



UNIVERSIDAD VERACRUZANA
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS



CULTIVO Y CARACTERIZACIÓN DEL HONGO COMESTIBLE
Lentinula boryana Y SU COMPARACIÓN CON EL
SHIITAKE JAPONÉS (*Lentinula edodes*)

Tesis que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS ALIMENTARIAS

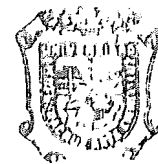
Presenta

Biol. Karina Valdez Villegas

Directores de Tesis

Dr. Ángel Rafael Trigos Landa

Dr. Gerardo Mata Montes de Oca



INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS
UNIVERSIDAD VERACRUZANA
BIBLIOTECA

Xalapa, Veracruz.

Mayo, 2009

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las personas e instituciones que me brindaron apoyo para la realización de esta tesis:

Al Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana por la oportunidad de realizar mi formación académica.

Al Laboratorio de Alta Tecnología de Xalapa, S. C. (LATEX), por el apoyo, esmero, orientación e iniciativa en el desarrollo y finalización de este proyecto.

Al Instituto de Ecología, A. C., por la atención, orientación, apoyo y consejos, para la realización y finalización de este proyecto.

A la Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica (SARA) de la Universidad Veracruzana, por su colaboración en la realización de los análisis en Cromatografía de Gases. Con especial atención a la **M. C. Ma. Remedios Mendoza-López**.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada. No. de becaria: 188108.

A mis directores de Tesis: **Dr. Ángel Rafael Trigos Landa** y **Dr. Gerardo Mata Montes de Oca**, por su apoyo, orientación, confianza y paciencia.

Al coordinador de la Maestría en Ciencias Alimentarias: **Dr. Iñigo Verdalet Guzmán**, por el apoyo recibido.

A la **M. C. Dulce Murrieta Hernández (INECOL)**, por la asesoría y apoyo recibidos.

A mi honorable jurado, por sus valiosas aportaciones que enriquecieron este trabajo de investigación:

Dr. Micloth López del Castillo

Dra. Zaira Julieta Domínguez-Esquivel

Dra. Gloria Luz Carrión Villarnovo

DEDICATORIAS

A DIOS:

Gracias Dios por permitirme realizar con éxito un objetivo más, en mi vida.

A MI PADRES:

A mi madre Rosa Villegas Ramírez y mi padre Tirzo Valdez García, por su amor, apoyo y confianza en mí, por el optimismo que siempre muestran y hacer mis metas; metas suyas.

A MIS HERMANOS:

Reina, Minerva, Rogelio y Verónica, por todo el cariño y apoyo recibido.

A MIS SOBRINOS:

Andrea, Emiliano y Ángel, gracias por su alegría.

A MIS AMIGOS:

A mis mejores amigos M. en C. Ángel Huerta Conde y M. en C. Jorge Ricaño Rodríguez, gracias por el apoyo y sonrisas que me han regalado.

A MIS DIRECTORES DE TESIS:

Dr. Ángel R. Trigos Landa y Dr. Gerardo Mata Montes de Oca, por la paciencia, consejos y enseñanzas.

A todos ustedes gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
RESUMEN.....	VII
SUMMARY.....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Historia del cultivo de los hongos.....	3
2.1.1. Antecedentes del cultivo de hongos en México.....	4
2.2. Características morfológicas y taxonómicas del género <i>Lentinula</i>	5
2.3. Distribución geográfica del género <i>Lentinula</i>	7
2.4. Importancia nutrimental y medicinal de <i>Lentinula</i>	8
2.4.1. Propiedades medicinales del shiitake japonés.....	8
2.4.2. Valor nutrimental del shiitake.....	10
2.5. Situación actual de la producción comercial de los hongos comestibles.....	15
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	17
4.1. Objetivo general.....	17
4.2. Objetivos específicos.....	17
4.3. Hipótesis del trabajo.....	17
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1. Descripción general.....	18
5.2. Material.....	19
5.2.1. Material biológico.....	19
5.3. Métodos.....	19

5.3.1. Selección de cepa y medio de cultivo del hongo <i>Lentinula boryana</i>	19
5.4. Cultivo masivo de <i>Lentinula boryana</i> y <i>Lentinula edodes</i>	20
5.4.1. Resiembra de cepas.....	20
5.4.2. Elaboración del inóculo.....	20
5.4.3. Preparación del sustrato.....	21
5.4.4. Incubación.....	22
5.4.5. Producción.....	23
5.5. Determinación de la productividad de las cepas.....	24
5.6. Caracterización química de <i>Lentinula boryana</i> y <i>Lentinula edodes</i>	24
5.6.1. Determinación de compuestos volátiles.....	24
5.6.2. Análisis químico proximal.....	25
5.6.2.1. Determinación de humedad.....	25
5.6.2.2. Determinación de cenizas.....	25
5.6.2.3. Determinación de fibra cruda.....	26
5.6.2.4. Determinación de grasa cruda.....	27
5.6.2.5. Determinación de proteínas.....	28
5.7. Diseño estadístico.....	29
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
6.1. Selección de cepa y medio de cultivo del hongo <i>Lentinula boryana</i>	30
6.1.1. Estimación del crecimiento micelial de <i>L. boryana</i>	30
6.1.2. Rendimiento de <i>L. boryana</i> en paja de cebada.....	31
6.2. Cultivo masivo de <i>Lentinula boryana</i> y <i>Lentinula edodes</i>	32
6.2.1. Productividad de los hongos.....	32
6.3 Caracterización de <i>Lentinula boryana</i> y <i>Lentinula edodes</i>	39
6.3.1 Compuestos volátiles identificados en los hongos.....	39
6.3.1.1 Compuestos volátiles identificados en <i>Lentinula boryana</i>	39
6.3.1.2 Compuestos volátiles identificados en <i>Lentinula edodes</i>	42
6.3.2. Análisis químico proximal de <i>Lentinula boryana</i> y <i>Lentinula</i>	

<i>edodes</i>	45
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
7.1 Conclusiones.....	49
7.2 Recomendaciones.....	49
8. BIBLIOGRAFÍA CITADA	51
9. APÉNDICE	57

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág
Figura 1.	Cuerpos fructíferos de <i>Lentinula boryana</i> cultivada en paja de cebada	6
Figura 2.	Cuerpos fructíferos de <i>Lentinula edodes</i> cultivado en bagazo de caña de azúcar	6
Figura 3.	Diagrama de flujo de la metodología realizada	18
Figura 4.	Diagrama de flujo para el cultivo y producción de los hongos <i>Lentinula</i>	23
Figura 5.	Diámetro promedio de los micelios de las 4 cepas de <i>L. boryana</i> a los 8 días de incubación en PDA y PDA E, las letras diferentes en las barras, indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Tukey (α 0.05)	30
Figura 6.	Carpóforos de <i>Lentinula edodes</i> cultivado en paja de cebada .	32
Figura 7.	Carpóforos de <i>Lentinula boryana</i> silvestre y cultivado	33
Figura 8.	Eficiencia biológica promedio (%) de ambas especies, las letras diferentes (a, b) indican que hay diferencias significativas en la prueba de comparación de medias de Tukey (α 0.05).....	34
Figura 9.	Carpóforos de <i>L. boryana</i> en hojarasca de árbol de encino y árbol de haya	37
Figura 10.	Carpóforos de <i>Lentinula edodes</i> en viruta de encino y hojarasca de haya	37
Figura 11.	Interacción entre las especies de los hongos y las seis formulaciones. Las letras diferentes en las barras, indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Tukey (α 0.05)	38

INDICE DE TABLAS

		Pág
Tabla 1.	Clasificación taxonómica de los hongos estudiados.....	5
Tabla 2.	Moléculas bioactivas en el shiitake.....	9
Tabla 3.	Porcentaje de agua (humedad) en los principales hongos comestibles cultivados en México y su comparación con otros alimentos de amplio consumo popular.....	11
Tabla 4.	Contenido en proteína, y perfil de aminoácidos esenciales de los principales hongos comestibles cultivados comercialmente en México y su comparación con otros alimentos de amplio consumo popular	12
Tabla 5.	Composición proximal en base seca, de las principales especies de hongos comestibles cultivados internacionalmente	13
Tabla 6.	Aportación del shiitake, en los requerimientos nutrimentales diarios de acuerdo a recomendaciones oficiales nacionales e internacionales.....	14
Tabla 7.	Cepas utilizadas en este experimento.....	19
Tabla 8.	Formulaciones de los sustratos utilizados en el cultivo de <i>Lentinula boryana</i> y <i>Lentinula edodes</i>	21
Tabla 9.	Rendimiento de las cepas de <i>Lentinula boryana</i> en paja de cebada.....	31
Tabla 10.	Productividad de la cepa IE-17 de <i>Lentinula boryana</i> y la cepa IE-124 de <i>Lentinula edodes</i>	33
Tabla 11.	Eficiencia biológica promedio y desviación estándar de <i>L. boryana</i> en los sustratos estudiados, con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha < 0.05$)	35
Tabla 12.	Eficiencia biológica (%) de <i>L. edodes</i> en los sustratos estudiados, con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha < 0.05$)	36
Tabla 13.	Compuestos volátiles identificados en <i>Lentinula boryana</i>	40

Tabla 14. Compuestos volátiles identificados en <i>Lentinula edodes</i>	43
Tabla 15. Compuestos volátiles identificados en <i>Lentinula edodes</i>	42
Tabla 16. Composición proximal de <i>Lentinula boryana</i> (IE-17) en cada sustrato estudiado.....	45
Tabla 17. Composición proximal de <i>Lentinula edodes</i> (IE-124) en cada sustrato estudiado.....	46
Tabla 18. Composición proximal de las especies de hongos más comerciales.....	47

RESUMEN

Lentinula edodes (Berk.) Pegler mejor conocido como shiitake japonés es un hongo funcional ampliamente utilizado en Oriente; asimismo, *Lentinula boryana* (Berk. & Mont) Pegler o shiitake americano, es una especie nativa de América aún no explotada, ambos presentan similitudes morfológicas entre sí, por lo que, el objetivo de este trabajo fue cultivar y caracterizar en sustratos alternativos los cuerpos fructíferos de estas especies comestibles (paja de cebada, bagazo de caña de azúcar, hojarasca de árbol de encino, hojarasca de árbol de haya y viruta de árbol de encino). La caracterización química incluyó la determinación de compuestos volátiles utilizando cromatografía de gases (CG), y la determinación del valor químico proximal de las dos especies de hongos en cada sustrato estudiado.

Se encontró que los mejores rendimientos de cultivo se obtuvieron en los sustratos viruta de árbol de encino para *L. edodes* y hojarasca de árbol de haya para *L. boryana*.

Se identificó que tanto *L. boryana* como *L. edodes*, contienen de manera abundante el compuesto volátil, llamado "alcohol de los hongos" (1-octeno-3-ol). No obstante, solo *L. boryana* fue capaz de producir el 3-octanol, el cual puede servir de marcador quimiotaxonómico entre ambas especies. El análisis químico proximal mostró que, el sustrato a base de hojarasca de árbol de encino, resultó ser el mejor para las dos especies, debido a su mayor contenido de proteínas en los carpóforos. Así mismo, el sustrato de hojarasca de Haya, produce los carpóforos con mayor valor energético.

En base a los resultados, se puede concluir que los sustratos aquí evaluados, en el cultivo de *L. boryana* y *L. edodes*, producen carpóforos con alto valor nutrimental, según referencias nutrimentales, para ser empleados en la alimentación humana.

Palabras clave: Carpóforos, *Lentinula boryana*, *Lentinula edodes*, sustratos alternativos, compuestos volátiles, proteínas.

SUMMARY

Lentinula edodes (Berk.) Pegler better known as shiitake Japanese is a functional mushroom extensively utilized in East; likewise, *Lentinula boryana* (Berk. & Mont) Pegler or shiitake American, is a native species from America not yet exploited, both present morphological similarities among their self, for which, the main objective of this work was to cultivate and to characterize in alternative substrates the fruitful bodies of these edible species (straw of barley, sugar cane chaff, leafage of tree of encino, leafage of tree to have and shaving of tree of encino). The chemical characterization included the determination of volatile compounds utilizing gas chromatography (GC), and the determination of the proximal chemical value of the two species of mushrooms on each substrate studied.

It was found that the better performances of cultivation were obtained in the tree shaving substrates of encino for *L. edodes* and leafage of tree to have for *L. boryana*.

It was identified that such *L. boryana* as *L. edodes* contain an abundant amount of the volatile compound call "alcohol of the mushrooms" (1-octeno-3-ol). Nevertheless, just *L. boryana* was capable to produce the 3-octanol, which can be used as a chemytaxonomic marker among both species. The proximal chemical analysis showed that, the substrate based on tree leafage of encino, resulted to be the best for the two species, due to its greater content of proteins in the carpóforos. Likewise, the leafage substrate produces the carpóforos with a greater energy value.

Based on these results, it can be concluded that the substrates here evaluated, in the cultivation of *L. boryana* and *L. edodes*, produce carpóforos with hig nutrimental value, according to nutrimental references, to be employed in human diet.

Keywords: Carpóforos, *Lentinula boryana*, *Lentinula edodes*, volatile composed, alternative substrates, proteins.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos comunes en la naturaleza que incluyen desde formas microscópicas, como los mohos y las levaduras, hasta macroscópicas, bastante voluminosas llamados hongos de repisa, que crecen en los troncos de los árboles. Estos, están ampliamente distribuidos por todo el planeta y prosperan en casi todos los climas tropicales, subtropicales, templados y fríos, en temperaturas comprendidas entre 4° C y 60° C, donde existan los alimentos indispensables para su existencia, como material orgánico y agua (Ramírez, 2002).

Los hongos han estado ligados al hombre desde tiempos inmemoriales; asimismo, tienen gran significado ornamental, medicinal, ceremonial y artístico en diversos grupos sociales (Guzmán *et al.*, 1993). Civilizaciones como la griega, egipcia, romana, china y azteca apreciaban a los hongos por su delicadeza, además de conocer acerca de su valor terapéutico y frecuentemente eran usados en ceremonias religiosas (Chang y Miles, 2004).

A través de los años, el conocimiento de estos organismos, se ha incrementado en tal forma, que actualmente es motivo de estudio por numerosos especialistas. Así han surgido, nuevos conocimientos que incluyen aspectos taxonómicos, ecológicos, nutrimentales y más recientemente farmacológicos y bioquímicos (Guzmán *et al.*, 1993; Zamora-Martínez y Nieto, 1995). Es así, como los avances en desarrollos biotecnológicos han sido incorporados a procesos naturales, como el caso de la producción de hongos comestibles (Guzmán *et al.*, 1993).

El cultivo de los hongos comestibles a nivel mundial ha evolucionado con el tiempo y actualmente es un desarrollo respetable de importancia económica, en especial sobre la producción de especies de *Agaricus*, *Pleurotus* y *Lentinula* (Trigos y Martínez, 1998), éstos son consumidos por su sabor, aroma y textura; sin embargo, es poco conocido su gran potencial como alimento funcional con propiedades nutrimentales y medicinales que promueven la salud.

El presente trabajo surgió por el interés de estudiar especies de reciente cultivo, tal es el caso de la especie *Lentinula boryana*, conocido comúnmente como shiitake Americano u “hongo de encino”, el cual presenta similitudes morfológicas con *Lentinula edodes* conocido como shiitake japonés. Por lo que el objetivo de este trabajo es cultivar y caracterizar en sustratos alternativos los hongos comestibles *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Historia del cultivo de los hongos

La información sobre el primer cultivo de hongos comestibles en Europa, fue el cultivo de champiñón, el cual se originó en la región de París, Francia. Los cultivadores de melones de esa región, en el año de 1650 observaron que crecían hongos sobre el estiércol, que usaban para abonar los melones. Dicho estiércol o fimo, era paja con tierra, excremento de caballo y agua (Sierra, 1997).

Sesenta años después, Tournerfor (botánico francés) describió el primer método de cultivo del champiñón. En 1780, Chambry observó que el champiñón podía crecer con humedad y en ausencia de luz, por lo tanto el cultivo se trasladó a cuevas (Sierra, 1997).

En 1825, se producen en Holanda los primeros cultivos del champiñón y en 1865 este cultivo llegó a E. U. A. vía Inglaterra. Para 1900, esa industria empezaba a tomarse en cuenta desde el punto de vista técnico y científico. En 1930, el Dr. J. W. Sinden de la Universidad de Pennsylvania, en E. U. A., desarrolló la técnica de hacer que el micelio del hongo creciera sobre granos de trigo estériles dando un paso definitivo en la expansión industrial de este cultivo. Así, para 1960 en Estados Unidos tanto el gobierno como la iniciativa privada, habían abierto laboratorios para el desarrollo de esta industria (Sierra, 1997).

Otros hongos comestibles, como *Pleurotus ostreatus* comúnmente denominadas como setas, son conocidas desde tiempo inmemorial: existen registros de que se inicio su cultivo en el año 1900; y para 1974 ya estaba extendido en Japón, Italia, Suiza, Francia, Hungría, Taiwán, Corea del Sur y Tailandia (Chang y Miles, 2004).

El hongo *Lentinula edodes*, mejor conocido con el nombre japonés **shiitake** es un hongo comestible nativo del este de Asia. En China es también llamado "Xiang-gu" ó "Shiang-gu," (el hongo con fragancia). Es un hongo tradicional en China, Japón y Korea, que se cultiva en China aproximadamente desde los siglos X-XIII d. c. La forma rústica de cultivo del shiitake, aun utilizada en China y Japón, consisten en emplear troncos de madera de diversos árboles (*Quercus*, *Carpinus*, *Castanea*), principalmente de encino, como sustrato de cultivo (Chen, 2005). El método moderno para el cultivo del shiitake

es relativamente reciente y se desarrolló de manera sólida a finales de los 80's y se lleva a cabo con aserrín o paja suplementado con maderas duras, el cual se esteriliza en bolsas de polipropileno (Martínez-Carrera *et al.*, 2004).

2.1.1 Antecedentes del cultivo de hongos en México

México por sus raíces indígenas es un pueblo *micófago*, es decir, que come hongos, contrario a otros pueblos, como los ingleses y nórdicos europeos que son *micófobos*. El conocimiento que tienen los campesinos mexicanos sobre los hongos comestibles es una herencia del saber que tenían los diversos grupos étnicos que poblaban el país en la época prehispánica y que ha quedado plasmada en los códices indígenas y en las crónicas y escritos de la época de la colonia (Guzmán *et al.*, 1993).

México fue el primer país latinoamericano donde se inició el cultivo de hongos comestibles y se remonta a la llegada del Sr. José Leben Zdravie en 1931, procedente de Trieste, Italia, que inició los primeros ensayos sobre el cultivo de champiñón (*Agaricus*) en Texcoco, muy cerca de la ciudad de México, utilizando el sistema de camellones (Trigos y Martínez, 1998).

El inóculo o "semilla" utilizado procedía de la empresa Mushroom Suply Coa., (Pennsylvania, E. U. A.), la cual ya venía funcionando desde 1924. Después de notables esfuerzos y ensayos constantes, entre 1939 y 1945, Leben Zdravie logró establecer dos plantas productoras de champiñón (Trigos y Martínez, 1998). En 1974, por primera vez en México, se cultivó en Cuajimalpa una especie de hongo comestible diferente al champiñón, la especie *Pleurotus ostreatus*, conocida comercialmente como seta (Sierra, 1997).

El shiitake fue cultivado por primera vez en México en 1984, por la empresa "Hongos Leben, S. de R. L. de C. V." en Guadalupe Victoria, Estado de México. El cultivo se llevó a cabo usando como sustrato aserrín de encino, almidón, levadura deshidratada y sulfato de calcio, empleando una modificación de la técnica descrita por la patente de la Compañía Kiniko (E. U. A.) (Sierra, 1997).

2.2 Características morfológicas y taxonómicas del género *Lentinula*

De acuerdo con Pegler (1983) la clasificación taxonómica de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes* es la siguiente:

Tabla 1. Clasificación taxonómica de los hongos estudiados.

Reino:	Fungi
División:	Eumycotina
Subdivisión:	Basidiomycotina
Clase:	Holobasidiomycetes
Subclase:	Hymenomycetidae (Himenomycetes)
Orden:	Agaricales
Familia:	Tricholomataceae
Género:	<i>Lentinula</i>
Especie:	<i>Lentinula boryana</i> (Berk. & Mont) Pegler <i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler

Lentinula boryana presenta un píleo de 30-50 mm de diámetro, de color café claro a oscuro, subcarnoso, convexo más o menos plano, liso no estriado, frecuentemente con un círculo de escamas pequeñas y blancas hacia el margen; láminas de tipo anexadas a adnadas, separadas o subadheridas al pie, blanquecinas manchadas de café víáceo, delgadas (2-3 mm), muy juntas. Estípite de 0.3-8 mm de largo, de posición central a ligeramente excéntrico con la edad, consistencia fibrosa a dura, casi leñoso, con pequeñas escamas fibrosas en las tres cuartas partes inferiores; velo blanco y aracnoide que deja remanentes apendiculados sobre el margen del píleo y una zona anular en la parte superior del estípite; esporas de 5.5-6.5 X 3-3.5 μm , oblongas o elipsoides, hialinas, lisas, de pared delgada; basidios de 15-17 X 3-4 μm , tetraspóricos hialinos; trama himenoforal subregular, hialina, con hifas más o menos paralelas, con fibulas (Guzmán *et al.*, 1997). En la figura 1 se pueden observar cuerpos fructíferos de *L. boryana* cultivada en paja de cebada.

Lentinula edodes tiene el píleo de color café claro o café oscuro con el centro aún más oscuro, y café más pálido en las orillas en especímenes jóvenes o secos, de

curvado a aplanado, abombado. Contexto blanco y carnoso; de 50 a 110 mm de diámetro. Estípite de color café rojizo claro o café blanquecino, excéntrico pero algunas veces central (Singer y Harris, 1987). En la figura 2 se puede observar el cuerpo fructífero de *L. edodes* cultivado en bagazo de caña de azúcar.

Las diferencias físicas mas marcadas entre carpóforos de *L. boryana* y *L. edodes*, son tamaño de las fructificaciones, coloración de los carpóforos, *L. edodes* presenta tonos café-vináceo mas intensos y oscuros, y por ultimo la forma del píleo *L. boryana* presenta un píleo estilo sombrilla.



Figura 1. Cuerpos fructíferos de *Lentinula boryana* cultivada en paja de cebada.



Figura 2. Cuerpos fructíferos de *Lentinula edodes* cultivado en bagazo de caña de azúcar.

2.3 Distribución geográfica del género *Lentinula*

Lentinula edodes crece sobre madera muerta en una amplia gama de árboles hospederos, especialmente especies de los géneros *Quercus*, *Lithocarpus*, *Castanea*, *Castanopsis*, *Fagus*, *Carpinus*, *Platycarya*, *Juglans*, *Elaeocarpus*, *Magnolia*, *Pinus* y *Picea*. Se distribuye en Asia Oriental, especialmente Japón y China, pero no se extiende hacia zonas más frías y/o tropicales, prefiriendo una temperatura óptima alrededor de 24 °C (Pegler, 1983). Tradicionalmente es cultivado en troncos de árboles principalmente de encino (*Quercus sp.*), aunque para su producción en México son usados diversos materiales lignocelulosicos enriquecidos con virutas (Gaitán-Hernández, 2001).

Lentinula boryana crece sobre ramas podridas, troncos y tocones de muchos árboles. Se localiza en América tropical (el Caribe, sureste de estados Unidos y América del Sur) (Pegler, 1983). En México crece en las Montañas entre los 1000 – 2000 m de latitud, en bosques subtropicales (mesófilo de montaña) y de encino, en los estados de Durango, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Morelos, Michoacán, Oaxaca, Tamaulipas, Veracruz, Coahuila, México y Puebla (Mata y Guzmán, 1991; Ortega, 1996; Guzmán *et al.*, 1997; Gutiérrez, 2002).

Fue citado por primera vez en México en el estado de Guerrero por Guzmán en 1972. Por las similitudes morfológicas de *Lentinula boryana* con *Lentinula edodes*, shiitake Japonés, se le ha dado el nombre común de shiitake americano, aunque también se le conoce como hongo de encino, hongo de palo, guaje, cuerudo, oak's mushroom y log's mushroom; surgiendo así, la posibilidad de cultivarlo bajo un sistema similar al de la especie asiática.

En México es muy apreciado gastronómicamente por la población rural, quienes lo conocen popularmente como "hongo de encino"; en el estado de Veracruz se vende comúnmente en mercados populares del centro del estado, por ejemplo en Huatusco es un hongo muy consumido (León, 1998; Gutiérrez, 2002).

2.4 Importancia nutrimental y medicinal de *Lentinula*

2.4.1 Propiedades medicinales del shiitake japonés

Las propiedades medicinales de los hongos comestibles, así como sus efectos benéficos en la salud humana, han sido reconocidas durante más de 2000 años por diversas culturas en todos los continentes (Mizuno *et al.*, 2001).

Recientemente los hongos, son considerados alimentos funcionales. Los hongos también se pueden consumir en forma de nutricoséuticos y nutracéuticos. Los nutricoséuticos son usualmente consumidos en forma de cápsulas o tabletas (no son alimentos), tienen una aplicación terapéutica potencial. Los nutracéuticos o también llamados alimentos funcionales, son consumidos como parte de la dieta normal, pero que modifican o enriquecen la salud así como suplementos dietéticos (Smith *et al.*, 2000). La fibra, en particular la quitina y los β -glucanos, son los principales constituyentes funcionales de los hongos, los cuales, están presentes en cantidades variables (Manzi *et al.*, 2001).

El shiitake es considerado un excelente alimento funcional que proporciona beneficios a la salud y ayuda a prevenir o aliviar enfermedades si se consume regularmente dentro de la dieta. Sus propiedades medicinales se han popularizado comercializando suplementos alimenticios para reducir la hipertensión y tratar enfermedades cardiovasculares, la diabetes, el cáncer y la artritis, principalmente (Hobbs, 2000).

Diversos estudios químicos, demuestran la presencia de una amplia variedad de moléculas bioactivas en el shiitake (tabla 2).

Tabla 2. Moléculas bioactivas en el shiitake.

Compuesto	Propiedades
<p>Lentinano Es un β-(1,3)-glucano ramificado (2:5)</p>	<p>El "lentinano" es un polisacárido que estimula la producción de células antitumorales naturales, tales como las células T, células N-K (natural killer), macrófagos citotóxicos y anticuerpos. Presenta propiedades antibióticas adicionales contra bacterias, virus y parásitos (Ann-Teck y Mah-Lee, 2001).</p>
<p>LEM <i>Lentinula edodes</i> mycelium (polisacárido)</p>	<p>Estimula el efecto inmunológico en animales y humanos, estimula las células N-K (natural killer), inhibe la carcinogénesis del hígado en ratas mediante la activación del sistema inmunológico en concentraciones de 1 g/kg, e induce la apoptosis en células tumorales (Shinozawa y Toyomasu 2000; Hobbs, 2000).</p>
<p>Polisacárido KS-2 Es un péptido α-manana, con aminoácidos en su cadena peptídica</p>	<p>Induce la producción de interferón, de esta manera inhibe eficazmente el desarrollo del cáncer, particularmente del carcinoma de Ehrlich y del sarcoma 180 (Hobbs, 2000).</p>
<p>Enzima tioprolina</p>	<p>Bloquea la formación de compuestos carcinogénicos N-nitrosos, se ha demostrado que esta enzima, esta involucrada en la producción de estrógeno <i>in situ</i> (Hobbs, 2000).</p>
<p>Lentinacina o eritadenina Compuesto hipocolesterolémico aislado del shiitake</p>	<p>Acelera la excreción y descomposición metabólica del colesterol ingerido por el organismo, así logra disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre. Presenta una notable actividad antitrombótica, mediante la inhibición de la aglutinación de plaquetas (Hobbs, 2000).</p>

Sulfato de lentinano	Es un derivado del lentinano, ha demostrado tener una potente actividad para suprimir la expresión e infección del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), inhibiendo la actividad de la transcriptasa reversa (Chihara, 1993).
-----------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

2.4.2 Valor nutrimental del shiitake Japonés

Este hongo, contiene 88.3% de agua, siendo el nivel más bajo entre los hongos comestibles. Como puede apreciarse en la tabla 3, por su contenido de agua, el shiitake se asemeja mucho a las verduras y las frutas, así como a otros alimentos de amplio consumo como la leche y el huevo.

En peso seco el shiitake es una buena fuente de proteínas (22.7%; digestibilidad: 80-87%) y aminoácidos; otros alimentos de amplio consumo tienen un contenido equivalente o más bajo en proteínas, tales como la leche (25.2%), el maíz (11.2%), el frijol negro (24.2%) y el aguacate (7.1%), (tabla 4).

El shiitake presenta las vitaminas A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, D₂, D₃, niacina, pro-vitamina D₂, minerales (hierro, potasio, fósforo, cobre, selenio, calcio, magnesio, manganeso, zinc) y fibra dietética (47.3 g/100g). Asimismo, tiene un bajo contenido de grasa (3.2%) y carbohidratos digeribles (1-5%). No contiene colesterol (Chang y Miles, 2004).

El ergosterol presente en el hongo, es un precursor de la vitamina D en presencia de la luz solar en el cuerpo humano, la cual es necesaria para la absorción de calcio y fósforo para la formación de huesos e importante en la prevención de osteoporosis (Hobbs, 1995).

En la tabla 5 se muestra el análisis proximal del shiitake y su comparación con otras especies de hongos comestibles cultivados. Los valores en un análisis proximal de hongos comestibles, varía debido a la diversidad genética, así como la diferencia entre cepas, condiciones medio ambientales, y la naturaleza del sustrato de cultivo de los hongos (Chang y Miles, 2004).

En función de lo anterior, el shiitake, constituye un alimento excelente para dietas bajas en calorías, dietas ricas en fibra, así como para personas ovo-lacto-vegetarianas y

vegetarianas. En la tabla 6, se puede apreciar la aportación diaria de 250 g de shiitake fresco en la dieta de un individuo.

Tabla 3. Porcentaje de agua (humedad) en los principales hongos comestibles cultivados en México y su comparación con otros alimentos de amplio consumo popular.

Producto	Porcentaje de agua
Hongos comestibles	
Setas (<i>Pleurotus spp.</i>)	92.5
Champiñón blanco (<i>Agaricus bisporus</i>)	92.3
Champiñón portobello (<i>Agaricus bisporus</i> var. <i>Portobello</i>)	92.2
Shiitake (<i>Lentinula edodes</i>)	88.3
Otros alimentos	
Leche	87.8
Huevo	87.6
Carne de res	55.7
Verduras	
Pepino	96.4
Lechuga	95.1
Chile jalapeño	90.8
Zanahoria	89.8
Frutas	
Melón	92.1
Durazno	89.1
Naranja	86.1
Manzana	84.5

Fuente: Martínez-Carrera *et al.*, 2004.

Tabla 4. Contenido en proteína, y perfil de aminoácidos esenciales de los principales hongos comestibles cultivados comercialmente en México y su comparación con otros alimentos de amplio consumo popular.

Producto	Contenido									
	Base seca		Base húmeda							
	Proteína	Cisteína	Fenilalanina	Isoleucina	Leucina	Lisina	Metionina	Tirosina	Treonina	Valina
	Aminoácidos esenciales (mg/100 g hongo fresco) ^{1 y 2}									
	%									
Hongos comestibles ^{1 y 2}										
Shiitake	22.7	24	91	79	133	122	29	265	98	124
Champiñón blanco	23.9	23	107	91	153	143	33	283	111	121
Champiñón portobello	23.9	23	97	85	142	127	30	292	102	120
Setas	21.7	28	111	82	139	126	35	219	106	112
Otros alimentos³										
Leche	25.2									
Huevo	10.9									
Carne de res	16.9									
Tortilla	5.9									
Pan dulce	9.1									
Trigo	13.2									
Frijol negro	24.2									

Fuente: ¹ Martínez-Carrera et al., 2004. ² Chang y Miles, 2004. ³ Hernández et al., 1983.

Tabla 5. Composición proximal en base seca, de las principales especies de hongos comestibles cultivados internacionalmente.

Especie	Humedad	Proteína cruda (Nx 4.38)	Grasa cruda	Carbohidratos				Valor energético kcal/100 g
				Total	N-Libre	Fibra cruda	Cenizas	
<i>Lentinula edodes</i>	90.0-91.8	13.4-17.5	4.9-8.0	67.5-78.0	59.5-70.7	7.3-8.0	3.7-7.0	387-392
<i>Agaricus bisporus</i>	78.3-90.5	23.9-34.8	1.7-8.0	51.3-62.5	44.0-53.5	8.0-10.4	7.7-12.0	328-368
<i>Agaricus campestres</i>	89.7	33.2	1.9	56.9	48.8	8.1	8.0	354
<i>Auricularia sp.</i>	89.1	4.2	8.3	82.8	63.0	19.8	4.7	351
<i>Boletus edulis</i>	87.3	29.7	3.1	59.7	51.7	8.0	7.5	362
<i>Flammulina velutipes</i>	89.2	17.6	1.9	73.1	69.4	3.7	7.4	378
<i>Pleurotus florida</i>	91.5	27.0	1.6	58.0	—	11.5	9.3	265
<i>Pleurotus ostreatus</i>	73.7-90.8	10.5-30.4	1.6-2.2	57.6-81.8	48.9-74.3	7.5-8.7	6.1-9.8	345-367
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	90.1	26.6	2.0	50.7	—	13.3	6.5	300
<i>Volvariella diplasia</i>	90.4	28.5	2.6	57.4	40.0	17.4	11.5	304
<i>Volvariella volvacea</i>	89.1	25.9	2.4	—	45.3	9.3	8.8	276

Nota: Los datos están presentados en porcentaje en peso seco, excepto humedad (porcentaje en peso húmedo) y el valor energético (Kcal por 100 g). Fuente: Chang y Miles, 2004

Tabla 6. Aportación del shiitake, en los requerimientos nutrimentales diarios de acuerdo a recomendaciones oficiales nacionales e internacionales.

Nutrimento	Contenido en el shiitake fresco		Requerimiento promedio diario	Proporción aportada al requerimiento diario por consumir 250 g de shiitake fresco (%)
	100 g	250 g	Hombre-Mujer (35-54 años)	
Proteína	3.04 g	7.6 g	71-83 g	10.7-9.1
Fibra dietética	5.53 g	13.82 g	20-35 g	69.1-39.4
Vitamina A (retinol)	0.36 µg	0.90 µg	1000 µg	0.09
Vitamina B ₁ (tiamina)	0.069 mg	0.172 mg	1.0-1.3 mg	17.2-13.2
Vitamina B ₂ (riboflavina)	0.15 mg	0.375 mg	1.2-1.5 mg	31.2-25
Vitamina B ₆ (piridoxina)	0.046 mg	0.117 mg	2.0 mg	5.8
Vitamina B ₁₂ (cobalamina)	0.07 µg	0.175 µg	5-6 µg	3.5-2.9
Vitamina C (ácido ascórbico)	2.1 mg	5.25 mg	50 mg	10.5
VitaminaD ₂ (ergocalciferol) + VitaminaD ₃ (colecalfiferol)	3.40 µg	8.51 µg	5-10 µg	170.2-85.1
Niacina	2.36 mg	5.90 mg	16.6-22.5 mg	35.5-26.2
Calcio	9.44 mg	23.60 mg	500 mg	4.72
Hierro	0.47 mg	1.18 mg	10-18 mg	11.8-6.5
Potasio	304.1 mg	760.2 mg	2000-4000 mg	38-19
Fósforo	70.66 mg	176.65 mg	600 mg	29.4
Cobre	0.47 mg	1.19 mg	1.2-1.4 mg	99.1-85.0
Selenio	6 µg	16 µg	50-70 µg	32.0-22.8
Zinc	0.93 mg	2.34 mg	9-13 mg	26-18
Sodio	2.28 mg	5.70 mg	2000 mg	0.28
Manganeso	0.22 mg	0.57 mg	3-4 mg	19.0-14.2
Magnesio	18.54 mg	46.36 mg	300-350 mg	15.4-13.2
Energía (calorías)	± 28 cal	± 70 cal	1850-2500 cal	3.7-2.8

Fuente: Bourges, 1982

2.4 Situación actual de la producción comercial de los hongos comestibles

Las principales especies de hongos cultivados son el champiñón, las setas y el shiitake. La producción mundial supera los 6.2 millones de toneladas de hongos frescos por año. Su valor económico aproximado supera los 30 billones de dólares. La tasa promedio de incremento anual es superior al 11%. Se estima que se generan operaciones comerciales de alto valor agregado superiores a los 6 billones de dólares en los mercados internacionales de la industria alimenticia, farmacéutica, y de perfumería y cosméticos (Martínez- Carrera *et al.*, 2004).

La producción se efectúa en Estados Unidos, Europa, el Sudeste de Asia y México, este último considerado como el principal productor en América Latina. Según datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, (SAGARPA), el volumen de hongos producido en México en 2003 fue de 28 mil toneladas, siendo el 93 % de champiñón, el 6.97 % de setas y el 0.03 % de shiitake Japonés (SAGARPA 2003, citado por Mayyet *et al.*, 2004). México, según estadísticas de la FAO, es el exportador de hongos enlatados número 11 a nivel mundial con cuatro mil 608 toneladas métricas durante 2003 (Mayyet *et al.*, 2004).

Los principales estados productores en el país, son el Distrito Federal, Estado de México, Jalisco, Hidalgo, Morelos, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz. Los mercados para comercializar este producto son la central de abasto, tiendas de autoservicio y restaurantes, aunque también hay oportunidad en el extranjero, principalmente en Estados Unidos, a donde se exporta el hongo enlatado, deshidratado, congelado o en salmuera (Mayyet *et al.*, 2004).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

El aumento en la demanda de alimentos frescos de consumo humano y la dificultad de obtener especies de hongos silvestres comestibles durante diversas épocas del año, ha generado que hoy en día muchas especies de hongos sean cultivadas en condiciones controladas (Hobbs, 1995).

Investigaciones recientes demuestran la importancia nutrimental y medicinal de los hongos comestibles, siendo *Lentinula edodes* uno de los géneros más importantes debido a su capacidad de mejorar el funcionamiento del sistema inmunológico, de reducir niveles altos de colesterol y de ser útil en el tratamiento de tumores cancerígenos; sin embargo, una especie de este mismo género, como *Lentinula boryana*, no ha sido aprovechada debido al poco conocimiento que se tiene de esta.

Por ello, el presente trabajo se enfocó al análisis de la especie *Lentinula boryana*, la cual presenta similitudes morfológicas con *Lentinula edodes*, razón por la que se realizó una comparación de las condiciones de cultivo necesarias para ambas en sustratos no convencionales (paja de cebada, bagazo de caña de azúcar, hojarasca de árboles y subproductos agrícolas como la viruta de encino); así como, la determinación de compuestos volátiles, y el análisis químico proximal de las dos especies.

4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

4.1 Objetivo general

Cultivar y caracterizar en sustratos alternativos los hongos comestibles *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*

4.2 Objetivos específicos

1. Seleccionar la cepa de *Lentinula boryana* y establecer las condiciones óptimas para el cultivo comparativo entre *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*, en paja de cebada, bagazo de caña de azúcar, hojarasca de árbol de encino, hojarasca de árbol de haya y viruta de árbol de encino
2. Analizar la productividad de los hongos *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*
3. Determinar los compuestos volátiles en material fresco de los cuerpos fructíferos de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes* en los diferentes sustratos cultivados
4. Realizar el análisis químico proximal de los cuerpos fructíferos de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes* en los diferentes sustratos cultivados y su comparación con los datos bromatológicos de especies comerciales (Champiñón y Setas)

4.3 Hipótesis del trabajo

Lentinula boryana y *Lentinula edodes* son capaces de producir cuerpos fructíferos en sustratos alternativos (paja de cebada, bagazo de caña de azúcar, hojarasca de árbol de encino, hojarasca de árbol de haya y viruta de árbol de encino) y además presentan valores bromatológicos y compuestos volátiles similares entre sí y con otras especies de hongos comestibles.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción general

En la figura 3 se muestra el esquema general de la metodología realizada para la elaboración de este estudio, el cual se llevó a cabo, en la Planta Piloto del Instituto de Ecología, A. C. (INECOL) y en el Laboratorio de Alta Tecnología de Xalapa (LATEX), de la Universidad Veracruzana.

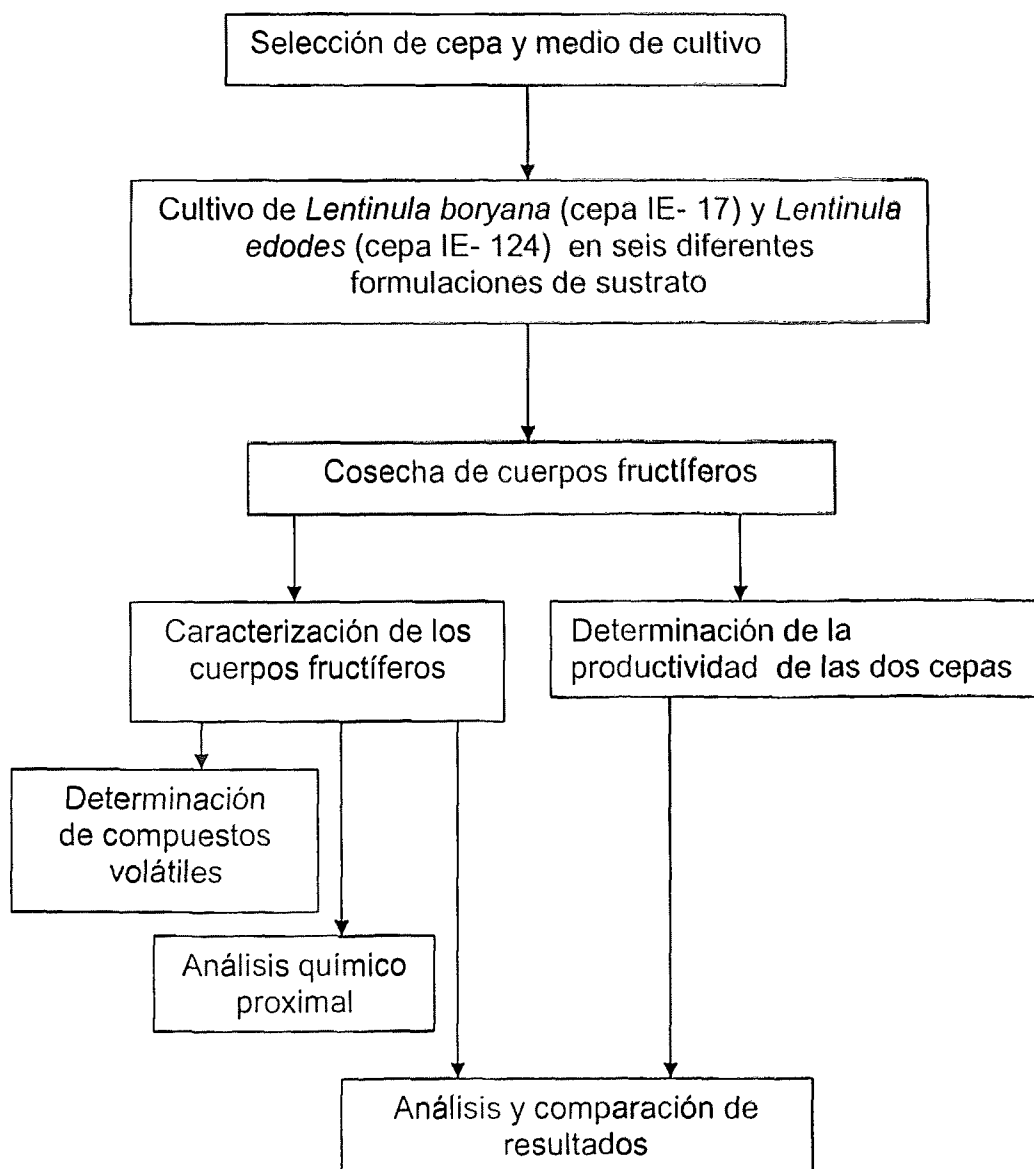


Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología realizada.

5.2 Material

5. 2. 1. Material biológico.

Las cepas de los hongos comestibles *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes* utilizadas en este estudio (tabla 7), fueron obtenidas del Cepario de Hongos del Instituto de Ecología, A. C., (registrado en el World Data Centre for Microorganisms no. 782). Este cepario resguarda más de 300 cepas de hongos comestibles.

Tabla 7. Cepas utilizadas en este experimento.

No. de registro en el Cepario INECOL	Especie	Procedencia
IE – 17	<i>Lentinula boryana</i>	México
IE – 93	<i>Lentinula boryana</i>	México
IE – 152	<i>Lentinula boryana</i>	México
IE – 154	<i>Lentinula boryana</i>	México
IE - 124	<i>Lentinula edodes</i>	Asia

5.3 Métodos

5. 3. 1. Selección de cepa y medio de cultivo del hongo *Lentinula boryana*

La primera etapa de este trabajo fue la selección de una cepa de *L. boryana* y la selección de la formulación del medio de cultivo para siembra y resiembra de las cepas. La selección se realizó entre cuatro cepas de *L. boryana* (IE-17, IE-93, IE-152, IE-154) y se utilizaron dos diferentes medios de cultivo, agar PDA (agar papa dextrosa) y agar PDA E (agar papa dextrosa, suplementado con polvo de encino al 10%) con cinco repeticiones para cada medio de cultivo. El objetivo de esta evaluación fue comparar la velocidad de crecimiento (diámetro micelial) en ocho días de incubación de las cepas y el efecto de agregar un suplemento al medio de cultivo agar PDA, con el fin de observar si existían diferencias en el desarrollo de las cepas de los hongos.

Los experimentos se realizaron en cajas petri de plástico de 9 cm de diámetro (Ø) y 1.5 cm de profundidad, conteniendo 20 mL de agar, se prepararon cajas petri con ambos medios de cultivo (agar PDA y agar PDA E), se esterilizaron por 20 minutos a 121 °C en autoclave vertical (Felisa).

Una vez solidificado el agar, se inocularon colocando en el centro de las mismas un fragmento de agar de 8 mm de diámetro (\emptyset) de micelio de cada una de las cepas de *Lentinula boryana*, posteriormente las cajas petri inoculadas se incuban a 25 ± 2 °C., esto se realizó por quintuplicado, para cada cepa se inocularon, cinco cajas petri con agar PDA y cinco cajas petri con agar PDA E.

Otra etapa para seleccionar la cepa de *Lentinula boryana* fue realizar un ensayo de cultivo en paja de cebada. Las cuatro cepas fueron cultivadas en paja de cebada (500 g peso húmedo suplementada con polvo de encino al 10%), y se inocularon con micelio al 200 %, para acelerar los resultados preliminares; el objetivo fue evaluar si el micelio, de las cuatro cepas de *Lentinula boryana* eran capaces de invadir y fructificar en un sustrato lignocelulósico.

5. 4. Cultivo masivo de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*

5. 4. 1. Resiembra de cepas

El primer paso fué la resiembra de *Lentinula boryana* (cepa IE-17) y *Lentinula edodes* (cepa IE -124) en agar PDA E (agar papa dextrosa suplementado con polvo de encino al 10%), el cuál se preparó siguiendo las indicaciones del fabricante y después fue esterilizado por 20 minutos a 121 °C. Una vez solidificado el agar en las cajas petri, se colocó en el centro de las mismas un fragmento de agar de 8 mm de diámetro (\emptyset) con micelio de los hongos, utilizando una campana de flujo laminar de seguridad biológica con flujo continuo; posteriormente, se incuban en una estufa de cultivo (FELISA) a 25 ± 2 °C por 20 días.

5. 4. 2. Elaboración del inóculo

Para la elaboración del "inóculo o semilla" del hongo se utilizó: semilla de mijo (*Panicum milliaceum* L.) 1000 g, la cual, se lavó e hidrató con agua corriente por 24 h a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo de hidratación, se lavaron nuevamente y se les escurrió el exceso de agua. Posteriormente se le adicionó 100 g de polvo de encino (previamente hidratado al 100% de humedad), la turba (15 g) y el yeso (15 g), esto se mezcló totalmente y posteriormente se colocaron 100 g en bolsas de polietileno alta densidad de 15 x 26 y se esterilizó a 15 lb por 90 min. Una vez estériles se

colocaron en la campana de flujo laminar y una vez fría la mezcla se inocularon, para lo cual se cortó el micelio del hongo previamente cultivado (en agar PDAE) a un tamaño de 1 cm² el cual se colocó en la semilla ya esterilizada, esto se homogenizó y se incubó a 25±2 °C por 25 días.

5. 4. 3. Preparación del sustrato

Se utilizaron los siguientes sustratos de cultivo: paja de cebada, bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), hojarasca de árbol de encino (*Quercus* spp.), hojarasca de árbol de haya (*Platanus mexicana*) y *Quercus* spp., estos sustratos se suplementaron con polvo de encino; obteniendo, seis formulaciones diferentes para cultivar los hongos (tabla 8).

Tabla 8. Formulaciones de los sustratos utilizados en el cultivo de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*.

Formulación	Sustrato base	Suplemento	Abreviatura
I	Paja de cebada (84%)	Polvo de encino (E) (16%)	P. cebada +E
II	Bagazo de caña de azúcar (100%)	No se le adiciona suplemento	B. caña
III	Bagazo de caña de azúcar (84%)	Polvo de encino (E) (16%)	B. caña +E
IV	Hojarasca de árbol de encino (84%)	Polvo de encino (E) (16%)	H. encino +E
V	Hojarasca de árbol de haya (84%)	Polvo de encino (E) (16%)	H. haya +E
VI	Viruta de árbol de encino (84%)	Polvo de encino (E) (16%)	Viruta +E

El bagazo de caña de azúcar, fue proporcionado por el Ingenio Mahuixtlán, localizado en el municipio Mahuixtlán, Ver. Las hojarascas de los árboles se recolectaron en el parque urbano Cerro de la galaxia en la ciudad de Xalapa, Ver. La paja de cebada y la viruta de encino se obtuvieron de la planta piloto de micología experimental del INECOL.

La preparación de los sustratos para cultivar los carpóforos se realizó de la siguiente manera: los sustratos como la paja de cebada y hojarasca de los árboles se picaron primero en fragmentos de aproximadamente 5 cm utilizando una picadora eléctrica; el bagazo de caña de azúcar, así como la viruta de encino se ocuparon en la forma en que son obtenidos. Todos los sustratos fueron deshidratados en su totalidad. Posteriormente los sustratos se colocaron en canastillas metálicas, se hidrataron en un tanque de agua por espacio de 24 h, después se les escurrió el agua, se centrifugaron por 5 s para eliminar el exceso de agua, y se suplementaron con el polvo de encino (E) al 10%, se homogeniza el polvo en el sustrato.

Una vez realizado lo anterior, se colocó 1 kg de sustrato suplementado, (según la formulación), en bolsas de plástico con 2 microfiltros, se cerraron herméticamente, para después esterilizarse por 90 minutos a 121 °C y 15 lb de presión.

Una vez frío el sustrato se inició la siembra del inóculo. La siembra consistió en agregar 100 g de inóculo (semilla inoculada al 10 % con micelio de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*, ver el punto 5.4.2.), y homogenizarla perfectamente en todo el sustrato con la finalidad de que sea uniforme y evitar dejar áreas sin cubrir de semilla. Las bolsas inoculadas se etiquetaron con fecha, número de cepa y formulación.

5.4. 4. Incubación

Las bolsas ya inoculadas y debidamente cerradas se colocaron sobre estantes metálicos, en un cuarto acondicionado para tal efecto. En esta etapa el control de la temperatura y la luz son esenciales. La incubación se llevó a cabo en condiciones de total oscuridad a una temperatura óptima de crecimiento micelial de 25 a 28 °C por 50 días, se evitaron cambios bruscos en la misma. Transcurridos los primeros 40 días de incubación en total oscuridad se inició la estimulación de la aparición de primordios en dos etapas. La primer etapa consistió en someterlos a fotoperíodos de 6 a 7 horas diarias por espacio de 10 días; cuando se observaron primordios, se realizó la segunda etapa de estimulación, que consistió en provocar estrés a los hongos, para esto las bolsas se introdujeron por 36 h a 4 °C (cuarto frío). Posteriormente las bolsas se sacaron del cuarto frío, y se introdujeron al cuarto de producción, con o sin la aparición de primordios.

5.4. 5. Producción

Transcurridos 50 días, después del día de la siembra las bolsas incubadas previamente estimuladas por 24 h a 4° C, se pasaron al cuarto de producción, en esta etapa, las condiciones adecuadas fueron: temperatura de 18 °C ± 1, humedad del 80-100 % y con 4 disparos de aire al día, hasta su fructificación y corte de los cuerpos fructíferos. La primera cosecha se realizó de los 3 hasta los 5 días a partir de que se introdujeron al cuarto de producción y se obtuvieron de 3 hasta 4 cosechas. Entre una y otra cosecha se introdujeron en agua natural para estimular su fructificación y evitar su deshidratación. Las bolsas se revisaron periódicamente para evitar la aparición de organismos antagonistas (Mata y Guzmán, 1993; Guzmán *et al.*, 1993; Galtán-Hernández *et al.*, 2004). En la figura 4 se presenta un resumen del proceso general de producción del hongo *Lentinula* a partir de la selección de la cepa.

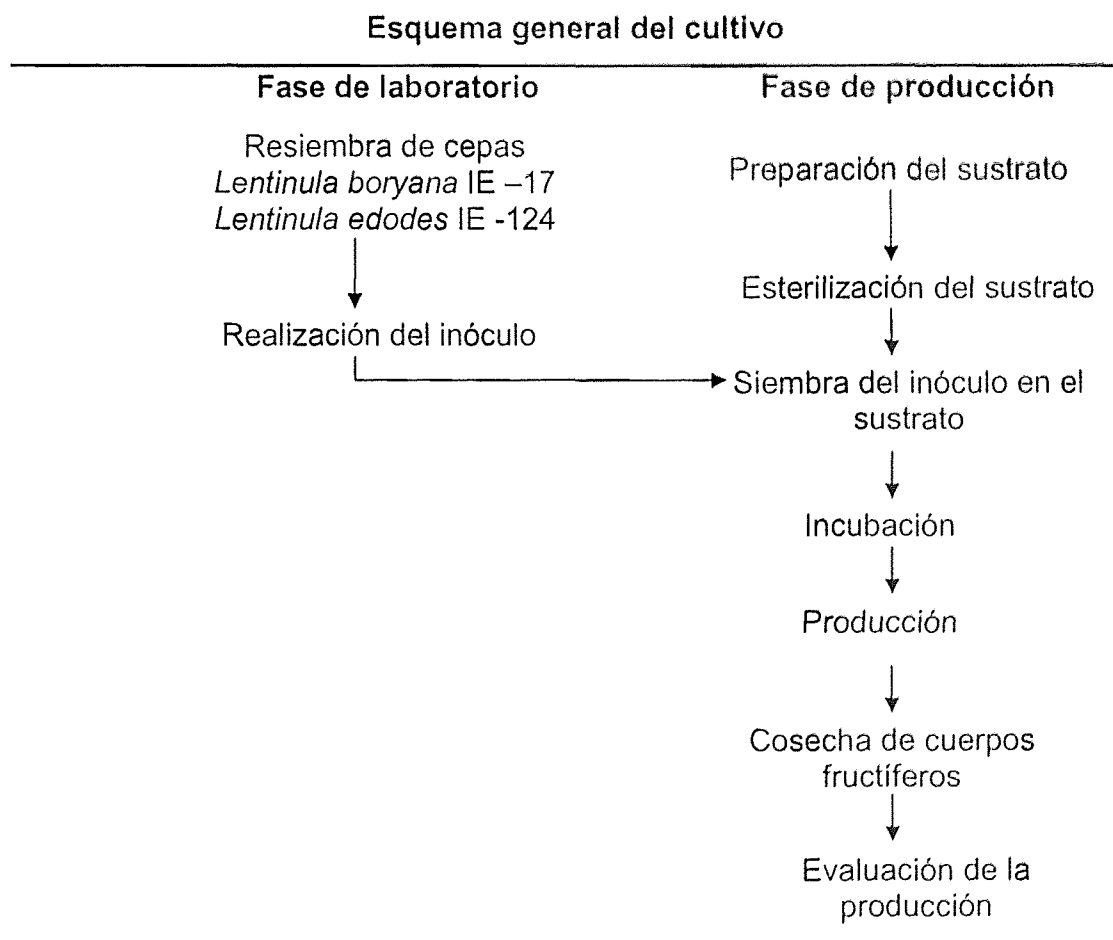


Figura 4. Diagrama de flujo para el cultivo y producción de los hongos *Lentinula*

5.5. Determinación de la productividad de las cepas

Para determinar la productividad de los hongos, se evaluaron tres aspectos de acuerdo a las siguientes fórmulas:

- 1) Eficiencia biológica: Relación entre el peso fresco de las fructificaciones y el peso seco del sustrato, expresado en porcentaje (Stamets y Chilton, 1993).
- 2) Tasa de producción: Cociente de la eficiencia biológica entre el tiempo de incubación y producción del hongo (Stamets y Chilton, 1993).
- 3) Rendimiento: Relación entre los pesos húmedos de las fructificaciones y sustrato, expresado en porcentaje (Stamets y Chilton, 1993).

5.6. Caracterización química de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*

5.6.1. Determinación de compuestos volátiles

Para el análisis de compuestos volátiles en los hongos, se utilizó 10 g de muestra fresca de cada formulación. Se utilizó el método de espacio de cabeza (Head Space) estático acoplado a cromatografía de gases/espectrometría de masas. Las condiciones de análisis fueron las siguientes:

Se utilizó un muestreador Headspace Sampler Agilent (modelo 7694 E) con una temperatura de equilibrio de 100 °C por un tiempo de 25 minutos. Con un volumen de inyección de 3 mL. Posteriormente, los compuestos volátiles ingresan a un cromatógrafo de gases Agilent Network GC System (modelo 6890 N) utilizando una columna HP5MS (5%-fenil-metilpolisiloxano) de 30 metros x 0.25 mm de diámetro interno x 0.25 µm de espesor de película y helio como gas acarreador con un flujo de 1 mL/min.

La rampa de temperatura fue la siguiente: una temperatura del horno inicial de 35 °C hasta alcanzar 240 °C con una velocidad de 20 °C por minuto, con un tiempo total de corrida de 12 minutos.

5.6.2. Análisis químico proximal

5.6.2.1. Determinación de humedad

Para determinar la humedad en las dos especies de hongos se utilizó el método de la estufa de aire (A.O.A.C. 1998, método oficial 926.07) Este método se basa en la pérdida de peso de la muestra por calentamiento en estufa, refiriendo su peso al peso total de la muestra, expresada en porcentaje.

Procedimiento:

En un crisol, se pesó 1 g de muestra fresca, posteriormente los crisoles se introdujeron en una estufa a una temperatura de 60 °C durante 6 h Después del tiempo requerido, se pasaron los crisoles a un desecador y se esperó que alcanzaran la temperatura ambiente, se pesaron. Después de esto, se volvieron a colocar los crisoles en la estufa y se desecaron nuevamente por 30 minutos, finalmente se enfriaron y se pesaron nuevamente, se alcanzó peso constante. Posteriormente se calculó el contenido de humedad a partir de la pérdida de peso de la muestra.

Cálculos:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_1 - W_2}{W} * 100$$

En donde:

W_1 = Peso del crisol más peso húmedo

W_2 = Peso del crisol más muestra seca

W = Peso de la muestra humedad

5.6.2.2. Determinación de cenizas

La determinación de cenizas se realizó por el método de calcinación directa en mufla (A.O.A.C. 1998, método oficial 940.26).

Procedimiento:

Las muestras obtenidas en la determinación de humedad, se calcinaron en mufla a 500 °C, hasta obtener cenizas gris claro (de 6 a 8 h). Posteriormente las muestras se enfriaron en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente, se pesaron y se calculó el porcentaje de cenizas.

Cálculos:

$$\% \text{ de Cenizas} = \frac{W_1 - W_2}{W} * 100$$

En donde:

W_1 = Peso del crisol con muestra calcinada

W_2 = Peso del crisol (tara)

W = Peso de la muestra

5.6.2.3. Determinación de fibra cruda

La determinación de fibra cruda se realizó por el método libre de asbesto (A.O.A.C. 1998, método oficial 930.20). Este método determina como fibra cruda la pérdida de peso por incineración que experimenta el residuo seco remanente después de la digestión de una muestra con soluciones de ácido sulfúrico al 1.25% e hidróxido de sodio al 1.25%.

Procedimiento:

1. Se prepararon las soluciones de ácido sulfúrico al 1.25% (6.9 mL de ácido concentrado se afora a 1000 mL de agua destilada) e hidróxido de sodio al 1.25% (12.89 g de hidróxido de sodio reactivo se afora a 1000 mL de agua desionizada).
2. Se pesó 2.5 g de muestra liofilizada, posteriormente se transfirió a un matraz erlenmeyer de 1000 mL, se agregó 200 mL de solución de ácido sulfúrico al 1.25 %, se colocó sobre una parrilla de calentamiento y se dejó ebulir por 30 minutos.
3. Pasados los 30 minutos, se filtró a través de un embudo buchner con papel filtro seco (de cenizas conocidas y previamente pesado), se lavó el residuo a través del buchner. Se repitió el lavado con tres porciones de 50 mL de agua destilada caliente.
4. Se colocó la muestra nuevamente en el matraz y se le adicionó 200 mL de solución caliente de hidróxido de sodio al 1.25 % y se dejó hervir durante 30 minutos. Posteriormente se filtró como ya se mencionó y se lavó con 25 mL de solución caliente de ácido sulfúrico al 1.25 % y tres veces con porciones de 50 mL de agua destilada caliente.

5. Se transfirió el residuo y papel a un crisol tarado, se secó por 2 h a 100 °C, posteriormente se enfrió y se pesó.

6. Se incineró en mufla a 550 °C por 5 h, posteriormente se enfrió en un desecador y se pesó nuevamente y se realizaron cálculos.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{W_1 - W_2}{W} * 100 - W_3$$

En donde:

W_1 = Peso de la muestra seca

W_2 = Peso de las cenizas

W = Peso de la muestra desengrasada

W_3 = % de cenizas del papel

5.6.2.4. Determinación de grasa cruda

La determinación de la grasa cruda se realizó por el método directo de extractor soxhlet (A.O.A.C. 1998, método oficial 963.15). Este método esta basado en la volatilización y condensación del hexano sobre la muestra produciendo un lavado continuo por medio del cual se extrae todo el material soluble en el hexano.

Procedimiento:

Se pesó 2.5 g de muestra liofilizada en un cartucho de extracción, se introdujeron en una estufa para eliminar humedad por 30 minutos, posteriormente se colocaron los cartuchos en un matraz balón y se montó el equipo Soxhlet, se mantuvieron en el extractor Soxhlet durante 4 h, con una condensación de 5 a 6 gotas/s. Finalmente se rotaevaporó el hexano contenido en el matraz balón, se secó en una estufa a 100 °C durante 30 minutos, se enfrió en un desecador y se pesó, posteriormente se realizaron cálculos.

Cálculos:

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{W_1 - W_2}{W} * 100$$

En donde:

W_1 = Peso del matraz con grasa

W_2 = Peso del matraz solo (tara)

W = Peso de la muestra

5.6.2.5. Determinación de proteínas

La determinación de proteínas se realizó por el método Kjeldahl (A.O.A.C. 1998, método oficial 979.09). Este método se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y carbón de la materia orgánica se oxidan hasta agua y bióxido de carbono, el ácido sulfúrico se transforma en dióxido de azufre, el cual reduce el material nitrogenado a amoníaco. Este amoníaco se libera después por la adición de hidróxido de sodio al 32 % y se destila recibiendo en una solución al 2 % de ácido bórico. Se titula el nitrógeno amoniacal con una solución valorada de ácido sulfúrico. En este método se usa un catalizador (mezcla reactiva de selenio) para aumentar la temperatura de la mezcla y acelerar la digestión. Los hongos tienen una cantidad significativa de nitrógeno no proteico conocido como quitina. De acuerdo a esto, el método Kjeldahl, determina la proteína cruda en hongos usando un factor de conversión de 4.38 para el contenido proteico en vez del usual de 6.25 adoptado para otros alimentos (Crisan y Sands, 1978).

Procedimiento:

Se utilizó el equipo Kjeldahl siguiendo la técnica descrita en la A.O.A.C. (1998), (método oficial 979.09).

Cálculos:

$$\% \text{ proteínas} = (\% \text{ Nitrógeno}) * (\text{Factor})$$

En donde:

Factor para la determinación de proteínas en hongos = 4.38

5.7. Diseño estadístico

El diseño estadístico se utilizó en la primera etapa del experimento, primero en la selección de la cepa del hongo *Lentinula boryana*, así como a los datos de la eficiencia biológica de las dos especies de hongos para todas las formulaciones estudiadas, a los datos obtenidos, se les práctico un análisis de varianza y la comparación de medias con la prueba de rango múltiple de Tukey ($\alpha= 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, son los siguientes:

6.1 Selección de cepa y medio de cultivo del hongo *Lentinula boryana*

6.1.1 Estimación del crecimiento micelial de *L. boryana*

El análisis de varianza para un diseño bifactorial realizado a los datos del diámetro micelial promedio (crecimiento radial) de las cuatro cepas de *L. boryana* en agar PDA y PDA E, demuestra que las cepas tienen un crecimiento estadísticamente diferente entre ellas (figura 5).

El crecimiento más abundante, se observó en agar PDA E. Las cepas IE-17, IE-93 y IE-152 presentaron un crecimiento más rápido y abundante en el agar PDA E, con respecto al agar PDA sin suplemento. El crecimiento micelial más atípico lo presentó la cepa IE-154, la cual, a diferencia de las otras cepas, tuvo mejor crecimiento en agar PDA sin suplemento.

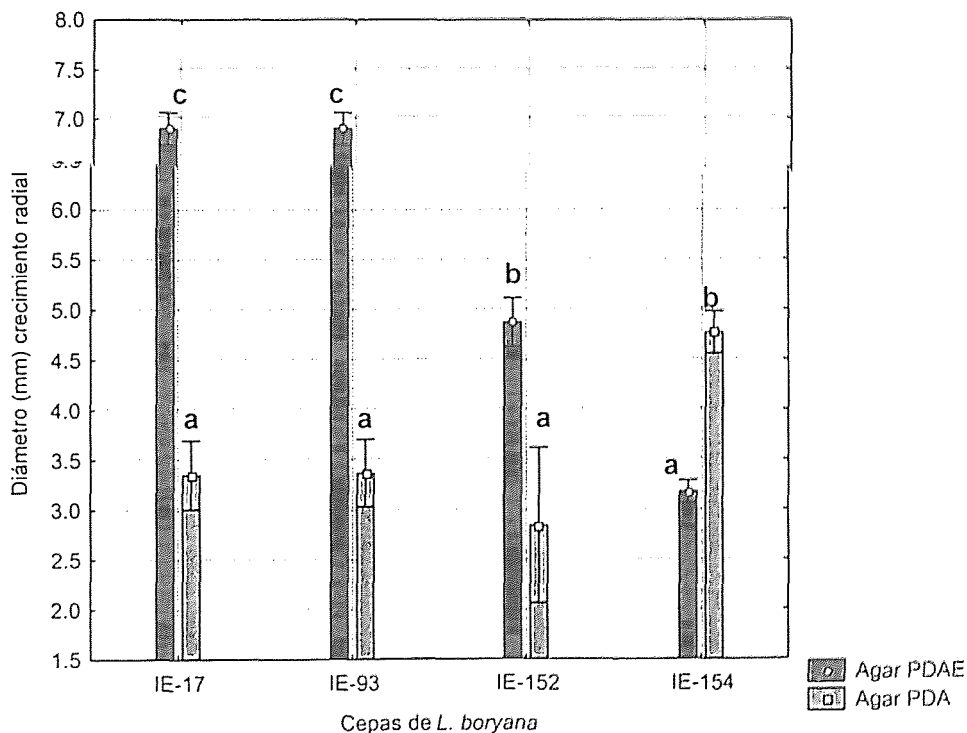


Figura 5. Diámetro promedio de los micelios de las 4 cepas de *L. boryana* a los 8 días de incubación en PDA y PDA E. Las letras diferentes en las barras, indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Tukey ($\alpha < 0.05$).

De acuerdo al análisis de interacciones entre cepas y medio de cultivo sólido, se puede observar, que hay diferencias significativas estadísticamente, en la adaptación y crecimiento de las cepas entre el agar PDA y el agar PDA E, encontrándose que el mejor desarrollo micelial se presentó en agar PDA E, en al menos tres cepas, se observó solo un desarrollo atípico (cepa 154); esto demuestra la variabilidad que existe entre cepas de una misma especie (Mata *et al.*, 2001).

Así, se tiene que el medio de cultivo sólido óptimo es el agar papa dextrosa suplementado con polvo de encino (PDA E), ya que vigoriza el micelio del hongo, por sus componentes ricos en lignina y fenoles, lo cual permite la reducción considerable de contaminantes (Mata y Savoie, 2005); las cepas que presentaron mayor capacidad de adaptación, así como mayor velocidad de crecimiento micelial, en agar PDA E fueron las cepas IE-17 y IE-93.

6.1.2 Rendimiento de *L. boryana* en paja de cebada

En el ensayo sobre paja de cebada, suplementada con polvo de encino al 20 % e inoculada con micelio al 200%, se observó que, el micelio de las cepas IE-93 y IE-154 se desarrollo en el sustrato completamente, pero no lograron desarrollar cuerpos fructíferos. Las cepas que se desarrollaron y crecieron en el sustrato con rapidez y produjeron cuerpos fructíferos fueron las cepas IE-152 y IE-17, esta última con mayor vigor, únicamente se obtuvo una cosecha de cada cepa (tabla 9).

Tabla 9. Rendimiento de las cepas de *Lentinula boryana* en paja de cebada.

No. de cepa	Cuerpos fructíferos (rendimiento en 500 g de sustrato)
IE – 17	54 %
IE – 93	*
IE – 152	21%
IE – 154	*

* No hubo producción de cuerpos fructíferos.

Los resultados obtenidos en esta primera parte permitieron seleccionar la cepa IE-17 de la especie *Lentinula boryana* para realizar el cultivo masivo de la segunda etapa de esta investigación.

6.2 Cultivo masivo de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*

6.2.1 Productividad de los hongos

El micelio de ambas especies de hongos creció vigorosamente en los sustratos, formando una masa algodonosa blanca, invadiéndolo completamente a los 50 días después de su inoculación. Posteriormente, el micelio cambió de color blanco a café-pardo e inició la formación de primordios, y de acuerdo a estos cambios las bolsas se estimularon para lograr fructificaciones. *L. boryana* fructificó a los 190 ± 9 días (6.3-0.3 meses) después del día de su inoculación. Mientras *L. edodes* fructificó a los 60 ± 12 días (2-0.4 meses) después del día de su inoculación.

Las fructificaciones de *L. edodes* obtenidas en las seis formulaciones, fueron robustas y de gran tamaño. Se obtuvieron carpóforos en colores café-pardo oscuros, algunos color vináceos, con escamas en el píleo (sombrero), como puede observarse en la figura 6.

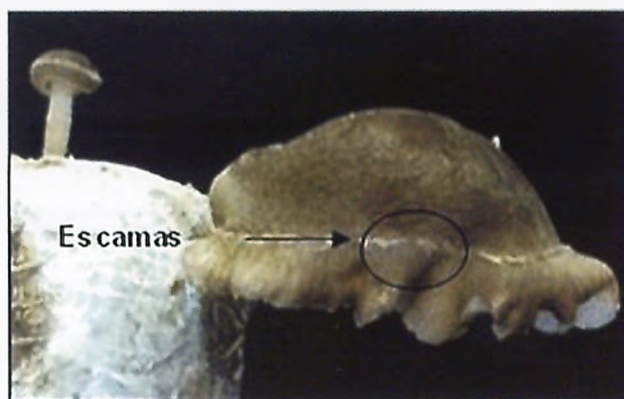


Figura 6. Carpóforos de *Lentinula edodes* cultivado en paja de cebada.

L. boryana presentó fructificaciones en coloraciones en café-pardo, y café claro. Los carpóforos obtenidos en las seis formulaciones de cultivo, fueron más robustos que los carpóforos recolectados por Guzmán *et al.* (1997) en forma silvestre, (figura 7), lo cual corrobora que las formulaciones aquí evaluadas fortifican el micelio del hongo, generando el incremento en los tamaños de las fructificaciones, en forma silvestre *L. boryana* presenta un píleo de 30-50 mm de diámetro y los carpóforos cultivados en este trabajo presentaron un píleo de 50 a 100 mm de diámetro.



Forma silvestre (Guzmán et al. 1997)



L. boryana cultivado en paja de cebada

Figura 7. Carpóforos de *Lentinula boryana* silvestre y cultivado.

En la tabla 10, se muestra la eficiencia biológica, tasa de producción y rendimiento final de *L. boryana* y *L. edodes* respectivamente, cultivadas en las seis formulaciones con 10 repeticiones en cada una de ellas.

Tabla 10. Productividad de la cepa IE-17 de *Lentinula boryana* y la cepa IE-124 de *Lentinula edodes*.

Sustratos Formulaciones	Eficiencia biológica (%)		Tasa de producción		Rendimiento (%)	
	IE-17	IE-124	IE-17	IE-124	IE-17	IE-124
I. P. cebada +E	2.36 a	12.89 a	2.62	0.22	2	11
II. B. caña	4.26 a	17.88 b	1.65	0.27	3	16
III. B. caña +E	5.77 b	13.41 a	0.027	0.18	4	12
IV. H. encino +E	6.78 b	16.51 a	0.027	0.2	4	10
V. H. haya +E	6.86 b	19.41 b	0.036	0.24	5	12
VI. Viruta + E	4.38 a	29.03 b	1.40	0.48	2	16

El análisis de varianza realizado en los datos de eficiencia biológica, de ambas especies, señala que existen diferencias estadísticas significativas entre *L. edodes* y *L. boryana* en la capacidad de producir cuerpos fructíferos (carpóforos) (figura 8).

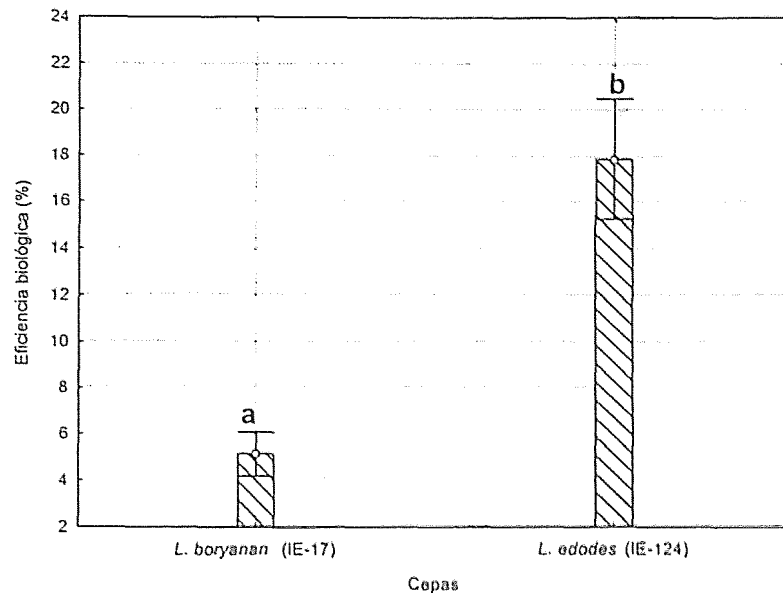


Figura 8. Eficiencia biológica promedio (%) de ambas especies, las letras diferentes (a, b) indican que hay diferencias significativas en la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha < 0.05$).

Estos resultados demuestran que *L. edodes* presenta mejor nivel de adaptación a las condiciones medioambientales y gran velocidad de crecimiento micelial para invadir cualquiera de los sustratos estudiados en esta investigación, dando como resultado una eficiencia biológica superior a *L. boryana* la cuál, es capaz de invadir todos los sustratos aquí evaluados, pero en un tiempo más prolongado y generando carpóforos menos robustos que *L. edodes*.

L. boryana logró adaptarse a las condiciones de cultivo e invadir todos los sustratos evaluados, aunque lo hizo en un período de tiempo más prolongado que *L. edodes*, pero al final si logró producir carpóforos en todas las formulaciones (tabla 11). La producción más baja de fructificaciones se dio en paja de cebada suplementada (formulación I.), seguida del bagazo de caña de azúcar sin suplemento (formulación II.), en comparación con los resultados obtenidos por Soto-Velazco *et al.* (1995) de *L. boryana*, que tuvo una eficiencia superior de 71.1 ± 22 % en bagazo de caña mezclado con bagazo de maguey tequilero. Sin embargo, estos resultados no disminuyen la importancia de este estudio, principalmente por que por vez primera se obtuvieron

fructificaciones de *L. boryana* en paja de cebada, viruta de encino, hojarasca de encino y hojarasca de haya suplementadas.

En este trabajo los mejores sustratos para cultivar carpóforos de *L. boryana* fueron la hojarasca de haya+E (formulación V.) y hojarasca de encino+E (formulación IV.), es importante mencionar que la utilización para el cultivo de carpóforos en hojas de árboles, ha sido poco estudiado, pero se han logrado hacer algunos cultivos del género *Pleurotus* en trabajos previos realizados por Martínez-Carrera *et al.* (1986); Bernabé-González y Arzeta-Gómez (1994) y Rodríguez *et al.* (1998).

Tabla 11. Eficiencia biológica promedio y desviación estándar de *L. boryana* en los sustratos estudiados, con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha 0.05$).

Sustratos (Formulaciones)	Eficiencia biológica (%)
I. P. cebada +E	2.36 (1.42)a*
II. B. caña	4.26 (2.23)a
III. B. caña +E	5.77 (2.52)b
IV. H. encino +E	6.78 (4.31)b
V. H. haya +E	6.86 (3.55)b
VI. Viruta + E	4.38 (2.47)a

* Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas en los valores obtenidos de la eficiencia biológica con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha 0.05$).

Como se mencionó anteriormente, el presente trabajo es el primero en el que se logra cultivar *L. boryana* en hojarasca de árboles de encino y haya, en la figura 9 se pueden observar los carpóforos obtenidos en estos sustratos.

Los resultados obtenidos de la eficiencia biológica muestran que *L. edodes* tuvo mejor adaptación a las formulaciones así como a las condiciones físicas de cultivo, de este experimento que *L. boryana* (tabla 10).

L. edodes presentó mejor rendimiento en la producción de cuerpos fructíferos en la viruta de madera de encino (formulación VI.) tal como se esperaba, este sustrato resultó óptimo para el cultivo de hongos del género *Lentinula* tal como lo demostró Mata *et al.*

(1990) al ser el encino su hábitat natural; el segundo mejor sustrato de cultivo fue la hojarasca de haya (formulación V.) este sustrato al igual que en *L. boryana* resultó ser uno de los más óptimos para el cultivo de esta especie; se pueden observar los carpóforos obtenidos en estos sustratos en la figura 10. *L. edodes* tuvo su rendimiento más bajo en los sustratos paja de cebada suplementada (formulación I.), bagazo de caña de azúcar suplementado (formulación III.) y hojarasca de encino suplementada (formulación IV.).

Tabla 12. Eficiencia biológica (%) de *L. edodes* en los sustratos estudiados, con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha < 0.05$).

Sustratos (Formulaciones)	Eficiencia biológica (%)
I. P. cebada +E	12.89 (12.42)a*
II. B. caña	17.88 (4.63)b
III. B. caña +E	13.41 (4.93)a
IV. H. encino +E	16.51 (10.02)a
V. H. haya +E	19.41 (1.92)b
VI. Viruta +E	29.03 (10.97)b

* Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas en los valores obtenidos de la eficiencia biológica con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha < 0.05$).



Hojarasca de encino



Hojarasca de haya

Figura 9. Carpóforos de *L. boryana* en hojarasca de árbol de encino y árbol de haya.



Viruta de encino



Hojarasca de haya

Figura 10. Carpóforos de *Lentinula edodes* en viruta de encino y hojarasca de haya.

Los resultados estadísticos de la interacción entre especie y sustrato, muestran diferencias estadísticas significativas (figura 11), indican que la degradación del sustrato por el hongo, es controlado por la composición química de los diferentes sustratos, así como por la disposición genética del hongo (Mata y Savoie, 2005). De esta manera, los hongos aquí estudiados tuvieron un mejor desarrollo micelial en la formulación de viruta de encino+ E, principalmente *L. edodes*, esto puede deberse a que el árbol de encino, es el sustrato natural de estas especies. Seguido de la viruta de encino - E, se demostró que las hojarascas de los árboles de haya y encino, resultaron ser de todos, los mejores sustratos

para *L. boryana*. Los sustratos alternativos con mejor rendimiento de cultivo, fueron la viruta de árbol de encino y la hojarasca de árbol de haya.

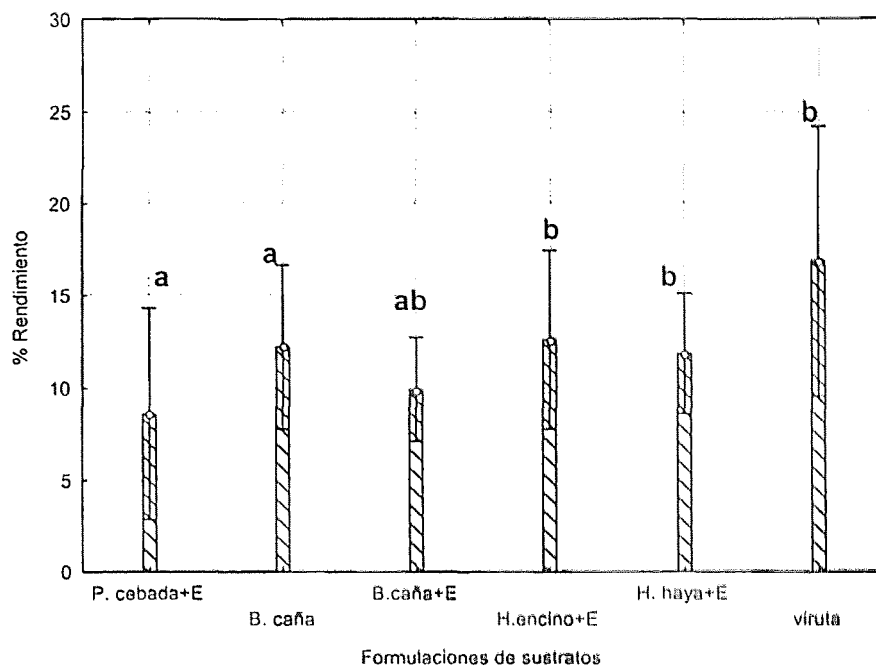


Figura 11. Interacción entre las especies de los hongos y las seis formulaciones. Las letras diferentes en las barras, indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Tukey ($\alpha < 0.05$).

6.3 Caracterización de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*

6.3.1 Compuestos volátiles identificados en los hongos

Los aromas detectados en los hongos, por el método de muestreo espacio de cabeza (Head Space) estático acoplado a cromatografía de gases/espectrometría de masas, fueron identificados con la base de datos NIST05.L con valores desde 38 hasta 99 grados de similitud, entre los compuestos de la base de datos y los compuestos de los hongos.

Los espectros de masas, de los compuestos volátiles identificados en *L. boryana* y *L. edodes*, se muestran en el apéndice (capítulo 9).

6.3.1.1 Compuestos volátiles identificados en *Lentinula boryana*

Se identificaron 7 compuestos volátiles en *L. boryana* (tabla 14), los aromas más abundantes fueron la cetona 3-octanona, y los alcoholes 3-octanol y 1-octen-3-ol, este último conocido como el "alcohol de los hongos" y reconocido como uno de los compuestos que más contribuye al aroma típico de los hongos, junto con otros no volátiles tales como carbohidratos, aminoácidos y compuestos azufrados. Así, de acuerdo a lo anterior, se puede concluir que el hongo *L. boryana* presenta un sabor agradable, ya que presenta de manera abundante compuestos volátiles de ocho carbonos, los cuales son conocidos como los principales contribuidores a la calidad del sabor en hongos (Combet *et al.*, 2004). Además se ha reportado que la cetona 3-octanona, y los alcoholes 3-octanol y 1-octen-3-ol, presentan una fuerte actividad antibacteriana (García *et al.*, 1997).

Tabla 13. Compuestos volátiles identificados en *Lentinula boryana*.

Sustratos (formulaciones)	Compuesto	Abundancia (%)	Tiempo de retención	Aroma
I. P. cebada +E	3-octanona	77.99	13.23	Dulce-afrutado*
	3-octanol	9.35	13.29	Aceite de bacalao*
	1-octen-3-ol	7.32	13.17	Hongo*
	Disulfuro de metilo	2.83	10.29	Huevo y ajo **
II. B. caña	Benzaldehído	2.51	13.03	Afrutado*
	3-octanona	72.47	13.23	Dulce-afrutado*
	3-octanol	17.49	13.29	Aceite de bacalao*
III. B. caña +E	1-octeno-3-ol	10.04	13.17	Hongo*
	3-octanona	56.56	13.23	Dulce-afrutado*
	1-octen-3-ol	27.01	13.17	Hongo*
	3-octanol	10.45	13.29	Aceite de bacalao*
IV. H. encino +E	Benzaldehído	3.64	13.08	Afrutado*
	Bencenacetaldehído	2.35	13.71	Frutal*
	3-octanona	84.58	13.22	Dulce-afrutado*

Tabla 13. Continuación

Benzaldehído	11.33	13.08	Afrutado*
2-pentyfuran	4.09	13.27	Mantequilla, arroz cocinado****
V. H. haya +E			
1-octen-3-ol	48.07	13.17	Hongo*
3-octanona	40.55	13.22	Dulce-afrutado*
3-octanol	9.47	13.29	Aceite de bacalao*
Benzaldehído	1.91	13.08	Afrutado*
VI. Viruta de encino			
3-octanona	65.28	13.16	Dulce afrutado*
1-octen-3-ol	19.89	13.22	Hongo*
3 octanol	14.83	13.28	Aceite de bacalao*

*Fuente: Combet *et al.*, 2004.

**Fuente: Hiraide *et al.*, 2004

***Fuente: Overton y Manura, 2000.

****Fuente: Yang *et al.*, 2008

6.3.1.2 Compuestos volátiles identificados en *Lentinula edodes*

En *L. edodes* se identificaron 8 compuestos volátiles (tabla 15), los aromas más abundantes fueron la cetona 3-octanona, el alcohol 1-octen-3-ol, limoneno y por último 1,2,4 trithiolano, el cuál ha sido reportado por Hiraide *et al.* (2004) que es muy importante en la calidad sensorial, y que junto con 1,2,4,6-tetratiofeno y lentionina, generan los compuestos característicos del sabor “azufrado o sulfuroso” del hongo shiitake.

Como se puede apreciar, ambas especies presentaron, como componente principal a la cetona 3-octanona; no obstante, sólo la especie *L. boryana* fue capaz de producir el alcohol 3-octanol en casi todos los sustratos, esto tal vez, pueda servir en un futuro, como marcador quimiotaxonómico entre ambas especies. Además, se ha reportado que esta sustancia esta relacionada con la actividad antifúngica, mostrando una clara inhibición en concentraciones de 86 ppm a 577 ppm contra hongos fitopatógenos (Pérez, 2006), y como hormona de crecimiento del nematodo de la madera de pino (Matzumori *et al.*, 1989). Por otro lado, el limoneno ha sido reportado como un compuesto con actividad insecticida, lo cual le confiere a este hongo una barrera contra el ataque de plagas (Hammond *et al.*, 2000).

Tabla 14. Compuestos volátiles identificados en *Lentiniula edodes*.

Sustratos (formulaciones)	Compuesto	Abundancia (%)	Tiempo de retención	Aroma
. P. cebada +E	3-octanona	79.72	4.6	Dulce-afrutado*
	1-octen-3-ol	18.93	4.8	Hongo*
	Bencenacetaldhído	0.76	5.1	Frutal*
	Benzaldehído	0.57	4.5	Frutal*
II. B. caña	3-octanona	79.58	4.6	Dulce-afrutado*
	1-octen-3-ol	9.92	4.9	Hongo*
	2-penten-1-ol	9.32	4.9	Hongo
	1,2,4- Trithiolane	1.18	5.5	Huevo y ajo **
III. B. caña +E	Limoneno	5.60	4.9	Cítrico*
	1,2,4- Trithiolane	1.18	5.5	Huevo y ajo **
IV. H. encino +E	3-octanona	41.25	4.5	Dulce-afrutado*
	1-octen-3-ol	41.14	5.0	Hongo*
	2- penten-1-ol	17.59	4.9	Hongo

Tabla 14. Continuación

V. H. haya +E

3-octanona	97.77	4.5	Dulce-afrutado*
2- penten-1-ol	2.22	4.9	Hongo*

VI. Viruta de encino

3-octanona	71.40	4.6	Dulce-afrutado*
2 pentylfuran	11.78	4.6	Mantequilla, arroz cocinado****
Limoneno	6.89	4.9	Cítrico*
Bencenacetaldehido	5.76	5.1	Frutal*
Benzaldehido	4.15	4.5	Frutal*

*Fuente: Combet *et al.*, 2004.

**Fuente: Hiraide *et al.*, 2004.

****Fuente: Yang *et al.*, 2008.

6.3.2 Análisis químico proximal de *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*

En las tablas 16 y 17 se muestran los resultados del análisis químico proximal de los hongos. Se encontró diferencias en los valores proximales entre ambas especies. Cabe resaltar de manera primordial, el contenido de proteína, donde el porcentaje más alto se presentó en un 16.43% para *L. boryana* y 20.91% para *L. edodes*, ambos valores presentes en los carpóforos cultivados en el sustrato hojarasca de árbol de encino suplementado con polvo de encino (formulación IV.), superando a los carpóforos obtenidos de viruta de árbol de encino suplementado (formulación VI.) con porcentajes de 9.72% para *L. boryana* y de 11.54% para *L. edodes*, el cual es el sustrato tradicional de cultivo del hongo shiitake.

Respecto a la grasa cruda en los carpóforos, las cantidades son poco significativas, en ambas especies de hongos. Se puede apreciar que tanto *L. boryana* como *L. edodes*, presentan valores similares al hongo *Agaricus bisporus* (champiñón) en el contenido de grasa, siendo estos valores más bajos a los reportados por Chang y Miles, (2004), para el hongo shiitake (tabla 16). Se apreció que los Carpóforos de *L. boryana* en los sustratos aquí estudiados presentan el valor energético más bajo, respecto a las especies más cultivadas reportado por Chang y Miles, (2004), contrariamente los carpóforos de *L. edodes* cultivados en el sustrato hojarasca de haya suplementado (formulación V.) superó los valores reportados para el hongo shiitake.

L. boryana y *L. edodes* en este experimento presentan un contenido de proteína aceptable respecto a las especies comerciales *Agaricus bisporus* (champiñón), *Pleurotus ostreatus* (setas) y *Lentinula edodes* (shiitake)) reportados por Chang y Miles (2004), como puede observarse en la tabla 16.

Con base en los resultados se puede mencionar que los sustratos aquí evaluados, son óptimos para cultivar *L. boryana* y *L. edodes*, en cuanto a su calidad nutrimental, ya que permiten obtener hongos con suficientes nutrimentos para ser empleados en la alimentación humana.

Tabla 15. Composición proximal de *Lentinula boryana* (IE-17) en cada sustrato estudiado.

Sustratos (formulaciones)	Humedad	Cenizas	Fibra cruda	Grasa cruda	Proteína cruda	Valor energético
I. P. cebada +E	82.47	6	14.96	1.1	12.58	101.7
II. B. caña	82.76	4.83	15.46	1.7	12.09	104.5
III. B. caña +E	84.99	4.62	17.10	1.9	12.35	121.2
IV. H. encino +E	74.50	4.24	30	1.5	16.43	148.4
V. H. haya +E	84.07	3.32	33.5	1.5	12.47	163.2
VI. Viruta de encino	61.13	2.15	16.82	1.3	9.72	67.2

Nota: Los datos están presentados en porcentaje en peso seco, excepto humedad (porcentaje en peso húmedo) y el valor energético (Kcal por 100 g de peso seco).

Tabla 16. Composición proximal de *Lentinula edodes* (IE-124) en cada sustrato estudiado.

Sustratos (formulaciones)	Humedad	Cenizas	Fibra cruda	Grasa cruda	Proteína cruda	Valor energético
I. P. cebada +E	93.78	5.63	63.51	2.3	14.77	336.3
II. B. caña	84.3	4.04	54.96	2.1	17.17	280.3
III. B. caña +E	90.99	7.07	25.42	2.6	20.62	238.3
IV. H. encino +E	93.03	3.26	64.42	2.16	20.91	364.4
V. H. haya +E	91.65	5.46	81.2	2.6	18.06	412.1
VI. Viruta de encino	87.9	6.72	31.94	1.7	11.54	182.9

Nota: Los datos están presentados en porcentaje en peso seco, excepto humedad (porcentaje en peso húmedo) y el valor energético (Kcal por 100 g de peso seco).

Tabla 17. Composición proximal de las especies de hongos más comerciales.

Especies	Humedad	Cenizas	Fibra cruda	Grasa cruda	Proteína cruda	Valor energético
<i>Agaricus bisporus</i> Champiñón	78.3-90.5	7.7-12.0	8.0-10.4	1.7-8.0	23.9-34.8 (Nx 4.38)	328-368
<i>Lentinula edodes</i> Shiitake	90.0-91.8	3.7-7.0	7.3-8.0	4.9-8.0	13.4-17.5	387-392
<i>Pleurotus ostreatus</i> Setas	73.7-90.8	6.1-9.8	7.5-8.7	57.6-81.8	10.5-30.4	345-367

Nota: Los datos están presentados en porcentaje en peso seco, excepto humedad (porcentaje en peso húmedo) y el valor energético (Kcal por 100 g de peso seco).

Fuente: Chang y Miles, 2004

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 Conclusiones

- Por primera vez, se logró el desarrollo de cuerpos fructíferos de *Lentinula boryana* en paja de cebada, bagazo de caña de azúcar, hojarasca de árbol de encino, hojarasca de árbol de haya, suplementados con polvo de madera de encino.
- La adición de polvo de encino en el medio de cultivo, como suplemento, favorece el desarrollo micelial.
- Uno de los aspectos más importantes para lograr una mayor producción de carpóforos de *Lentinula boryana* es la selección y utilización de una cepa vigorosa que logre una rápida adaptación y crecimiento en el sustrato.
- *Lentinula boryana* es un hongo comestible que dada su similitud con el shiitake japonés podría llegar a tener gran potencial de cultivo en nuestro país.
- *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*, contienen de manera abundante el aroma llamado "alcohol de los hongos" 1-octen-3-ol.
- No obstante solo *L. boryana* fue capaz de producir 3-octanol, el cual puede servir de marcador quimiotaxonómico entre ambas especies.
- Los resultados demuestran que el valor nutrimental de *L. boryana* es favorable en comparación con los hongos *A. bisporus*, *Pleurotus* y *L. edodes*.
- La hojarasca de árbol de encino suplementada con polvo de encino, resultó ser el mejor sustrato para ambas especies al producir carpóforos con el más alto contenido de proteínas.

7.2 Recomendaciones

- La cepa IE 17 de *L. boryana* podría utilizarse en estudios de mejoramiento y selección genética, encaminados a la adaptación de esta especie al cultivo comercial en sustratos alternativos. Se podría iniciar un programa de entrecruzamientos a partir del aislamiento de micelios monospóricos, con el fin de obtener cepas mejoradas que presenten niveles más altos de producción en tiempos más cortos.

- Sería importante realizar muestreos intensivos en el campo para aislar un mayor número de cepas de *L. boryana*, lo que permitiría contar con un banco de germoplasma para enriquecer las opciones de cultivo de esta especie.
- Con base en los resultados se puede mencionar que los sustratos aquí evaluados, son óptimos para cultivar *L. boryana* y *L. edodes*, en cuanto a su calidad nutrimental, ya que permiten obtener carpóforos con suficientes nutrimentos para ser empleados en la alimentación humana.

8. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Ann-Teck Y.; Mah-Lee M. 2001. An Improved method for the isolation of lentinan from the edible and medicinal shiitake mushroom, *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Agaricomycetidae). International of Journal of Medicinal Mushrooms. 3: 9-19.
- A.O.A.C. 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16^a edition. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland.
- Bernabé-González T.; Arzeta-Gómez J. M. 1994. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre cáscara de cacahuete y hoja seca de maíz. Revista Mexicana de Micología. 10:15-20.
- Bourges H. 1982. Nutrición y alimentos, su problemática en México. Ed. Continental, México, D. F. 100 p.
- Chang S. T.; P. G. Miles. 2004. Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental Impact. Second edition. CRC Press, Boca Ratón, Florida. pp 50-389.
- Chen A. W. 2005. Shiitake bag cultivation. *In*: Mushroom Growers' Handbook. Chang S. T.; T. H. Quimio (eds). Impreso en Korea. pp 88-90.
- Chihara G. 1993. Medical aspects of Lentinan isolated from *Lentinus edodes* (BERK.) Sing. *In*: Mushroom Biology and Mushroom Products. Chang S. T.; J. A. Buswell; C. Siu-wai (eds). pp. 261-265.
- Combet E.; Burton K. S.; Easwood D. C.; Griffiths G.; Henderson J. 2004. Mushroom flavor biogenesis in *Agaricus bisporus*. *In*: Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi. Romaine, Keil, Rinker and Royse (eds). Proceedings of the XVIth International Congress on the Science and Cultivation of Edible and Medicinal Fungi. Impreso en Miami, E.U.A. pp 403-409.

- Crisan E. V.; A. Sands. 1978.** Nutrition value. *In: The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.* Chang S. T. y Hayes W. A. (eds). Academic Press, Nueva York. pp 137-165.
- Gaitán-Hernández R. 2001.** Use of brown-rot fungus degraded substrate for the cultivation of *Lentinula spp* and *Pleurotus spp*. *Mushroom Research* 10(1): 13-21.
- Gaitán-Hernández R.; Salmones D.; Pérez Merlo R.; Mata G. 2004.** Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz, México. 56 p.
- García B.; Espinosa E.; Ogura T. 1997.** Volatile compounds by the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and their antibacterial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 45: 4049-4052.
- Gutiérrez L. M. T. 2002.** Cultivo del hongo comestible *Lentinula boryana* (Berk. & Mont.) Pegler; aislamiento de cepas y selección de sustratos para la obtención de fructificaciones (Tesis de Licenciatura). Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 54 p.
- Guzmán G.; Mata G.; Salmones D.; Soto-Velazco C.; Guzmán- Dávalos L. 1993.** El cultivo de los hongos comestibles con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales. (Libro). Instituto Politécnico Nacional. Impreso en México. pp 1-30 y 152-153.
- Guzmán G.; D. Salmones; F. Tapia. 1997.** *Lentinula boryana*: morphological variations, taxonomic position, distribution and relation ships with *Lentinula edodes* and related species. *Rep. Tottori Mycology.* 35:1-28.
- Hammod D. G.; S. Rangel; I. Kubo. 2000.** Volatile aldehyde are promising broad spectrum postharvest insecticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 48: 4410-4417.

- Hernández M. A.; A. Chávez; H. Bourges. 1983.** Valor nutritivo de los alimentos mexicanos. Instituto Nacional de la Nutrición. México, D. F. 34 p.
- Hirade M.; Y. Miyazaki; Y. Shibata. 2004.** The smell and odorous components of dried shiitake mushroom, *Lentinula edodes* L: relation ship between sensory evaluations and amounst of odorous componets. Journal Wood Science. 50: 358-364.
- Hobbs C. 1995.** Medicinal mushrooms. An exploration of tradition, healing and culture. Michael Miovic (ed). 2a edition. Covert art. Botanica Press. pp 125-138.
- Hobbs C. 2000.** Medicinal Value of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (Agaricomycetidae). A Literature Review. International Journal of Medicinal Mushrooms. 2: 287-302.
- Leal J. R. 2000.** Biotecnología alimentaría. Coordinadores: García Garibay M., Quintero Ramírez R., López-Munguía A. (ed). Limusa. 3ª reimpresión. Impreso en México. pp 351-382.
- León E. H. 1998.** Investigación bibliográfica de los estudios químicos y farmacológicos de los hongos comestibles, tóxicos y alucinógenos del Municipio de Xalapa y alrededores. (Tesis de de Licenciatura). Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 56 p.
- Manzi P.; Aguzzi A.; Pizzoferrato L. 2001.** Nutricional and medicinal mushroom. Journal of Food Chemistry. 73: 321-325.
- Martínez-Carrera D.; Morales P.; Soto C.; Murrieta Ma. E.; Guzmán G. 1986.** Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre hojas usadas en la extracción de aceites esenciales. Revista Mexicana de Micología. 2: 119-124.
- Martínez-Carrera D.; Sobal M.; Morales P.; Martínez W.; Martínez M.; Mayett Y. 2004.** Los hongos comestibles: propiedades medicinales, y su contribución a la

alimentación mexicana. *El shiitake*. (Manual). Editado e impreso por Colegio de posgraduados, Campus Puebla.

Mata G.; Salmenes D.; Guzmán G. 1990. Cultivo del shiitake japonés, *Lentinus edodes*, en bolsas con viruta de madera. *Revista Mexicana de Micología*. 6: 245-251.

Mata G.; Guzmán G. 1993. Cultivation of *Lentinus boryanus* in wood shavings in Mexico. *Cryptogamic Botany*. 4: 47-49.

Mata G.; Delpech P.; Savoie J. M. 2001. Selection of strains of *Lentinula edodes* and *Lentinula boryana* adapted for efficient mycelial growth on wheat straw. *Revista Iberoamericana de Micología*. 18: 118-122.

Mata G.; Savoie J. M. 2005. *In: Mushroom Growers' Handbook*. Chang S. T. and Quimio T. H. (eds). Impreso en la republica de Korea. pp 44-50.

Matsumori K.; Izumi S.; Watanabe H. 1989. Hormona-like action of 3-octanol and 1-octen-3-ol from *Botrytis cinerea* on the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilum*. *Journal Agricultural of Biological Chemistry*. 53(7): 1777-1781.

Mayyet Y.; Martínez-Carrera D.; Sánchez M.; Macías A.; Mora S.; Estrada A. 2004. Consumption of edible mushrooms in developing countries: The case of Mexico. *In: science and cultivation of edible and medicinal fungi*. Romaine, Keil, Rinker y Royse (eds). *Proceedings of the XVIth international congress on the science and cultivation of edible and medicinal fungi*. Impreso en Miami, E. U. A. pp 440-435.

Mizuno M.; Kawakami S.; Hashioto T.; Ashida H.; Minato K. 2001. Antitumor Polysaccharides from Edible Mushrooms and Immunomodulating Action against Murine Macrophages. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 3: 89.

- Ortega C. P. 1996.** "Evaluación de la viabilidad de especies del género *Lentinus* (Fungi: Basidiomycetes) en nitrógeno líquido (Tesis de Licenciatura). Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 60 p.
- Overton S. V.; J. J. Manura. 2000.** Determination of volatile organic compounds in mushrooms. Supplies and services for mass spectrometers, gas chromatographs and liquid chromatographs. Scientific Instrument Services, Inc. (Disponible en línea en <http://www.sisweb.com/referenc/applnote/app-18.htm>) (Consulta: 14 de marzo de 2006).
- Pegler D. N. 1983.** The genus *Lentinus*. A world monograph. Kem. Bull. Add. Ser. X, ed. H.M.S.D. Impreso en Londres 350 p.
- Pérez S. R. 2006.** Fungitoxic activity against phytopathogenic fungi and the chemical composition of *Thymus zygis* essential oils in South Iberian Peninsula. *In*: Memoria del 1^{er} Congreso Iberoamericano sobre seguridad alimentaria "de la granja a la mesa, ida y vuelta", CIBSA 2006. (Disponible en línea en <http://redsicura.iata.csic.es/xarxa/ocs/viewabstrac.php2id=31&f=1>) (Consulta: 15 de julio de 2008).
- Ramírez J. 2002.** Los hongos, inflorescencias de la tierra poco valoradas. (Disponible en línea en www.conabio.gob.mx) (Consulta: 18 de febrero de 2005).
- Rodríguez R. M.; Soto-Velazco C.; Villaseñor L. 1998.** Utilización de hojarasca de parques y jardines públicos para cultivar *Pleurotus spp.* Revista Mexicana de Micología. 14: 67-69.
- Shinozawa H. B.; Toyomasu T. 2000.** Induction of apoptosis in cultured cells by extracts from shiitake (*Lentinula edodes*) mycelial culture broth. Mycoscience. 41: 623-631.

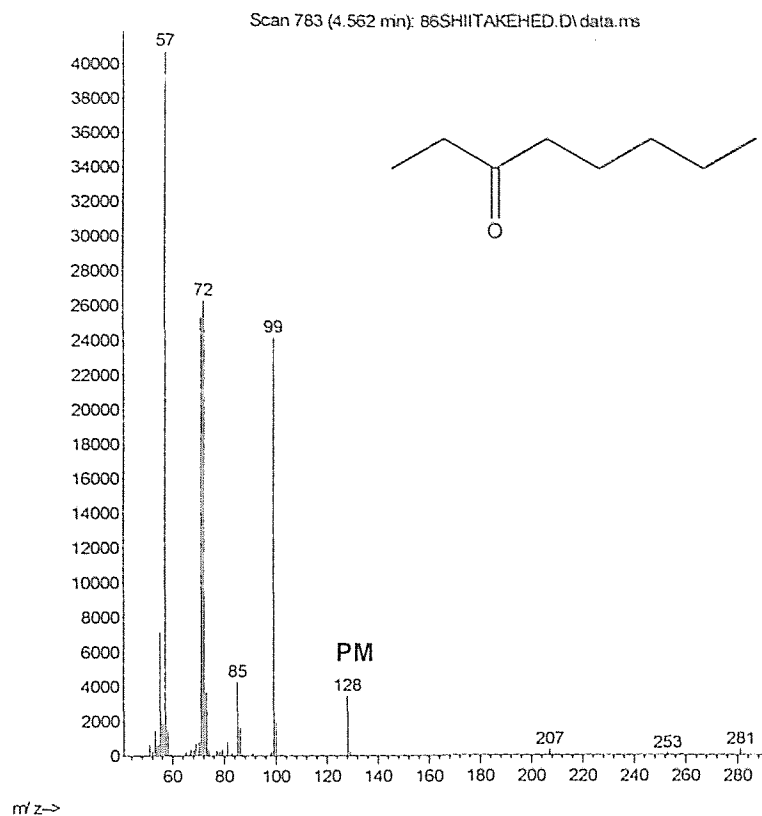
- Sierra P. E. 1997.** Caracterización tecnológica de la industria productora de hongos comestibles en México (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. pp 5-35.
- Singer R.; B. Harris, 1987.** Mushrooms and truffles. Botany, cultivation and utilization. Koeltz Scientific Books, Koenigstein. Impreso en Londres. pp 30.98.
- Smith J. E.; Rowan N. J.; Kok-Kheng T. 2000.** Functional food science and the medicinal mushrooms. International Journal of Medicinal Mushrooms. 2: 277-285.
- Soto-Velazco C.; Fausto S.; Guzmán-Dávalos L. 1995.** Cultivation of the mushrooms *Lentinus boryanus* and *L. edodes* on a mixture of maguey tequilero bagasse and sugarcane bagasse. The African Journal of Mycology and Biotechnology. 3: 115-120.
- Stamets P.; Chilton, J. S. 1993.** The mushroom cultivation. A practical guide to growing mushroom at home. Agarikon Press, Olympia, Washington. U. S.A. pp 40-45.
- Trigos L. A. R.; Martínez, C. D.1998.** Hongos comestibles cultivados como fuentes potenciales de ergosterol. Rivera A. U. (ed). Producción de Vitamina D₂ a partir de hongos macromicetos: aspectos científicos, técnicos y económicos. Publicación del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo- CYTED. Santa Fé de Bogotá, Colombia. pp 62-75.
- Yang D.S.; K. S. Lee.; O. Y. Jeong.; K. J. Kim.; S. J. Kays. 2008.** Characterization of volatile aroma compounds in cooked black rice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56 (1): 35-40.
- Zamora- Martínez M. C.; Nieto, P. P. 1995.** Natural production of wild edible mushrooms in the southwestern rural territory of Mexico city, Mexico. Forest Ecology and Management 72:13-20.

De 9. APENDICE

9.1 Espectros de masas de los compuestos volátiles identificados en *Lentinula boryana* y *Lentinula edodes*.

3-octanona

Abundance

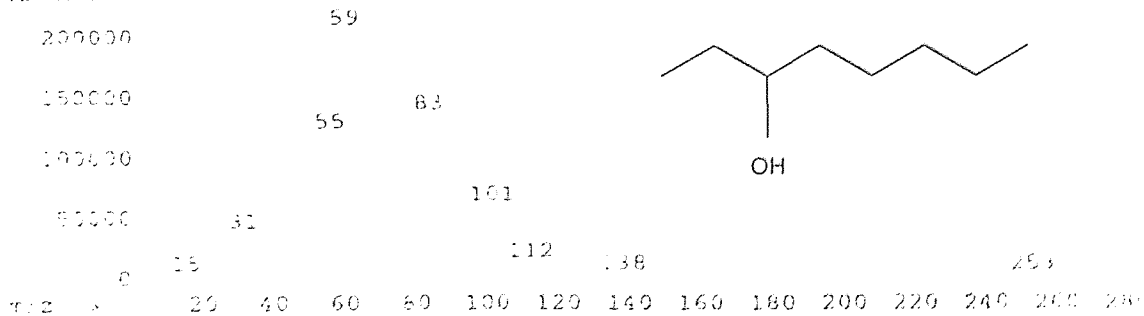


3-octanol

Peak 3 at Retention Time 13.29

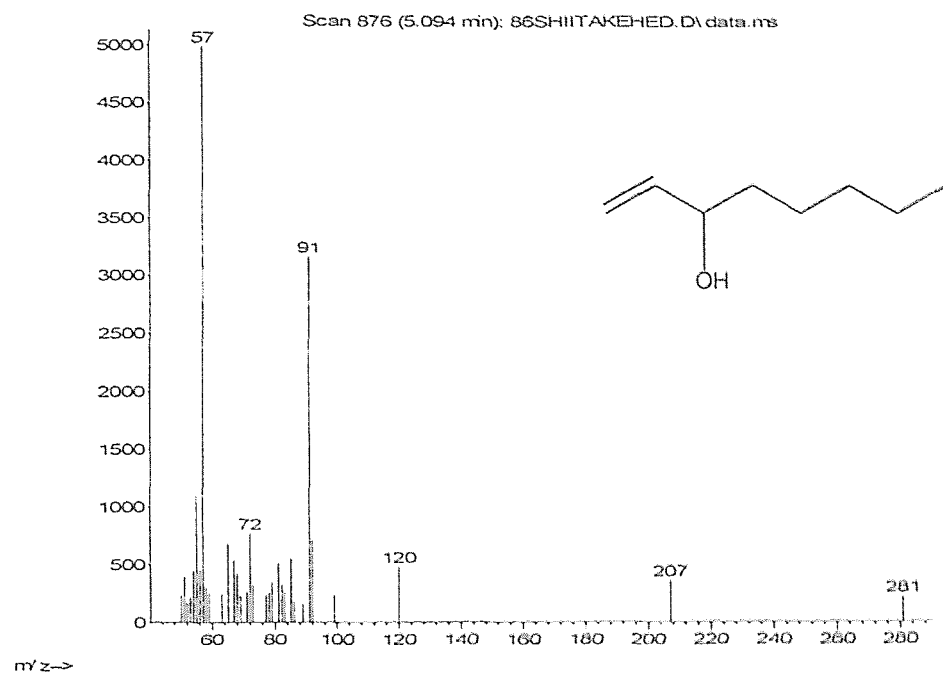
Abundance

Scan 559 (13.293 min): 1E17BC.D ()



1-octen-3-ol

Abundance

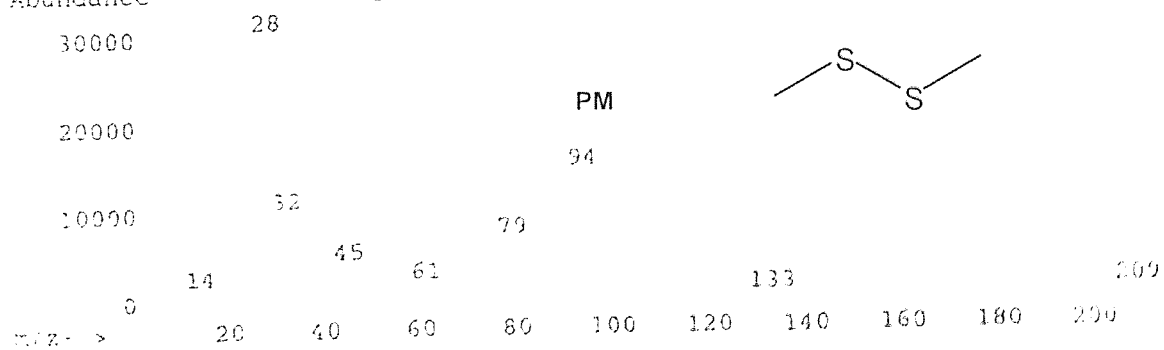


Disulfuro de metilo

Peak 1 at Retention Time 10.29

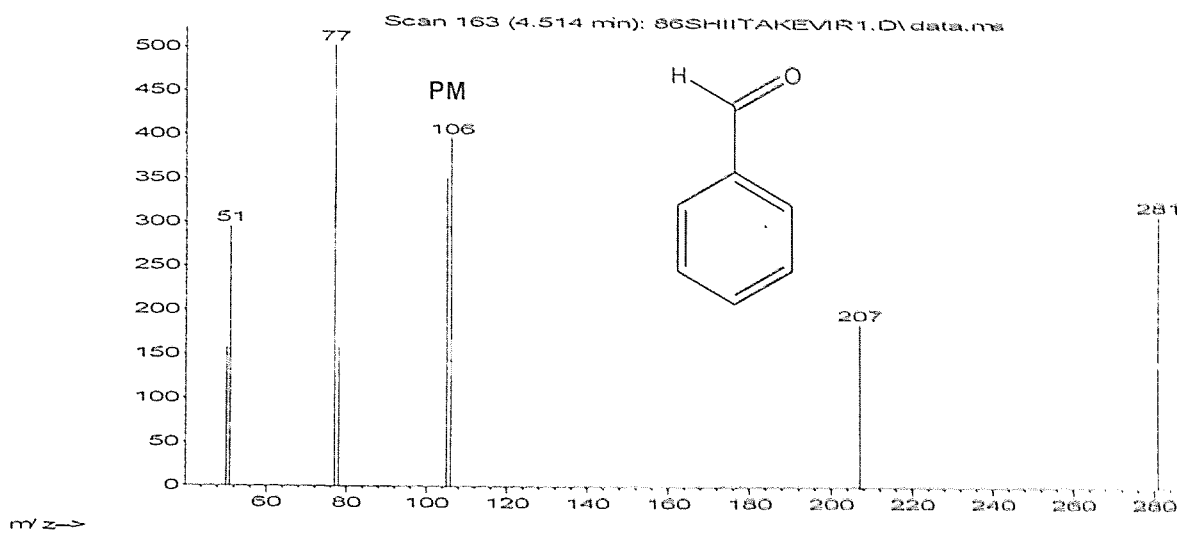
Abundance

Scan 239 (10.285 min): IE17PCEB.D (-)



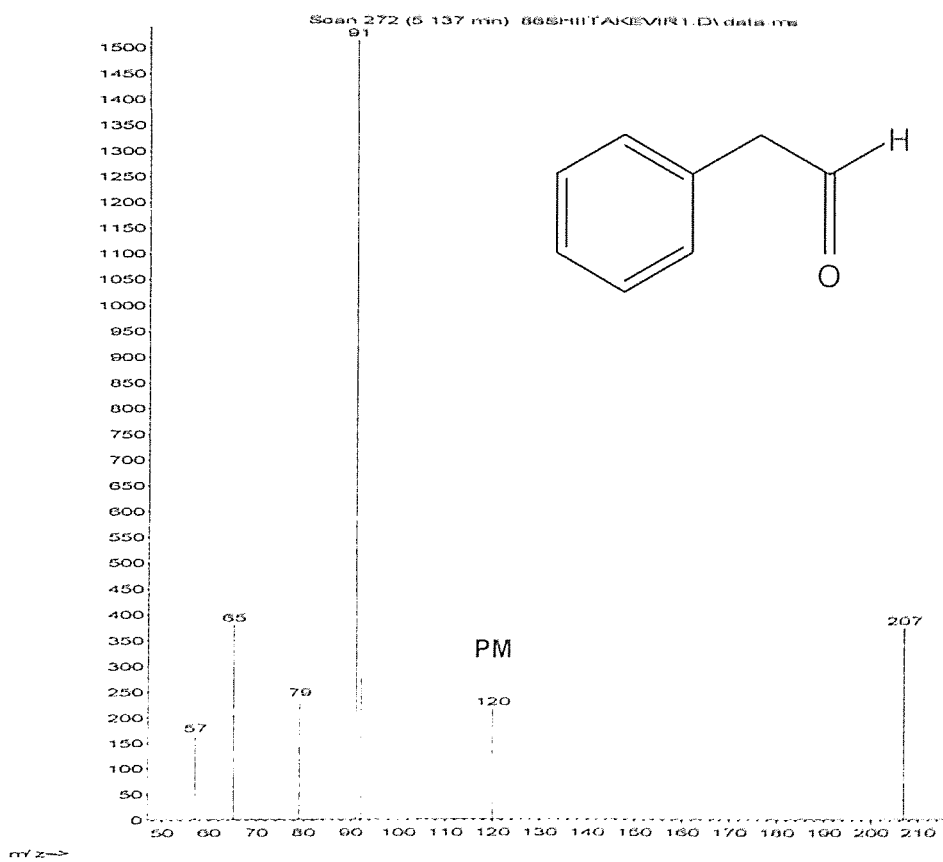
Benzaldehído

Abundance



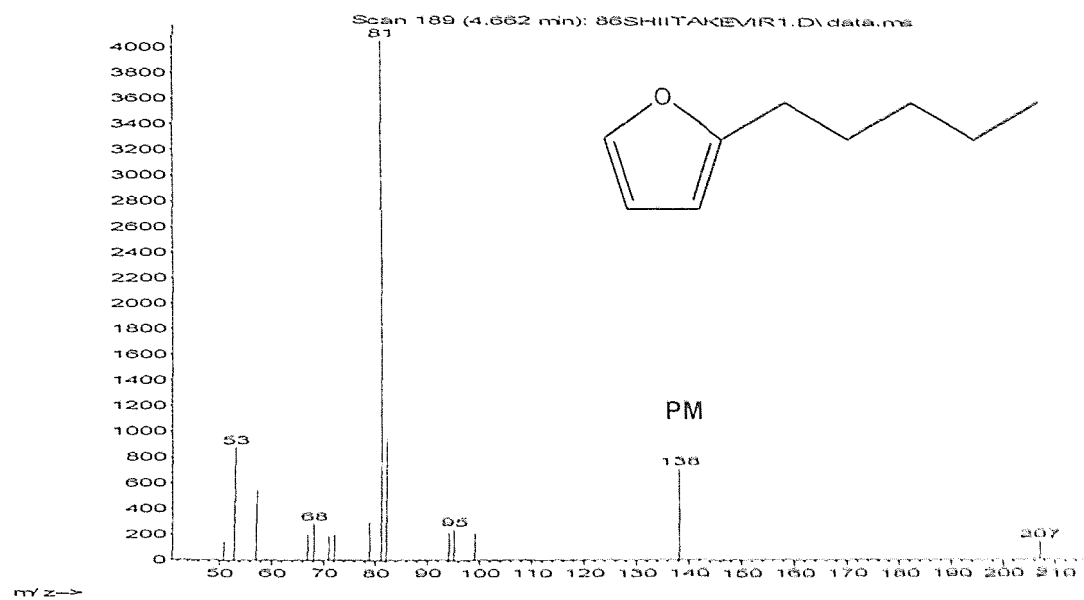
Bencenacetaldehído

Abundance



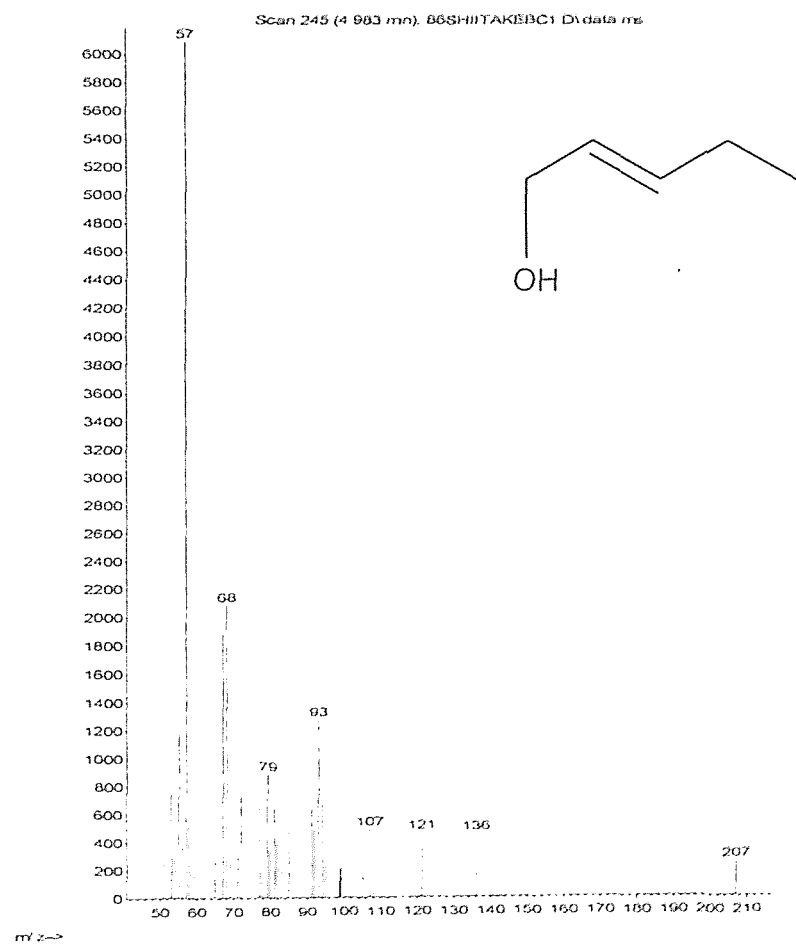
2-pentylfuran

Abundance

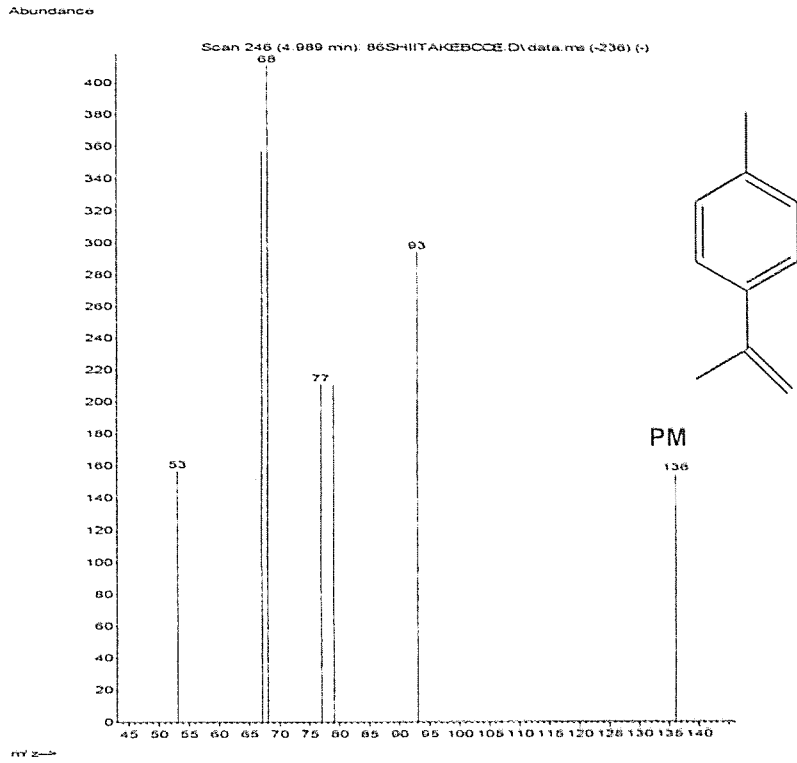


2-penten-1-ol

Abundance



Limoneno



1, 2, 4-trithiolano

