup>	7.93 ± 0.16 <sup>A</sup>	5.38 ± 0.46 <sup>EF</sup>
	IE-123	7.29 ± 0.07 <sup>EF</sup>	6.26 ± 0.23 <sup>E</sup>	6.38 ± 2.93 <sup>FG</sup>
	IE-245	8.01 ± 0.08 <sup>CD</sup>	4.84 ± 0.06 <sup>H</sup>	6.45 ± 0.02 <sup>C</sup>
	IE-247	5.07 ± 0.22 <sup>I</sup>	5.82 ± 0.14	5.30 ± 0.13 <sup>EF</sup>
Residuo Final	IE-105	6.73 ± 0.56 <sup>G</sup>	5.30 ± 0.15 <sup>G</sup>	6.69 ± 0.64 <sup>C</sup>
	IE-123	5.07 ± 0.69 <sup>I</sup>	7.53 ± 0.22 <sup>BC</sup>	6.41 ± 0.40 <sup>C</sup>
	IE-245	7.38 ± 0.21 <sup>E</sup>	5.80 ± 0.58 <sup>G</sup>	6.01 ± 0.49 <sup>D</sup>
	IE-247	6.10 ± 0.46 <sup>H</sup>	7.84 ± 0.09 <sup>AB</sup>	5.25 ± 0.35 <sup>EF</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

según se observe. En este caso, tanto por la producción obtenida como por la uniformidad en los valores de humedad, se puede considerar como adecuado el tamaño de partícula utilizado para los sustratos (5-8 cm). Fragoso *et al.* (2004) mencionan un contenido de humedad en encino (sustrato comercial) de ca 8%.

### Minerales

En el Cuadro 6 se presenta el contenido de minerales. Se encontraron diferencias significativas entre etapas ( $p < 0.05$ ), aumentando la cantidad de minerales en el sustrato conforme avanzaban las fases del cultivo. El contenido de cenizas aumentó más de un 300% en MV y PC, observándose una correlación positiva entre la mineralización y la EB en PC ( $r^2 = 0.83$ ) y PT ( $r^2 = 0.42$ ) e inversamente proporcional en MV ( $r^2 = -0.66$ ). Chantaraaj (2000) y Sánchez *et al.* (2002), mencionan que el incremento en el contenido de minerales es uno de los cambios que experimentan los sustratos degradados por hongos, debido a la constante utilización de la materia orgánica durante su crecimiento.

Las maderas, granos y otros materiales orgánicos usados para el cultivo de shiitake, son a menudo relativamente pobres en minerales (Leatham y Leonard, 1989). Sin embargo más que cantidad, es importante el tipo de mineral que se encuentre presente en el sustrato, lo cual puede observarse en este estudio, donde no existe una relación contundente entre contenido de minerales y producción. Leatham y Stahmann (1984, 1989), demostraron que el crecimiento y desarrollo de *L. edodes* está fuertemente afectado por la concentración de cationes. Tokimoto y Komatsu (1978), Leatham y Leonard (1989) y Leatham y Stahmann (1989), mencionan que minerales y elementos traza como manganeso, hierro, zinc, magnesio, azufre, potasio, fósforo, cobre, molibdeno, níquel, estaño y cobalto, son esenciales para el funcionamiento del hongo.

**Cuadro 6.** Porcentaje de minerales totales en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	3.18 ± 0.02 <sup>G</sup>	7.79 ± 0.07 <sup>J</sup>	6.45 ± 0.10 <sup>H</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	6.77 ± 0.28 <sup>F</sup>	7.72 ± 0.12 <sup>J</sup>	5.53 ± 0.21 <sup>I</sup>
	IE-123	7.98 ± 4.90 <sup>E</sup>	8.41 ± 0.20 <sup>I</sup>	5.49 ± 0.15 <sup>I</sup>
	IE-245	8.54 ± 0.15 <sup>E</sup>	8.33 ± 0.19 <sup>I</sup>	5.78 ± 0.19 <sup>I</sup>
	IE-247	8.43 ± 1.07 <sup>E</sup>	8.17 ± 0.29 <sup>I</sup>	6.52 ± 0.25 <sup>H</sup>
Primordios	IE-105	11.27 ± 0.21 <sup>D</sup>	11.05 ± 0.26 <sup>E</sup>	7.15 ± 0.22 <sup>FG</sup>
	IE-123	8.40 ± 0.24 <sup>E</sup>	9.74 ± 0.21 <sup>GH</sup>	8.13 ± 0.30 <sup>E</sup>
	IE-245	10.47 ± 0.53 <sup>D</sup>	9.78 ± 0.24 <sup>G</sup>	6.86 ± 0.10 <sup>GH</sup>
	IE-247	10.21 ± 0.25 <sup>D</sup>	10.87 ± 0.14 <sup>EF</sup>	8.21 ± 0.19 <sup>E</sup>
Primera Cosecha	IE-105	15.83 ± 1.34 <sup>A</sup>	10.65 ± 0.22 <sup>F</sup>	7.96 ± 0.20 <sup>E</sup>
	IE-123	16.69 ± 0.16 <sup>A</sup>	12.02 ± 0.36 <sup>D</sup>	8.33 ± 0.33 <sup>E</sup>
	IE-245	12.49 ± 0.07 <sup>C</sup>	9.42 ± 0.16 <sup>H</sup>	7.46 ± 0.09 <sup>F</sup>
	IE-247	14.52 ± 0.30 <sup>B</sup>	10.93 ± 0.09 <sup>EF</sup>	8.10 ± 0.15 <sup>E</sup>
Residuo Final	IE-105	13.83 ± 0.50 <sup>B</sup>	12.52 ± 0.18 <sup>C</sup>	10.60 ± 0.12 <sup>D</sup>
	IE-123	8.97 ± 0.03 <sup>E</sup>	13.09 ± 0.25 <sup>B</sup>	17.46 ± 0.20 <sup>B</sup>
	IE-245	6.23 ± 0.06 <sup>F</sup>	13.45 ± 0.08 <sup>A</sup>	16.05 ± 0.32 <sup>C</sup>
	IE-247	10.63 ± 0.01 <sup>D</sup>	13.09 ± 0.10 <sup>B</sup>	27.89 ± 0.28 <sup>A</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

### **Extracto etéreo**

Diversos estudios demuestran que varios tipos de lípidos (*v.g.* oleato) estimulan el crecimiento de *L. edodes* tanto en la formación de esporóforos como durante el crecimiento micelial (Song *et al.*, 1989; Song *et al.*, 1990; Song *et al.*, 1991). En estudios realizados para conocer los requerimientos nutricionales de *L. edodes*, Song y col. (1989), mencionan que la promoción o inhibición del crecimiento micelial depende de la longitud de la cadena de carbonos, el grado de insaturación y la concentración de ácidos grasos. Przybylowicz y Donoghue (1988), observaron que esta fracción funciona como fuente concentrada de energía.

En el presente estudio se encontraron diferencias significativas en el contenido de grasas para las distintas etapas ( $p < 0.05$ ), observándose una tendencia en los tres sustratos utilizados a disminuir el contenido durante la formación de primordios para posteriormente aumentar (Cuadro 7). Esto pudiera deberse a los requerimientos que tiene el hongo de energía según la etapa de crecimiento en la que se encuentre. Chantaraj (2000), menciona que una vez degradado el sustrato por *L. edodes*, los porcentajes de grasas tienden a disminuir.

### **Proteína cruda**

En el Cuadro 8 se observa el porcentaje de proteína en base seca presente en las maderas utilizadas, antes y después de la inoculación con *L. edodes*. Se presentaron diferencias estadísticas entre las etapas analizadas ( $p < 0.05$ ). El contenido de proteínas total fue mayor en PT, donde se obtuvo en promedio la menor EB. Después de la FS, en todos los tratamientos con PT disminuyeron

**Cuadro 7.** Contenido de grasas (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	0.63 ± 0.02 <sup>FG</sup>	1.24 ± 0.06 <sup>A</sup>	0.93 ± 0.07 <sup>DE</sup>
8 días de Incubación	IE-105	0.99 ± 0.07 <sup>A</sup>	0.97 ± 0.11 <sup>BC</sup>	1.01 ± 0.03 <sup>CD</sup>
	IE-123	0.71 ± 0.05 <sup>D-G</sup>	0.84 ± 0.01 <sup>B-D</sup>	0.69 ± 0.07 <sup>GF</sup>
	IE-245	0.72 ± 0.07 <sup>C-G</sup>	0.69 ± 0.05 <sup>D-G</sup>	1.10 ± 0.07 <sup>BC</sup>
	IE-247	0.88 ± 0.06 <sup>A-C</sup>	0.71 ± 0.06 <sup>D-E</sup>	0.97 ± 0.02 <sup>CD</sup>
Primordios	IE-105	0.69 ± 0.07 <sup>D-G</sup>	0.59 ± 0.00 <sup>GH</sup>	0.60 ± 0.04 <sup>G</sup>
	IE-123	0.79 ± 0.03 <sup>B-F</sup>	0.50 ± 0.60 <sup>F-H</sup>	0.56 ± 0.02 <sup>G</sup>
	IE-245	0.61 ± 0.05 <sup>G</sup>	0.41 ± 0.12 <sup>H</sup>	0.70 ± 0.19 <sup>FG</sup>
	IE-247	0.67 ± 0.08 <sup>E-G</sup>	0.48 ± 0.01 <sup>F-H</sup>	0.95 ± 0.00 <sup>CD</sup>
Primera Cosecha	IE-105	0.84 ± 0.09 <sup>A-D</sup>	0.57 ± 0.08 <sup>E-H</sup>	0.79 ± 0.12 <sup>EF</sup>
	IE-123	0.77 ± 0.09 <sup>B-G</sup>	0.81 ± 0.03 <sup>B-E</sup>	0.65 ± 0.00 <sup>GF</sup>
	IE-245	0.86 ± 0.09 <sup>A-D</sup>	0.47 ± 0.07 <sup>F-H</sup>	0.63 ± 0.02 <sup>G</sup>
	IE-247	0.74 ± 0.00 <sup>C-G</sup>	0.65 ± 0.10 <sup>D-G</sup>	0.63 ± 0.06 <sup>G</sup>
Residuo Final	IE-105	0.91 ± 0.05 <sup>AB</sup>	0.78 ± 0.10 <sup>C-E</sup>	1.47 ± 0.03 <sup>A</sup>
	IE-123	0.81 ± 0.05 <sup>B-E</sup>	0.77 ± 0.24 <sup>C-E</sup>	1.22 ± 0.07 <sup>B</sup>
	IE-245	0.77 ± 0.09 <sup>B-G</sup>	0.81 ± 0.06 <sup>B-E</sup>	1.42 ± 0.02 <sup>A</sup>
	IE-247	0.61 ± 0.21 <sup>G</sup>	1.03 ± 0.08 <sup>B</sup>	1.24 ± 0.05 <sup>B</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 8.** Contenido de proteínas (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	4.98 ± 0.02 <sup>DE</sup>	7.50 ± 0.09 <sup>A</sup>	3.89 ± 0.22 <sup>G</sup>
8 días de Incubación	IE-105	4.58 ± 0.17 <sup>EF</sup>	3.88 ± 0.20 <sup>H</sup>	4.37 ± 0.05 <sup>E-G</sup>
	IE-123	4.52 ± 0.06 <sup>F</sup>	4.11 ± 0.25 <sup>H</sup>	3.85 ± 0.10 <sup>G</sup>
	IE-245	4.65 ± 0.11 <sup>EF</sup>	4.09 ± 0.17 <sup>H</sup>	4.47 ± 0.29 <sup>D-E</sup>
	IE-247	4.50 ± 0.05 <sup>F</sup>	4.34 ± 0.08 <sup>F-H</sup>	4.14 ± 0.01 <sup>FG</sup>
Primordios	IE-105	4.67 ± 0.22 <sup>EF</sup>	4.92 ± 0.03 <sup>C-E</sup>	4.79 ± 0.13 <sup>C-E</sup>
	IE-123	5.74 ± 0.07 <sup>B</sup>	4.62 ± 0.02 <sup>E-G</sup>	4.26 ± 0.10 <sup>E-G</sup>
	IE-245	4.80 ± 0.26	5.35 ± 0.69 <sup>C</sup>	5.23 ± 0.29 <sup>BC</sup>
	IE-247	5.63 ± 0.23 <sup>B</sup>	5.94 ± 0.09 <sup>B</sup>	5.57 ± 0.29 <sup>AB</sup>
Primera Cosecha	IE-105	5.20 ± 0.19 <sup>CD</sup>	5.31 ± 0.18 <sup>C</sup>	5.91 ± 0.48 <sup>A</sup>
	IE-123	4.81 ± 0.11 <sup>D-F</sup>	4.79 ± 0.11 <sup>D-F</sup>	5.57 ± 0.16 <sup>AB</sup>
	IE-245	5.56 ± 0.13 <sup>BC</sup>	4.59 ± 0.10 <sup>E-G</sup>	5.66 ± 0.12 <sup>AB</sup>
	IE-247	6.15 ± 0.09 <sup>A</sup>	5.21 ± 0.13 <sup>CD</sup>	5.16 ± 0.07 <sup>BC</sup>
Residuo Final	IE-105	4.85 ± 0.03 <sup>D-F</sup>	4.16 ± 0.03 <sup>GH</sup>	5.26 ± 0.52 <sup>BC</sup>
	IE-123	5.48 ± 0.39 <sup>BC</sup>	3.04 ± 0.04 <sup>I</sup>	5.66 ± 0.00 <sup>AB</sup>
	IE-245	4.68 ± 0.10 <sup>EF</sup>	2.46 ± 0.05 <sup>J</sup>	4.96 ± 0.19 <sup>CD</sup>
	IE-247	4.85 ± 0.20 <sup>D-F</sup>	5.30 ± 0.05 <sup>C</sup>	4.99 ± 0.05 <sup>BC</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

las proteínas mientras que en PC aumentaron ( $p < 0.05$ ) y en MV no se observó una tendencia clara a lo largo de las fases de cultivo. Es de observarse que los niveles de proteína tienden a ser semejantes en el residuo final (MV, 4.68-5.48; PT, 2.46-5.30; PC, 4.96-5.66), aun cuando los valores iniciales para cada uno de los sustratos es diferente.

En estudios previos realizados con diversos sustratos inoculados con *L. edodes* se observó una tendencia a aumentar el contenido de proteínas (Madan *et al.*, 1998; Leifa *et al.*, 2000); Rajarathnam *et al.* (1987), utilizando *Pleurotus flabellatus* en paja de arroz, registraron un constante incremento en el contenido de aminoácidos desde la inoculación hasta el término del crecimiento micelial. Sin embargo durante la fructificación disminuyeron, aunque la cantidad final se duplicó con respecto a la inicial. Igualmente, Chantaraj (2000), afirma que los sustratos degradados por hongos tendrán 2 a 3 veces más aminoácidos libres.

## Fibra

La fibra es el componente más importante de la pared celular de las plantas. Está integrada por celulosa, hemicelulosa, lignina y una serie de compuestos menores ligados a ella, también indigestibles (silice y cutina). A este conjunto químico también se le denomina fibra detergente neutro (FDN) (López *et al.* 2002; Gallardo, 2003). En el Cuadro 9 se observa el porcentaje de FDN en base seca presente en los sustratos utilizados, antes y después de la inoculación con *L. edodes*. La FDN cambió entre los sustratos y etapas ( $p < 0.05$ ), encontrándose una correlación positiva con la EB. Con excepción de IE-105-PT, después de la FS disminuyó la FDN en todos los tratamientos ( $p < 0.05$ ). En MV y PT el contenido de FDN se redujo hasta en ca 16%, mientras que en PC fue alrededor del 32%.



La concentración inicial de hemicelulosa, celulosa y lignina (Cuadros 10, 11 y 12, respectivamente) varió entre los sustratos ( $p < 0.05$ ), presentándose los mayores niveles de celulosa y lignina en MV y PC. Aunque *L. edodes* provoca una pudrición blanca degradando principalmente la lignina, la depolimerización de lignocelulosa, celulosa y hemicelulosa mediante enzimas extracelulares, depende de la composición química del sustrato, afectando la eficiencia biológica del cultivo (Morais *et al.*, 2000). Así mismo, los niveles altos de lignina limitan la disponibilidad de celulosa (Kilpatrick *et al.*, 2000).

La cantidad inicial de hemicelulosa fue similar entre PC y PT, siendo significativamente inferior en MV ( $p < 0.05$ ). Después de la FS, la hemicelulosa disminuyó en todos los sustratos, encontrándose en MV una correlación positiva entre el decremento y la EB ( $r^2 = 0.87$ ), mientras que en PC ( $r^2 = -0.23$ ) y PT ( $r^2 = 0.01$ ) no se observó asociación. El contenido de celulosa fue diferente entre las diferentes etapas ( $p < 0.05$ ); después de la FS aumentó en PT mientras que en PC y MV tendió a disminuir (Cuadro 11). Moraes *et al.* (2000), tuvieron una tendencia hacia la disminución en el contenido de celulosa, al cultivar *L. edodes* sobre paja de trigo.

Leatham (1985), observó que la actividad de hemicelulasas sobre polímeros glucorónico-xilanos es constante en el periodo inicial e intermedio del crecimiento de shiitake, mientras que la actividad de proteinasa se detecta en la fase intermedia y la actividad de poligalacturonasas es alta durante todo el desarrollo. Así mismo encontró que en el momento de la fructificación se incrementó ligeramente la actividad de endoglucanasas y  $\beta$ -glucosidasas, pero en general no ocurrió una disminución significativa de celulosa. Algunos autores como Sánchez y Royse (2002) y López *et al.* (2002), indican que la celulosa es la principal fuente de carbono para los hongos.

**Cuadro 9.** Contenido de Fibra Detergente Neutro (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vld	Trigo	Cebada
Control	-	71.98 ± 0.71 <sup>DE</sup>	69.11 ± 0.89 <sup>EF</sup>	87.12 ± 0.78 <sup>B</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	73.97 ± 1.02 <sup>CD</sup>	78.44 ± 1.05 <sup>B</sup>	93.44 ± 0.27 <sup>A</sup>
	IE-123	77.54 ± 0.06 <sup>B</sup>	75.9 ± 0.90 <sup>C</sup>	85.87 ± 1.45 <sup>B</sup>
	IE-245	76.13 ± 1.14 <sup>BC</sup>	83.54 ± 1.40 <sup>A</sup>	88.25 ± 1.86 <sup>B</sup>
	IE-247	80.05 ± 1.90 <sup>A</sup>	82.62 ± 0.53 <sup>A</sup>	85.87 ± 1.45 <sup>B</sup>
Primordios	IE-105	.	65.51 ± 0.08 <sup>H-J</sup>	75.39 ± 0.66 <sup>C</sup>
	IE-123	72.01 ± 0.39 <sup>DE</sup>	69.22 ± 1.68 <sup>EF</sup>	69.58 ± 0.63 <sup>D</sup>
	IE-245	72.54 ± 1.19 <sup>DE</sup>	66.49 ± 0.35 <sup>H-I</sup>	73.12 ± 0.43 <sup>C</sup>
	IE-247	.	73.86 ± 0.75 <sup>D</sup>	70.19 ± 1.67 <sup>D</sup>
Primera Cosecha	IE-105	67.02 ± 1.15 <sup>FG</sup>	66.38 ± 0.84 <sup>G-I</sup>	65.67 ± 2.37 <sup>E</sup>
	IE-123	68.34 ± 1.21 <sup>F</sup>	66.95 ± 0.16 <sup>GH</sup>	66.67 ± 1.20 <sup>E</sup>
	IE-245	71.16 ± 1.33 <sup>E</sup>	69.99 ± 0.56 <sup>E</sup>	70.25 ± 1.23 <sup>D</sup>
	IE-247	66.73 ± 0.67 <sup>F-H</sup>	64.69 ± 0.34 <sup>J-I</sup>	69.85 ± 0.63 <sup>D</sup>
Residuo Final	IE-105	63.47 ± 0.11 <sup>I</sup>	67.55 ± 0.47 <sup>FG</sup>	62.37 ± 1.18 <sup>F</sup>
	IE-123	64.87 ± 0.25 <sup>G-I</sup>	63.73 ± 0.78 <sup>J</sup>	59.45 ± 0.34 <sup>G</sup>
	IE-245	60.48 ± 1.17 <sup>J</sup>	65.87 ± 0.91 <sup>G-I</sup>	65.03 ± 1.94 <sup>E</sup>
	IE-247	64.51 ± 1.66 <sup>HI</sup>	58.64 ± 2.61 <sup>K</sup>	66.56 ± 0.41 <sup>E</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 10.** Contenido de hemicelulosa (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	15.82 ± 0.16 <sup>B-D</sup>	27.28 ± 2.02 <sup>A</sup>	25.51 ± 0.73 <sup>B</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	15.46 ± 0.05 <sup>B-D</sup>	13.25 ± 0.00 <sup>D</sup>	30.48 ± 1.11 <sup>A</sup>
	IE-123	17.31 ± 0.44 <sup>AB</sup>	15.84 ± 0.72 <sup>CD</sup>	27.94 ± 1.63 <sup>AB</sup>
	IE-245	16.31 ± 1.26 <sup>A-C</sup>	16.65 ± 2.65 <sup>BC</sup>	26.13 ± 2.68 <sup>B</sup>
	IE-247	18.73 ± 3.45 <sup>A</sup>	19.35 ± 1.36 <sup>B</sup>	28.09 ± 1.65 <sup>AB</sup>
Primordios	IE-105	.	8.08 ± 0.29 <sup>E-G</sup>	17.85 ± 0.71 <sup>C</sup>
	IE-123	11.54 ± 0.10 <sup>EF</sup>	6.37 ± 2.48 <sup>F-H</sup>	13.50 ± 0.90 <sup>D-F</sup>
	IE-245	13.14 ± 0.99 <sup>D-F</sup>	7.79 ± 0.01 <sup>E-G</sup>	15.80 ± 0.06 <sup>CD</sup>
	IE-247	.	15.84 ± 0.80 <sup>CD</sup>	15.52 ± 2.75 <sup>C-E</sup>
Primera Cosecha	IE-105	13.11 ± 1.31 <sup>D-F</sup>	4.25 ± 1.26 <sup>H</sup>	12.97 ± 1.35 <sup>D-F</sup>
	IE-123	12.16 ± 1.19	7.27 ± 0.87 <sup>E-H</sup>	16.18 ± 2.40 <sup>CD</sup>
	IE-245	15.38 ± 0.19 <sup>B-D</sup>	7.96 ± 1.07 <sup>E-G</sup>	18.94 ± 0.70 <sup>C</sup>
	IE-247	8.64 ± 0.67 <sup>G</sup>	10.01 ± 0.74 <sup>E</sup>	12.12 ± 0.52 <sup>EF</sup>
Residuo Final	IE-105	10.76 ± 0.80 <sup>FG</sup>	9.69 ± 0.03 <sup>EF</sup>	9.94 ± 0.25 <sup>F</sup>
	IE-123	8.60 ± 0.74 <sup>G</sup>	6.26 ± 0.09 <sup>F-H</sup>	13.98 ± 0.19 <sup>DE</sup>
	IE-245	2.95 ± 0.77 <sup>H</sup>	6.40 ± 2.43 <sup>F-H</sup>	9.94 ± 2.46 <sup>F</sup>
	IE-247	14.01 ± 1.10 <sup>C-E</sup>	5.39 ± 2.54 <sup>GH</sup>	13.17 ± 1.13 <sup>D-F</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 11.** Contenido de celulosa (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	41.46 ± 2.05 <sup>B-E</sup>	29.34 ± 1.39 <sup>H</sup>	48.39 ± 0.16 <sup>AB</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	39.02 ± 1.18 <sup>D-F</sup>	55.47 ± 1.77 <sup>A</sup>	49.43 ± 0.65 <sup>AB</sup>
	IE-123	38.95 ± 1.75 <sup>D-F</sup>	50.89 ± 1.14 <sup>C-F</sup>	48.01 ± 2.44 <sup>A-C</sup>
	IE-245	39.90 ± 0.36 <sup>D-F</sup>	53.35 ± 0.40 <sup>A-C</sup>	50.99 ± 0.83 <sup>A</sup>
	IE-247	38.41 ± 1.32 <sup>E-G</sup>	51.71 ± 0.04 <sup>B-E</sup>	47.12 ± 1.16 <sup>BC</sup>
Primordios	IE-105	.	50.81 ± 0.77 <sup>C-F</sup>	48.63 ± 1.05 <sup>AB</sup>
	IE-123	45.62 ± 1.54 <sup>A</sup>	51.96 ± 3.71 <sup>B-D</sup>	46.50 ± 0.24 <sup>B-D</sup>
	IE-245	44.30 ± 2.18 <sup>AB</sup>	51.45 ± 0.24 <sup>B-E</sup>	49.77 ± 0.73 <sup>AB</sup>
	IE-247	.	50.01 ± 1.73 <sup>C-F</sup>	44.64 ± 0.79 <sup>CD</sup>
Primera Cosecha	IE-105	40.94 ± 1.45 <sup>B-F</sup>	51.80 ± 2.74 <sup>B-D</sup>	43.41 ± 2.15 <sup>DE</sup>
	IE-123	42.85 ± 2.03 <sup>A-C</sup>	52.53 ± 0.39 <sup>A-C</sup>	36.31 ± 3.54 <sup>GH</sup>
	IE-245	37.86 ± 0.11 <sup>E-G</sup>	54.69 ± 1.07 <sup>AB</sup>	40.72 ± 1.83 <sup>EF</sup>
	IE-247	44.28 ± 2.79 <sup>AB</sup>	48.19 ± 0.57 <sup>EF</sup>	50.27 ± 0.52 <sup>AB</sup>
Residuo Final	IE-105	33.93 ± 0.67 <sup>H</sup>	48.87 ± 1.74 <sup>D-F</sup>	40.88 ± 2.19 <sup>EF</sup>
	IE-123	37.58 ± 1.21 <sup>FG</sup>	47.51 ± 0.01 <sup>FG</sup>	34.24 ± 1.88 <sup>H</sup>
	IE-245	42.21 ± 0.03 <sup>A-D</sup>	50.33 ± 1.20 <sup>C-F</sup>	40.71 ± 1.79 <sup>EF</sup>
	IE-247	35.36 ± 0.75 <sup>GH</sup>	44.58 ± 0.30 <sup>G</sup>	39.19 ± 0.25 <sup>FG</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 12.** Contenido de lignina (%) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	14.69 ± 2.92 <sup>DE</sup>	12.50 ± 2.53 <sup>AB</sup>	13.22 ± 1.35 <sup>A-C</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	19.49 ± 0.21 <sup>AB</sup>	9.72 ± .72 <sup>B-F</sup>	13.53 ± 2.03 <sup>A-C</sup>
	IE-123	21.28 ± 1.37 <sup>AB</sup>	9.17 ± 0.96 <sup>C-G</sup>	12.55 ± 1.66 <sup>A-D</sup>
	IE-245	19.93 ± 0.48 <sup>AB</sup>	13.54 ± 0.85 <sup>A</sup>	11.13 ± 1.65 <sup>A-E</sup>
	IE-247	22.91 ± 2.88 <sup>A</sup>	11.06 ± 1.13 <sup>A-C</sup>	10.67 ± 1.36 <sup>B-F</sup>
Primordios	IE-105	.	6.62 ± 0.98 <sup>FG</sup>	8.91 ± 0.31 <sup>EF</sup>
	IE-123	14.86 ± 1.06 <sup>DE</sup>	10.90 ± 2.91 <sup>A-C</sup>	9.58 ± 0.03 <sup>D-F</sup>
	IE-245	15.10 ± 1.98 <sup>C-E</sup>	7.25 ± 0.59 <sup>D-G</sup>	7.54 ± 7.35 <sup>F</sup>
	IE-247	.	8.01 ± 0.18 <sup>C-G</sup>	10.03 ± 0.29 <sup>C-F</sup>
Primera Cosecha	IE-105	12.96 ± 1.62 <sup>E</sup>	10.33 ± 2.33 <sup>B-D</sup>	9.29 ± 1.13 <sup>D-F</sup>
	IE-123	13.33 ± 2.05 <sup>E</sup>	7.15 ± 1.10 <sup>E-G</sup>	14.17 ± 2.34 <sup>AB</sup>
	IE-245	17.91 ± 1.03 <sup>B-D</sup>	7.34 ± 0.55 <sup>D-G</sup>	10.58 ± 2.37 <sup>C-F</sup>
	IE-247	13.81 ± 1.46 <sup>E</sup>	6.48 ± 0.51 <sup>G</sup>	7.46 ± 0.63 <sup>F</sup>
Residuo Final	IE-105	18.78 ± 1.36 <sup>BC</sup>	9.00 ± 1.24 <sup>C-G</sup>	11.56 ± 0.76 <sup>A-E</sup>
	IE-123	18.69 ± 0.72 <sup>BC</sup>	9.95 ± 0.70 <sup>B-E</sup>	11.23 ± 2.03 <sup>A-E</sup>
	IE-245	15.33 ± 0.42 <sup>C-E</sup>	9.20 ± 0.24 <sup>C-G</sup>	14.38 ± 2.31 <sup>A</sup>
	IE-247	15.14 ± 1.32 <sup>C-E</sup>	8.66 ± 0.24 <sup>C-G</sup>	14.20 ± 0.46 <sup>AB</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Leatham y Leonard (1989), mencionan que este compuesto es relativamente poco utilizado por shiitake, siendo sus fuentes de carbono más accesibles los azúcares libres, almidón, pectinas y hemicelulosas, lo que concuerda con este estudio, ya que fue en esta fracción de fibra donde se observaron los mayores cambios.

El contenido de lignina fue semejante en todos los sustratos al iniciar, observándose una tendencia similar en PC y PT hacia un decremento en las etapas 8 días y primordios, para posteriormente aumentar en las etapas primera cosecha y residuo final. En MV el comportamiento fue muy similar entre las diferentes etapas, a excepción de 8 días en la que se registró un aumento. Van *et al.* (2003), observaron que durante las primeras etapas del crecimiento de shiitake, la celulosa y los xilanos se mantienen como los componentes más abundantes del sustrato, mientras que la lignina se degrada mayoritariamente. Esto lo correlacionaron con una actividad baja de celulasas y alta de ligninasas. En etapas avanzadas del cultivo determinaron una reducción de ca 22% en la ligninólisis y una mayor degradación de polisacáridos como la hemicelulosa y xilosa. Belinky *et al.* (2003), encontraron una correlación importante entre las concentraciones extracelulares altas de especies óxido reactivas y la actividad ligninolítica, lo que sugiere que estos compuestos tienen una función importante durante el proceso de degradación.

Los extractos acuosos de *Lolium multiflorum*, cebolla, tabaco, maíz y paja de trigo (Jonathan y Fasidi, 2001; Beltrán-García *et al.*, 2001; Domondon *et al.*, 2004) y alcohólicos de caña de azúcar y encino aceleran el crecimiento de hongos de pudrición blanca hasta un 200%. Esto podría deberse a que cuando la lignina comienza a degradarse se generan benzoatos, furanal y vanilina, los cuales estimulan el desarrollo de los hongos. Existe la posibilidad de que los cambios en la actividad enzimática se deban en gran medida al estado de desarrollo del micelio (Ferrara *et al.*, 2002).

### Relación carbono-nitrógeno

La importancia de la relación carbono-nitrógeno (C:N) no puede ser subestimada, ya que un buen equilibrio ayudará al óptimo crecimiento de los organismos. Una desproporción disminuirá o impedirá su desarrollo (Stamets, 1993). En el Cuadro 13 se muestra la relación C:N de los distintos sustratos empleados, antes y después de la inoculación y desarrollo del hongo, observándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las etapas analizadas.

A mayor relación C:N inicial, se encontró una EB promedio más alta. Posterior a la FS disminuyó el coeficiente en la MV y PC excepto en los tratamientos con IE-245 donde se obtuvieron las mejores EB, mientras que en PT aumentó ( $p < 0.05$ ). En una evaluación del crecimiento micelial y biomasa producida, se comprobó que las maderas enriquecidas con un 25 a 30% de fibra de arroz, estimulan el crecimiento de *L. edodes* debido a la relación C:N (30:1) y la estructura del sustrato que favoreció el intercambio gaseoso indispensable para la actividad degradativa de las enzimas. Sin embargo se ha observado que suplementos con alto contenido de celulosa y hemicelulosa como las melasas de caña de azúcar, no incrementan el crecimiento del hongo (Rossi *et al.*, 2003). Lo anterior es debido a que cuando shiitake crece en sustratos lignocelulósicos, la degradación de celulosa es menor (14%) que la de lignina (40 y 60%) (Morais *et al.*, 2000). Sánchez y Royse (2002), mencionan que después de cultivar y cosechar los hongos, la relación C:N del sustrato se verá disminuida. En madera de vid sin degradar, Sánchez *et al.* (2002), citan una relación C:N de 88.52; valores similares registraron Sánchez y Royse (2002) y Lacasta *et al.* (1994).

**Cuadro 13.** Relación C:N en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	49.40 ± 0.01 <sup>D</sup>	31.23 ± 0.02 <sup>P</sup>	61.09 ± 0.06 <sup>B</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	51.69 ± 0.16 <sup>A</sup>	60.42 ± 0.08 <sup>B</sup>	54.88 ± 0.12 <sup>D</sup>
	IE-123	51.77 ± 0.18 <sup>A</sup>	56.59 ± 0.12 <sup>E</sup>	62.34 ± 0.10 <sup>A</sup>
	IE-245	49.98 ± 0.08 <sup>C</sup>	56.97 ± 0.12 <sup>D</sup>	53.53 ± 0.11 <sup>E</sup>
	IE-247	51.66 ± 0.60 <sup>A</sup>	53.66 ± 0.17 <sup>F</sup>	57.42 ± 0.15 <sup>C</sup>
Primordios	IE-105	48.27 ± 0.11 <sup>E</sup>	45.96 ± 0.14 <sup>K</sup>	49.27 ± 0.12 <sup>F</sup>
	IE-123	40.51 ± 0.11 <sup>L</sup>	49.58 ± 0.12 <sup>I</sup>	54.74 ± 0.18 <sup>D</sup>
	IE-245	47.41 ± 0.28 <sup>F</sup>	42.84 ± 0.11 <sup>M</sup>	45.21 ± 0.05 <sup>G</sup>
	IE-247	40.55 ± 0.11 <sup>L</sup>	38.11 ± 0.06 <sup>O</sup>	41.85 ± 0.09 <sup>I</sup>
Primera Cosecha	IE-105	41.16 ± 0.66 <sup>K</sup>	42.77 ± 0.10 <sup>M</sup>	39.58 ± 0.09 <sup>K</sup>
	IE-123	43.99 ± 0.08 <sup>I</sup>	46.66 ± 0.19 <sup>J</sup>	41.79 ± 0.15 <sup>I</sup>
	IE-245	39.98 ± 0.03 <sup>M</sup>	50.18 ± 0.09 <sup>H</sup>	41.53 ± 0.04 <sup>J</sup>
	IE-247	35.28 ± 0.12 <sup>N</sup>	43.42 ± 0.05 <sup>L</sup>	45.23 ± 0.08 <sup>G</sup>
Residuo Final	IE-105	45.16 ± 0.26 <sup>H</sup>	53.44 ± 0.11 <sup>G</sup>	43.18 ± 0.06 <sup>H</sup>
	IE-123	42.23 ± 0.01 <sup>J</sup>	72.62 ± 0.21 <sup>B</sup>	37.02 ± 0.54 <sup>L</sup>
	IE-245	50.96 ± 0.03 <sup>B</sup>	89.56 ± 0.08 <sup>A</sup>	73.03 ± 0.16 <sup>H</sup>
	IE-247	46.80 ± 0.01 <sup>G</sup>	41.59 ± 0.05 <sup>N</sup>	36.70 ± 0.14 <sup>M</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).



### Fenoles Totales

El contenido de fenoles totales se muestra en el Cuadro 14. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los sustratos antes y después de ser inoculados. Se observó una correlación positiva entre la cantidad final de fenoles y la EB ( $r^2=0.887$ ). La disminución drástica entre el sustrato inicial y la primera etapa (8 días), puede deberse a la sensibilidad de los fenoles libres a las altas temperatura. Zheng y Shetty (2000), mencionan que *L. edodes* posee altos niveles de enzimas extracelulares como  $\beta$ -glucosidasa, capaces de hidrolizar compuestos fenólicos, lo que explica su aumento progresivo conforme avanza la FS.

Upadhyay y Hofrichter (1993), mencionan la capacidad de los hongos de pudrición blanca para metabolizar fenoles. En otros estudios con *Lentinula* se observó un mayor crecimiento cuando el medio de cultivo es suplementado con ácido giberélico,  $\beta$ -adenosina, monómeros fenólicos derivados de la degradación de la lignina (como 4-metoxibenzoato y ácido vanílico) y flavonoides. El carácter estimulante de estos compuestos comunes en tejidos vegetales, depende directamente de su concentración, afectando la actividad de diversas enzimas como lacasa y alcohol oxidasa (Jonathán y Fasidi, 2001; Domondon *et al.*, 2004). Las lacasas de *Lentinula* catalizan la oxidación de compuestos fenólicos y aminas aromáticas utilizando oxígeno molecular como aceptor de electrones (Muñoz *et al.*, 1997).

### Azúcares totales

Los hongos necesitan de fuentes de carbono de fácil asimilación para iniciar su actividad degradadora, siendo los azúcares libres, almidón, pectinas y

**Cuadro 14.** Contenido de fenoles totales (milimoles/L) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	2.20 ± 0.03 <sup>A</sup>	0.93 ± 0.03 <sup>C</sup>	1.54 ± 0.03 <sup>A</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	0.19 ± 0.03 <sup>H</sup>	0.18 ± 0.05 <sup>H</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>G</sup>
	IE-123	0.20 ± 0.01 <sup>H</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>H</sup>	0.24 ± 0.02 <sup>G</sup>
	IE-245	0.20 ± 0.01 <sup>H</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>H</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>G</sup>
	IE-247	0.14 ± 0.02 <sup>H</sup>	0.18 ± 0.02 <sup>H</sup>	0.18 ± 0.09 <sup>G</sup>
Primordios	IE-105	0.59 ± 0.02 <sup>G</sup>	0.54 ± 0.04 <sup>FG</sup>	0.75 ± 0.02 <sup>F</sup>
	IE-123	0.82 ± 0.03 <sup>E</sup>	0.58 ± 0.02 <sup>EF</sup>	0.79 ± 0.04 <sup>IEF</sup>
	IE-245	0.85 ± 0.03 <sup>E</sup>	0.78 ± 0.03 <sup>CD</sup>	0.76 ± 0.02 <sup>F</sup>
	IE-247	0.75 ± 0.02 <sup>F</sup>	0.49 ± 0.01 <sup>G</sup>	0.79 ± 0.01 <sup>EF</sup>
Primera Cosecha	IE-105	0.61 ± 0.04 <sup>G</sup>	0.74 ± 0.04 <sup>D</sup>	0.87 ± 0.11 <sup>DE</sup>
	IE-123	0.87 ± 0.05 <sup>DE</sup>	0.62 ± 0.01 <sup>EF</sup>	0.92 ± 0.06 <sup>D</sup>
	IE-245	1.20 ± 0.01 <sup>C</sup>	0.92 ± 0.07 <sup>B</sup>	0.96 ± 0.03 <sup>D</sup>
	IE-247	0.80 ± 0.04 <sup>EF</sup>	0.55 ± 0.03 <sup>FG</sup>	0.92 ± 0.09 <sup>D</sup>
Residuo Final	IE-105	0.63 ± 0.12 <sup>G</sup>	0.77 ± 0.13 <sup>CD</sup>	1.18 ± 0.02 <sup>C</sup>
	IE-123	0.92 ± 0.00 <sup>D</sup>	0.65 ± 0.05 <sup>E</sup>	1.14 ± 0.02 <sup>C</sup>
	IE-245	1.47 ± 0.00 <sup>B</sup>	1.31 ± 0.07 <sup>A</sup>	1.33 ± 0.08 <sup>B</sup>
	IE-247	0.84 ± 0.00 <sup>E</sup>	0.62 ± 0.04 <sup>EF</sup>	1.27 ± 0.09 <sup>B</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

hemicelulosas, las más accesible para shiitake y organismos competidores (Leatham y Leonard, 1989; Przybylowicz y Donoghue, 1988; Gaitán-Hernández, 1999). La disponibilidad de estos azúcares, acelerará la colonización y degradación del medio y reducirá el tiempo para fructificar, ya que el micelio convertirá estos hidratos de carbono en reservas para la fructificación, con lo que aumentan los rendimientos (Przybylowicz y Donoghue, 1988). Según Rossi *et al.* (2003), se requiere una buena fuente de carbono para incrementar la actividad lignocelulósica de los hongos.

En el Cuadro 15 se muestra el contenido de azúcares para las diferentes etapas, cepas y sustratos estudiados. Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las etapas analizadas, observándose la tendencia al aumento en el contenido de azúcares totales con respecto al testigo. Respecto a estos cambios, Chantaraj (2000), advierte que después del crecimiento de los hongos, los compuestos de los sustratos utilizados serán más solubles, conteniendo de 3 a 5 veces más azúcares libres. Así mismo, los resultados de Rajarathnam *et al.* (1987), con el cultivo de *Pleurotus flabellatus* en paja de arroz, indican un continuo incremento de azúcares durante el crecimiento micelial, seguido de una disminución en la etapa de fructificación, que se asocia posiblemente con los requerimientos de energía para formar los cuerpos fructíferos.

**Cuadro 15.** Contenido de azúcares totales (mg/g) en madera de vid y pajas de trigo y cebada, antes y después de la inoculación con *Lentinula edodes*.

Etapa	Cepa	Sustrato		
		Vid	Trigo	Cebada
Control	-	209.41 ± 0.91 <sup>E</sup>	196.68 ± 1.96 <sup>LMN</sup>	42.23 ± 1.55 <sup>M</sup>
8 Días de Incubación	IE-105	162.60 ± 4.32 <sup>H</sup>	220.22 ± 2.49 <sup>FGH</sup>	167.28 ± 3.71 <sup>I</sup>
	IE-123	272.49 ± 4.93 <sup>B</sup>	211.88 ± 6.09 <sup>HIJK</sup>	179.24 ± 4.46 <sup>H</sup>
	IE-245	181.81 ± 8.55 <sup>G</sup>	234.70 ± 4.54 <sup>DE</sup>	181.01 ± 2.67 <sup>H</sup>
	IE-247	195.36 ± 4.40 <sup>F</sup>	210.76 ± 6.71 <sup>HIJKL</sup>	208.40 ± 3.88 <sup>G</sup>
Primordios	IE-105	101.63 ± 9.12 <sup>I</sup>	202.86 ± 5.09 <sup>JKLMN</sup>	248.10 ± 2.35 <sup>D</sup>
	IE-123	324.49 ± 1.49 <sup>A</sup>	258.44 ± 3.29 <sup>C</sup>	287.06 ± 4.73 <sup>C</sup>
	IE-245	166.34 ± 5.49 <sup>H</sup>	306.29 ± 2.94 <sup>A</sup>	347.68 ± 0.82 <sup>A</sup>
	IE-247	179.07 ± 4.28 <sup>G</sup>	228.64 ± 1.83 <sup>EEFG</sup>	250.85 ± 0.55 <sup>D</sup>
Primera Cosecha	IE-105	178.66 ± 6.48 <sup>G</sup>	207.02 ± 6.01 <sup>IJKLM</sup>	167.20 ± 3.71 <sup>F</sup>
	IE-123	253.78 ± 3.33 <sup>C</sup>	254.68 ± 6.29 <sup>C</sup>	179.24 ± 4.46 <sup>E</sup>
	IE-245	195.37 ± 3.95 <sup>F</sup>	282.26 ± 4.51 <sup>B</sup>	181.01 ± 2.67 <sup>B</sup>
	IE-247	238.08 ± 4.64 <sup>D</sup>	217.97 ± 0.92 <sup>GHIJ</sup>	308.85 ± 2.52 <sup>FG</sup>
Residuo Final	IE-105	203.06 ± 2.41 <sup>EF</sup>	200.45 ± 3.30 <sup>KLMN</sup>	157.79 ± 1.10 <sup>J</sup>
	IE-123	244.05 ± 0.54 <sup>D</sup>	238.83 ± 0.21 <sup>D</sup>	144.51 ± 6.85 <sup>K</sup>
	IE-245	241.32 ± 3.97 <sup>D</sup>	224.71 ± 3.59 <sup>FGH</sup>	152.83 ± 0.75 <sup>J</sup>
	IE-247	252.55 ± 0.75 <sup>C</sup>	220.40 ± 0.73 <sup>GHI</sup>	76.004 ± 1.99 <sup>L</sup>

Valores seguidos en una misma columna con letras diferentes son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

Con base en el análisis del efecto de la composición química del sustrato sobre la producción y el contenido proximal de *Lentinula edodes* se establecen las siguientes conclusiones:

La madera de vid y las pajas de trigo y cebada tienen potencial como sustratos alternativos al uso del encino, para el cultivo del hongo comestible *Lentinula edodes*.

*Lentinula edodes* degrada eficientemente tanto las maderas de vid como las pajas de trigo y cebada, siendo los cambios más sobresalientes en el sustrato después de la fructificación, la capacidad para retener humedad, el aumento en el contenido de minerales, el contenido de fenoles, así como la disminución de fibra detergente neutro, principalmente en la fracción de hemicelulosa.

La composición química del sustrato debido a la fermentación sólida por *Lentinula edodes* varió dependiendo de la cepa, la disponibilidad de las diversas fracciones y los cambios ocurridos durante la digestión y crecimiento del hongo.

La composición química de los sustratos influyó en los parámetros de producción del hongo, no así en el contenido proximal de las fructificaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abe, Y. **1989**. Effect of the moisture on the colonization by *Lentinus edodes* and *Hypoxylon truncatum* in wood. *European Journal Forest Pathology* 19: 423-434.
- AOAC. **2000**. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*, 17th ed.; AOAC: Arlington, VA.
- Badham, E.R. **1989**. Influence of water potential on growth of shiitake mycelium. *Mycologia* 81: 464-468.
- Belinky, P.A., N. Flikshtein, S. Lechenko, S. Gepstein, C.G. Dosoretz. **2003**. Reactive species and induction of lignin peroxidase in *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 6500-6506.
- Beltrán-García, M.J., A. Orozco, I. Samoya, T. Ogura. **2001**. Lignin degradation products from corn stalks enhance notably the radial growth of basidiomycetes mushroom mycelia. *Revista de la Sociedad Química de México* 45: 77-81.
- Box, J.D. **1983**. Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Water Research* 17: 511-525.
- Boyle, D. **1998**. Nutritional factors limiting the growth of *Lentinula edodes* and other white-rot fungi in wood. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 817-823.
- Brauer, D., T. Kimmons, M. Phillips. **2002**. Effects of managment on the yield and High-Molecular-Weight-Polysaccharide content of shiitake (*Lentinula edodes*) mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5333-5337.

- Brisko, N.A., V.G Babitskay, V.T. Bilay, N.Y. Mitropolskaya. **2002**. Biologically active substances from *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*. In: Sánchez, J. E., G. Huerta, E. Montiel (eds.), *Proceedings of the Fourth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. UAEM: México. pp. 383-389.
- Chang, S.T. **2002**. Past and present trends in the production of *Lentinula edodes* in Asia. In: Sánchez, J. E., G. Huerta, E. Montiel (eds.), *Proceedings of the Fourth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. UAEM: México. pp. 1-13.
- Chang, S.T., P.G., Miles. **2004**. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC Press, Boca Ratón, pp. 203-219.
- Chantaraj, N. **2000**. Substrates obtained from mushroom cultivation as an alternative feed ingredient. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 13: 27-34.
- Crisan, E.V., A. Sands. **1978**. Nutricional value. In: Chang, S.T., W.H. Hayes (eds.), *The Biology and Cultivation of Edible Fungi*. Academic Press: New York. pp. 137-168.
- D'annibale, A., D. Celletti, M. Felici, E. Di-Mattia, G. Giovannozzi-Sermanni. **1996**. Substrate specificity of laccase from *Lentinus edodes*. *Acta Biotechnologica* 16: 257-270.
- Dare, P.H., T.A. Clark, M. Chu-Chou. **1988**. Consumption of substrate components by the cultivated mushroom *Lentinus edodes* during growth and fruiting on softwood and hardwood-based media. *Process Biochemistry* 23: 156-160.

- Delpech, P., J.M. Olivier. **1991**. Cultivation of shiitake on straw based pasteurized substrates. *In: Maher, J. (ed.), Science and Cultivation of Edible Fungi*. Balkema: Rotterdam. pp. 523-528.
- Diehle, D.A., D.J. Royse. **1986**. Shiitake cultivation on sawdust: Evaluation of selected genotypes for biological efficiency and mushroom size. *Mycologia* 78: 929-933.
- Domondon, D.L., W. He, N. De Kimpe, M. Höfte, J. Poppe. **2004**.  $\beta$ -Adenosine, a bioactive compound in grass chaff stimulating mushroom production. *Phytochemistry* 65: 181-187.
- Donoghue, J.D., W.C. Denison. **1995**. Shiitake cultivation: Gas phase during incubation influences productivity. *Mycologia* 87: 239-244.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamulton, P.A. Rebers, F. Smith. **1956**. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- FAO. **2004**. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación*. Internet. URL: [http://www.fao.org/index\\_es.htm](http://www.fao.org/index_es.htm).
- Feofilova, E.P., I.B. Gornova, A.S. Memorskaya, L.V. Garibova. **1998**. Lipid composition of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] fruiting bodies and submerged mycelium. *Microbiology* 67: 540-544.
- Ferrara, M.A., E.P.S. Bon, J.S.A. Neto. **2002**. Use of steam liquor from sugar cane sugar bagasse for lignin peroxidase production by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 98: 289-299.
- Fomina, V.I., N.A. Bis'ko, N.Y. Mitropol'skaya, V.V. Trukhonovets. **1999**. The dependence of mycelium growth and purification of *Lentinus edodes* on substrate composition. *Micologiya i Fitopatologiya* 33: 406-411.



- Fragoso, T., A. Gutierrez, A. Sánchez, R.E. Villegas, M. Esqueda. **2004**. Cambios en la composición química de la madera de vid, manzano y encino por *Lentinula edodes*. *Biotecnia* 4: 3-12.
- Gaitán-Hernández, R. **1999**. Cultivo, selección y mejoramiento de *Neolentinus suffrutescens* (= *Lentinus lepideus*) y factibilidad de la reutilización de la madera degradada por este hongo para el cultivo de otras especies comestibles. Universidad Nacional Autónoma de México, Tesis de Doctorado, México.
- Gaitán-Hernández, R., G. Mata. **2004**. Cultivation of edible mushroom *Lentinula edodes* (shiitake) in pasteurized wheat straw. Alternative use of geothermal energy in Mexico. *Engineering in Life Sciences* 4: 363-367.
- Gallardo, M. **2003**. ¿Falta fibra en la dieta de vacas lecheras? Un análisis y aportes al problema. Internet. URL: <http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/prl/prl%5Fdoc5.html>. Fecha de acceso: Noviembre 2004.
- Goering, H.K., P.J. Van-Soest. **1970**. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agricultural Research Service, USDA, Agricultural Handbook No. 379, Washington, D.C. pp 1-20.
- Guevara-Guerrero, G., A.G. Zúñiga-Medina, J. Castillo-Tovar. **2000**. Cultivo del hongo comestible shiitake (*Lentinus edodes* [Berk.] Sing) en Tamaulipas. *BIOTAM* 11: 1-10.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmenes, C. Soto, L. Guzmán-Dávalos. **1993**. *El cultivo de los hongos comestibles: con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales*. Instituto Politécnico Nacional, México. 245 p.

- Hatvani, N. **2001**. Antibacterial effect of the culture fluid of *Lentinula edodes* mycelium grown in submerged liquid culture. *International Journal of Antimicrobial Agents* 17: 71-74.
- Hobbs, C. **1995**. *Medicinal mushrooms. An exploration of tradition, healing, e culture*. Interweave Press, Inc. Oregon, E.U.A. 252 p.
- Ito, T. **1985**. Cultivation of *Lentinus edodes*. In: Flegg, P. B., D. M. Spencer, D.A. Wood (eds.), *The biology and technology of the cultivated mushroom*. John Wiley & Sons: New York. pp. 461-472.
- Jaramillo, C., N. Rodriguez, S.T. Chang. **2004**. Cultivation of shiitake on coffee waste. In: Rinker, D.L., D.J. Royle (eds.), *Science and cultivation of edible and medicinal fungi*. Penn State Univ. Press : Pennsylvania. pp. 307-311.
- Jonathan, S.G., I.O Fasidi. **2001**. Studies on phytohormones, vitamins and mineral element requirements of *Lentinus subnudus* (Berk.) and *Schizophyllum commune* (Fr.:Fr.) from Nigeria. *Food Chemistry* 75: 303-307.
- Jong, S.C., J.M. Birmingham. **1993**. Medicinal and therapeutic value of the shiitake mushroom. *Advances in Applied Microbiology* 39: 153-184.
- Keizer, G.J. **2000**. *La enciclopedia de las setas*. Editorial LIBSA. Madrid, España. pp. 2565-266.
- Kilpatrick, M., D.J. Murray, F. Ward. **2000**. Influence of substrate formulation and autoclave treatment on *Lentinula edodes* production. In: Van Griensven (ed.), *Science and Cultivation of Edible Fungi*. Balkema Publishers : Rotterdam. pp. 803-810.
- Kirk, P.M., P.F. Cannon, J.C. David, J.A. Stalpers, 2001. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 9 ed., CABI Pub., Wallingford.

- Kozak, M.E., J. Krawczyk. **1993**. *Growing shiitake mushroom in a continental climate*. Marinette, Wisconsin, p. 112
- Kües, U., Y. Liu. **2000**. Fruiting body production in Basidiomycetes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54: 141-152.
- Kulkarni, R.K. **1990**. Mannitol metabolism in *Lentinus edodes*, the shiitake mushroom. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 250-253.
- Lacasta, C., R. Meco, J. Dorado. **1994**. Compostaje de sarmientos de vid como una fuente de materia orgánica en agricultura ecológica. *Prácticas ecológicas para una agricultura de calidad*. I Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Septiembre. Toledo, España, pp. 288-300.
- Lahman, O., D.L. Rinker. **2004**. Mushroom practices and production in Latin America: 1994-2002. *In: Rinker, D.L., D.J. Royse (eds.), Science and cultivation of edible and medicinal fungi*. Penn. State Univ. Press : Pennsylvania. pp. 681-686.
- Lau, O.W. **1982**. Methods of chemical analysis of mushrooms. *In: Chang, S.T., T.H. Quimio (eds.), Tropical mushrooms: Biological nature and cultivation methods*. The Chinese Univ. Press : Hong Kong. pp. 87-115.
- Leatham, G.F. **1985**. Extracellular enzymes produced by the cultivated mushroom *Lentinus edodes* during degradation of a lignocellulosic medium. *Applied and Environmental Microbiology* 50: 859-867.
- Leatham, G.F., M.A. Stahmann. **1984**. Stimulatory effect of nickel or tin on fruiting of *Lentinus edodes*. *Transactions of the British Mycological Society* 83:513-517.
- Leatham, G.F., M.A. Stahmann. **1989**. The effects of common nutritionally-important cations on the growth and development of the cultivated mushroom *Lentinula edodes*. *In: K. Grabbe, O. Hilber (eds.),*

- Proceedings of the twelfth international congress on the science and cultivation of edible fungi*. Mushroom Science XII (part II). International Society for Mushroom Science: Braunschweig. pp. 253-265.
- Leatham, G.F., T.J. Leonard, **1989**. Biology and physiology of shiitake mushroom cultivation. *In: Shiitake Mushrooms: A national symposium and trade show*. The center for alternative plant and animal products, University of Minnesota, St Paul.
- Leifa, F., A. Pandey, C.R. Soccol. **2000**. Solid state cultivation - an efficient method to use toxic agro-industrial residues. *Journal of Basic Microbiology* 40: 187-197.
- Lomberh, M.L., E.F. Solomko, A.S. Buchalo, B. Kirchhoff. **2002**. Studies of medicinal mushrooms in submerged cultures. *In: J.E. Sánchez, G. Huerta, E. Montiel (eds.), Mushroom Biology and Mushroom Products*. UAEM: México. pp. 367-377.
- Longvah T., Y.G. Deosthale. **1998**. compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from Northeast India. *Food Chemistry* 63: 331-334.
- López, M.J., M.A. Elorrieta, M.C. Vargas-García, F. Suárez-Estrella, J. Moreno. **2002**. The effect of aeration on the biotransformation of lignocellulosic wastes by white-rot fungi. *Bioresource Technology* 81: 123-129.
- Luo, X. **2004**. Progress of xiang-gu (shiitake) cultivation in China. *In: Rinker, D.L., D.J. Royse (eds.), Science and cultivation of edible and medicinal fungi*. Penn State. Univ. Press : Pennsylvania. pp. 317-322.
- Madan, M., S. Sharma, P. Vasudevan. 1998. Mineral-content of *Pleurotus sajor-caju* and organic substrates used. *Microbios* 69: 113-118.
- Manzi, J. **1976**. *Hongos comestibles y venenosos*. Ediciones Combonianas. Jalisco, México. 119 p.

- Mata, G., R. Gaitán-Hernández. **1992**. Utilización de pulpa de café mezclada con viruta de madera para el crecimiento micelial de *Lentinus boryanus* y *Lentinus edodes*. *Revista Mexicana de Micología* 8: 125-129.
- Mata, G., R. Gaitán-Hernández. **1994**. Avances en el cultivo del shiitake en pulpa de café. *Revista Iberoamericana de Micología* 11: 90-91.
- Mata, G., D. Salmones, G. Guzmán. **1990**. Cultivo del shiitake japonés, *Lentinus edodes*, en bolsas con viruta de madera. *Revista Mexicana de Micología* 6: 245-251.
- Mata, G., J.M. Savoie, P. Delpech, J.M. Olivier. **1998**. Reduction in the incidence of *Trichoderma* spp. using substrate supplementation with peat and an alternative spawn during cultivation of *Lentinula edodes* on pasteurised wheat straw. *Agronomie* 18: 515-520.
- Mata, G., R. Gaitán-Hernández, R. Pérez-Merlo, C. Ortega. **2002**. Improvement of shiitake spawn for culturing on pasteurized wheat straw. In: J.E. Sánchez, G. Huerta, E. Montiel (eds.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. UAEM : México, pp. 303-309.
- Mata, J.L., R.H. Petersen, K.W. Hughes. **2001**. The genus *Lentinula* in the Americas. *Mycologia* 93: 1102-1112.
- Matilla, P., P. Salo-Väänänen, K. Könkö, H. Aro, T. Jalava. **2002**. Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6419-6422
- Mendivil-Salmón, C., A. Sánchez, I. Grijalva, M. Esqueda. **2001**. Composición química de *Pleurotus* cultivado sobre residuos vitivinícolas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 3: 207-214.
- Morais, M.H., A.C. Ramos, N. Matos, E.J.S. Oliveira. **2000**. Note. production of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on lignocellulosic residues. *Food Science and Technology International* 6: 123-128.

- Morales, P., D. Martínez-Carrera. **1991**. Bursera sawdust as a substrate for shiitake cultivation. *Micología Neotropical Aplicada* 4: 41-47.
- Morales, P., D. Martínez-Carrera, W. Martínez-Sánchez. **1991**. Cultivo de shiitake sobre diversos substratos en México. *Micología Neotropical Aplicada* 4: 75-81.
- Muñoz, C., F. Guillén, A.T. Martínez, M.J. Martínez, **1997**. Laccase isoenzymes of *Pleurotus eryngii*: characterization, catalytic properties and participation in activation of molecular oxygen and Mn<sup>2+</sup> oxidation. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 2166-2174.
- Odumi, S., K. Tominaga, S. Kundou, H. Hori, T. Koide, S. Hara, M. Isemura, S. Tsunasuawa. **1999**. The inhibitory properties and primary structure of novel serine proteinase from the fruiting body of basidiomycete, *Lentinus edodes*. *European Journal of Biochemistry* 262: 915-923.
- Pacumbaba, R.P., R.O. Pacumbaba. **1999**. Shiitake mushroom growth on the formulated culture media, production of spawn, and basidiocarps in the laboratory. *HorTechnology* 9: 85-90.
- Pettipher, G. L. **1988**. Cultivation of the shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) on lignocellulosic waste. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 42: 196-198.
- Philippoussis, A., P. Diamantopoulou, G. Zervakis. **2002**. Monitoring of mycelial growth and fructification of *Lentinula edodes* on several agricultural residues. In: Sánchez, J. E., G. Huerta, E. Montiel (eds.), *Proceedings of the Fourth International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*. UAEM: México. pp 279-287.
- Przybyłowicz, P., J. Donoghue. **1988**. *Shiitake growers handbook. The art and science of mushroom cultivation*. Kendall/Hunt Publishing Company. Dubuque. 217 p.

- Rajarithnam, S., D.B. Wankhede, Z. Bano. **1987**. Degradation of rice straw by *Pleurotus flabellatus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 37: 203-214.
- Regés, R. **1999**. Shiitake. Internet. URL: <http://www.cdeea.com/shitake.htm>. Fecha de acceso: Mayo 2005.
- Rossi, I.H., A.C. Monteiro, J.O. Machado, J.C. Barbosa. **2003**. Supplementation of sugarcane bagasse with rice bran and sugarcane molasses for shiitake (*Lentinula edodes*) spawn production. *Brazilian Journal of Microbiology* 34: 32-37.
- Royse, D. J. **1985**. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and size of the shiitake mushroom. *Mycologia* 77: 756-762.
- Royse, D.J. **1996**. Yield stimulation of shiitake by millet supplementation of wood chip substrate. In: Royse, D.J. (ed.), *Mushroom Biology and Mushroom Products*. Penn State Univ. Press: Pennsylvania. pp 277-283.
- Royse, D.J. **1997**. Specialty Mushrooms: Consumption and cultivation. *Revista Mexicana de Micología* 13: 1-11.
- Royse, D.J., J.E. Sánchez. **2001**. Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. *Bioresource Technology* 76:229-233.
- Salmones, D., G. Mata, L.M. Ramos, K.N. Waliszewski. **1999**. Cultivation of shiitake mushroom, *Lentinula edodes*, in several lignocellulosic materials originating from the subtropics. *Agronomie* 19: 13-19.
- Sánchez, A., F. Ysunza, M.J. Beltrán-García, M. Esqueda. **2002**. Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: A source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2537-2542.
- Sánchez, J.E., D.J. Royse. **2002**. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Limusa-Grupo Noriega Editores. México. 290 p.

- SAS Institute. **1998**. SAS/STAT User's guide, release 8.02 Version; SAS Institute Inc.: Cary.
- Savoie, J.M., P. Delpech, C. Billete, G. Mata. **2000**. Inoculum adaptation changes the outcome of competition between *Lentinula edodes* and *Trichoderma* spp. during shiitake cultivation on pasteurized wheat straw. *Mushroom Science* 15: 667-674.
- Smith, J.E., N.J. Rowan, R. Sullivan. **2002**. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities. *Biotechnology Letter* 24: 1839-1845.
- Sobata, C., H. Nall. **1994**. *Shiitake Mushroom Production on Logs*. Alabama Cooperative Extension Program: Alabama. p. 26.
- Song, C.H., K.Y. Cho, N.G. Nair. **1990**. Effect of triacylglycerols on growth, lipid profile and lipase activity of *Lentinula edodes*. *Mushroom Journal for the Tropics* 10: 9-19.
- Song, C.H., K.Y. Cho, N.G. Nair. **1991**. Effect of low temperature shock treatment on sporophore initiation, lipid profile and nutrient transport in *Lentinula edodes*. *Mycologia* 83: 24-29.
- Song, C.H., K.Y. Cho, N.G. Nair, J. Vine. **1989**. Growth stimulation and lipid synthesis in *Lentinus edodes*. *Mycologia* 81: 514-522.
- Stamets, P. **1993**. *Growing gourmet y medicinal mushrooms*. Ten Speed Press. Hong Kong. 554 p.
- Tan, Y.H., D. Moore. **1992**. Convenient and effective methods for *in vitro* cultivation of mycelium and fruiting bodies of *Lentinus edodes*. *Mycological Research* 96: 1077-1084.
- Tokimoto, K., M. Komatsu, **1978**. Biological Nature of *Lentinus edodes*. In: Chang, S.T., W.A. Hayes (eds.), *The biology and cultivation of edible mushrooms*. Academic Press : Hong Kong. pp. 445-459.



- Upadhyay, R.C., M. Hofrichter. **1993**. Effect of phenol on the mycelial growth and fructification in some of basidiomycetous fungi. *Journal of Basic Microbiology* 33: 343-347.
- Van, C.H., T.C. Drage, C.E. Snape. **2003**. Biodegradation of oak (*Quercus alba*) wood during growth of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*); a molecular approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 947-956.
- Wasser, S.P., A.L. Weis. **1999**. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 31-62.
- Zheng, Z., K. Shetty. **2000**. Solid-state bioconversion of phenolic from cranberry pomace and role of *Lentinus edodes*  $\beta$ -glucosidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 48: 895-900.

- Upadhyay, R.C., M. Hofrichter. **1993**. Effect of phenol on the mycelial growth and fructification in some of basidiomycetous fungi. *Journal of Basic Microbiology* 33: 343-347.
- Van, C.H., T.C. Drage, C.E. Snape. **2003**. Biodegradation of oak (*Quercus alba*) wood during growth of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*); a molecular approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 947-956.
- Wasser, S.P., A.L. Weis. **1999**. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 31-62.
- Zheng, Z., K. Shetty. **2000**. Solid-state bioconversion of phenolic from cranberry pomace and role of *Lentinus edodes*  $\beta$ -glucosidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 48: 895-900.