



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS PUEBLA**

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**CARACTERIZACIÓN Y CULTIVO DE DIFERENTES RECURSOS  
GENÉTICOS DE HONGOS Y SU IMPORTANCIA EN EL  
DESARROLLO REGIONAL DE LA ZONA CENTRAL DE MÉXICO**

**GILMAR APOLO RENDÓN HERNÁNDEZ**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PUEBLA, PUEBLA

2015

La presente tesis, titulada **Caracterización y cultivo de diferentes recursos fúngicos nativos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México**, realizada por el alumno: **Gilmar Apolo Rendón Hernández**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

PROFESOR CONSEJERO:



---

DR. PORFIRIO MORALES ALMORA

ASESOR:



---

DR. DANIEL CLAUDIO MARTINEZ CARRERA

ASESORA:



---

DRA. MERCEDES SOBAL CRUZ

ASESOR:



---

DR. ISAAC TELLO SLAGADO

Puebla, Puebla, México, 12 de enero de 2015



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS  
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

*"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón"*

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN  
CAMPUS PUEBLA

CAMPUE- 43-2-03

## CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe **Gilmar Apolo Rendón Hernández**, alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Porfirio Morales Almora**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Caracterización y cultivo de diferentes recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, 12 de enero del 2015

**Gilmar Apolo Rendón Hernández**

Nombre completo y firma

**Dr. Porfirio Morales Almora**  
Vo. Bo. Profesor/Consejero  
Nombre completo y firma

# CARACTERIZACIÓN Y CULTIVO DE DIFERENTES RECURSOS GENÉTICOS DE HONGOS Y SU IMPORTANCIA EN EL DESARROLLO REGIONAL DE LA ZONA CENTRAL DE MÉXICO

Gilmar Apolo Rendón Hernández, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2015

En México, gran parte de la población rural practica la recolección y el consumo de hongos. En el presente trabajo, se cultivaron tres especies de hongos comestibles, *Hericium erinaceus* (CP-663), *Volvariella bombycina* (CP-675) y *Fistulina guzmanii* (CP-378), utilizando como sustrato la formulación COLPOS-17, paja hidratada estéril (PHE) y aserrín de encino (AE), respectivamente. Los sustratos de cultivo se hidrataron con soluciones de ácido acetil salicílico (AAS) 100  $\mu\text{M}$  y 10 mM. La mejor eficiencia biológica (EB) se obtuvo con la cepa CP-663 ( $42.36 \pm 0.37\%$ ) en la solución de AAS 10 mM, así como con la CP-675 ( $33.54 \pm 0.23\%$ ) en el testigo. Al hongo *F. guzmanii* no se le midió la EB debido a la poca obtención de biomasa fresca durante su ciclo de cultivo, siendo para el testigo de 7.3 g, de 15.9 g para AAS 100  $\mu\text{M}$  y de 33.2 g para la solución de AAS 10 mM. Se seleccionó a *H. erinaceus* para analizar sus propiedades funcionales. Para ello, se deshidrataron los basidiocarpos cosechados de *H. erinaceus*, se molieron y realizaron maceraciones, utilizando solvente hidroalcohólico (32 %). Los macerados fueron concentrados en un rotavapor hasta la obtención del extracto, al cual se le determinó su rendimiento y las propiedades funcionales (antioxidantes y antimicrobianas). Se calculó la cantidad de proteína mediante el método de Bradford en los tres tratamientos (testigo, AAS 100  $\mu\text{M}$  y 10 mM). Se obtuvieron  $860.49 \pm 54.49 \mu\text{g mL}^{-1}$  en el tratamiento AAS 10 mM,  $434.42 \pm 22.58 \mu\text{g mL}^{-1}$  en AAS 100  $\mu\text{M}$ ,  $486.12 \pm 2.45 \mu\text{g mL}^{-1}$  en el testigo. Se cuantificó la concentración de polifenoles totales (CPT) en los extractos de *H. erinaceus* por el método de Folin-Ciocalteu, obteniéndose  $2.319 \pm 0.006 \text{ mg EAG}$  (Equivalentes de Ácido Gálico)/g de hongo seco para el testigo,  $2.271 \pm 0.007 \text{ mg EAG/g}$  de hongo seco con AAS (10 mM) y de  $1.892 \pm 0.030 \text{ mg EAG/g}$  de hongo seco con AAS (100  $\mu\text{M}$ ). La actividad bacteriostática y bactericida de los extractos se determinó en nueve bacterias por el método de dilución en microplaca. La mejor actividad antibacteriana se observó en la dilución 4 de la microplaca contra la CPB-6 (*Pseudomonas aeruginosa*) con una concentración del extracto de *H. erinaceus* de  $16.06 \text{ mg mL}^{-1}$  cultivado en el tratamiento de AAS 100  $\mu\text{M}$ . Se propone una estrategia para promover el consumo de estos recursos fúngicos y su cultivo en la región central de México, generando un paquete tecnológico que impulse el desarrollo y bienestar social en nuestro país.

Palabras clave: Cultivo, funcionalidad, hongos, *H. erinaceus*, recursos genéticos.

# CHARACTERIZATION AND CULTURE OF DIFFERENT GENETIC RESOURCES OF MUSHROOMS AND THEIR IMPORTANCE IN REGIONAL DEVELOPMENT OF THE CENTRAL AREA OF MEXICO

Gilmar Apolo Rendón Hernández, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2015

In Mexico, great part of the rural population collects and eats mushrooms. In this study, three species of edible mushrooms, *Hericium erinaceus* (CP-663), *Volvariella bombycina* (CP-675) and *Fistulina guzmanii* (CP-378), were grown using as substrate COLPOS-17 formulation, sterile straw grown hydrated (PHE) and oak sawdust (AE). The substrates were hydrated with acetylsalicylic acid (ASA) 100  $\mu\text{M}$  and 10 mM. The best biological efficiency (BE) was obtained in the CP-663 strain with  $42.36 \pm 0.37\%$  in the solution of 10 mM ASA and the CP-675  $33.54 \pm 0.23\%$  in the control. The BE in the mushroom *F. guzmanii* was not measured due to the low fresh biomass during its growing cycle, being 7.3 g in the control, 15.9 g for ASA 100  $\mu\text{M}$  and 33.2 g for the solution of ASA 10 mM. *H. erinaceus* was chosen to analyze their functional properties. To do this, the harvested basidiocarps of *H. erinaceus* were dehydrated, grounded and macerated, using a hydroalcoholic solution as a solvent (32 %). The extracts were concentrated on a rotary evaporator and their performance and functional properties (antioxidant and antimicrobial properties) were determined. The amount of proteins in the three treatments (control, ASA 100  $\mu\text{M}$  and 10 mM) was obtained  $860.49 \pm 54.49 \mu\text{g mL}^{-1}$  ASA treatment 10 mM,  $434.42 \pm 22.58 \mu\text{g mL}^{-1}$  in AAS 100  $\mu\text{M}$  and  $486.12 \pm 2.45 \text{ mM } \mu\text{g mL}^{-1}$  in the control was calculated by the method of Bradford. The concentration of total polyphenols (CPT) was quantified in extracts of *H. erinaceus* by the Folin-Ciocalteu method where  $2.319 \pm 0.006 \text{ mg EAG (gallic acid equivalents)/g}$  of dried mushroom were obtained in the control,  $2.271 \pm 0.007 \text{ mg EAG/g}$  of dried mushroom with ASA (10 mM) and  $1.892 \pm 0.030 \text{ mg EAG/g}$  of dried mushroom with ASA (100  $\mu\text{M}$ ). The bacteriostatic and bactericidal activity of the extracts was determined in nine bacteria by the microplate dilution method. The higher antibacterial activity was observed in the dilution 4 against CPB-6 (*Pseudomonas aeruginosa*) with a concentration in the extract of *H. erinaceus* of  $6.16 \text{ mg mL}^{-1}$  from the treatment of ASA 100  $\mu\text{M}$ . A strategy is proposed to promote the consumption of these resources and native fungal cultivation in the central region of Mexico, generating a technology package to promote the development and welfare in our country.

Key words: Crop, functionality, fungi, genetic resources, *H. erinaceus*.

## AGRADECIMIENTOS

A todos y cada uno de los ciudadanos mexicanos (as) que pagan impuestos y que mediante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados han hecho posible el financiamiento para realizar mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla, por creer en mí y por darme la oportunidad para realizar la Maestría en Ciencias en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional.

A Dios y a mi familia, por estar conmigo en todo momento, por su amor y apoyo incondicional aún en la distancia y cada uno de los integrantes de mi Consejo Particular.

A la Línea Prioritaria de Investigación 5, *Biotecnología Microbiana, Vegetal y Animal* por brindarme parte de los insumos que utilicé durante el proceso de la realización de este trabajo de investigación.

Al Biól. Wilfrido Martínez y a la M.C. Myrna Bonilla, por sus consejos, amistad y apoyo durante mi estancia de investigación y al M.C. Alan Helios Escudero Uribe por su apoyo incondicional, por brindarme su valioso tiempo, consejos y orientación para fortalecer este trabajo, pero sobre todo por ser un maestro para mí y un gran amigo.

A la Dra. Mercedes Sobal Cruz por sus valiosas observaciones, paciencia, consejos y apoyo incondicional durante mi investigación.

Al Dr. Porfirio Morales Almora por sus pertinentes comentarios, consejos, apoyo y sobre todo por su paciencia y por confiar en mí.

Al Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera por sus valiosas y oportunas observaciones y sobre todo por sus consejos para enriquecer y crecer como futuro investigador.

Al Dr. Isaac Tello Salgado por sus valiosas y oportunas observaciones, consejos, y apoyo para la realización de este trabajo.

A mi amada y adorada novia Martina Blanca Bautista por su amor e incondicional apoyo durante mi investigación y a mis amigos de corazón Vladimir Mitzi Dávila, Alfonso Rosado de los Monteros y Zulma Bolaños García.

## CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1 Desarrollo rural .....	2
2.2 Desarrollo sostenible .....	3
2.3 Producción rural de hongos comestibles .....	4
2.4 La biotecnología en el desarrollo .....	4
2.5 La biotecnología y los hongos.....	5
2.6 Generalidades de los hongos .....	6
2.7 Beneficios en la salud y la alimentación con hongos comestibles .....	8
2.8 Los hongos comestibles, medicinales y funcionales .....	9
III. REVISIÓN DE LITERATURA .....	12
3.1.1 Antibióticos.....	14
3.1.2 Aromas .....	15
3.1.3 Enzimas, inhibidores y reguladores .....	15
3.1.4 Requerimientos para el cultivo de hongos.....	16
3.2 El ácido acetyl salicílico.....	18
3.2.1 Aplicaciones del Ácido Salicílico.....	19
3.3 <i>Hericiium erinaceus</i> (Bull.) Pers .....	19
3.4 <i>Fistulina guzmanii</i> Brusis .....	21
3.5 Uso de <i>Fistulina guzmanii</i> como recurso .....	21
3.6 Género <i>Volvariella</i> .....	21
3.6.1 <i>Volvariella bombycina</i> (Schaeff.) Singer.....	22
3.6.1.1 Hábitat .....	22
3.6.1.2 Propiedades funcionales de <i>Volvariella bombycina</i> .....	22
3.7 Radicales libres .....	22
3.7.1 Fuentes de radicales libres .....	23
3.8 Antioxidantes .....	23
3.8.1 Polifenoles como fuente de antioxidantes .....	23
3.8.2 Determinación de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteau .....	24

3.9	Los hongos como fuente de antioxidantes .....	24
3.10	<i>Bacillus subtilis</i> como patógeno en la salud humana .....	24
3.11	<i>Escherichia coli</i> como patógeno en la salud humana.....	25
3.12	<i>Salmonella typhi</i> como patógeno en la salud humana.....	25
3.13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> como patógeno en la salud humana.....	26
3.14	<i>Listeria monocytogenes</i> como patógeno en la salud humana.....	26
3.15	<i>Staphylococcus aureus</i> como patógeno en la salud humana .....	27
3.16	<i>Stenotrophomona maltophilia</i> como patógeno en la salud humana .....	28
3.17	<i>Streptococcus agalactiae</i> como patógeno en la salud humana.....	28
3.18	Los hongos como fuente de compuestos antibacterianos.....	29
IV.	MARCO DE REFERENCIA .....	30
4.1	Residuos agroindustriales, agroforestales y agrícolas como sustrato de hongos ....	30
4.1.2	Celulosa .....	31
4.1.3	Hemicelulosa .....	31
4.1.4	Lignina .....	32
4.2	<i>Fistulina hepatica</i> Shaeffer :Fr. Syst .....	32
4.3	Antecedentes de cultivo de <i>Fistulina guzmanii</i> y <i>Hericium erinaceus</i> .....	33
V.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	35
VI.	HIPÓTESIS .....	36
VII.	OBJETIVO GENERAL.....	36
VIII.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	37
8.1	Material biológico .....	38
8.2	Medios de cultivo para propagar los hongos en estudio .....	38
8.2.1	Medio CYM.....	38
8.2.2	Medio EMS .....	39
8.3	Preparación del inóculo “semilla” para el cultivo en sustrato sólido .....	39
8.3.1	Preparación del grano .....	39
8.3.2	Esterilización .....	39
8.3.3	Inoculación e incubación de la “semilla” .....	39
8.4	Preparación de las unidades de producción (UP) para cultivo en medio sólido .....	40
8.4.1	Formulación COLPOS-17 .....	40



8.4.2	Preparación de la paja hidratada estéril.....	41
8.4.3	Preparación del aserrín de encino .....	41
8.5	Determinación del peso seco del sustrato y pH.....	41
8.6	Inoculación del sustrato estéril .....	42
8.8	Fructificación de las unidades de producción .....	42
8.9	Manejo postcosecha de los basidiocarpos .....	42
8.10	Determinación del rendimiento, eficiencia biológica (EB) e índice eficiente de degradación.....	43
8.11	Preparación de las muestras para maceración .....	43
8.12	Extracción por maceración .....	43
8.13	Proceso de concentración de los macerados.....	44
8.14	Peso residual de los extractos .....	44
8.15	Caracterización del extracto de <i>Hericium erinaceus</i> .....	44
8.16	Concentración de polifenoles totales.....	44
8.17	Curva de calibración para polifenoles .....	44
8.18	Concentración de proteína.....	45
8.19	Análisis estadístico .....	46
8.20	Prueba de la sensibilidad antibacteriana.....	46
8.20.1	Preparación de medios de cultivo.....	46
8.20.1.1	Medio de cultivo Agar Mueller Hinton.....	46
8.20.2	Obtención del inóculo bacteriano.....	46
8.20.3	Arreglo de las muestras en la microplaca.....	48
8.21	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos en la prueba de sensibilidad antibacteriana.....	52
8.22	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos en la prueba de sensibilidad antibacteriana.....	53
IX.	RESULTADOS .....	54
9.1	Eficiencia biológica de <i>Fistulina guzmanii</i> .....	55
9.2	Eficiencia biológica e Índice de Eficiencia de Degradación de <i>Volvariella bombycina</i> .....	58
9.3	Resultados del análisis estadístico para <i>Volvariella bombycina</i> .....	59
9.3.1	Eficiencia biológica (EB %) .....	59

9.4	Eficiencia biológica (EB) de <i>Hericium erinaceus</i> e Índice Eficiente de Degradación (IED).....	62
9.5	Índice Eficiente de Degradación (IED) de <i>Hericium erinaceus</i> .....	62
9.6	Extractos obtenidos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663).....	64
9.7	Análisis de la conductividad y pH de los concentrados de los extractos .....	65
9.8	Análisis de fenoles totales y proteína en los extractos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) 66	
9.9	Resultados del análisis estadístico para <i>Hericium erinaceus</i> .....	68
9.9.1	Eficiencia biológica (EB %) .....	68
9.9.2	Proteína .....	69
9.9.3	Polifenoles totales (Antioxidantes).....	69
9.9.4	Rendimiento de los extractos .....	70
9.10	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1).....	70
9.11	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1).....	71
9.12.	Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Salmonella typhi</i> (CPB-1) en 50 µL de inóculo.....	71
9.13	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1).....	72
9.14	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1).....	72
9.15	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1).....	73
9.16	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1).....	73
9.17	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	74
9.18	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	74
9.19	Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4) en 50 µL de inóculo .....	75
9.20	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	75
9.21	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs	

<i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	76
9.22 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	76
9.23 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	77
9.24 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6).....	77
9.25 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6).....	78
9.26 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6).....	79
9.27 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6).....	79
9.28 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6).....	80
9.29 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6).....	80
9.30 Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Pseudomona aeruginosa</i> (CPB-6) en 50 µL de inóculo .....	81
9.31 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7).....	81
9.32 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7).....	82
9.33 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7).....	82
9.34 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7).....	83
9.35 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7).....	83
9.36 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7).....	84
9.37 Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CPB-7) en 50 µL de inóculo.....	84
9.38 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Escherichia coli</i> (CPB-8) .....	85
9.39 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	85

9.40	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	86
9.41	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	86
9.42	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	87
9.43	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	87
9.44	Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Escherichia coli</i> (CPB-8) en 50 $\mu$ L de inóculo.....	88
9.45	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9).....	88
9.46	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9).....	89
9.47	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9).....	89
9.48	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9).....	90
9.49	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9).....	90
9.50	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9).....	91
9.51	Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-9) en 50 $\mu$ L de inóculo.....	91
9.52	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10).....	92
9.53	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10).....	92
9.54	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10).....	93
9.55	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10).....	93
9.56	Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10).....	94
9.57	Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10).....	94
9.58	Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Staphilococcus aureus</i> (CPB-10) en	

50 µL de inóculo .....	95
9.59 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) .....	95
9.60 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) .....	96
9.61 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) .....	96
9.62 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) .....	97
9.63 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) .....	97
9.64 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) .....	98
9.65 Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11) en 50 µL de inóculo .....	98
9.66 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13) .....	99
9.67 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13) .....	99
9.68 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13) .....	100
9.69 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13) .....	100
9.70 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13) .....	101
9.71 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13) .....	101
9.72 Unidades formadoras de colonias (UFC) de <i>Pseudomona aeruginosa</i> (CPB-13) en 50 µL de inóculo .....	102
X. DISCUSIÓN .....	108
XI. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS .....	115
XII. CONCLUSIONES .....	115
XIII. PERSPECTIVAS .....	116
XIV. ESTRATEGIA PROPUESTA PARA EL APROVECHAMIENTO Y CULTIVO DE LOS RECURSOS GENÉTICOS FÚNGICOS, COMESTIBLES, MEDICINALES Y FUNCIONALES: <i>Volvariella bombycina</i> , <i>Hericium erinaceus</i> y <i>Fistulina guzmanii</i> .....	117

12.1 Actores principales en la propuesta de estrategia.....	118
XV. PAQUETE TECNOLÓGICO.....	120
XVI. LITERATURA CITADA .....	125

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1</b> Fórmula estructural del ácido acetil salicílico.	19
<b>Figura 2</b> Metodología general utilizada para la presente investigación.	37
<b>Figura 3</b> Inóculo o “semilla” de los hongos utilizados colonizando el trigo estéril en frascos de 100 g.	40
<b>Figura 4</b> Ajuste de la cantidad de las bacterias a una concentración de $1 \times 10^8$ UFC mL <sup>-1</sup> para el diseño experimental y, de $1 \times 10^4$ UFC mL <sup>-1</sup> para verificar el inóculo 50 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Mueller Hinton.	48
<b>Figura 5</b> Distribución de las microdiluciones en la microplaca para la prueba de sensibilidad antibacteriana.	49
<b>Figura 6</b> Especificaciones de la inoculación de la bacteria en estudio para realizar la prueba de sensibilidad antibacteriana en esta investigación.	49
<b>Figura 7</b> Vista longitudinal de la forma en que se realizó la microdilución de los extractos en la microplaca.	51
<b>Figura 8</b> (A) Forma en la que se colocó la microplaca evitar la pérdida de humedad y B) Incubadora donde se colocó la microplaca.	51
<b>Figura 9</b> Representación de los pozos de la microplaca de donde fueron tomadas las muestras para evaluar el efecto bactericida de los extractos (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> .	52
<b>Figura 10</b> Modo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton para verificar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> diluido en la microplaca (D1-D7) y sembrado con la cepa bacteriana en estudio.	53
<b>Figura 11</b> Producción de basidiocarpos correspondientes a la primera y única cosecha de la cepa CP-378 de <i>Fistulina guzmanii</i> cultivada en aserrín de encino en sus tres tratamientos.	54
<b>Figura 12</b> Condiciones ambientales registradas en el módulo de producción de hongos comestibles del COLPOSCampus Puebla durante la fructificación de las cepa CP-378 de <i>Fitulina guzmanii</i> .	55
<b>Figura 13</b> Producción de basidiocarpos correspondientes a la primera cosecha de la cepa de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> , cultivada en paja estéril en tres tratamientos.	56

<b>Figura 14</b>	Condiciones ambientales registradas en el módulo de producción de hongos comestibles del COLPOS <i>campus</i> Puebla durante la fructificación de las cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> .	57
<b>Figura 15</b>	Eficiencia biológica acumulada del hongo <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675), cultivada en paja estéril de trigo hidratada con agua testigo y dos concentraciones de AAS 100 $\mu$ M y 10 mM.	58
<b>Figura 16</b>	Índice eficiente de degradación (IED) del hongo <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675), cultivada en paja estéril de trigo hidratada con agua (testigo) y dos concentraciones de AAS 100 $\mu$ M y 10 mM.	58
<b>Figura 17</b>	Producción de basidiocarpos correspondientes a la primera cosecha de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivado en la formulación COLPOS-17.	60
<b>Figura 18</b>	Condiciones ambientales registradas en el módulo de producción de hongos comestibles del COLPOS <i>campus</i> Puebla durante la fructificación de las cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivada en la formulación COLPOS-17.	61
<b>Figura 19</b>	Eficiencia biológica (%) acumulada del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663), cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) y en dos concentraciones de AAS (100 $\mu$ M y 10 mM).	62
<b>Figura 20</b>	Índice de Eficiencia de Degradación (IED) obtenido después de cultivar la cepa (CP-663) de <i>Hericiium erinaceus</i> a los 98 días.	63
<b>Figura 21</b>	Rendimiento de los extractos obtenidos de los basidiocarpos del cultivo de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivado en la formulación COLPOS-17 en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 $\mu$ M y 10 mM).	64
<b>Figura 22</b>	Conductividad y pH del concentrado de los extractos obtenidos de los basidiocarpos del cultivo de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivado en la formulación COLPOS-17 en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 $\mu$ M y 10 mM).	65
<b>Figura 23</b>	Curva de calibración con ácido gálico para medir la concentración de fenoles totales, en la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> .	66
<b>Figura 24</b>	Concentración de polifenoles totales obtenidos de basidiocarpos del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) en los macerados en tequila blanco en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 $\mu$ M y 10 mM) expresado en mg EAG/g de hongo seco (hs).	67
<b>Figura 25</b>	Curva de calibración para medir la concentración de protreína en la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> en sus tres tratamientos.	67
<b>Figura 26</b>	Cantidad de proteína obtenida de basidiocarpos del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) en los macerados en tequila blanco en sus tres tratamientos expresado en $\mu$ g mL <sup>-1</sup> .	68
<b>Figura 27</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivados en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-1 de <i>Salmonella typhi</i> a las 24 horas de incubación.	70

<b>Figura 28</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-1 ( <i>Salmonella typhi</i> ) a las 24 horas de incubación.	71
<b>Figura 29</b>	Concentración de bacterias en 50 µL de inóculo de la CPB-1 de <i>Salmonella typhi</i> .	71
<b>Figura 30</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivados en la formulación COLPOS-17 hidratada con solución de AAS 100 µM sobre la bacteria CPB-1 ( <i>Salmonella typhi</i> ) a las 24 horas de incubación.	72
<b>Figura 31</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-1 ( <i>Salmonella typhi</i> ) a las 24 horas de incubación.	72
<b>Figura 32</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-1 de <i>Salmonella typhi</i> a las 24 horas de incubación.	73
<b>Figura 33</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-1 ( <i>Salmonella typhi</i> ) a las 24 horas de incubación.	73
<b>Figura 34</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-4 de <i>Streptococcus agalactiae</i> a las 24 horas de incubación.	74
<b>Figura 35</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-4 ( <i>Streptococcus agalactiae</i> ) a las 24 horas de incubación.	74
<b>Figura 36</b>	Concentración de bacterias en 50 µL de inóculo de la CPB-4 ( <i>Streptococcus agalactiae</i> ).	75
<b>Figura 37</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-4 de <i>Streptococcus agalactiae</i> a las 24 horas de incubación.	75
<b>Figura 38</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-4 ( <i>Streptococcus agalactiae</i> ) a las 24 horas de incubación.	76
<b>Figura 39</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-4 de	76



	<i>Streptococcus agalactiae</i> a las 24 horas de incubación.	
<b>Figura 40</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-4 ( <i>Streptococcus agalactiae</i> ) a las 24 horas de incubación.	77
<b>Figura 41</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-6 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a las 24 horas de incubación.	78
<b>Figura 42</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-6 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) a las 24 horas de incubación.	78
<b>Figura 43</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-6 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a las 24 horas de incubación.	79
<b>Figura 44</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-6 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) a las 24 horas de incubación.	79
<b>Figura 45</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-6 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a las 24 horas de incubación.	80
<b>Figura 46</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-6 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) a las 24 horas de incubación.	80
<b>Figura 47</b>	Concentración de bacterias en 50 µL de inóculo de la CPB-6 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ).	81
<b>Figura 48</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-7 de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> a las 24 horas de incubación.	81
<b>Figura 49</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-7 ( <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ) a las 24 horas de incubación.	82
<b>Figura 50</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-7 de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> a las 24 horas de incubación. UFC=	82

Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

<b>Figura 51</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 $\mu$ M) sobre la bacteria CPB-7 ( <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ) a las 24 horas de incubación.	83
<b>Figura 52</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-7 de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> a las 24 horas de incubación.	83
<b>Figura 53</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-7 ( <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ) a las 24 horas de incubación.	84
<b>Figura 54</b>	Concentración de bacterias en 50 $\mu$ L de inóculo de la CPB-7 ( <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ).	84
<b>Figura 55</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-8 de <i>Escherichia colia</i> las 24 horas de incubación.	85
<b>Figura 56</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-8 ( <i>Escherichia coli</i> ) a las 24 horas de incubación.	85
<b>Figura 57</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 $\mu$ M) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-8 de <i>Escherichia colia</i> las 24 horas de incubación.	86
<b>Figura 58</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 $\mu$ M) sobre la bacteria CPB-8 ( <i>Escherichia coli</i> ) a las 24 horas de incubación.	86
<b>Figura 59</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-8 de <i>Escherichia coli</i> las 24 horas de incubación.	87
<b>Figura 60</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-8 ( <i>Escherichia coli</i> ) a las 24 horas de incubación.	87
<b>Figura 61</b>	Concentración de bacterias en 50 $\mu$ L de inóculo de la CPB-8 ( <i>Escherchia coli</i> ).	88
<b>Figura 62</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium</i>	88

	<i>erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-9 de <i>Bacillus subtilis</i> a las 24 horas de incubación.	
<b>Figura 63</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-9 ( <i>Bacillus subtilis</i> ) a las 24 horas de incubación.	89
<b>Figura 64</b>	Efecto del extracto del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en aserrín de encino hidratado con solución de AAS 100 µM sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-9 ( <i>Bacillus subtilis</i> ) a las 24 horas de incubación.	89
<b>Figura 65</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-9 ( <i>Bacillus subtilis</i> ) a las 24 horas de incubación.	90
<b>Figura 66</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-9 de a las 24 horas de incubación.	90
<b>Figura 67</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-9 ( <i>Bacillus subtilis</i> ) a las 24 horas de incubación.	91
<b>Figura 68</b>	Concentración de bacterias en 50 µL de inóculo de la CPB-9 ( <i>Bacillus subtilis</i> ).	91
<b>Figura 69</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-10 de <i>Staphilococcus aureus</i> a las 24 horas de incubación.	92
<b>Figura 70</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-10 ( <i>Staphilococcus aureus</i> ) a las 24 horas de incubación.	92
<b>Figura 71</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-10 de <i>Staphilococcus aureus</i> a las 24 horas de incubación.	93
<b>Figura 72</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-10 ( <i>Staphilococcus aureus</i> ) a las 24 horas de incubación.	93
<b>Figura 73</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada	94

	con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-10 de <i>Staphilococcus aureus</i> a las 24 horas de incubación.	
<b>Figura 74</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-10 ( <i>Staphilococcus aureus</i> ) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-10(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria <i>S. aureus</i> . A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.	94
<b>Figura 75</b>	Concentración de bacterias en 50 µL de inóculo de la CPB-10 ( <i>Staphilococcus aureus</i> ).	95
<b>Figura 76</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-11 de <i>Listeria monocytogenes</i> a las 24 horas de incubación.	95
<b>Figura 77</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-11 ( <i>Listeria monocytogenes</i> ) a las 24 horas de incubación.	96
<b>Figura 78</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-11 de <i>Listeria monocytogenes</i> a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.	96
<b>Figura 79</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-11 ( <i>Listeria monocytogenes</i> ) a las 24 horas de incubación.	97
<b>Figura 80</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-11 de <i>Listeria monocytogenes</i> a las 24 horas de incubación.	97
<b>Figura 81</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-11 ( <i>Listeria monocytogenes</i> ) a las 24 horas de incubación.	98
<b>Figura 82</b>	Concentración de bacterias en 50 µL de inóculo de la CPB-11 ( <i>Listeria monocytogenes</i> ).	98
<b>Figura 83</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-13 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a las 24 horas de incubación.	99

<b>Figura 84</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-13 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) a las 24 horas de incubación.	99
<b>Figura 85</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 $\mu$ M) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-13 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a las 24 horas de incubación.	100
<b>Figura 86</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 $\mu$ M) sobre la bacteria CPB-13 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) a las 24 horas de incubación	100
<b>Figura 87</b>	Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-13 de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a las 24 horas de incubación.	101
<b>Figura 88</b>	Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-13 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ) a las 24 horas de incubación.	101
<b>Figura 89</b>	Concentración de bacterias en 50 $\mu$ L de inóculo de la CPB-13 ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ).	102
<b>Figura 90</b>	Representación del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) del tratamiento testigo sobre las bacterias estudiadas.	102
<b>Figura 91</b>	Representación del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) del tratamiento AAS 100 $\mu$ M sobre las bacterias estudiadas.	103
<b>Figura 92</b>	Representación del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) del tratamiento AAS 10 mM sobre las bacterias estudiadas.	103
<b>Figura 93</b>	Representación del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) del tratamiento testigo sobre las bacterias estudiadas.	104
<b>Figura 94</b>	Representación del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) del tratamiento testigo AAS 100 $\mu$ M sobre las bacterias estudiadas.	104
<b>Figura 95</b>	Representación del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) del tratamiento testigo AAS 10 mM sobre las bacterias estudiadas.	105
<b>Figura 96</b>	Resumen del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 $\mu$ M y 10 mM) sobre las bacterias	105

estudiadas.

<b>Figura 97</b>	Resumen del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 µM y 10 mM) sobre las bacterias estudiadas.	106
<b>Figura 98</b>	Mapa conceptual de la aplicación del paquete tecnológico aunado a la estrategia propuesta, intervenciones y actores principales.	118

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1</b>	Parámetros de cultivo de <i>Fistulina Hepática</i> (Hattori y Tanaka, 1997).	34
<b>Cuadro 2</b>	Material biológico depositado en el CREGENHC para esta investigación y empleado para el cultivo de los hongos comestibles y de las bacterias usadas para probar el efecto antibacteriano de los extractos de <i>H. erinaceus</i> .	38
<b>Cuadro 3</b>	Distribución de la prueba de sensibilidad antibacteriana usando extracto de hongo como agente antimicrobiano	50
<b>Cuadro 4</b>	Características morfológicas y variables del cultivo del hongo <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675) cultivado en paja estéril hidratada con agua (testigo) y con AAS 10 mM y 100 µM.	59
<b>Cuadro 5</b>	Características y variables del cultivo del hongo <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675) cultivado en paja estéril hidratada con agua (testigo) y con AAS 10 mM y 100 µM.	59
<b>Cuadro 6</b>	Características morfológicas y variables del cultivo del hongo <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) perteneciente a la primera cosecha, cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratado con agua (testigo) y dos concentraciones de AAS (10 mM y 100 µM).	63
<b>Cuadro 7</b>	Variables evaluadas del sustrato COLPOS-17 al inicio y final del ciclo de cultivo.	63
<b>Cuadro 8</b>	Concentración de los extractos de <i>Hericiium erinaceus</i> por el nivel de dilución realizada en la microplaca.	65
<b>Cuadro 9</b>	Variables analizadas de la CP-663 ( <i>Hericiium erinaceus</i> ) en respuesta a tratamientos con AAS a dos concentraciones.	68
<b>Cuadro 10</b>	Efecto bacteriostático de los extractos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) contra las nueve bacterias analizadas.	106
<b>Cuadro 11</b>	Efecto bactericida de los extractos de <i>Hericiium erinaceus</i> (CP-663) contra las nueve bacterias analizadas.	107

## I. INTRODUCCIÓN

México posee conocimiento tradicional y una amplia micodiversidad debida principalmente a su riqueza biológica y cultural, diferentes tipos de vegetación, características edáficas, a su ubicación geográfica y a sus diversos tipos de climas y nichos ecológicos, los cuales hacen a nuestro país importante a nivel mundial. La primera y la más importante utilidad que el hombre ha atribuido a los recursos fúngicos existentes en su entorno ecológico es el de la obtención de alimentos. La bioconversión de los residuos agrícolas lignocelulósicos como fuente para la producción de hongos comestibles a través de procesos de fermentación sólida, representa una posibilidad biotecnológica para la obtención de alimento humano rico en proteínas, reducir el impacto ambiental de los residuos orgánicos y, valorarlos como materia prima de bajo costo (Sánchez y Royse, 2002). Actualmente, la producción de hongos moviliza cientos de millones de pesos y puestos de trabajo en todo el mundo y en México, debido al gran potencial para el cultivo de las especies comestibles por la variedad de climas que posee y la gran diversidad de residuos orgánicos que se generan en los diferentes cultivos agrícolas y agroindustriales. Gracias al conocimiento tradicional generado a través de los años por el hombre, los hongos superiores se han venido integrando a nuestra dieta en sus formas silvestres, y actualmente algunos de ellos ya son cultivados y comercializados en algunos mercados regionales y a nivel mundial.

Su empleo con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace miles de años. Su permanencia en la práctica medicinal de diversos pueblos ha ocasionado que se profundizara en el conocimiento y aislamiento de extractos o compuestos responsables de la actividad medicinal (Pino *et al.*, 2004). Algunas culturas prehispánicas fueron las primeras en usar preparaciones derivadas de hongos para contrarrestar ciertos padecimientos y enfermedades en sus poblaciones (Goodman, 1989). En China y Japón, los hongos han sido la base de su medicina tradicional hasta la actualidad, y es a partir de este conocimiento empírico que surge el interés por generar conocimiento científico de la actividad biológica de estos organismos. En las últimas décadas, se han venido desarrollando distintas técnicas y métodos para la extracción, purificación y fraccionamientos de las múltiples sustancias de los basidiocarpos silvestres y cultivados y de los micelios de numerosas especies fúngicas (Piqueras, 2004). El uso de los macromicetos se ha extendido prácticamente en todo el mundo, debido al gran valor

alimenticio y al potencial medicinal que presentan, por lo que han sido llamados nutraceuticos, es decir, son alimentos que además de proporcionar carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, tienen la propiedad de prevenir y/o curar ciertas enfermedades (Wasser, 1997).

En nuestro país existen abundantes recursos genéticos de hongos comestibles y funcionales, razón por la cual se debe fortalecer estratégicamente su conservación, estudio y utilización (Pérez *et al.*, 2010). En este sentido el cultivo de los hongos *Hericium erinaceus*, *Volvariella bombycina* y *Fistulina guzmanii*, podrían ser parte de una estrategia integral para la formulación de un paquete tecnológico accesible con relevancia social, económica y ecológica para el sector rural, urbano y privado, obteniendo alimento, salud, y generación de ingresos económicos a familias y pequeños productores, ya que no afectaría los valores, ni las actividades centrales de la vida social, ni dañaría el entorno ecológico.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Desarrollo rural**

En términos comunes el desarrollo es el proceso de evolución, crecimiento y cambio de un objeto, persona o situación específica en determinadas condiciones. El desarrollo es la condición de evolución que siempre tiene una connotación positiva ya que implica un crecimiento o paso hacia etapas o estadios superiores. El concepto de desarrollo, tal como hoy se entiende, surge después de la Segunda Guerra Mundial y desde entonces ha sido objeto de un amplio debate, y no resulta fácil resumir en pocas palabras su evolución ya que este es un concepto que no posee una definición única y ha ido evolucionando de acuerdo al pensamiento y valores en la sociedad, respondiendo a las convicciones expectativas y posibilidades que predominan en ellas, entendiéndolo en una categoría de futuro (Dubois, 2002).

El desarrollo rural es concebido como la transformación productiva, súbita o paulatina, pero ineludible y unívoca de las formas campesinas, tradicionales o preindustriales en modalidades agroindustriales o modernas, tanto en su versión estatal-socialista como en su versión de libre mercado, resultado de una serie de transformaciones cuantitativas que se producen en el seno de la población rural y que, al conjugarse con el tiempo producen una elevación del nivel de vida (Toledo *et al.*, 1997).



## 2.2 Desarrollo sostenible

El desarrollo sustentable se configura en el ámbito nacional, regional e internacional como la nueva estrategia de desarrollo que nos permitiría alcanzar niveles de vida, mas justos y equitativos, en los que se conjugue una protección y uso responsable de los recursos naturales con un incremento en los niveles de bienestar de la mayoría de la población y un crecimiento económico sostenido. Supone una integración de esfuerzos que se condensan en importantes y comprometidos canales de participación y cooperación, entre el Estado, la comunidad científica, la iniciativa privada, las organizaciones no gubernamentales y la población en general, en este rubro el desarrollo sustentable sigue seis grandes líneas las cuales son: satisfacer las necesidades básicas, lograr un crecimiento económico de manera constante, mejorar la calidad del crecimiento económico, atender a los aspectos demográficos, seleccionar opciones tecnológicas adecuadas y aprovechar, conservar y restaurar los recursos naturales (Arias, 2003). Actualmente, el sector agropecuario representa uno de los enormes retos en la estrategia de desarrollo del país, hacia el futuro inmediato. La política agropecuaria busca como principal objetivo que la oferta de productos agropecuarios garantice la autosuficiencia alimentaria, en el marco de un desarrollo sustentable y un mejor nivel de vida para las familias campesinas (Escalante, 2006). A través de la producción primaria o rural, las sociedades extraen materiales y energías de la naturaleza que sirven como materias primas que luego serán transformadas a través de la producción manufacturera y/o industrial para su posterior consumo, o bien como productos (alimentos y otros bienes) para ser consumidos directamente por los seres humanos (Toledo *et al.*, 1997), en este contexto, hoy en día el cultivo de los hongos comestibles es un vivo ejemplo del desarrollo sostenible ya que en esta actividad las fases del crecimiento de los hongos comestibles mantienen una armonía con la naturaleza, tanto interna (los productores de hongos comestibles) como externa (pequeñas áreas que se ocupan para cultivar hongos comestibles), además de requerir poca cantidad de agua para producir un kilo de hongos comestibles (28 litros) en cortos períodos de tiempo en comparación con otros productos alimenticios como la carne, que se necesita 100, 000 litros para obtener 1 kg de carne. El material de desecho después del cultivo de hongos comestibles puede ser usado para alimento de animales, o para lombricomposta y, finalmente ser utilizados para fertilizantes de granos de cereales (Tello, 2010).

### **2.3 Producción rural de hongos comestibles**

La producción de hongos comestibles constituye una alternativa en la producción de alimentos en el medio rural porque no afecta los valores, ni las actividades centrales de la vida campesina y tampoco daña su entorno ecológico (Naranjo *et al.*, 2012). En el ámbito económico, el cultivo de los hongos comestibles funcionales y medicinales es una actividad productiva que se ha desarrollado ampliamente en distintas partes del mundo. Se trata de una actividad industrial, cuya producción se ha elevado constantemente desde 1965, dando cuenta de las capacidades de rentabilidad y adaptabilidad de esta biotecnología alimentaria (Chang, 1999).

### **2.4 La biotecnología en el desarrollo**

La biotecnología aplicada a diversas actividades productivas impacta, crecientemente, sobre el desarrollo de los países latinoamericanos, generando o potenciando mercados a partir de los cuales es factible captar rentas adicionales. Procesos como la fermentación de bebidas, la fabricación de quesos, e incluso la panificación son tan viejas como la humanidad y tienen como epicentro el uso de procesos biológicos (las levaduras) como herramientas de transformación de materias primas en productos finales. Esos procesos fueron desarrollados a partir de mecanismos de prueba y error y “afinados” desde el siglo XIX con diversas técnicas (en consonancia con el desarrollo de la química). Lo mismo ocurrió para el desarrollo de vacunas y de otros medicamentos de origen biológico: identificando el agente, su atenuación permitía el cultivo reproductivo controlado y con ello la generación de vacunas. La utopía de modificar las características (de conformación y comportamiento) de los denominados “seres vivos” para fines específicos ha sido una constante en la búsqueda científica por miles de años (Solbrig, 2004; Rifkin, 1998).

La descripción hipotética del funcionamiento del ADN (en 1953) permitió iniciar a profundizar los conocimientos sobre el funcionamiento interno de los procesos genéticos. Posteriores investigaciones avanzaron en la identificación de cada gen, sus funciones asociadas, las formas de relación con las proteínas y otros mecanismos de la compleja biología de las células. De allí surgió rápidamente el interés por el uso aplicado de los avances científicos: la manipulación de los códigos del ADN de cada ser vivo, la posibilidad de copiar

individuos (clonar), la identificación de qué gen corresponde a qué rasgo (estructural y/o funcional), guiaban investigaciones. A mediados de los sesenta estos avances científicos abandonaron el plano teórico y sirvieron de base para el desarrollo de nuevos productos y procesos. A inicios de la década de los ochentas, se lanzaron al mercado los primeros medicamentos obtenidos a través de recombinantes (la insulina recombinada y la eritropoyetina fueron los productos más destacados). En los noventa, aparecen más productos en el área farmacéutica a la vez que se inicia la aplicación crecientemente masiva a los cultivos (modificados genéticamente), a los alimentos y a la provisión de materias primas industriales (denominado genéricamente biomasa para usos industriales). La biotecnología abre espacios de intercambios (y bajo ciertas condiciones genera nuevos mercados) no sólo en el ámbito productivo sino también en el científico. El pasaje de una idea teórica a un producto final, implica una larga serie de pasos técnicos, en cada uno de los cuales es recomendable identificar subproductos (genes, servicios de secuenciamiento, test, servicios de bioinformática, cultivos, plásmidos, equipamiento específico –como los secuenciadores y/o los cañones génicos-) pasible de ser desarrollados en forma integrada o bien, en el marco de una red de intercambios de bienes y conocimiento. Dicha red puede tener cobertura local o integrarse a escala internacional. En otros términos, la moderna biotecnología, articula una forma de producción que abre múltiples oportunidades de negocios (y acumulación), previamente inexistentes.

Se define a la biotecnología moderna como la aplicación científica y tecnológica a organismos vivientes, sus partes, productos y modelos destinados a modificar organismos vivos y/o materiales aplicados a la producción de conocimientos, bienes y servicios (OECD, 2006). Se trata de una tecnología que tiene un conjunto de principio científicos y técnicos comunes y una larga lista de especificidades técnicas aplicables a desarrollos específicos. Es una plataforma tecnológica que sirve de base para tecnologías específicas de uso concreto en actividades productivas.

## **2.5 La biotecnología y los hongos**

En las últimas décadas se han descrito muchas propiedades nutricéuticas y funcionales de los macromicetos, así como sus propiedades anticancerígenas y antitumorales, hipocolesterolémicas, antivirales, antibacterianas, o inmunomoduladoras, entre otras. La

biotecnología es fundamental para el desarrollo de técnicas rentables y productivas para la obtención de estos metabolitos, tal como lo es la producción de hongos por cultivo tradicional (Suárez y Nieto, 2013). Según lo reportado hasta ahora, los metabolitos secundarios que producen los macromicetos y que les dan características nutraceuticas especiales han sido en su mayoría aislados del basidiocarpo y en la actualidad algunos de estos compuestos se extraen para ser empleados en la producción de medicamentos comerciales (Smith *et al.*, 2002). Estos compuestos se pueden aislar tanto del micelio como del carpóforo y del medio de cultivo agotado. Dentro de estos se encuentran glucanos, enzimas, policétidos, ácidos grasos, polifenoles, flavonoides y terpenoides, entre otros (Suárez y Nieto, 2013). Recientes investigaciones preliminares han puesto de manifiesto que la proporción de estos compuestos varía tanto con el estadio del hongo como con el medio en que es cultivado (Chang y Miles, 2004). Los metabolitos secundarios de la clase triterpenoidal presentan interesantes propiedades de tipo farmacológico; entre ellas, la anticancerígena y la antimicrobiana (Nieto, 2010).

Se pueden distinguir dos tendencias en la biotecnología de hongos comestibles y medicinales las cuales son la Biotecnología aplicada y la Biotecnología moderna, la biotecnología aplicada en hongos comestibles se ha derivado de las técnicas tradicionales, enriquecidas con innovaciones biológicas, mecánicas y locales derivadas de un contexto social, económico y ecológico. En cambio, la biotecnología moderna se ha desarrollado y visto fortalecida con poderosas tecnologías que permiten el estudio y manipulación directa del material genético de los hongos comestibles y medicinales, concretamente del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Martínez-Carrera *et al.*, 2006). La producción de metabolitos fúngicos, son inducidos por factores externos, tanto bióticos (organismos competidores extraños) como abióticos (compuestos químicos contaminantes tóxicos) (York *et al.*, 1984).

## **2.6 Generalidades de los hongos**

Los hongos son organismos eucariotes, con pared celular rara vez ausente y constituida principalmente de quitina. Su micelio está formado por estructuras ramificadas y filamentosas llamadas hifas, cuyas fructificaciones portan esporas. No poseen pigmentos clorofílicos, por lo tanto su nutrición es heterótrofa y presentan reproducción sexual y asexual, así mismo se encuentran ampliamente distribuidos en todo el planeta y prosperan en casi todos los climas (Stamets, 2003). Estos organismos pueden ser microscópicos o macroscópicos y su micelio

está oculto debajo del suelo, en madera, o en otras fuentes de alimento. Estos micelios crecen hasta que aparecen los basidiocarpos (el caso de los macroscópicos) y se alimentan absorbiendo nutrimentos del material orgánico en que viven, por lo que éstos secretan ácidos y enzimas que simplifican el material orgánico en partículas más fáciles de digerir y luego atraviesan la pared celular de la hifa (Fogel, 1997). Infectan a plantas, animales y hasta otros hongos; viven como compañero con las plantas formando una asociación simbiótica llamada micorriza, estableciendo con ellas una relación de dependencia o colaboración nutricional (Kobold, 2000), el alcance de sus posibles interacciones (antagónicas, sinérgicas, etc.) entre estos organismos y otros sistemas vivientes a través de sus metabolitos secundarios es enorme, y las mismas constituyen una fuente inagotable para la obtención de nuevos metabolitos activos (Brizuela *et al.*, 1998).

Desempeñan una importante función en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas ya que contribuyen al desarrollo de las poblaciones vegetales, particularmente de especies arbóreas, algunas de sus principales funciones dentro de estos ecosistemas son la intervención en los ciclos y transferencia de nutrimentos. Al participar de manera activa en la regulación de la tasa fotosintética; a través del crecimiento de sus hifas modifican la permeabilidad y estructura del suelo; representan una fuente de alimento para algunos vertebrados (incluyendo mamíferos) e invertebrados, son hábitat de invertebrados, algas y otros hongos. Participan en la creación y alteración de nichos, sobre todo para invertebrados; establecen asociaciones mutualistas con plantas, termitas, hormigas y con algunas especies de algas (Herrera y Ulloa, 1990), además de que se encuentran involucrados en numerosos fenómenos biológicos y químicos vinculados a la desintegración de la materia orgánica, procesos industriales de fermentación (pan, vino, cerveza, etanol, ciertos quesos, etc.), producción comercial de medicamentos, alimentación humana y los sistemas de producción agroforestal (Chang, 1999).

Estos organismos incluyen desde formas microscópicas, como los mohos y las levaduras, hasta formas macroscópicas, el basidiocarpo, que la gente identifica normalmente como hongo. Dependiendo de la forma como obtienen sus nutrientes, los hongos se clasifican en parásitos, saprófitos y micorrícicos. Los primeros consumen plantas o animales vivos, los segundos digieren células y tejidos muertos, conocidos también con el nombre de hongos

lignocelulósicos o de pudrición blanca. El tercer grupo de hongos, menos numerosos que los anteriores, son los que establecen relaciones simbióticas con las raíces de las plantas llamadas micorrizas, en la cual, tanto el hongo como la planta se benefician (Stamets, 2000). Se desarrollan en un sin fin de hábitats, por lo que bien se dice que los hongos son cosmopolitas. El término hongo se deriva del latín “*fungus*” que significa seta y del griego “*sphongos*” que significa esponja (Guzmán, 1997). Se ha demostrado que los hongos son el grupo de organismos más numeroso en la Tierra después de los insectos. En efecto, se calcula que hay más de 1, 500,000 especies de hongos en el mundo, por lo que su impacto en el medio es enorme (Guzmán-Dávalos, 1998). Los hongos, en general, forman parte de uno de los reinos más diversos en la naturaleza, en donde actúan biodegradando y reciclando la materia orgánica (principalmente lignina y celulosa) en los ecosistemas; el ciclo de vida de estos organismos está conformado por una fase vegetativa (micelio) y otra reproductora (cuerpo fructífero) (Herrera y Ulloa, 1990).

El consumo de hongos ha formado parte del acervo cultural de nuestro país y de la población rural así mismo su conocimiento y uso fue muy importante para las culturas prehispánicas y mesoamericanas; de tal manera que constituyeron parte de una estrategia de subsistencia basada en el uso múltiple de los recursos naturales, incluso en algunas regiones del país aún persisten las recolectas realizadas por toda la familia con fines de autoconsumo o comercialización (Villareal y Pérez Moreno, 1989). Su empleo con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace miles de años. La diversidad de los nombres comunes tradicionales de los hongos comestibles en México supera los 400, mismos que corresponden a 200 especies. Haciendo mención que alrededor del 46% de estas especies son micorrizógenas, lo que dificulta su cultivo y la única forma de aprovecharlas es su recolección. Su distribución geográfica en el ámbito nacional comprende 28 entidades federativas (Villareal y Pérez Moreno, 1989).

## **2.7 Beneficios en la salud y la alimentación con hongos comestibles**

Los hongos comestibles poseen un valor nutricional para los seres humanos, ya que son fuente de proteínas, y contienen vitaminas como la B1, B2, B12, A, C y D (Martínez-Carrera *et al.*, 2000), así mismo se les atribuyen beneficios en la salud del consumidor, debido a la acción

biológica de algunos de sus componentes aportan cantidades considerables de calcio, fósforo, hierro, sodio, potasio y carbohidratos además de que proveen de un valor nutritivo igual al de algunos alimentos ricos en proteínas y fibras (Roberfroid, 1999). Actualmente, el uso de los macromicetos se ha extendido prácticamente en todo el mundo, debido al gran valor alimenticio y al potencial medicinal que presentan, por lo que han sido llamados nutraceuticos, es decir, son alimentos que además de proporcionar carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, tienen la propiedad de prevenir y/o curar ciertas enfermedades (Wasser, 1997). Hoy en día algunos hongos comestibles son considerados como alimentos funcionales como es el caso de *Hericeum erinaceus*, *Agrocybe aegerita*, *Auricularia aricula*, entre otros los cuales han demostrado ser capaces de afectar en forma positiva a una o más funciones del organismo al ser consumidos, de tal manera que su ingesta incrementa la salud y disminuye el riesgo de contraer alguna enfermedad como lo es el cáncer o trastornos cardiovasculares (Arai, 2002).

El cultivo de los hongos comestibles es un sistema de bioconversión ecológica, pues lo que al hombre le es poco útil y que desecha, como las pajas, bagazos, cascarillas y pulpas, los hongos lo transforman en alimento proteínico y en mercancía para venta. Además, una vez que se obtuvo el producto comestible, del sustrato residual se puede obtener abono orgánico mediante procesos de composteo y vermicomposteo para la producción de plantas y hortalizas; dado el efecto directo en la conservación y mejora de la calidad de los suelos. Esta alternativa de producción ha sido explotada con éxito desde hace mucho tiempo en otros países, principalmente en Asia, donde se ha desarrollado toda una tecnología para la producción y conservación de los hongos comestibles como el champiñón, el hongo ostra y el shiitake (Stamets, 2000).

## **2.8 Los hongos comestibles, medicinales y funcionales**

Los hongos han presentado un inestimable valor en muchas culturas debido a sus propiedades tanto nutricionales como medicinales, constituyéndose desde siempre en el alimento funcional por excelencia (Trigos y Suárez-Medellín, 2010). En la fracción lipídica fúngica también hacen parte los ácidos grasos, constituyentes que exhiben marcada acción biológica, hasta el punto de que son considerados como reguladores del metabolismo lipídico, reductores de la arterioesclerosis (Yilmaz *et al.*, 2006), así como poseedores de actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, antibacteriana y anticonvulsionante (Castaño *et al.*, 2007).

Estas bioacciones de los metabolitos fúngicos han logrado posicionar a los macromicetos como los nutriceúticos ideales, término acuñado para catalogar a una nueva clase de compuestos que han sido extraídos tanto de la seta como del micelio vegetativo, y que poseen cualidades medicinales y nutricionales (Miles y Chang, 1998). Los hongos tienen usos ornamentales, medicinales, industriales, ceremoniales, insecticidas y comestibles (Zamora-Martínez, 1999). En este sentido se han registrado más de 100 especies de hongos macroscópicos con uso medicinal, para la prevención o el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas el cáncer y recientes estudios científicos los han establecido como potenciales fuentes naturales de sustancias bioactivas con actividad antitumoral e inmunomoduladora, antioxidantes y anticancerígenas que pueden evaluarse por métodos químicos, experimentales y epidemiológicos, entre los géneros enunciados están los siguientes: *Fomitopsis*, *Laetiporus*, *Inonotus*, *Phellinus*, *Calvatia*, *Langermannia*, *Lycoperdon*, *Armillaria*, *Bovista*, *Pycnoporus*, *Calocybe*, *Lentinula*, *Lepista*, *Pleurotus*, *Trametes*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Flammulina* y *Hericium*; que han sido empleados para el tratamiento en alrededor de 100 padecimientos (Galván *et al.*, 1997).

Los macromicetos son una buena fuente de antioxidantes extraídos de sus extractos acuosos, alcohólicos e hidroalcohólicos los cuales evitan reacciones de oxidación indeseables, pudiendo afectar a otras biomoléculas como lo son los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, dañando diversas funciones celulares (Cheung, 2008). Algunos usos que se le han dado al ergosterol de los hongos son la inhibición del crecimiento de cáncer de vejiga en ratas, peroxidación lipídica dependiente del hierro en las membranas, así como otras propiedades como la reducción del dolor asociado a la inflamación, inhibición de tumores cancerosos, disminución de enfermedades cardiovasculares, así como una actividad antimicrobiana y antioxidante (Kobori *et al.*, 2007). Al ser metabolizado en la dieta genera vitamina D<sub>2</sub>, cuya función es la regularización de la homeostasis del calcio y el fósforo (Trigos y Martínez-Carrera, 1999; Yuan *et al.*, 2006).

El valor nutritivo de los hongos, se centra en su contenido mineral y vitamínico, similar al de las hortalizas comunes. Contienen cantidades utilizables de vitaminas del complejo B y C. Además minerales como calcio, hierro, fósforo y potasio, importantes para una dieta



balanceada. Poseen un alto contenido proteico en peso seco y son bajos en calorías, carbohidratos y grasas (Sommerkamp, 1990). El contenido graso de los hongos es una de sus cualidades nutricionales más estimadas ya que, comparado con otros alimentos que tienen contenidos proteicos y de fibra similares, sus valores (de 1 hasta 15%), son menores, lo que los convierte en una excelente alternativa alimenticia para personas con hipercolesterolemia e incluso entre diabéticos que presentan niveles altos de colesterol (Miles y Chang 1998). Producen aceites importantes en la dieta como el olèico, palmítico, linoleico y esteárico. Tienen el potencial de actuar como fuente comercial de grasas similares a la mantequilla de cacao; la producción de ácido esteárico es una alternativa para la confección de cosméticos y en confitería. Son fuentes importantes de vitaminas como la riboflavina, y precursores de vitamina A y D (carotenos y ergosterol). Los aminoácidos se usan en la industria de los alimentos para acentuar el sabor, y en la alimentación animal y humana como aditivos. También son producidas algunas hormonas de crecimiento para plantas como las giberelinas y promotores del crecimiento en ganado, como la zearalenona (Gaitán-Hernández *et al.*, 2004).

Los carbohidratos en los hongos están representados por azúcares utilizables por el organismo humano como fuente de energía, quitina y hemicelulosa (principalmente hexosanos) (La Guardia *et al.*, 2005). Las paredes celulares de los hongos contienen varios componentes indigeribles con importantes propiedades fisiológicas para la salud del tracto alimenticio y el cuerpo, definiendo al hongo como una importante fuente de fibra dietética (Bauer *et al.*, 2001). Con la popularización mundial del consumo de los hongos se presume que más de 10 millones de toneladas métricas de hongos comestibles o medicinales se producen al año en varios países (Leifa *et al.*, 2006). Actualmente, la producción comercial de hongos comestibles se ha estimado en 47,468 toneladas anuales, incluyendo el champiñón (*Agaricus*: 95.3%), las setas (*Pleurotus*: 4.6%), y el shiitake (*Lentinula*: 0.1%). Su valor económico supera los 200 millones de dólares anuales, generando alrededor de 25, 000 empleos directos e indirectos (Martínez-Carrera *et al.*, 2007). Su cultivo es una actividad que se ha implementado desde hace más de 200 años en Europa con la producción de champiñón (*Agaricus bisporus*), en Asia con el cultivo de especies como *Lentinula edodes* y *Auricularia spp.* (Royse y Sánchez-Vásquez, 2001).

Los hongos micorrícicos comestibles de alto valor económico son una atractiva inversión en la silvicultura, ya que tienen una positiva repercusión en el desarrollo de las plantas y también puede afectar positivamente los costos de establecimiento, manejo de recursos, la rentabilidad de las plantaciones y el interés de propietarios para invertir en el establecimiento de nuevas plantaciones forestales (Chung, 2005). Algunas de las ventajas del cultivo de los hongos son que se genera más empleos para favorecer la economía de los cultivadores en las comunidades rurales de México además de que los sustratos degradados por los hongos, se proporcionan como alimento para el ganado vacuno o con ellos se prepara una composta para después incorporarlo a las tierras de cultivo (Bernabé y Cayetano, 2010).

En las zonas agrícolas existen una variedad de subproductos (agrícolas, forestales y agroindustriales) utilizados como sustratos que pueden ser utilizados, entre los que se encuentran el olote de maíz, la pulpa de café, el aserrín y los rastrojos (maíz, frijol, sorgo), entre otros, con la finalidad de la utilización de y reciclaje de los mismos. Utilizando el proceso tradicional que requiere la preparación del sustrato (picado), así como la hidratación de los materiales, para posteriormente pasteurizar el sustrato mediante inmersión en agua caliente o en agua alcalina. Para la siembra o inculación generalmente se utilizan bolsas de polietileno de 40 x 60 cm, con siembra en capas alternas de sustrato y semilla (Sánchez-Vázquez *et al.*, 2010). Algunos problemas con los que los cultivadores de hongos se pueden encontrar son las enfermedades causadas por el moho verde (*Trichoderma spp.*), así como la presencia de mosquitos, la mosca doméstica, ácaros y un gasterópodo conocido como babosa, así mismo la falta de conservación de germoplasma nativo y la disponibilidad de la semilla.

### **III. REVISIÓN DE LITERATURA**

Los inicios de los estudios etnomicológicos en México comenzaron a mediados de 1950's por los hongos usados por los indígenas mazatecos, de los que María Sabina, era la representante más conocida (Wasson, 1993). Los trabajos de Guzmán-Dávalos (1998), han comparado y señalado el hecho de que el número de especies de hongos conocidos de las zonas tropicales es menor que el de las regiones templadas del país. En cuanto al consumo de los hongos en la población, provienen tanto del bosque, como de cultivos, otros son importados del continente asiático, entre los que destacan los géneros *Lentinula* y *Auricularia*, además de algunos

restaurantes donde se ofrecen platillos con diferentes especies de hongos. Siendo que la micofilia y micofagia se presenta mayormente en zonas templadas y dónde los grupos étnicos son más numerosos en dichas regiones templadas y son ellos los principales transmisores de esta tradición (Sánchez-Vázquez *et al.*, 2010). El cultivo de hongos comestibles es reciente y sus inicios se refieren a los trabajos iniciados con el cultivo de *Pleurotus* en el Sostonusco, Chiapas en 1991 (Sánchez-Vázquez, 1994). Ya para el año de 1995, la secretaría de Pueblos Indios, inició un programa de apoyo al cultivo de setas en el centro del Estado, que resultó exitoso, ya que de ahí se derivaron aproximadamente 200 módulos de cultivo en municipios fuera del área central inicial, dedicados a la producción de *P. ostreatus* (Santiz de la Cruz, 2007).

Los requerimientos de estos organismos pueden variar según los nutrientes presentes en el medio, por lo tanto la utilización de sustratos adecuados es conveniente para el crecimiento óptimo de los hongos, si el medio de cultivo contiene todos los requerimientos nutritivos en cantidad suficiente para que el organismo sintetice sus metabolitos y tome la energía que requiere, el hongo crecerá adecuadamente (Sánchez-Vásquez y Royse, 2001). De acuerdo a Toledo *et al.*, 2004, las principales acciones químico-ecológicas en el campo de los hongos son las siguientes:

Actividad fitohormonal. Se encontró que la afectación de las plantas por el mal del pie del arroz por esta enfermedad resultaron más altas, delgadas y pálidas que las normales, lo que se achacó a las gibberellinas aisladas del hongo *Gibberella fujikuroi* capaces de producir un incremento de la división celular en las plantas (Hedden *et al.*, 2001). Actividad antimicrobiana. La producción de antibióticos son el resultado de la lucha por la supervivencia que mantienen los hongos con otros microorganismos, los cuales suelen ser inhibidores del crecimiento de bacterias, levaduras y hongos (Nagaraj *et al.*, 2001; Brady *et al.*, 2000). Actividad mutagénica y carcinogénica. Algunos metabolitos fúngicos, como los policétidos de *Ceratocystis fimbriata coffea* presentan, junto a sus actividades antibióticas, una clara acción mutagénica y carcinogénica (Gremaud y Tabacchi, 1996). Actividad micotoxínica. Debido a la batalla química que mantienen estos organismos contra la depredación animal, han desarrollado defensas químicas (micotoxinas) que inhiben la alimentación de nematodos, protozoos, insectos y animales superiores (Bhatnagar *et al.*, 2002). Actividad fitotóxica. Las

fitotoxinas permiten a estos organismos penetrar en los tejidos vegetales donde se encuentran nutrientes dichos materiales presentan gran interés como herbicidas ecológicos e, incluso, como herramientas en el estudio del crecimiento de los órganos en las plantas superiores (Pedras y Soledade, 2001). Actividad citotóxica. El descubrimiento de actividad citotóxica descubre en las setas un posible mecanismo defensivo en contra de la ovoposición animal (Buchanan *et al.*, 1997). Actividad feromonal. El descubrimiento de dihidroisocumarinas como mellesina en el hongo *Pezizula livida* (Krohn *et al.*, 1997) sugiere un posible mecanismo de control poblacional análogo al que ejercen muchos vegetales con hormonas sexuales femeninas (Harborne, 1982).

Otras aplicaciones que se les ha dado actualmente a los hongos comestibles y medicinales es la sobreexpresión de enzimas (e.g., lacasas, manganeso peroxidasa), la producción de medicinas (proteínas) recombinantes, así como la transformación de sistemas microbianos para la biorremediación in situ de lugares contaminados (e.g., hidrocarburos aromáticos policíclicos, pentaclorofenoles, aguas residuales con colorantes textiles, pesticidas organoclorados) y la biodegradación/bioconversión de subproductos lignocelulósicos, destacando en este sentido especies como *Coriolus versicolor*, *Coprinopsis cinérea*, *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Pycnoporus cinnabarinus* y *Volvariella volvacea* (Yanai *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 1999; Alves *et al.*, 2004; Kuo y Huang, 2008). De acuerdo a Kirk (1971), su actividad lignolítica, los hongos que degradan a la madera se han dividido en: 1) Hongos de podredumbre blanda, 2) Hongos de podredumbre café y 3) Hongos de podredumbre blanca. Según Wasser *et al.* (2000) se usa la palabra nutracéutico, cuando se trata de un complemento alimenticio derivado de un alimento; y nutricéutico cuando el complemento es elaborado a partir de una fuente no considerada tradicionalmente comestible.

### **3.1.1 Antibióticos**

Los primeros trabajos realizados con el uso de basidiomicetos reportados fueron los de Anchel, Hervey y Wilkins en 1941, quienes examinaron extractos de cuerpos fructíferos y cultivos miceliales de más de 200 especies de hongos detectando en los mismos diversas actividades antibióticas (Florey, 1949). Los diterpenos producidos por basidiomicetos poseen una estructura propia hasta ahora no encontrada en otras fuentes naturales (Stark, 1991). Algunos otros compuestos con actividad antagonista en hongos superiores, los poliacetilenos

son el grupo más ampliamente caracterizado. Más de 50 de estos compuestos insaturados con actividad antibiótica han sido aislados a partir de especies de *Clitocybe*, *Coprinus*, *Cortinellus*, *Daedalea*, *Marasmius*, *Merulius*, *Pleurotus*, *Polyporus*, *Poria*, etc. (Anke, 1980).

### **3.1.2 Aromas**

Los cultivos miceliales de basidiomicetos son una fuente potencial de sustancias aromáticas. El rol de estos metabolitos aún no ha sido totalmente esclarecido, ya que algunos de estos compuestos presentan a su vez actividad antifúngica y pueden definir la función de los hongos como antagonistas ante otros microorganismos. Otros de estos compuestos son inductores de la germinación, crecimiento micelial o de la fructificación (Gross y Asther, 1989).

### **3.1.3 Enzimas, inhibidores y reguladores**

Los basidiomicetos constituyen un amplio espectro de actividades enzimáticas, lo que conlleva a que estos microorganismos jueguen un papel importante en diversos sistemas biológicos, por si esto fuera poco numerosas enfermedades están asociadas a una excesiva o no regulada actividad enzimática, por lo que inhibidores de estos hongos pueden aportar numerosas actividades farmacológicas beneficiosas (Atsumi *et al.*, 1990; Hautzel y Anke, 1990). En China, Corea y Japón se han utilizado a los macromicetos desde hace más de 700 años como base de su medicina tradicional y alimentación. Dentro de los géneros más utilizados por la cultura oriental se encuentran algunos hongos comestibles a los que se les ha atribuido propiedades medicinales como: *Lentinula*, *Auricularia*, *Grifola*, *Flammulina*, *Pleurotus* y *Tremella*, así como otros géneros considerados como no comestibles también con propiedades medicinales como *Ganoderma* y *Trametes* (Ikekawa, 1995).

La actividad antitumoral en los macromicetos fue demostrada por primera vez por Lucas *et al.* (1957), quienes emplearon extractos acuosos obtenidos de basidiomas de *Boletus edulis* y observaron que dichos extractos inhibían el crecimiento del tumor S180 implantado en ratones. Posteriormente Lucas *et al.* (1958) aislaron a partir de basidiomas de *Calvatia gigantea* un compuesto al cual llamaron Calvacina, este compuesto mostró tener actividad antitumoral hacia líneas celulares de Sarcoma 180, carcinoma 755, Leucemia L-1210 Y HeLa. La investigación de los hongos medicinales se ha enfocado principalmente al aislamiento de

compuestos con actividad antitumoral. En este contexto las especies más estudiadas son *Lentinula edodes*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes versicolor* y *Grifola frondosa* (Wasser y Weis, 1999). Las sustancias antitumorales aisladas de estos macromicetos son principalmente polisacáridos y proteoglucanos, los cuales son el Lentinan, LEM, LAP y KS-2 de *Lentinula edodes*, PSP Y PSK de *Trametes versicolor* y PSG de *Ganoderma lucidum* (Kenneth, 1995). Ikekawa *et al.* (1969) reportaron que los extractos acuosos obtenidos de basidiomas de siete hongos comestibles silvestres: *Auricularia aurícula*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus spodoleucus* y *Tricholoma magnivelare*, presentaron actividad *in vitro* e *in vivo*.

### **3.1.4 Requerimientos para el cultivo de hongos**

Para un buen cultivo de los hongos comestibles y medicinales son primordiales las fuentes de carbono (presentes en la celulosa, la hemicelulosa y la lignina de los vegetales), nitrógeno y compuestos inorgánicos como fuentes nutritivas (Wood y Fermor, 1982). El cultivo en medio sólido es el más común de propagación del micelio para su posterior utilización en la producción de “semilla” y consiste en el crecimiento de micelio en granos de cereales (trigo, sorgo, arroz, etc.), una vez obtenido el inóculo-grano se mantiene en condiciones óptimas para su conservación, hasta su utilización para ser inoculado sobre el sustrato que se empleará para la producción de cuerpos fructíferos. Una alternativa para la obtención de la “semilla” es la utilización de micelio crecido en medio líquido ya que permitirá producir mayor cantidad de biomasa de mejor calidad en menor tiempo, favorecerá la adaptación y dispersión del hongo en el trigo y facilitará su manipulación durante la siembra (Guillen-Navarro *et al.*, 1998).

La introducción de la técnica del cultivo en bolsa no solo incremento la cantidad y el lugar de producción de algunas especies de hongos comestibles, si no también incremento el número de especies convencionalmente cultivadas. Aquellas especies formalmente cultivadas en troncos de madera son ahora capaces de crecer en los cultivos en bolsa en sustratos no solo compuestos por aserrín, sino también de otros desechos agro-industriales, por ejemplo semillas de algodón, olotes, semillas de girasol, residuos de papel, etc. La técnica de cultivo en bolsa ofrece la oportunidad de un mayor control de experimentación en varios aspectos del proceso de cultivo.

Los hongos silvestres comestibles se encuentran en muchos mercados de los países de Europa y Asia. Son apreciados en el ámbito gourmet por su fino sabor y textura de muchos hongos silvestres. Por consiguiente, hay muchos hongos que serían bien recibidos por el público si ellos estaban disponibles en grandes cantidades y no solo en las épocas en que los hongos fructifican en la naturaleza. La demanda de estos hongos silvestres ha sido responsable del establecimiento de negocios para suministrarlos. El mayor de ellos fue Helmut Lingens de Alemania en 1987, cuya organización importaba hongos comestibles de los colectores en todo el mundo. Estos colectores habían estado dando instrucciones de la correcta recaudación de especies específicas que se desean. Un estudio reporta que China posee más de 900 especies de hongos silvestres comestibles, de las cuales solo 60 han sido cultivadas o estado en proceso de domesticación. El número de especies incrementa a 90 si se incluyen las especies en producción de micelio en medio líquido. Esto significa que solo cerca del 10% de especies de hongos en China son utilizados (Mao, 2002). El hongo *Auricularia* ha sido reportado como el primer hongo cultivado en China cerca del año 600 A.C. Desde entonces este hongo ha continuado el único y más popular de los hongos comestibles en China (Chang y Miles, 1987). Muchos de los mejores hongos comestibles requieren asociaciones micorrizicas, y muchos intentos han sido realizados en hongos tales como la trufa (*Tuber*), el matsutake o hongo de pino (*Tricholoma*), el canterel (*Cantharellus*) y el cepe (*Boletus*), especialmente los primeros dos. Es de esperar que nuevos estudios a lo largo de las líneas ecológicas con otros hongos micorrícicos dé lugar a una mayor producción de los otros hongos muy apreciados por los métodos de semicultivación (Delmas, 1978).

Hay un gran número de hongos comestibles que poseen un fuerte atractivo en ciertas regiones, usualmente derivado de su disponibilidad en la naturaleza. Alrededor de 1970, miles de personas en países como Alemania, Polonia, Hungría, Checoslovaquia, entre otros, llevaron a cabo el cultivo de los hongos en sus jardines, como algo simple y de fácil procedimiento que había sido elaborado y publicado para su distribución general. China fue el primero en cultivar exitosamente *Auricularia*, *Lentinula*, *Tremella*, *Ganoderma*, *Hericiium*, *Volvvariella* y otros hongos comestibles y medicinales (Huang, 1997).

### 3.2 El ácido acetyl salicílico

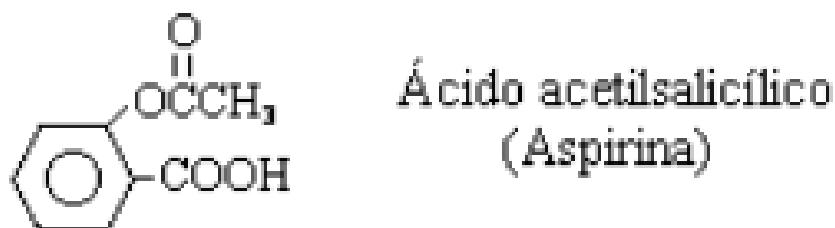
El ácido salicílico (AS) es muy conocido gracias al extenso uso clínico de la aspirina o ácido acetyl salicílico. El nombre de ácido salicílico proviene de *Salix*, el árbol cuyas hojas y corteza tradicionalmente se utilizaban como cura para el dolor y fiebre, y de donde Johann Buchner en 1828 aisló la salicina. En 1874 se inició la producción comercial de AS en Alemania, mientras que el nombre comercial de aspirina, aplicado al ácido acetilsalicílico fue introducido en 1898 por la Bayer Company (Raskin, 1992). El AS es un compuesto encontrado en todos los tejidos de las plantas, pertenece a un grupo muy diverso de sustancias conocidas como fenólicos. En las plantas los compuestos fenólicos, relacionados con el llamado metabolismo secundario, están involucrados en gran cantidad de actividades de regulación en las plantas. Su concentración se eleva cuando las células, órganos o plantas completas son sometidas a la acción de alguna clase de estrés sea este biótico o abiótico. En esas situaciones el ácido salicílico participa en forma importante en la cascada de señalización que da lugar a las respuestas de adaptación en ambientes extremos, a la expresión de los sistemas de control del daño oxidativo así como a la inducción de la resistencia sistémica adquirida en el caso de patogénesis. El Ácido Acetyl Salicílico (A.A.S.) cobra un especial relieve. Su perdurabilidad puede considerarse realmente excepcional, pues su tradición terapéutica se remonta a fines del siglo XIX. Pero, además, no es sólo que haya sobrevivido de una forma precaria, sino siendo en la práctica uno de los fármacos más utilizados en el mundo. El AAS tiene sus orígenes en el uso de diversos productos de plantas que contienen salicilatos. Sólo en la familia de las salicáceas se encuentran más de 200 especies, entre ellas, chopos y sauces que contienen glucósidos, y entre éstos la salicilina (Pancorbo y Madrigal, 2007).

Los efectos analgésicos del ácido salicílico (ácido o-acetoxibenzoico) se conocen desde muy antiguo (400 años antes de nuestra Era). Aunque aspirina es un nombre registrado en muchos países, se acepta esa denominación como su nombre genérico. El ácido acetilsalicílico se presenta en forma de cristales blancos, o bien como un polvo cristalino. Funde a 135 – 137°C, descomponiéndose a 140°C. Su solubilidad en agua a 25°C es de 3'3 g/L de agua (Austin, 1984).



### 3.2.1 Aplicaciones del Ácido Salicílico

El ácido salicílico se emplea principalmente en la fabricación de aspirina, que es el producto farmacéutico más vendido. Sus ésteres, amidas, y sales son materia prima de otros productos farmacéuticos. El ácido salicílico de grado técnico se usa sobre todo en la producción de productos agroquímicos, tintes, colorantes, caucho, perfumes, y resinas fenólicas. Su distribución: 55% a aspirina, 18% a ésteres y sales, 10% a resinas, 10% a tintes y colorantes. La introducción de nuevos analgésicos ha afectado a su consumo, por la reducción de ventas de aspirina (Wiley, 1997). A su vez, la aspirina se usa por sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias, y antipiréticas. Su fórmula estructural del ácido acetil salicílico se puede observar en la figura 1.



**Figura 1.** Fórmula estructural del ácido acetil salicílico.

### 3.3 *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers.

*Hericium erinaceus* (Bull. Ex Fr.) Pers. Es cultivado en China. Es llamado Houtou (Hongo cabeza de mono) su fructificación se ve como si fuera la cabeza de un bebé mono. En algunas ocasiones es referido como hongo cabeza de oso. *Hericium* es un miembro de la clase de los Basidiomicetes, subclase Holobasidiomicetidae, orden Afiloforales, y familia Hericiaceae. El cuerpo fructífero es de 5 a 30 cm de tamaño en la naturaleza, con un rudimentario estípite. Es blanco pero tiende a amarillo, y su característica sobresaliente es que está cubierto por dientes de 3 a 6 cm de largo. Sus esporas son blancas, subglobosas en su forma, lisa y de 6 a 7  $\mu\text{m}$  de tamaño. Es un hongo comestible famoso en China, algunos lo han descrito como delicioso, altamente apreciado y sabroso. Esto se debe también a la buena reputación de sus propiedades medicinales. Un medicamento tradicional Chino es preparado con especímenes secos de este hongo el cual es llamado "Houtou" para el tratamiento de enfermedades crónicas del estómago. Recientemente, se ha reportado que los polisacáridos contenidos en el cuerpo

fructífero de *H. erinaceus* presentan efectos carcinostáticos en la gastritis, esofágico, hepático y cáncer de piel, basado en la regulación de las funciones inmunológicas. Su hábitat se encuentra en lo profundo del bosque donde crece en madera vieja y muerta (Mizuno, 1999).

*Hericium* fue domesticado por científicos de la Academia de Ciencias Agrícolas de Shangai, y de ahí fue difundida la técnica de su cultivo a otros lugares. Hoy en día es cultivado en bolsas de plástico en una variedad de sustratos como lo son: bagazo de caña de azúcar, aserrín, cascaras de semillas de algodón, olote y paja picada de arroz suplementados con arroz, salvado de trigo, sacarosa, yeso y algunas veces con ingredientes adicionales. Las cascaras de la semilla de algodón han sido consideradas por algunos como el mejor material para cultivar el hongo cabeza de mono en cualquier región algodonera, porque su costo es bajo, es fácil de preparar y presenta un alto rendimiento (Liu, 1981). Actualmente, es principalmente producido en China. Su producción anual fue estimada en 2800 Toneladas en 1998 y 9547 Toneladas en 2001. Un sustrato para el inóculo de la siguiente composición ha sido usado: Aserrín: 78 kg, Salvado 20 kg, Sacarosa: 1 kg y Yeso: 1 kg (Adicionar agua para dar mayor humedad de 65%).

*H. erinaceus* ha sido cultivado en distintos sustratos como lo son: Aserrines de pino, Roble, Haya, abedul, caucho y mezclas de aserrín suplementados con salvado de trigo, así como también en paja de trigo y arroz, paja de centeno, bagazo de caña de azúcar, cascarillas de semillas de algodón y olote (Liu, 1981; Stamets, 2000; Siwulski y Pawlak, 2005; Hyunjong y Thatithatgoon, 2005; Hassan, 2007; Siwulski *et al.*, 2009).

Hoy en día el hongo *Hericium erinaceus* es catalogado como un alimento con potencial funcional muy alto debido a su capacidad para mejorar algunos funcionamientos biológicos de los seres humanos como lo es su actividad antioxidante, la regulación de los niveles de lípidos en la sangre, y la reducción de los niveles de glucosa en la sangre, además de que es utilizado en platillos convencionales en países asiáticos (Wang *et al.*, 2005). Los polisacáridos de este hongo pueden tener efectos en úlceras gástricas, cáncer esofágico, hepatitis y cáncer de piel (Mizuno *et al.*, 1992). Asimismo, se han realizado pruebas antimicrobianas y sus propiedades antioxidantes tanto en micelio como en basidiocarpos de este hongo (Wong *et al.*, 2009).

### **3.4 *Fistulina guzmanii* Brusi**

*F. guzmanii* presenta colores brillantes (rojo carmín o rojo púrpura) en fresco, tanto en el píleo como en el himenóforo, el tamaño del basidioma es generalmente más pequeño y sólo se ha encontrado sobre *Mimosa galeottii* Benth, como lo señala Brusi (1972).

Clasificación taxonómica:

Reino:Fungi, Filo: Basidiomycota, Clase: Agaricomycetes Orden: Agaricales, Familia: Fistulinaceae, Género: *Fistulina* y Especie: *Fistulina guzmanii*.

Pileo de 5-15 x 4-8 cm, 0.8-1.5 cm de ancho, reniforme y lenguiforme, semicircular, aplanado, carnoso, en el principio, papiloso-flocooso, viscoso con superficie gelatinosa, purpureo, carminoso, bruneuroso oscuro, sésil. Estípite 3-5cm longitud, 1.5-3.5 cm grueso, píleo concolor cilíndrico. Tubulos de 0.5 cm de longitud, poros carminosos-purpureos un tanto brunescientes. Basidiosporas de 4.0-5.5 x 3-4.5  $\mu$ . Hábitat, solitario y gregario específicamente en troncos de *Mimosa galeottii* (Brusi, 1972).

### **3.5 Uso de *Fistulina guzmanii* como recurso**

Hoy en día este hongo este hongo está muy poco estudiado, se tiene avance en su descripción taxonómica, pero no se tiene registro alguno de su consumo y cultivo en mercados regionales de México, sin embargo es un hongo comestible, al cual se le han encontrado oligosacáridos mediante técnicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y HPLC mediante extractos hidroalcohólicos (Mitzi, 2011). Esto sugiere que este hongo puede tener importantes metabolitos funcionales útiles para el ser humano. No se tiene registro del cultivo de esta especie en México ni el mundo. Para el caso de *F. hepática* si se tienen registros de su cultivo en sustratos suplementados (Hattori y Tanaka, 1997).

### **3.6 Género *Volvariella***

El hablar del género *Volvariella* es hablar de una amplia diversidad de especies vinculadas a hongos comestibles cultivados en el Sureste Asiático y dado que su fructificación se puede llevar a cabo a temperaturas cálidas y al aire libre, lo que lo hace tener un gran potencial de cultivo en zonas tropicales y subtropicales e ideal para estrategias de desarrollo agrícola y rural ya que requieren bajos costos de inversión.

### **3.6.1 *Volvariella bombycina* (Schaeff.) Singer**

*V. bombycina* es un hongo comestible perteneciente a la familia Pluteaceae, comúnmente llamado el hongo de paja sedoso de plata (Mallavadhani *et al.*, 2006)

Características macroscópicas:

Sombrero grande, de 5 a 20, de ovoide a aplanado, algo mamelonado. Cutícula seca, brillante, recubierta de fibrillas radiales o mechas sedosas, a modo de capullo de seda (bombix = “gusano de seda”), con la zona central más lisa, de color blanco-crema o amarillento. Láminas numerosas, apretadas, libres, con lamélulas, borde denticulado, color blanco que al esporar vira a rosa. Pie robusto, cilíndrico, fibroso, separable, curvado en la base, sin anillo pero con gran volva carnosa, persistente, saciforme, de color blanco sucio o parduzco. Carne blanca, tierna, al roce amarillea. El agradable olor de joven, se vuelve desagradable al madurar (a rábano). Esporada rosa (Chiu y Moore, 1989).

#### **3.6.1.1 Hábitat**

Saprofita tocones de latifolios: alcornoque, aliso, fresno, sauce, olmo. Sale también sobre serrín. Es el hongo saprófito de mayor porte y tacto aterciopelado. Primavera a Otoño, Se cultiva en madera de chopo o similar, a temperatura alta. Sobre todo en Oriente medio.

#### **3.6.1.2 Propiedades funcionales de *Volvariella bombycina***

Es apreciado por sus características nutricionales y químicas y se le han reportado una buena cantidad de antioxidantes y efectos antitumorales e hipercolesterolemicos (Badalyan, 2003). Análisis proximales mostraron que el micelio de este hongo posee 31.8% de fibra dietética, 25.5% de proteína cruda, 1.15% lípidos, 9.03% de ceniza, 8.75% de humedad y 34.75% de carbohidratos, mientras que el basidiocarpo mostro 24.6% de fibra dietética, 28.3% %, 28.3% de proteína cruda, 2.72% lípidos, 10.09% ceniza, 9.68% humedad y 38.9% de carbohidratos (Jegadeesh *et al.*, 2010).

### **3.7 Radicales libres**

Los radicales libres son aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una elevada inestabilidad. Esto los hace extraordinariamente reactivos y de vida efímera, con una

enorme capacidad para combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos, así como con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos, al buscar su equilibrio electroquímico mediante reacciones de óxidoreducción (Daglia *et al.*, 2000).

### **3.7.1 Fuentes de radicales libres**

Los radicales libres resultan de procesos fisiológicos propios del organismo (fuentes endógenas) como el metabolismo de nutrientes, la respiración y el ejercicio, o bien son generados por factores ambientales o fuentes exógenas tales como la contaminación industrial, el tabaquismo, la radiación, los aditivos químicos en alimentos procesados y los pesticidas (Bennati *et al.*, 2008). Dentro de las Especies Reactivas del Oxígeno (ERO) o ROS por sus siglas en inglés, se encuentran radicales libres y ciertas especies no radicales las cuales son oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales libres.

## **3.8 Antioxidantes**

Para prevenir y proteger a los componentes celulares del daño por los radicales libres, los organismos aerobios han desarrollado un elaborado mecanismo de defensa llamado sistema de defensa antioxidante. Existen diversas defensas a nivel celular contra los niveles elevados de radicales libres tales como las enzimas superóxido dismutasa, catalasa o glutatión peroxidasa que protegen al organismo contra las ERO (Alvarez-Parrilla *et al.*, 2007). Un antioxidante se define como cualquier sustancia que, cuando está presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de este sustrato. Como sustrato oxidable se pueden entender a la mayoría de las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas (proteínas, lípidos, carbohidratos y moléculas de ADN) (Beristain *et al.*, 2003).

### **3.8.1 Polifenoles como fuente de antioxidantes**

Las terapias antioxidantes y dietas ricas o enriquecidas con antioxidantes parecen prevenir o al menos, disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo. Así, ha surgido el interés por obtener moléculas con potencial actividad antioxidante. Los polifenoles representan un grupo de metabolitos secundarios que se encuentran abundantemente en frutas, verduras, vinos, tés, aceite de oliva extra virgen, chocolate y otros

productos de cocoa, así como en hongos comestibles (Soares *et al.*, 2009; Dubost *et al.*, 2007; Wong y Chye , 2009).

### **3.8.2 Determinación de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu**

El ensayo colorimétrico Folin-Ciocalteu ha sido utilizado durante muchos años como una medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos naturales y el cual puede considerarse como un método de medida de actividad antioxidante total (Prior *et al.*, 2005). El método Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. Los compuestos fenólicos oxidan al reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfowolfrámico (H<sub>3</sub> PW<sub>12</sub> O<sub>40</sub>) y de ácido fosfomolibdico (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub> O<sub>40</sub>) en medio básico, que se reducen por oxidación de los fenoles originando óxidos de wolframio (W<sub>8</sub> O<sub>23</sub>) y de molibdeno (Mo<sub>8</sub> O<sub>23</sub>) los cuales pueden observarse a través de la coloración azul generada por la oxidación, dicha coloración es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes (Kuskoski *et al.*, 2005).

### **3.9 Los hongos como fuente de antioxidantes**

Algunos compuestos antioxidantes que se pueden encontrar en los hongos son: Ergotioneína, es un compuesto tiol hidrosoluble (2-tioimidazol betaína) que ha despertado mucho interés por su habilidad *in vivo* para capturar el oxígeno singlete, radicales hidróxilos y peróxilos, actuando como agente protector contra el estrés oxidativo (Franzoni *et al.*, 2006). Polisacáridos, son compuestos de composición especial (carbohidratos normalmente unidos a proteínas formando complejos específicos). Se ha puesto de manifiesto que poseen propiedades antioxidantes. Aparentemente, la actividad de captación de radicales superóxidos de las fracciones de polisacáridos depende de la cantidad de proteína o péptido que tienen en sus complejos polisacárido-proteína (Liu *et al.*, 1997). Además, los polisacáridos de los hongos pueden potenciar los sistemas de defensa *in vivo* contra el daño oxidativo (Yu *et al.*, 2009).

### **3.10 *Bacillus subtilis* como patógeno en la salud humana**

Desde 1970, han habido varios informes de infecciones causadas por *B. subtilis* en los que la identificación de la especie ha sido confiable. Los casos que se describen incluyen:

endocarditis, manifestándose después del abuso de drogas; neumonía fatal y bacteriemia en tres pacientes con leucemia; septicemia, en un paciente con carcinoma de mama con metástasis; en la infección de un tumor necrótico axilar en otro paciente de cáncer de mama; de los aislamientos de un derrame pleural contiguo a un absceso subfrénico de una prótesis de pecho; de varias heridas quirúrgicas (Ihde y Armstrong, 1973). Además, *Bacillus subtilis* es una bacteria que presenta relevancia clínica. También, el uso de productos de lavandería derivados de que contengan enzimas proteolíticas de *B. subtilis*, ha generado casos de dermatitis y enfermedades respiratorias (Norris *et al.*, 1981).

### **3.11 *Escherichia coli* como patógeno en la salud humana**

*Escherichia coli* es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu *Escherichia* (Rodríguez, 2002). En años recientes, la etiología de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) ha cambiado a la vez que han surgido patógenos nuevos o cepas más agresivas y resistentes a los antibióticos. Actualmente, la industria de alimentos ha reenfocado su atención sobre éstos microorganismo como una causa de morbilidad y mortalidad significativa y reconoce su valor como un indicador del estado higiénico de muchos tipos de alimentos.

### **3.12 *Salmonella typhi* como patógeno en la salud humana**

*Salmonella* es un bacilo Gram negativo que se comporta como patógeno intracelular facultativo, se divide en dos especies *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, tomando en cuenta sus características bioquímicas generales. Esta última se subdivide en seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *indica* y *houtenae*; las salmonelas de mayor importancia médica pertenecen a las subespecies *entérica* y *arizonae* y son consideradas serovars. Por lo que la nomenclatura que se está manejando actualmente es *Salmonella enterica* serovar Typhi, *S. enterica* serovar Paratyphi, *S. enterica* serovar Typhimurium (Figueroa y Verdugo, 2005). Las cepas de *Salmonella* son una de las principales causas de infecciones de origen alimentario en los países industrializados ya que se han descrito brotes por *Salmonella typhimurium* en distintos países, transmitidos a través de alimentos procesados, como huevos y leche pasteurizada, alimentos crudos como leche, lechugas o por

transmisión a través de manipuladores de alimentos por ejemplo en países como México que ha llegado a ser el serotipo más identificado (Gutierrez-Cogco *et al.*, 2000).

### **3.13 *Pseudomonas aeruginosa* como patógeno en la salud humana**

Es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas. Como otras *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* secreta una variedad de pigmentos como piocianina (azul verdoso), fluoresceína (amarillo verdoso fluorescente) y piorrubina (rojo pardo). *Pseudomonas aeruginosa* puede causar diversos tipos de infecciones pero rara vez causa enfermedades graves en personas sanas sin algún factor predisponente. Coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos. Desde estos lugares puede invadir el organismo y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis. Las personas con fibrosis quística o inmunodeprimidas son propensas a la colonización por *P. aeruginosa*, que puede conducir a infecciones pulmonares progresivas graves. Las foliculitis y las otitis relacionadas con el agua se asocian con ambientes húmedos y cálidos como las piscinas y bañeras de hidromasaje. Muchas cepas son resistentes a diversos antibióticos, lo que puede aumentar su relevancia en el ámbito hospitalario (Ruiz, 2007).

### **3.14 *Listeria monocytogenes* como patógeno en la salud humana**

Es una bacteria que se desarrolla intracelularmente y es causante de la Listeriosis. Es uno de los patógenos causante de infecciones alimentarias más virulentos, con una tasa de mortalidad entre un 20 a 30%, más alta que casi todas las restantes toxicoinfecciones alimentarias. *L. monocytogenes* es un bacilo Gram positivo, pequeño (0,4 a 0,5 micrones de ancho x 0,5 a 1,2 de largo) no ramificado y anaerobio facultativo capaz de proliferar en un amplio rango de temperaturas (1 °C a 45 °C) y una elevada concentración de sal. Es catalasa positivo y no presenta cápsula ni espora. Tiene flagelos peritricos, gracias a los cuales presenta movilidad a 30 °C o menos, pero es inmóvil a 37 °C, temperatura a la cual sus flagelos se inactivan (Cossart y Toledo, 2008).

*Listeria monocytogenes* es una bacteria grampositiva anaerobia facultativa, intracelular, que puede causar infecciones invasivas muy graves en el hombre y los animales y sobrevivir sin



dificultad en medios inanimados, adaptándose rápida y eficazmente a cambios extremos en las condiciones ambientales, lo que explica su gran capacidad para la transmisión. *Listeria* afecta en mayor medida a los extremos de edad de la vida, embarazadas y personas con algún tipo de inmunodepresión, fundamentalmente celular, o enfermedad debilitante, como neoplasias hematológicas, trasplantados, tratados con corticoides o antagonistas del factor de necrosis tumoral, cirrosis hepática (sobre todo enólica), enfermedades por depósito de hierro (hemocromatosis), insuficiencia renal avanzada, diabetes mellitus y enfermedades autoinmunes (Sánchez y Palencia, 2010).

### **3.15 *Staphylococcus aureus* como patógeno en la salud humana**

Como estafilococo áureo, o comúnmente estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella. Puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria (Lowy, 2003).

El estafilococo *aureus* (staph) es un tipo de bacteria (germen) que se encuentra en la piel o en la nariz. La mayoría de las veces, estas bacterias no causan problemas para la gente. Sin embargo, si el estafilococo entra al organismo por medio de una cortada o herida, puede causar furúnculos o abscesos dolorosos en la piel o infección en los pulmones (neumonía), torrente sanguíneo o en una herida que se esté cicatrizando después de una cirugía. Las personas con más alto riesgo de contraer una infección por estafilococo son las personas enfermas en hospitales, personas que se estén recuperando de cirugías o procedimientos médicos, personas que viven en condiciones de hacinamiento (albergues o prisiones), niños en guarderías, personas que abusan las drogas vía intravenosas (IV), personas con sistema inmune débil, atletas y personal militar (Cervantes *et al.*, 2014).

### **3.16 *Stenotrophomona maltophilia* como patógeno en la salud humana**

La *Stenotrophomona maltophilia*, una bacteria Gram negativa, que fue considerada como de patogenicidad limitada, actualmente se asocia a un aumento en la morbimortalidad. Su presencia representa un gran problema debido a su multirresistencia. Son lisas, con un color que puede variar de blanco a ligeramente amarillo; en agar sangre puede observarse una ligera coloración verdosa alrededor de las colonias que confluyen y en otros medios de cultivo puede observarse una coloración café (Senol, 2004). Es un aerobio obligado, que no crece a una temperatura inferior a 5 °C, y a una temperatura superior de 40 °C, siendo la temperatura óptima de crecimiento 35 °C. La SM ha sido aislada de muestras provenientes de heces de humanos y animales. Puede encontrarse en diversas fuentes ambientales, como aguas sucias o residuales, leche cruda, etc. Aunque por años fue considerada como una bacteria de patogenicidad limitada, en años recientes nuevos reportes indican que las infecciones asociadas a esta bacteria se relacionan con ARAP aumento en la morbimortalidad, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, con estancia prolongada en el hospital y que han recibido antimicrobianos de amplio espectro. Algunos reportes sugieren que la SM se encuentra entre los primeros tres gérmenes aislados con mayor frecuencia (Gutiérrez *et al.*, 2007).

### **3.17 *Streptococcus agalactiae* como patógeno en la salud humana**

Es una bacteria estreptococo del grupo B (EGB), gram-positivo, beta-hemolítico, catalasa negativo, oxidasa negativo y anaerobio facultativo, caracterizado por presentar el grupo B de antígenos Lancefield. Se puede encontrar en el aparato digestivo, urinario y genital de los adultos. Aunque una infección por EGB normalmente no ocasiona problemas a las mujeres sanas antes del embarazo, puede provocar una enfermedad grave a la madre y al bebé durante la gestación y después del parto. Este estreptococo se reconoce como patógeno humano desde 1938, a partir de tres casos fatales de sepsis puerperal. En la década del 60 se transformó en el primer microorganismo en frecuencia, en sepsis neonatal. La transmisión de madre a hijo puede ocurrir durante el parto en el caso de existir colonización vaginal, o antes del nacimiento, en el marco de la infección maternal. Hussain y col. en 1995 describieron

infecciones por este microorganismo en pacientes pediátricos en un hospital de EEUU (Jancey *et al.*, 1996).

En adultos, además de la infección posparto, ha sido reconocido como patógeno en pacientes no embarazadas, al provocar una variedad de infecciones, principalmente en piel y tejidos blandos e infección urinaria. El hábitat natural de este microorganismo es el íntestino; intermitentemente coloniza la vagina, donde la portación es mayor en la primera etapa del ciclo menstrual de mujeres jóvenes (9-12). Estudios realizados en embarazadas demuestran una variación en la portación entre un 5 y un 25% (Viegas *et al.*, 2004).

### **3.18 Los hongos como fuente de compuestos antibacterianos**

El auge que ha presentado últimamente el consumo de los hongos como nutra y nutriceuticos ha llevado a implementar métodos modernos de cultivo (fermentaciones en fase sólida y en medio sumergido) que permitan optimizar los resultados en un menor tiempo y con calidad superior a través de la manipulación de las variables del proceso biotecnológico, lo que representa un gran atractivo para la industria farmacéutica. Se han aislado compuestos antimicrobianos de diversos hongos basidiomicetos que abarcan desde componentes estructurales con actividad antitumoral e Inmunologicamente activos hasta agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, citostáticos, reguladores del crecimiento y productores de aromas (Brizuela *et al.*, 1998).

Dentro de estos metabolitos se encuentran : diterpenos, compuestos fenólicos, polisacáridos, sesquiterpenos, p-terfenilos, fenilacetoxilados, glucanos acetilenos, sales de diazonio, terpenoides, alcaloides y compuestos nitrogenados, ácidos fenilglicosídicos sustituidos, quinonas, entre otros (Brizuela *et al.*, 1998). El metabolismo secundario de los basidiomicetos es rico en terpenoides, muchos de los cuales poseen estructuras que hasta ahora sólo han sido detectadas en estos organismos y que han demostrado tener actividad antibiótica, especialmente sesquiterpenos, diterpenos y triterpenoides (Zjawiony, 2009).

#### **IV. MARCO DE REFERENCIA**

Los hongos han sido uno de los candidatos útiles en la búsqueda de compuestos bioactivo con actividad captadora de radicales tanto en la fructificación mediante el cultivo en medio sólido, como en el cultivo en medio líquido que puede ser producido en menos tiempo para producir cantidades óptimas de productos activos. Las propiedades antioxidantes de los hongos macromicetos han sido ampliamente estudiadas y muchos compuestos antioxidantes extraídos de estas fuentes han sido identificadas, tales como compuestos fenólicos, tocoferoles, ácido ascórbico y carotenoides (Sharma *et al.*, 2012).

##### **4.1 Residuos agroindustriales, agroforestales y agrícolas como sustrato de hongos**

Según Navarro *et al.*, 1995, se puede definir como residuos a “aquellas materias derivadas de actividades de producción y/o consumo que no han alcanzado ningún valor económico”. De acuerdo a lo anterior estos residuos lignocelulósicos incluyen a aquellos subproductos tanto de origen forestal, agrícola e industrial (Marqués, 2010). Poseen características que los hace similares, como lo es su composición química cuyo contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinas es variable (Saval, 2012), representan la mayor fuente de energía y materia orgánica renovable de la biosfera, cuya estructura y composición química varía dentro de amplios rangos, lo que determina su uso industrial y la posible aplicación de métodos biotecnológicos (Marqués, 2010). El aserrín de encino es un subproducto agroforestal que ha sido utilizado por muchos productores de Hongos dándole un valor agregado, encontrando este aprovechamiento de este residuo como una alternativa para la disposición del mismo, reduciendo así los impactos generados a raíz de su producción (Saval, 2012).

Grandes cantidades de aserrín existentes no aprovechables, desprovistas de protección y áreas especiales para su acumulación las convierten en fuentes de daño medioambiental, incendios e impiden que las mismas sean empleadas en todas sus potencialidades, lo anterior unido al ineficiente manejo que se realiza con estos residuos (quemados a cielo abierto y arrojados en vertederos inapropiados) provocan serios problemas de contaminación ambiental que se traducen en problemas a la salud y daño al medio ambiente. Lo mejor sería que todos los desechos sean reaprovechados y reincorporados de alguna forma al medio, en nuestro caso como sustrato.

Los residuos agroindustriales, son materiales ricos en compuestos parietales (celulosa, hemicelulosa y lignina) los cuales representan la mayor fuente de energía y materia orgánica renovable de la biosfera, cuya estructura y composición química varían dentro de amplios rangos, lo cual determina su uso industrial y la posible aplicación de métodos biotecnológicos (Marqués, 2010). Su condición de residuos altamente lignificados limita su remineralización al medio, lo que es visto como un grave problema ambiental debido a los volúmenes manejados y los métodos poco efectivos aplicados para su disposición. Algunos de estos residuos son vistos como fuente de alimento para el ganado, tal es el caso de los generados por el sector agrícola y algunos subproductos agroindustriales, sirviendo como “forraje” durante época de secas, sin embargo su aporte nutricional está limitado por la capacidad del ganado para ingerirlos, costo económico y la digestibilidad de los pocos nutrientes digestivos para el animal (Ellis *et al.*, 1988).

#### **4.1.2 Celulosa**

Es el componente mayoritario de residuos como la madera y otras fibras vegetales, además de ser el compuesto más sencillo y abundante en la naturaleza, ya que constituye entre el 40 y 50% de la pared celular de la planta en estado de madurez (Delfín y Durán, 2003), confiriéndole estructura y soporte; posee cadenas poliméricas que al ser hidrolizadas liberan unidades de glucosa; se le encuentra asociadas con fibras hemicelulósicas, que son polímeros distintos a la glucosa, básicamente xilosas y manosas (Espino, 2000).

#### **4.1.3 Hemicelulosa**

Constituye el principal componente de las paredes celulares en las plantas, actuando como matriz de soporte para las microfibrillas de celulosa y estructuralmente son más complejas que esta última (Marqués, 2010); se trata de un polímero heterogéneo constituido por diferentes polímeros de monosacáridos de cadenas de hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y pentosas (xilosa y arabinosa), cuya molécula predominante es el xiloglucano constituida por cadenas de unidades de D-glucosa con enlaces tipo  $\beta$ -1,4 con ramificaciones terminales de unidades de xilosa con enlaces del tipo  $\alpha$  1, 6 (Maynard *et al.*, 1981), cuyas moléculas se encuentran unidas por enlaces covalentes a la fracción péctica de la pared celular y por uniones de hidrogeno a las microfibrillas de celulosa aumentando significativamente la

resistencia de células vegetales (Naranjo, 1999). La hidrólisis de celulosa y hemicelulosa depende de la estructura de la que forman parte, de los monómeros que las conforman y del tipo de enlace entre ellos (Hadar *et al.*, 1992).

#### **4.1.4 Lignina**

Es un compuesto resistente a la degradación, posee una estructura reticular tridimensional de anillos aromáticos unidos por átomos de oxígeno, la cual obstaculiza el acceso de enzimas hidrolíticas hacia las fibrillas celulósicas. La biotransformación de lignina es un proceso fundamental en el ciclo del carbono, cuyo proceso metabólico es realizado por mecanismos oxidantes extracelulares (Delfín y Durán, 2003). Además, es el segundo polímero más abundante en el mundo vegetal, después de la celulosa, “actúa como aglomerante de las fibras debido a su carácter hidrófobo siendo una de las moléculas orgánicas más recalcitrantes” (Marqués, 2010), por lo que se le atribuye la rigidez de las plantas y el desarrollo de mecanismos de resistencia al estrés y ataques microbianos. La molécula de lignina es un heteropolímero aromático de estructura tridimensional irregular (Marqués, 2010) de elevado peso molecular, componente principal de las paredes celulares vegetales y responsable la estructura leñosa de los mismos (Ravera *et al.*, 2008); constituida por unidades de fenilpropano, alcoholes aromáticos, p-coumarílico, coniferil y sinapílico asociados con la celulosa y hemicelulosa de las plantas (Marqués, 2010). La asociación existente entre la lignina y los polisacáridos de la pared celular, determina la rigidez y resistencia estructural de la planta, lo que está en función de la especie y edad de la misma. Los organismos aerobios y los hongos macromicetos son los únicos organismos que poseen la capacidad de romper éstos enlaces permitiendo degradar la lignina por acción de enzimas como lacasas, lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa (Cohen, 2002).

#### **4.2 *Fistulina hepatica* Shaeffer :Fr. Syst**

Basidioma anual, de 80-20 x 40-75 x 20-50 mm, pileadoestipitado, fl abeliforme, de consistencia carnosa en fresco a correosa en ejemplares de herbario, solitario. Píleo dimidiado a reniforme, con la superficie radialmente estriada, ligeramente pegajosa en fresco, viloso a hispido en ejemplares jóvenes, glabrescente con la edad, de color café amarillento a café rojizo en fresco, café oscuro a negro en ejemplares herborizados; margen entero, obtuso, ligeramente

involuta, fértil, concolora con la superficie del píleo. Himenóforo con poros circulares, de 5 a 6 por mm, de color café claro, café oscuro hacia el margen, con el borde entero. Tubos individuales, separables unos de otros, de 3-5 mm de longitud, concoloros con los poros. Estípites de 30-60 x 15-30 mm, lateral, ventricosos, pubescentes a ligeramente vilosos, granuloso en algunas porciones y lisos en otras, concoloros con el píleo. Contexto de 20-40 mm de grosor, simple, carnoso y acuoso, de color rojizo en fresco y café obscuro a negro en especímenes de herbario. Sistema hifal monomítico con hifas generativas de 3.2-5.0  $\mu\text{m}$  de diámetro, con fíbulas, hialinas, de paredes delgadas. Hifas gleopléricas hasta 5.6  $\mu\text{m}$  de diámetro, de color amarillo dorado, presentes en la superficie del estípite. Elementos cistidioides presentes en el borde de los tubos, de 65-115 x 6-12  $\mu\text{m}$ , hialinos a amarillo dorado en KOH, con pared delgada y algunos son septados. Basidios de 18-28 x 5-7  $\mu\text{m}$ , tetraspóricos, hialinos, claviformes. Basidiosporas de 4.0-5.2 x 3.2-4.0  $\mu\text{m}$ , ovoides a lagrimoides, hialinas a pálido amarillentas en KOH, lisas, de pared delgada, inamiloides. Sus parámetros de cultivo se muestran en el cuadro 1.

Esta especie crece solitaria sobre madera muerta de *Quercus* causando pudrición café en bosque de *Pinus-Quercus* o *Quercus*. *Fistulina hepatica* es muy parecida a *F. guzmanii* Brusis, sólo crece sobre *Quercus* y *Castanea* en Norteamérica y Europa (Gilbertson y Ryvarden, 1986; Farr *et al.*, 1989). En cuanto a los caracteres microscópicos, el tamaño de las esporas es muy similar en ambas especies, y Brusis (1972) no menciona la presencia de los elementos cistidioides en el borde de los tubos en *F. guzmanii*. Las diferencias morfológicas entre ambas especies son suficientes para considerarse como especies distintas y sería necesario corroborarlo con un análisis molecular. Es una especie común en Norteamérica (Gilbertson y Ryvarden, 1986). En México, sólo se ha registrado en el estado de Oaxaca por Raymundo y Valenzuela (2003).

#### **4.3 Antecedentes de cultivo de *Fistulina guzmanii* y *Hericiium erinaceus***

Cabe destacar que de acuerdo a la revisión bibliográfica que se realizó en el presente trabajo no se tiene reporte del cultivo de *Fistulina guzmanii* y de *Hericiium erinaceus* en México, tampoco se le ha determinado las actividades funcionales de *F. guzmanii*, de modo que de

llegarse a lograr el cultivo de estos hongos en la formulación COLPOS-17, serían los primeros reportes a nivel nacional.

**Cuadro 1.** Parámetros de cultivo de *Fistulina hepática* (Hattori y Tanaka, 1997).

Temperatura de incubación (°C)	Temperatura de fructificación (°C)	pH	Árboles usados como sustrato	Humedad relativa (%)
10-30/1-30 días	15-32 con una óptima de 25/15-60 días	3.5-5.5	<i>Quercus</i> , <i>Castanopsis</i> <i>Betula</i> <i>Pasania</i> <i>Abies</i> <i>Pinus</i> entre otros	50-85



## V. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

México posee una amplia diversidad de recursos genéticos fúngicos nativos poco conocida por la mayoría de la población respecto a su uso, cultivo y explotación racional de estos organismos, así como sus propiedades funcionales y medicinales a pesar de que en algunas regiones se tiene un gran conocimiento tradicional de algunas especies que se comercializan en mercados regionales. Los hongos macromicetos juegan un rol muy importante en la transformación de subproductos agrícolas y forestales para generar alimentos sanos y nutritivos.

Hoy en día nuestro país es el principal productor de hongos en América Latina, haciendo énfasis en el champiñón (*Agaricus bisporus*) que genera alrededor de 62,374 toneladas anuales provocando una derrama económica de más de 200 millones de dólares al año y generando cerca de 25,000 empleos (Martínez-Carrera *et al.*, 2012). Por otro lado, la biotecnología moderna y las ciencias omicas (genómica, transcriptómica, metabolómica, entre otras) tendrán un fuerte impacto en la utilización de estos hongos comestibles y medicinales al convertirlos en fábricas de metabolitos bioactivos benéficos para el ser humano y, como transformadores de subproductos lignocelulósicos, teniendo un gran impacto en el desarrollo regional. Con base a lo anteriormente expuesto, la presente investigación se enfoca en la región central del país para identificar y seleccionar recursos genéticos de hongos comestibles, cuyos rendimientos y propiedades funcionales y medicinales demuestren su potencial de cultivo a mayor escala. Se estudiara el efecto del ácido acetil salicílico sobre el rendimiento y las propiedades funcionales (antioxidantes, antibacterianas) de las especies seleccionadas.

## **VI. HIPÓTESIS**

Los hongos seleccionados y cultivados en presencia del ácido acetil salicílico (AAS) tendrán propiedades funcionales (antioxidantes y antibacterianas) diferentes a aquellas del testigo.

## **VII. OBJETIVO GENERAL**

Seleccionar recursos genéticos de hongos comestibles y funcionales con potencial de aprovechamiento en la zona central de México.

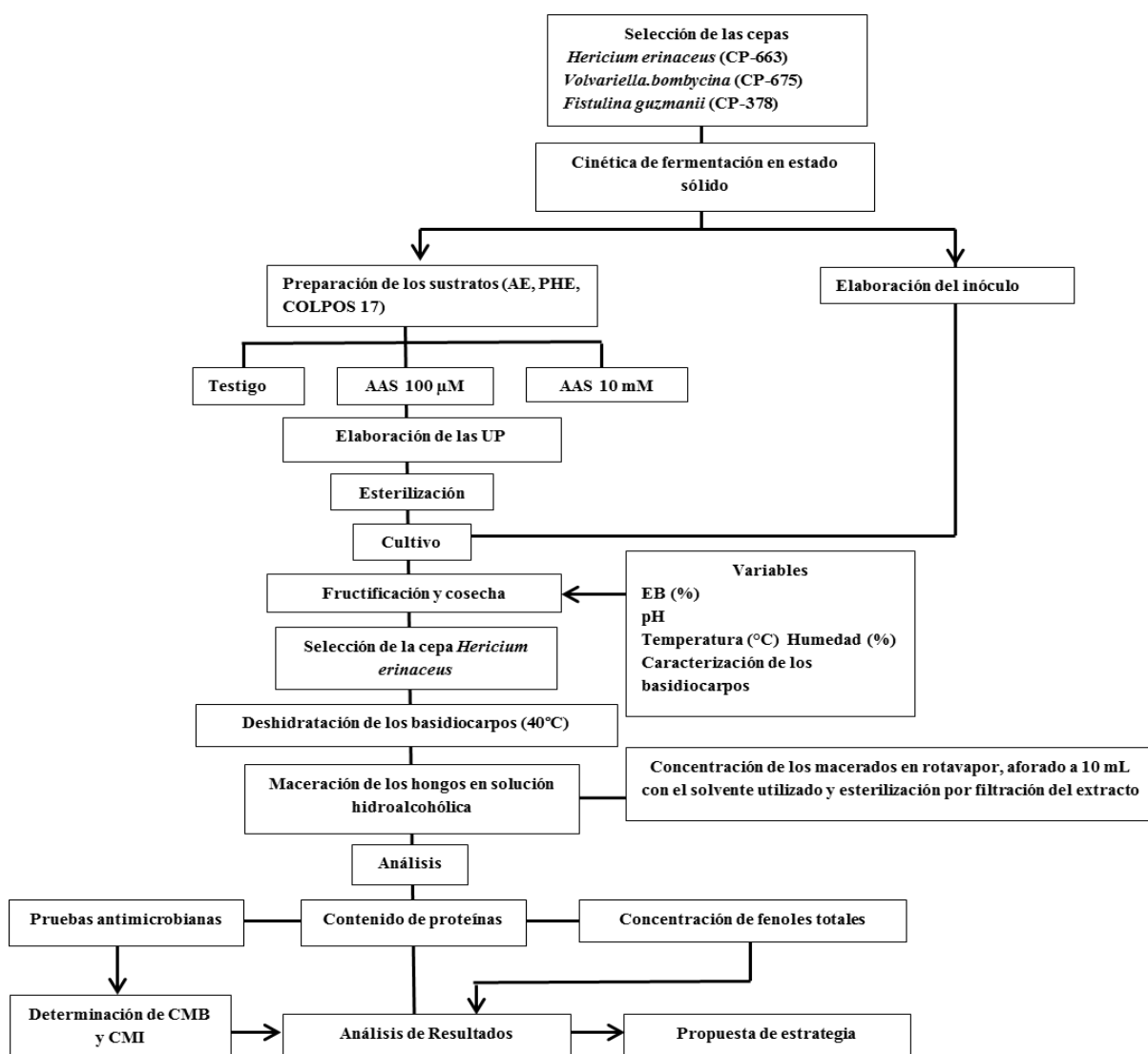
Determinar las propiedades funcionales de las especies *Hericium erinaceus*, *Volvariella bombycina* y *Fistulina guzmanii* cultivados en presencia del ácido acetil salicílico (AAS).

### **7.1 Objetivos particulares**

- 1.- Cultivar *Hericium erinaceus*, *Volvariella bombycina* y *Fistulina guzmanii* en sustratos estériles (COLPOS-17, Paja Hidratada Estéril y Aserrín de Encino) en presencia de AAS.
- 2.- Obtención y caracterización de extractos hidroalcohólicos (32 %) a partir de los basidiocarpos obtenidos.
- 3.- Determinar el efecto de los extractos hidroalcohólicos obtenidos mediante pruebas de sensibilidad bacteriana en nueve especies por el método de microdilución.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, Medicinales y Funcionales del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla y en el módulo experimental del laboratorio. En la figura 2 se muestra la metodología general del presente trabajo de investigación.



**Figura 2.** Metodología general utilizada para la presente investigación. EB= Eficiencia biológica. AAS= Ácido acetil salicílico. PHE= Paja hidratada estéril. AE=Aserrín de encino. CMI= Concentración Mínima Inhibitoria. CMB= Concentración Mínima Bactericida.

## 8.1 Material biológico

Las cepas de hongos y bacterias que se utilizaron en este trabajo se encuentran depositadas en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla, las cuales están identificadas con las claves CP-663 (*Hericium erinaceus*), CP-378 (*Fistulina guzmanii*), ambas mantenidas en medio de cultivo EMS (Agar Extracto de Malta y Salvado) y la CP-675 (*Volvariella bombycina*) conservada en medio de cultivo completo para levaduras CYM (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Material biológico utilizado y depositado en el CREGENHC del Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla para la presente investigación.

Cepas	Clave	Procedencia	Tinción
<b>I. Hongos comestibles</b>			
<i>Hericium erinaceus</i> (Bull.:Fr.)Pers.	CP-663	Comercial	
<i>Volvariella bombycina</i> (Schaeff.) Singer	CP-675	Morelos	
<i>Fistulina guzmanii</i> Brusic	CP-378	Morelos	
<b>II. Bacterias</b>			
<i>Salmonella typhi</i> (ex Kauffmann and Edwards) Le Minor and Popoff serovar	CPB-1	BUAP	Gram –
<i>Streptococcus agalactiae</i> Lehmann and Neumann	CPB-4	BUAP	Gram +
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Schroeter) Migula	CPB-6	BUAP	Gram –
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (Hugh) Palleroni and Bradbury	CPB-7	BUAP	Gram –
<i>Escherichia coli</i> (Migula) Castellani and Chalmers	CPB-8	ATCC 25922	Gram –
<i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg) Cohn	CPB-9	ATCC 6633	Gram +
<i>Staphylococcus aureus</i> Rosenbach	CPB-10	ATCC 25923	Gram +
<i>Listeria monocytogenes</i> (Murray et al.) Pirie	CPB-11	ATCC 19115	Gram +
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Schroeter) Migula	CPB-13	ATCC 27853	Gram –

## 8.2 Medios de cultivo para propagar los hongos en estudio

Una vez elegidas las cepas, se procedió a preparar medio de cultivo para propagar los hongos en estudio, siendo el medio EMS (Agar extracto de malta y salvado) el utilizado para propagar en cajas Petri los hongos *H. erinaceus* y *F. guzmanii* y, el medio de cultivo completo para levaduras (CYM) para propagar a *V. bombycina*.

### 8.2.1 Medio CYM

El medio de cultivo completo para levaduras (CYM), contiene la siguiente composición (g/L): 2 de peptona de carne (BIOXON, México), 20 de dextrosa anhidra (J.T. Baker, México), 2 de extracto de levadura (BIOXON, México), 0.5 de sulfato de magnesio 7-hidratado en cristal (J.T. Baker, México), 0.46 de fosfato de potasio monobásico cristal (J.T.

Baker, México), 1 de fosfato de potasio dibásico en polvo (J.T. Baker, México) y 20 de agar bacteriológico (BIOXON, México), las cantidades están calculadas para elaborar 1 L de medio. El medio se esterilizó en autoclave por 20 min a 121°C. Posteriormente, el medio de cultivo se incubó durante 48 horas antes de utilizarse para confirmar la ausencia de contaminantes.

### **8.2.2 Medio EMS**

El medio de agar extracto de malta y salvado (EMS), contiene la siguiente composición (g/L): 33.6 de agar extracto de malta (Bacto, México) y 30 de salvado estéril. Este medio se esterilizó como el medio CYM.

## **8.3 Preparación del inóculo “semilla” para el cultivo en sustrato sólido**

### **8.3.1 Preparación del grano**

Para la elaboración de la semilla, se pusieron a hervir granos de trigo en agua por 20 minutos hasta que se hidrataron sin romperse. Posteriormente, los granos de trigo se dejaron reposar por otros 20 minutos sin hervir. Después de este tiempo son distribuidos en una tina para eliminarle el exceso de humedad y enfriar la semilla, utilizando una pala para remover la misma y acelerar este proceso. Una vez que los granos tienen la humedad adecuada, se agregan 4 gramos de cal y 12 gramos de yeso por cada kilogramo de trigo en peso seco, la mezcla se distribuye bien y el trigo se coloca en frascos de vidrio a 2/3 de su capacidad.

### **8.3.2 Esterilización**

Los frascos con semilla de trigo se esterilizaron en una autoclave u olla de presión (All American) a 121°C con 1.05 kg/cm<sup>2</sup> de presión o 15 libras/pulg<sup>2</sup>, durante 1 hora y 30 minutos. Posteriormente, los frascos se enfriaron a temperatura ambiente antes de ser inoculados.

### **8.3.3 Inoculación e incubación de la “semilla”**

Para este proceso se hizo crecer previamente los hongos en estudio en caja Petri en los medios de cultivo EMS y CYM. Posteriormente, se sembraron los frascos de vidrio con 100

g de granos de trigo estéril, incubándose de 14 a 20 días a  $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$  para *H. erinaceus*, 14 días para *V. bombycina* y de 25 a 35 días para *F. guzmanii* hasta que el micelio cubrió al 100% la semilla, a este cultivo se le llama inoculo (Figura 3). Finalmente, los granos de trigo cubiertos con micelio se replican en más frascos con semilla de trigo estéril, según se necesite.



**Figura 3.** Inóculo o “semilla” de los hongos utilizados colonizando el trigo estéril en frascos de 100 g.

#### **8.4 Preparación de las unidades de producción (UP) para cultivo en medio sólido**

Los sustratos sólidos elegidos fueron: la formulación COLPOS-17 para la CP-663 (*H. erinaceus*), aserrín de Encino para la CP-378 (*F. guzmanii*) y paja hidratada estéril (PHE) para la CP-675 (*V. bombycina*). Se usó agua de garrafón para hidratar el sustrato del tratamiento testigo y también se prepararon diluciones de ácido acetil salicílico (SIGMA, China), a la concentración AAS 10 mM y 100  $\mu\text{M}$ .

##### **8.4.1 Formulación COLPOS-17**

La composición de la formulación COLPOS-17 se preparó de acuerdo a Sobal *et al.*, (2010), y contiene lo siguiente (g en peso seco): 1,280 de bagazo de caña de azúcar, 2,970 de salvado de trigo, 6,430 de aserrín de encino, 1,230 de aserrín de *Bursera*, 2,720 de olote de maíz, 450 de carbonato de calcio  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$  y 1,800 de sulfato de calcio  $[\text{CaSO}_4]$ , para alcanzar el 64.4 % de humedad se agregaron 26 litros de agua o AAS, según el caso a un peso de 7 kg de sustrato. Para ello se homogenizaron los componentes para las tres condiciones (Testigo, AAS 10 mM y AAS 100  $\mu\text{M}$ ). Posteriormente, se prepararon 33 unidades de 2 kg de sustrato húmedo y se colocaron en bolsas de polipropileno de 13.5 x 80 cm con filtro (*Unicorn Imp.* E.U.A) y se esterilizaron en autoclave por una hora y media a

121 °C. Después de la esterilización, las unidades se dejaron enfriar por 12 horas antes de la inoculación.

#### **8.4.2 Preparación de la paja hidratada estéril**

Se adquirieron pacas de paja de trigo, las cuales se picaron lo más finamente posible con la finalidad de que el micelio del hongo creciera uniformemente dentro de la bolsa, hidratar mejor este sustrato, el cual fue utilizado para cultivar a *V. bombycina*. En este sustrato también se prepararon las condiciones de testigo, AAS 10 mM y AAS 100 µM. Se elaboraron 64 unidades de producción de 750 gramos de sustrato húmedo y se colocaron en bolsas de polipropileno de 13.5 x 80 cm con filtro (*Unicorn Imp. E.U.A*) se esterilizaron en autoclave por una hora y media a 121 °C. De igual forma, las unidades se dejaron enfriar por 12 horas antes de su inoculación.

#### **8.4.3 Preparación del aserrín de encino**

Para el cultivo de *F. guzmanii* se preparó aserrín de encino, elaborando el testigo, y los tratamientos AAS 10 mM y AAS 100 µM. Se elaboraron 36 unidades de 1 kg de sustrato húmedo en bolsas de polipropileno de 13.5 x 80 cm con filtro (*Unicorn Imp. E.U.A*), este sustrato siguió el mismo procedimiento que la COLPOS -17 y la paja de cebada.

### **8.5 Determinación del peso seco del sustrato y pH**

De cada sustrato elaborado se tomaron muestras a T0 y tiempo final del ciclo de producción, se homogenizaron y se pesaron en una balanza analítica (Ohaus, USA). Las muestras con un peso conocido se colocaron en un horno (Felisa, México) para su secado a 100°C durante 48 horas. Para determinar el pH de los sustratos antes y después de ser esterilizados, y al final del ciclo de producción, se utilizó una relación 1:1 de sustrato y agua destilada estéril: Para la lectura del pH se utilizó un potenciómetro (*Conductronic*) el cual fue previamente calibrado desde un pH básico con buffer de sulfato pH 7 hasta un pH ácido con buffer de biftalato pH 4 (J: T: Backer, México). Para cada lectura se registraron de 3 a 5 repeticiones homogenizando la mezcla previa a la lectura.

## **8.6 Inoculación del sustrato estéril**

A las bolsas con 2000, 1000 y 750 gramos de sustrato estéril se les agregó aproximadamente 200 g de inóculo y se homogenizó por toda la bolsa. Las bolsas fueron selladas con un sellador termo electrónico (*Impulse Sealer*, UL), para evitar la contaminación y la pérdida de humedad.

## **8.7 Incubación de las unidades de producción**

Las unidades de producción se incubaron en un cuarto con ciclos de 14 horas luz y 10 horas de obscuridad a temperatura máxima de 27 °C y mínima de 15 °C durante 35 días para *H. erinaceus*, 20 días para *V. bombycina* y de 30-60 días para *F. guzmanii* hasta que se observó la presencia de primordios de cada hongo.

## **8.8 Fructificación de las unidades de producción**

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, las unidades de producción se transfirieron al módulo de fructificación. La parte superior de la bolsa se retiró con ayuda de tijeras (para el caso de *V. bombycina*) y, en otras ocasiones se perforó en esta misma área (para el caso de *H. erinaceus* y *F. guzmanii*), las unidades de producción se mantuvieron por 45 días con un rango de temperatura de 23 °C y 14 °C con una humedad relativa superior al 65% hasta que los basidiocarpos alcanzaron el estadio adulto. Finalmente, los cuerpos fructíferos fueron cosechados desprendiéndolos desde la base del sustrato y fueron procesados.

## **8.9 Manejo postcosecha de los basidiocarpos**

A los basidiocarpos cosechados se les registró el peso fresco por unidad de producción en una balanza analítica (OHAUS, E.U.A), y se describieron las características macroscópicas como el largo y ancho del píleo, largo y ancho del estípite, color, forma, ancho del himenio, olor, contaminaciones o presencia de insectos, entre otras. Los basidiocarpos se deshidrataron en charolas en un horno (Felisa, México) durante un periodo de 24 horas a 40 °C y fueron nuevamente pesados en balanza analítica (OHAUS, E.U.A). Una vez deshidratados, los basidiocarpos se almacenaron en bolsas de polipapel para su posterior procesamiento. Por otro lado, para conocer el peso seco de los basidiocarpos



producidos y la humedad (%) que estos presentaron, según los tratamientos estudiados, se pesaron muestras de peso conocido y se secaron en un horno (Felisa) a 100 °C durante 24 Horas, Posteriormente, se pesaron los basidiocarpos secos y se calculó la humedad.

### **8.10 Determinación del rendimiento, eficiencia biológica (EB) e índice eficiente de degradación**

La producción de los basidiocarpos se determinó mediante la siguiente fórmula, expresada en peso de los basidiocarpos (g) por kilogramo de sustrato en peso seco (g/k Ps):  $Y = X/S$ , es decir, el rendimiento (Y) es el promedio de los basidiocarpos o biomasa (X) de cada unidad de producción multiplicado por 1000 entre el peso seco del sustrato (S) (Sánchez y Royse, 2001). Por otra parte, la eficiencia biológica (EB) se calculó de acuerdo a Tschierpe y Hartmann (1977), en donde, la eficiencia biológica es el resultado del peso fresco de los basidiocarpos (Pf Cf) entre el peso seco del sustrato utilizado multiplicado (Ps S) por 100, es decir:  $EB = (Pf Cf / Ps S) \times 100$ . El índice eficiente de degradación (IED) es el resultado de restar el peso seco inicial de la unidad de producción (UP) menos el peso seco final de la unidad de producción entre el pesos seco inicial de la unidad de producción multiplicado por 100 (Nyochembeng, 2008).

### **8.11 Preparación de las muestras para maceración**

Una vez procesados y caracterizados los basidiocarpos, se pesaron 10 g de basidiocarpo seco de la cepa seleccionada y se molió en vasos de licuadora de 200 mL hasta obtener un tamaño de partícula lo más fina posible. La muestra molida se colocó en sobres de papel filtro de poro mediano de 6.0 cm de ancho x 9.5 cm de largo y finalmente se cerraron.

### **8.12 Extracción por maceración**

Para obtener los extractos por maceración, las muestras de 10 g basidiocarpo en peso seco contenidas en los sobres de papel filtro se colocaron en un frasco estéril de vidrio con tapa de rosca de 200 mL y en seguida a cada frasco se le agregaron 150 mL de una solución hidroalcohólica (32 %) de acuerdo con la patente de Martínez-Carrera *et al.*, (2014). El tiempo de maceración fue de 24 horas en condiciones de obscuridad y a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se retiró el sobre y exprimió hasta recuperar el macerado.

### **8.13 Proceso de concentración de los macerados**

Los macerados se concentraron utilizando un rotavapor (Modelo HS-2000NS, Hahn Shin Scientific) a presión reducida, a 40 °C y a 90 rpm hasta obtener un volumen de aproximadamente 7 mL. El concentrado así obtenido se aforó a 10 mL en un matraz de 10 mL con el mismo solvente. Posteriormente, el extracto se esterilizó en un sistema Sterifil (Merk Millipore) con filtros S-Pak de poro de 0.22 µm de 47 mm de diámetro (Merk Millipore). El extracto estéril se colocó en tubos falcon estériles de 50 mL y se almacenaron en refrigeración a 4 °C hasta su uso.

### **8.14 Peso residual de los extractos**

Para determinar el peso residual del extracto, se pusieron 4 réplicas de 0.5 ml de extracto en cajas de Petri previamente pesadas y se colocaron en un horno de secado a 38°C por 48 horas hasta obtener un peso constante. La densidad se obtuvo de dividir el promedio del peso de las muestras sobre el volumen de la misma (0.5 ml), esto se realizó por cuadruplicado. El rendimiento de los extractos de hongo fue obtenido de dividir el peso seco (constante) a 38°C del extracto sobre el volumen de la muestra y el resultado se multiplicó por 100.

### **8.15 Caracterización del extracto de *Hericiium erinaceus***

La caracterización consistió en la cuantificación del contenido de polifenoles totales, y en la evaluación del efecto bacteriostático y el efecto bactericida de los extractos de basidiocarpo (peso seco) de las cepas. Es importante destacar que se realizó un ensayo preliminar con la cepa CP-663 con basiodiocarpas cultivados con tratamientos de Ácido Acetil Salicílico (AAS 100 µM y 10 mM) para analizar su efecto antioxidante y antimicrobiano.

### **8.16 Concentración de polifenoles totales**

Para la determinación de polifenoles totales en los extractos se usó el método colorimétrico-espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Müller *et al.*, 2010).

### **8.17 Curva de calibración para polifenoles**

Para realizar la curva de calibración se prepararon 10 mL de una solución stock de ácido gálico monohidratado (Meyer) pesando 0.01 g de ácido gálico los cuales fueron pre disueltos

en 1 mL de etanol para ayudar a su disolución. Posteriormente, éste volumen se aforó a 10 mL con agua destilada. Las soluciones estándar de ácido gálico se prepararon a concentraciones de 25, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Estas soluciones estándar se realizaron tomando 250, 500, 1000, 1500 y 2000  $\mu\text{L}$  de la solución stock de ácido gálico y se transfirieron a matraces aforados de 10 mL perfectamente etiquetados, y se aforaron a 10 mL con agua destilada. Para preparar la concentración 0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  se empleó agua destilada estéril en lugar del ácido gálico. La reacción colorimétrica se realizó en una microplaca de 96 pozos de fondo redondo (Corning), colocando 20  $\mu\text{L}$  de cada una de las soluciones estándar (en orden ascendente respecto a su concentración) para las concentraciones de 25 a 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y agua destilada para la concentración 0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , más 100  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin Ciocalteu (Sigma, Aldrich) (diluido 1:10), e inmediatamente se adicionaron 75  $\mu\text{L}$  de una solución de carbonato de sodio (Baker) (7.5 g 100  $\text{mL}^{-1}$ ) (Müller *et al.*, 2010).

La reacción se incubó 2 horas en condiciones de obscuridad a temperatura ambiente y finalmente, se procedió a tomar las lecturas en el espectrofotómetro de microplacas Epoch (Biotek, USA) a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 740 nm. El promedio de la absorbancia (cuadruplicado) se graficó en el programa Excel 2007 para generar una línea de tendencia y obtener la ecuación de la recta y valor de  $R^2$ . Los valores de la ecuación se utilizaron para conocer la concentración de ácido gálico presente en los extractos. Cuando los valores de la absorbancia se salen fuera del rango de la curva de calibración, se procedió a diluir en el mismo solvente hasta que todos los valores se quedaron dentro del área de la curva.

### **8.18 Concentración de proteína**

El contenido de proteínas fue determinado por el método de Bradford (1976) con Albumina de Suero Bovino (BSA, Sigma) como estándar, con una curva de calibración de 0 a 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Las reacciones se llevaron en una microplaca (Corning) de 96 pozos y las lecturas se realizaron en un lector de microplacas (Epoch, Biotek) a 595 nm.

## **8.19 Análisis estadístico**

Se realizó con ayuda del programa estadístico SAS versión 9.0, una prueba Tukey con  $\alpha=0.05$ , con el objetivo de hacer un análisis de medias para las variables eficiencia biológica (EB), rendimiento de los extractos, cantidad de proteína y polifenoles totales (antioxidantes) y analizar sus interacciones entre ellas y verificar si hay o no diferencias estadísticas significativas entre estas variables, así como su correlación entre ellas por el coeficiente de concentración de Pearson (Cuadro 7).

## **8.20 Prueba de la sensibilidad antibacteriana**

### **8.20.1 Preparación de medios de cultivo**

#### **8.20.1.1 Medio de cultivo Agar Mueller Hinton**

Se disolvieron 38 g del medio agar Mueller Hinton BD Bioxon en 1 litro de agua destilada, a temperatura de ebullición de 3 a 5 minutos en un horno de microondas (SHARP, Carousel). Una vez disuelto el medio, se esterilizó en una olla de presión (ALL AMERICAN) durante 20 minutos a 121 °C, posteriormente, se vació el medio en cajas de Petri de 60 x 15 mm.

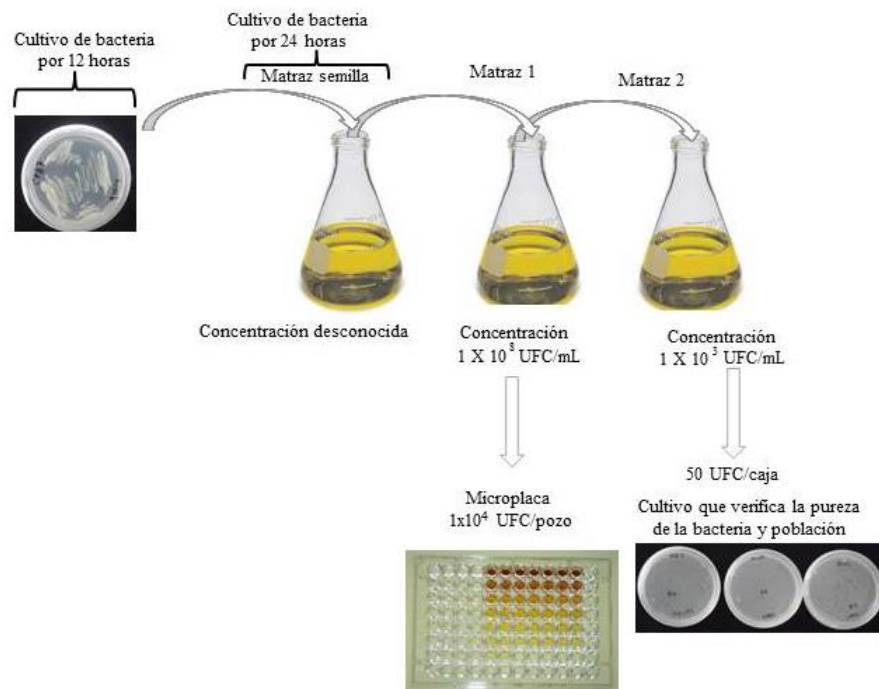
#### **8.20.1.2 Medio de cultivo líquido Mueller Hinton**

Se disolvieron 21 g de medio de cultivo líquido Mueller Hinton en un litro de agua destilada, se hirvió de 3 a 5 minutos en un horno de microondas (SHARP, Carousel). Se vertieron 20 mL del medio en matraces Erlenmeyer con tapa de rosca de 125 mL y se esterilizaron bajo las mismas condiciones que el medio de agar.

### **8.20.2 Obtención del inóculo bacteriano**

De un cultivo fresco (24 horas a 35.5 °C) de cada una de las bacterias en estudio, se tomó una asada y se sembraron los matraces Erlenmeyer de 125 mL que contenían 20 mL de medio de cultivo líquido estéril Mueller Hinton, los matraces se incubaron a 35.5 °C en una incubadora orbital (Thermo scientific, modelo MAXQ 4000) por 24 horas a 120 revoluciones por minuto, de ese matraz “semilla” se tomaron 100  $\mu$ L con una micropipeta (Finnpipete) y se colocaron en una microplaca que se leyó en un espectrofotómetro (Epoch, BIOTEX Instruments) a una longitud de onda de 600 nm, con esas lecturas se generó el valor promedio que fue procesado

en un programa desarrollado en Excel, obteniendo el resultado en una tabla y en una gráfica, mostrando la concentración en bacterias por mL que se encontraban en el matraz “semilla”. Conocida la concentración en el matraz semilla se determinó el volumen a agregar de éste al matraz (1) para tener una concentración de  $1 \times 10^8$  bact./mL. Asimismo, se determinó el volumen a pasar del matraz 1 al matraz 2, para que al inocular 4  $\mu$ L de este último en cajas de Petri de medio de cultivo Agar Mueller Hinton se confirmara una población de 50 Unidades Formadoras de Colonias e sembraron los matraces Erlenmeyer de 125 mL con 20 mL de medio de cultivo líquido Mueller Hinton estéril, los matraces se incubaron a 35.5 °C en una incubadora orbital (Thermo scientific, modelo MAXQ 4000) por 24 horas a 120 revoluciones por minuto, de ese matraz “semilla” se tomaron 100  $\mu$ L con una micropipeta (Finnpipete) (triplicado) y se colocaron en una microplaca donde se leyó en un espectrofotómetro (Epoch BIOTEK) a una longitud de onda de 600 nm, lo cual nos dio el valor de la densidad óptica (D.O.), con éstas lecturas se generó el valor promedio que fue procesado en un programa desarrollado en Excel obteniendo el resultado en una tabla y en una gráfica, mostrando la concentración en bacterias por mL que se encontraban en el matraz “semilla”. Conocida la concentración en el matraz semilla se determinó el volumen a agregar de éste al matraz (1) para tener una concentración de  $1 \times 10^8$  bact./mL. Así mismo, se determinó el volumen a pasar del matraz 1 al matraz 2 para que al inocular 50  $\mu$ L de este último en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Mueller Hinton (por triplicado) se tenga una población aproximada de 50 Unidades Formadoras de Colonias (Figura 4).

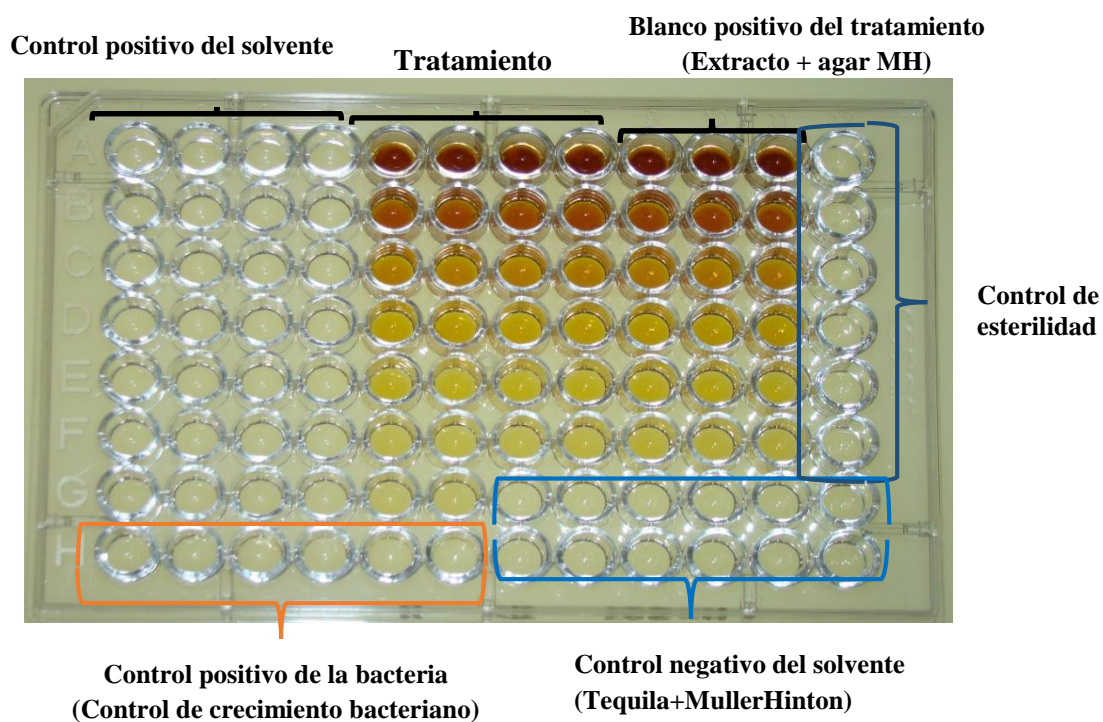


**Figura 4.** Ajuste de la cantidad de las bacterias a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  para el diseño experimental y, de  $1 \times 10^4$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  para verificar el inóculo 50 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Mueller Hinton.

### 8.20.3 Arreglo de las muestras en la microplaca

Todos los ensayos se realizaron en microplacas transparentes de 96 pozos con fondo redondo (Corning) siguiendo el protocolo del Clinical and Laboratory Standards Institute (2006). A todos los pozos de la microplaca se le agregaron  $100 \mu\text{L}$  de agar líquido estéril Mueller Hinton. Con el fin de poder probar el efecto del extracto como agente antibacteriano (tratamiento), se establecieron controles positivos y negativos para la bacteria, el solvente y el extracto del hongo (tratamiento). El control positivo de la bacteria también llamado control de crecimiento bacteriano, muestra la viabilidad de la bacteria en estudio. El control positivo del solvente muestra el efecto del solvente sobre el crecimiento de la bacteria (Figura 5). El blanco positivo del tratamiento, es el tratamiento sin la bacteria, cuyo valor de D.O. se resta a la lectura del tratamiento por el tono propio del extracto. El control de esterilidad comprueba que no hubo contaminación durante la prueba. El control negativo del solvente determinó el valor de la D.O. que tiene el solvente el cual se restó al control positivo del solvente para cada

dilución en estudio. El tratamiento (extracto) demostró la actividad antibacteriana sobre la bacteria (Fig. 5).



**Figura 5.** Distribución de las microdiluciones en la microplaca para la prueba de sensibilidad antibacteriana.

La figura 5 muestra la adaptación de la microplaca en este estudio y estuvo basada en la propuesta hecha por Wiegand *et al.* (2008). En ella se notan los colores que presentan las diluciones de los controles del solvente, del medio de cultivo y del extracto (tratamiento). Después de realizada la distribución se procedió a inocular la microplaca con 2  $\mu$ L de inóculo bacteriano (B), según se indica en la figura 6. El volumen final de cada pozo fue de 200  $\mu$ L.

Filas	Columnas (1-12)											
A	B	B	B	B	B	B	B	B				
B	B	B	B	B	B	B	B	B				
C	B	B	B	B	B	B	B	B				
D	B	B	B	B	B	B	B	B				
E	B	B	B	B	B	B	B	B				
F	B	B	B	B	B	B	B	B				
G	B	B	B	B	B	B						
H	B	B	B	B	B	B						

**Figura 6.** Especificaciones de la inoculación de la bacteria en estudio para realizar la prueba de sensibilidad antibacteriana en esta investigación.

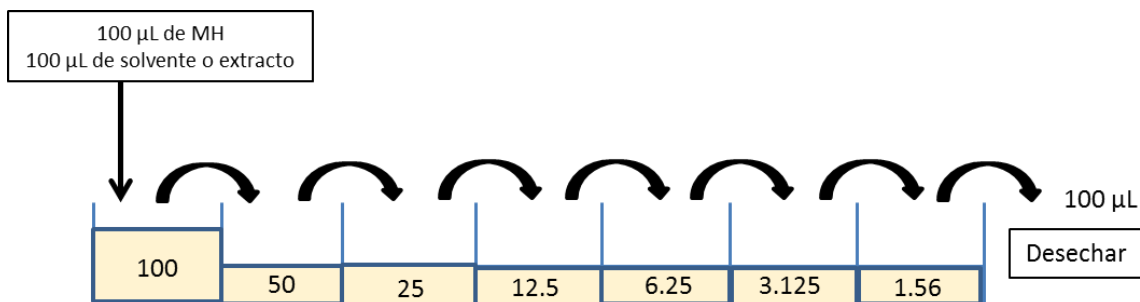
El Cuadro 3 describe la microplaca basada en el rótulo de la placa para relacionar las lecturas con los resultados y poder procesarlas en la base de datos, según lo propuesto por Escudero (2014).

**Cuadro 3.** Distribución de la prueba de sensibilidad antibacteriana usando extracto de hongo como agente antimicrobiano. Toda la placa contenía 100 µL de medio de cultivo estéril Mueller Hinton (MH).

Descripción	Microdiluciones (soluciones)	Ubicación (pozos)
Control positivo del solvente	100 µL de solvente + 2 µL de inóculo bacteriano	A1-G4
Tratamiento	100 µL de extracto + 2 µL de inóculo bacteriano	A5-F8 y G5-G6
Blanco positivo del tratamiento	100 µL de extracto	A9-F11
Control de esterilidad	200 µL de MH	A12-F12
Control positivo de la bacteria	200 µL de MH + 2 µL de solución bacteriana	H1-H6
Control negativo del solvente	100 µL de solvente	G7-G12 y H7-H12

La concentración del extracto (tratamiento) en cada microdilución está representada en la figura 7. Dependiendo de la microdilución se tomaron 100 µL de ese pozo y se transfirieron a la siguiente columna y así sucesivamente, hasta el último pozo de cada tratamiento. Los últimos 100 µL de cada pozo se eliminaron.





**Figura 7.** Vista longitudinal de la forma en que se realizó la microdilución de los extractos en la microplaca. El valor que está indicado dentro de cada pozo representa la dilución del extracto o del solvente, expresado en %, el 100 fue el valor de la concentración inicial, el 50 es el valor de la concentración diluida a la mitad, y así sucesivamente. El volumen total de la microdilución de cada pozo fue de 200 µL.

Una vez terminada las microdiluciones de la microplaca se colocó en una caja semi hermética simulando una cámara húmeda usando agua destilada estéril (Figura 8a) y se incubó en una incubadora orbital (Thermo scientific, modelo MAXQ 4000) a 35.5 °C (Figura 8b). Después de 24 horas, se leyó la microplaca en el espectrofotómetro (Epoch, BIOTEX Instruments) a una longitud de onda de 600 nm. Los valores de densidad óptica de cada dilución se tomaron en cuenta para calcular el efecto del agente antimicrobiano (extracto del hongo) sobre las bacterias en estudio.

**A**

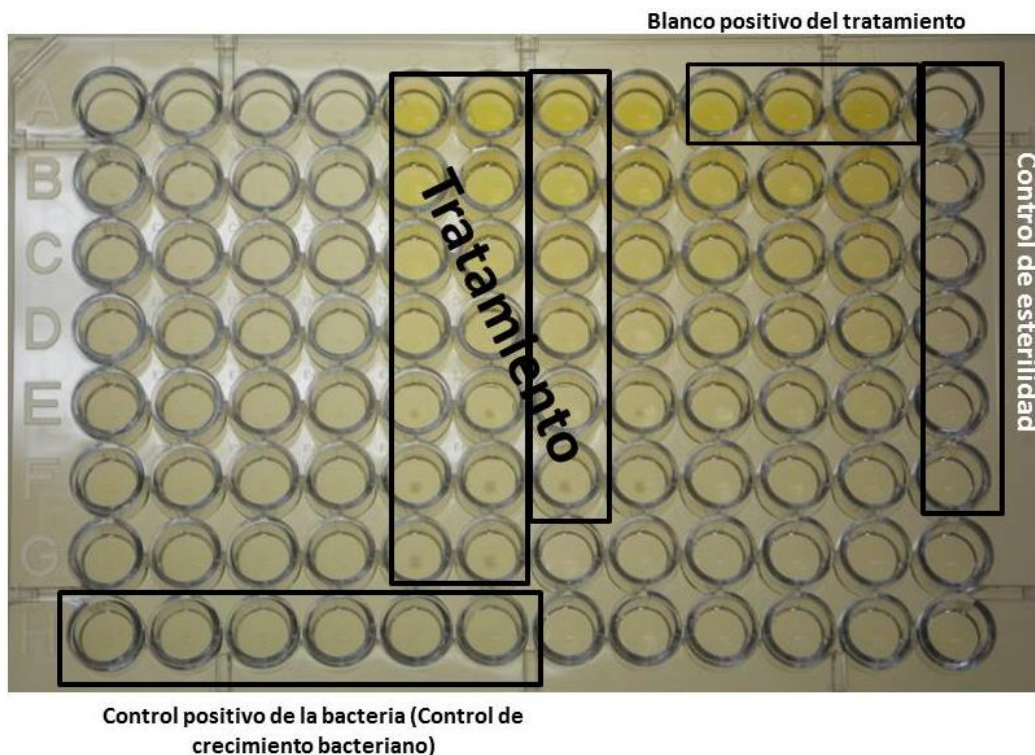


**B**



**Figura 8.** (A) Forma en la que se colocó la microplaca evitar la pérdida de humedad y B) Incubadora donde se colocó la microplaca.

Para comprobar el efecto bactericida o el efecto bacteriostático del tratamiento (extracto), se tomaron muestras de los pozos que contenían las microdiluciones del tratamiento (indicadas como D1 al D7) y ubicadas en los pozos 5A, 6A y 7A al 5G, 6G y 7F, el control de esterilidad (CE) tomada de los pozos 12A al 12F, el control de crecimiento (CC) de la bacteria en estudio, tomado de los pozos 1H al 6H y, del extracto estéril tomado de los pozos 9A al 11A (Figura 9).



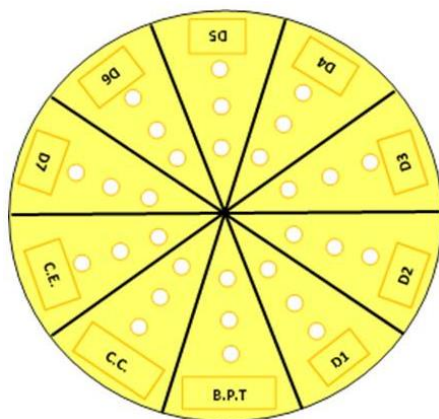
**Figura 9.** Representación de los pozos de la microplaca de donde fueron tomadas las muestras para evaluar el efecto bactericida de los extractos (tratamiento) del hongo *Heridium erinaceus*.

### 8.21 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos en la prueba de sensibilidad antibacteriana

Para comprobar la actividad bactericida de los diferentes extractos probados en cada una de las bacterias, se diseñó una caja de Petri con medio de cultivo agar Mueller Hinton (Figura 10). Después de leer en el espectrofotómetro la placa de la prueba de sensibilidad bacteriana (24 horas de incubación), se sembraron 1.3  $\mu$ L de cada una de las microdiluciones de la placa, la caja de Petri se incubó por 24 horas. Se comprobó la concentración mínima inhibitoria cuando el extracto mata la bacteria después de 24 horas de incubación de la caja de Petri. Se estableció como actividad bactericida la concentración del extracto del hongo que mata el crecimiento bacteriano a las 48 horas de realizada la prueba de sensibilidad antibacteriana.

## 8.22 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de los extractos en la prueba de sensibilidad antibacteriana

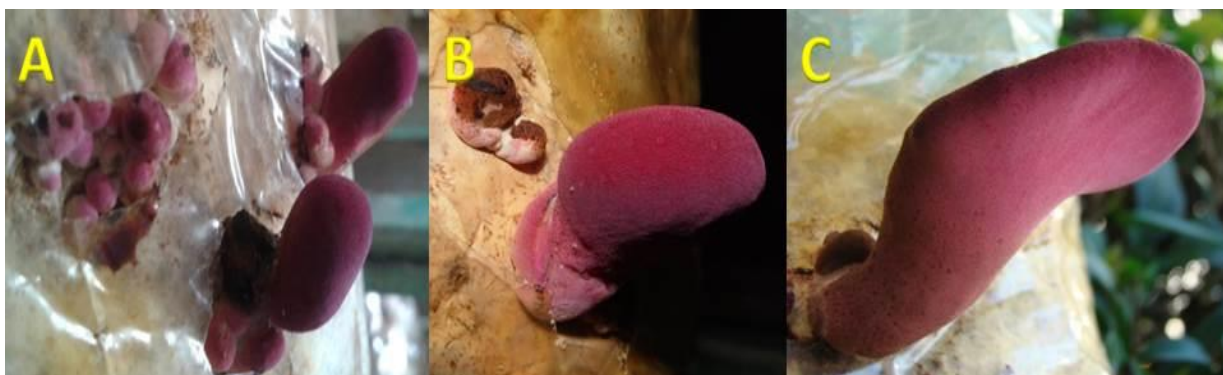
Basada en el mismo principio que la CMI, se definió como actividad bacteriostática a la concentración del extracto que inhibió el crecimiento de las bacterias a las 24 horas de incubación de la caja de Petri, pero permite el crecimiento de las bacterias a las 48 horas de realizada la prueba de sensibilidad bacteriana.



**Figura 10.** Modo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton para verificar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* diluido en la microplaca (D1-D7) y sembrado con la cepa bacteriana en estudio. C.E.= Control de esterilidad. C.C.= Control de crecimiento bacteriano (Blanco positivo de la bacteria). B.P.T= Blanco positivo del tratamiento.

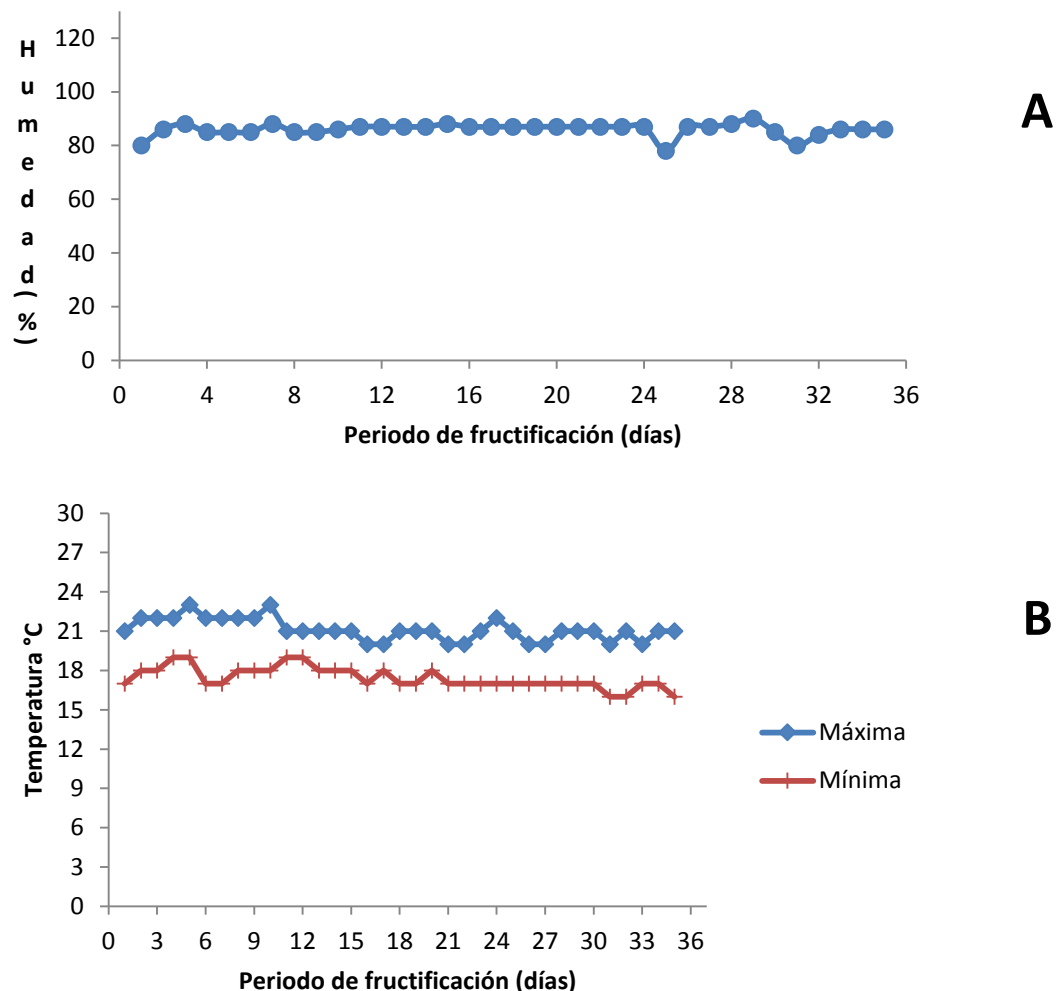
## IX. RESULTADOS

La producción de basidiocarpos correspondientes a la primera y única cosecha de la cepa CP-378 de *Fistulina guzmanii* cultivado en aserrín de encino hidratado en los tratamientos, sin testigo y con AAS 100  $\mu\text{M}$  y 10 mM se pueden observar en la figura 11. El tiempo de colonización total del sustrato por el hongo fue de 30 días para testigo y AAS 100  $\mu\text{M}$  y 60 días para el tratamiento con AAS 10 mM. El período de fructificación se inició con el desarrollo de los primordios en un lapso de 35 a 57 días para testigo y AAS 100  $\mu\text{M}$  y de 70 a 90 días para el tratamiento con AAS 10 mM y diferenciándose totalmente en un lapso de 15 a 20 días. El color de los basidiocarpos fue rosa mexicano a pardo al paso del tiempo en todos los tratamientos, como se aprecia en la figura 15. En cuanto al tamaño del píleo de los basidiocarpos en el tratamiento testigo fue de 0.5 a 2 cm, para el tratamiento con AAS 10 mM fue de 1.3 a 5 cm y, para el tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$  fue de 0.5 a 1 cm. Respecto al tamaño del estípite el diámetro de los basidiocarpos fue de 0.7 a 1.7 cm para el testigo, de 1.1 a 1.5 cm para el tratamiento con AAS 10 mM y, de 1 a 2.1 cm para el tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$ . El largo del estípite fue de 1.5 a 2.5 cm para el testigo, de 3 a 5 cm para el tratamiento con AAS 10 mM y de 2.5 a 3 cm para el tratamiento con AAS (100  $\mu\text{M}$ ). No se midió pH debido a que la biomasa obtenida de los basidiocarpos fue muy escasa. El ciclo total de la única cosecha fue de 76 a 84 días en testigo y el AAS 100  $\mu\text{M}$  y de 96 a 114 días para el tratamiento con AAS 10 mM.



**Figura 11.** Producción de basidiocarpos correspondientes a la primera y única cosecha de la cepa CP-378 de *Fistulina guzmanii* cultivada en aserrín de encino en sus tres tratamientos. A=Testigo). B=tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$ . C= tratamiento con AAS 10 mM.

Las condiciones ambientales de fructificación de la cepa CP-378 de *Fistulina guzmanii* que se presentaron en el módulo de producción fueron temperaturas máximas de 23 °C y mínimas de 16 °C, con una humedad relativa promedio de 86% (Figura 12).



**Figura 12.** Condiciones ambientales registradas en el módulo de producción de hongos comestibles del COLPOS, *Campus* Puebla durante la fructificación de las cepa CP-378 de *Fistulina guzmanii*. A. Temperaturas máximas (23°C) y mínimas (16°C). B. Humedad relativa (86%).

### 9.1 Eficiencia biológica de *Fistulina guzmanii*

No se calculó la EB, debido a la poca biomasa del hongo fresco, solo se caracterizó morfológicamente y solo se pudo obtener una cosecha durante el ciclo de cultivo. A la fecha no existe ningún registro de cultivo de esta especie, ni reporte de sus propiedades funcionales. La biomasa fresca obtenida durante el cultivo de este hongo en sus tres tratamientos fue de 18.36 g para testigo, de 6.12 g para el tratamiento con AAS 100  $\mu$ M y, 33.2 g para el

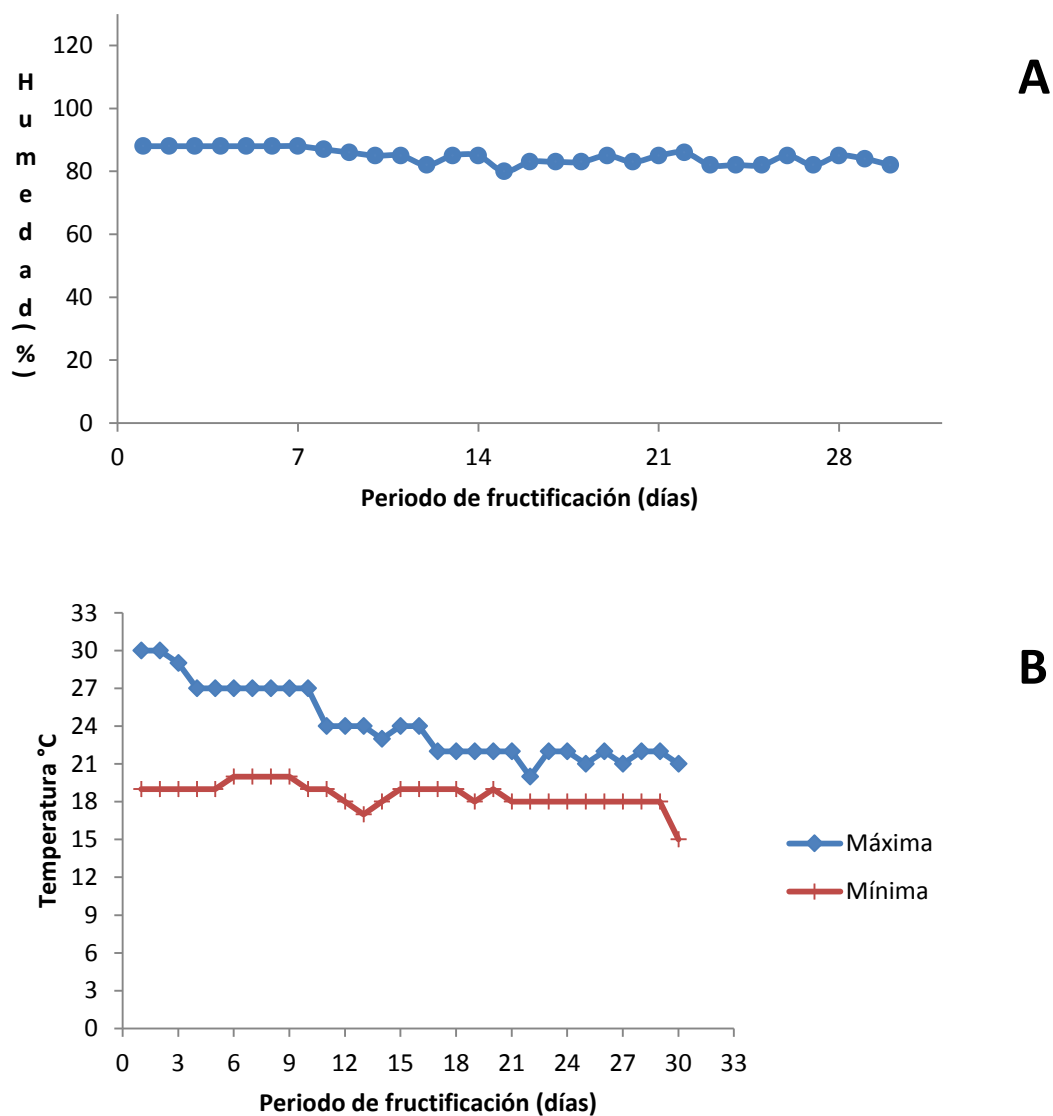
tratamiento con AAS 10 mM. La biomasa deshidratada fue almacenada en un refrigerador (REVCO modelo ULT340) a una temperatura de  $-26^{\circ}\text{C}$  para su futuro análisis de funcionalidad.

La producción de basidiocarpos de la CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja estéril en la primera cosecha obtenida del testigo y con AAS 100  $\mu\text{M}$  y 10 mM se observa en la figura 13. El tiempo de colonización del substrato por el hongo fue de 13 días. El periodo de fructificación se inició con el desarrollo de los primordios en un lapso de 9 a 15 días y se diferenciaron totalmente en un lapso de 8 días en todos los tratamientos. El color de los basidiocarpos fue amarillo intenso en estadio maduro a cobrizo al paso del tiempo en todos los tratamientos. En cuanto al tamaño del píleo de los basidiocarpos en el tratamiento testigo fueron de 5 a 11.7 cm de largo y de 4.2 a 11.8 cm de ancho y con AAS 10 mM fue de 6.5 a 11 cm de largo y de 5.5 a 13.5 cm de ancho y, para el tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$  fue de 3.9 a 11.3 cm de largo y de 4 a 11 cm de ancho. Respecto al tamaño del estúpite el diámetro de los basidiocarpos fue de 0.7 a 2.5 cm para el testigo, de 0.7 a 2.2 cm para el tratamiento con AAS 10 mM y de 0.5 a 2 cm para el tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$ . El largo del estúpite fue de 4 a 22 cm para el testigo, de 6 a 14 cm para el tratamiento con AAS (10 mM) y de 4.5 a 12.3 cm para el tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$ . El pH promedio de los basidiocarpos fue de 6.8 para el tratamiento testigo, 6.4 para el tratamiento AAS 10 mM y de 6.7 para el tratamiento 100  $\mu\text{M}$ . El ciclo total de producción de la primera y segunda cosecha fue de 40 a 48 días en todos los tratamientos. Al final del ciclo de cultivo, se encontraron mohos como *Trichoderma* sp. creciendo sobre el substrato y contaminando las unidades de producción.



**Figura 13.** Producción de basidiocarpos correspondientes a la primera cosecha de la cepa de la CP-675 de *Volvariella bombycina*, cultivada en paja estéril en tres tratamientos. A=Testigo. B= Tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$ . C= Tratamiento con AAS 10 mM.

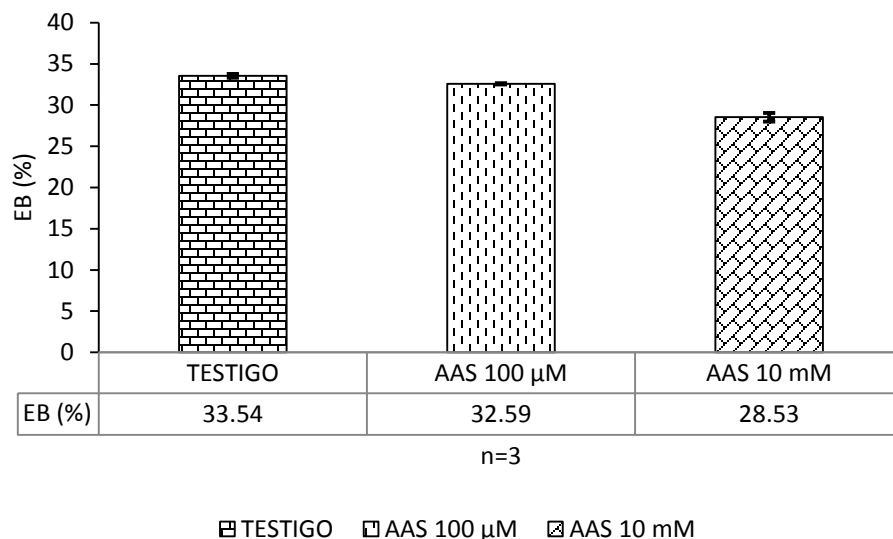
Las condiciones ambientales de fructificación de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* que se presentaron en el módulo de producción fueron temperaturas máximas de 27°C y mínimas de 14°C, con una humedad relativa promedio de 85% (Figura 14).



**Figura 14.** Condiciones ambientales registradas en el módulo de producción de hongos comestibles del COLPOS *campus* Puebla durante la fructificación de las cepa CP-675 de *Volvariella bombycina*. A. Temperaturas máximas (30°C) y mínimas (15°C). B. Humedad relativa (85%).

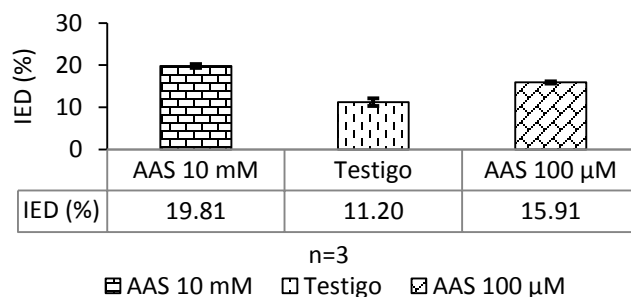
## 9.2 Eficiencia biológica e Índice de Eficiencia de Degradación de *Volvariella bombycina*

Una vez caracterizados y procesados los basidiocarpos de *V. bombycina* se les calculó la Eficiencia Biológica (EB) acumulada de la primera y segunda cosecha, siendo el testigo del 33.54 %, le siguió la del tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$  con un 32.59 %, y la menor EB fue la obtenida en el tratamiento con AAS 10 mM de 28.53 % (Figura 15).



**Figura 15.** Eficiencia biológica acumulada del hongo *Volvariella bombycina* (CP-675), cultivada en paja estéril de trigo hidratada con agua testigo y dos concentraciones de AAS 100  $\mu\text{M}$  y 10 mM. AAS= Ácido acetyl salicílico.

En cuanto al Índice Eficiente de Degradación (IED) en el tratamiento con AAS 10 mM se obtuvo un IED del 19.81 %, siendo el más alto, seguido del tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$  con 15.91%, el testigo con 11.20 % (Figura 16).



**Figura 16.** Índice eficiente de degradación (IED) del hongo *Volvariella bombycina* (CP-675), cultivada en paja estéril de trigo hidratada con agua (testigo) y dos concentraciones de AAS 100  $\mu\text{M}$  y 10 mM. AAS= ácido acetyl salicílico.



### 9.3 Resultados del análisis estadístico para *Volvariella bombycina*

Las variables y características morfológicas evaluadas durante el ciclo de cultivo de los basidiocarpos cultivados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* en paja hidratada estéril en dos concentraciones de ácido acetil salicílico (AAS) y su testigo se muestran Cuadro 4 y 5.

**Cuadro 4.** Características morfológicas y variables del cultivo del hongo *Volvariella bombycina* (CP-675) cultivado en paja estéril hidratada con agua (testigo) y con AAS 10 mM y 100  $\mu$ M.

Tratamiento	Color de los basidiocarpos	Estipite (cm)		Píleo (cm)		Tiempo de colonización de sustrato (días)	Ciclo de cultivo (días)
		Largo	Ancho	Largo	Ancho		
Testigo	Amarillo intenso a cobrizo con el tiempo	12.8 $\pm$ 5.1 <sup>A</sup>	1.7 $\pm$ 0.4 <sup>A</sup>	9.5 $\pm$ 1.7 <sup>A</sup>	9.1 $\pm$ 2 <sup>A</sup>	13	40-48
AAS 100 $\mu$ M		9.6 $\pm$ 2.5 <sup>A</sup>	1.6 $\pm$ 0.3 <sup>A</sup>	9.5 $\pm$ 1.7 <sup>A</sup>	8.5 $\pm$ 1.6 <sup>A</sup>		
AAS 10 mM		10.6 $\pm$ 2.4 <sup>A</sup>	1.7 $\pm$ 0.2 <sup>A</sup>	10.5 $\pm$ 2.1 <sup>A</sup>	9.8 $\pm$ 2.3 <sup>A</sup>		

AAS= Ácido acetil salicílico. Los valores representan el promedio de 3 réplicas. Valores que comparten una misma letra no son significativamente diferentes con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 5.** Características y variables del cultivo del hongo *Volvariella bombycina* (CP-675) cultivado en paja estéril hidratada con agua (testigo) y con AAS 10 mM y 100  $\mu$ M.

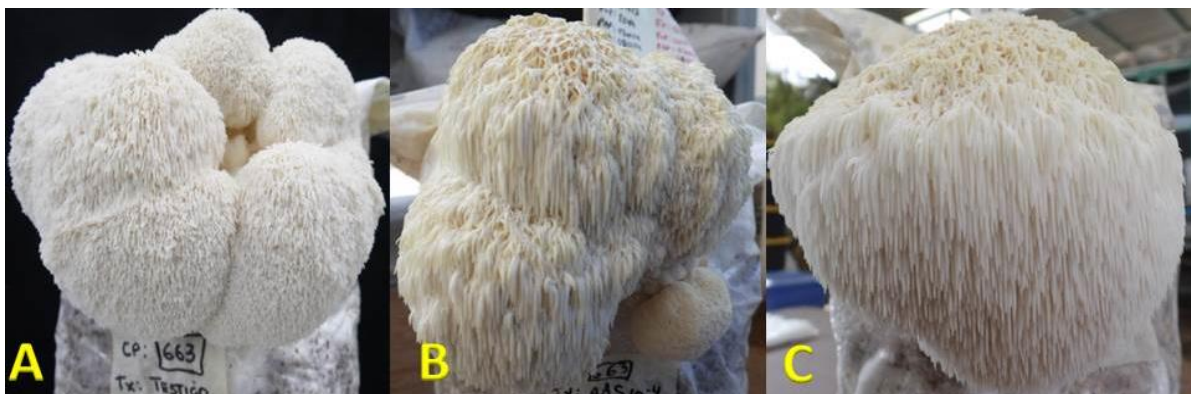
Tratamiento	EB (%)	Biomasa fresca acumulada por U.P. (g)*	Índice eficiente de degradación (IED) (%)	pH del hongo fresco
Testigo	33.54 $\pm$ 0.23 <sup>A</sup>	95.97 $\pm$ 1.51 <sup>A</sup>	17.92 $\pm$ 0.47 <sup>A</sup>	6.82 $\pm$ 0.01 <sup>A</sup>
AAS 100 $\mu$ M	32.5 $\pm$ 0.08 <sup>A</sup>	92.7 $\pm$ 0 <sup>A</sup>	17.60 $\pm$ 0.93 <sup>A</sup>	6.78 $\pm$ 0.01 <sup>B</sup>
AAS 10 mM	28.53 $\pm$ 0.53 <sup>B</sup>	81.27 $\pm$ 4.37 <sup>B</sup>	16.41 $\pm$ 0.27 <sup>B</sup>	6.33 $\pm$ 0.00 <sup>C</sup>

EB= Eficiencia biológica. AAS= Ácido acetil salicílico. U.P.= Unidad de producción. Los valores representan el promedio de 3 réplicas. Valores que no comparten una misma letra son significativamente diferentes con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). \*= Biomasa de 1a y 2a cosecha.

#### 9.3.1 Eficiencia biológica (EB %)

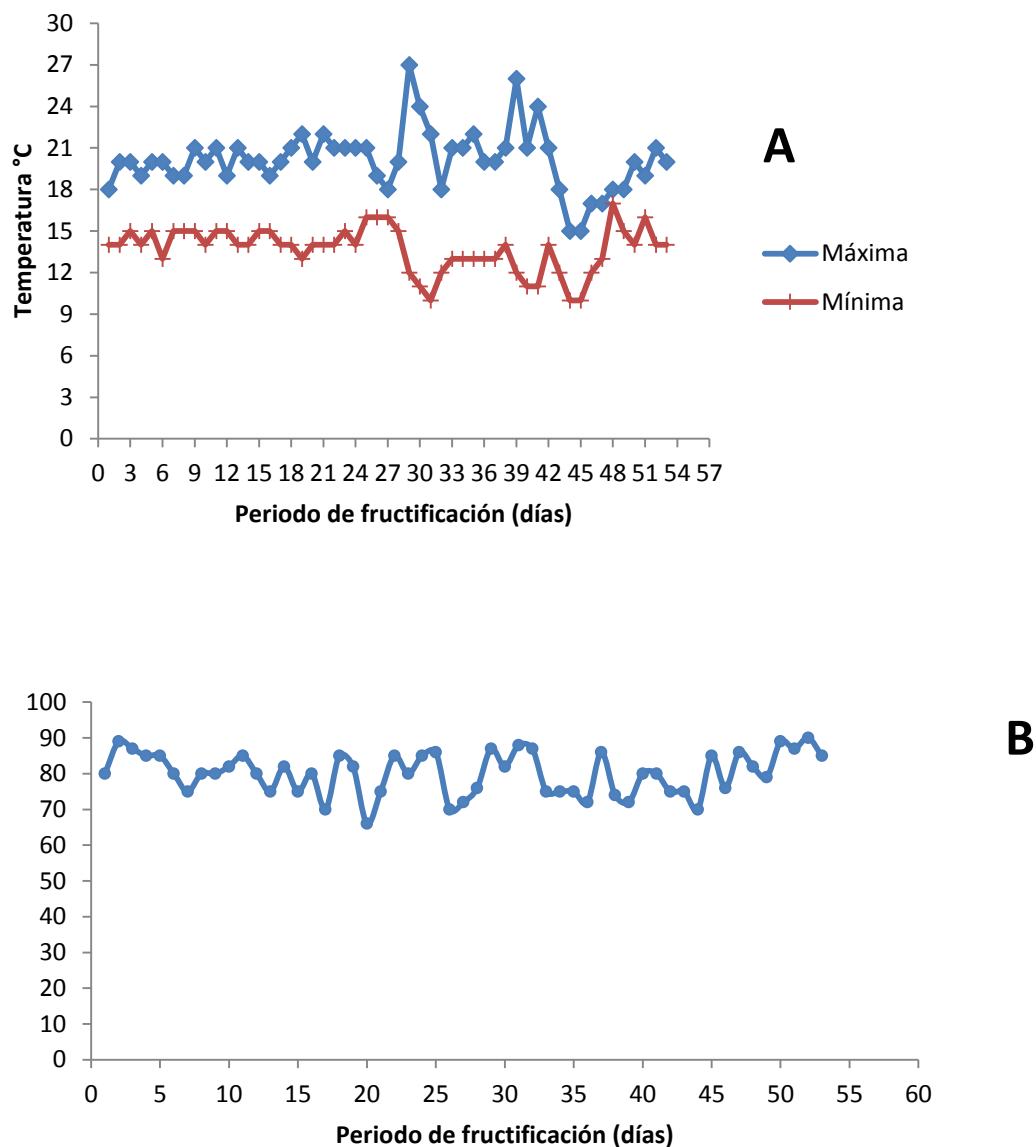
De acuerdo al análisis obtenido del programa SAS para la prueba de Tukey se encontró que para el tratamiento con AAS 10 mM se obtuvo una media en la eficiencia de 42.36  $\pm$  0.37 % siendo esta la mayor durante el ciclo de cultivo, siguiéndole el tratamiento con AAS 100  $\mu$ M con 36.62  $\pm$  0.15, y el testigo con 33.68  $\pm$  0.20 %. De acuerdo a lo anterior se puede determinar que estadísticamente el tratamiento AAS 10 mM fue el mejor en cuanto a la eficiencia biológica con una marcada diferencia significativa frente a los demás tratamientos.

La producción de basidiocarpos correspondientes a la primera cosecha de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* cultivado en la formulación COLPOS-17 testigo y con AAS (100  $\mu$ M y 10 mM) se puede observar en la figura 17. El tiempo de colonización del sustrato fue de 20 días. El periodo de fructificación se inició con el desarrollo de los primordios a los 15 días y se diferenciaron totalmente en un lapso de 15 a 18 días. El color de los basidiocarpos fue blanco en el estadio maduro tornándose marrón al paso del tiempo en todos los tratamientos. En cuanto al tamaño, el diámetro de los basidiocarpos para el tratamiento testigo fue de 9 a 14 cm de largo y de 7 a 13 cm de ancho, para el tratamiento con AAS 10 mM fue de 9 a 13 cm de largo y de 10 a 12 cm de ancho y para el tratamiento con AAS 100  $\mu$ M fue de 9.6 a 16 cm de largo y de 8.5 a 12 cm de ancho. El largo de las espinas fue de 0.4 a 1.5 cm de largo para el testigo, de 0.8 a 1.7 cm para el tratamiento con AAS 10 mM y, de 0.7 a 1.5 cm para el tratamiento con AAS 100  $\mu$ M. El pH promedio de los basidiocarpos fue de 5.7 para el tratamiento testigo, de 5.9 para el tratamiento con AAS 10 mM y de 5.8 para el tratamiento con AAS 100  $\mu$ M. El ciclo total de producción de la primera, segunda y tercera cosecha fue de 90 a 98 días en todos los tratamientos. La biomasa fresca obtenida (en gramos) en promedio por unidad de producción (U.P.) para el tratamiento testigo fue de  $273 \pm 0.33$ , para el tratamiento AAS 100  $\mu$ M fue de  $340.06 \pm 2.88$  y para el AAS 10 mM de  $382 \pm 3.5$ . En la tercera cosecha las U.P. presentaron problemas de insectos del género *Licoriella* sp. y de mohos como *Trichoderma* sp. que crecieron en las unidades de producción.



**Figura 17.** Producción de basidiocarpos correspondientes a la primera cosecha de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* cultivado en la formulación COLPOS-17. A=testigo). B= cultivado con AAS 100  $\mu$ M. C= tratamiento con AAS 10 mM.

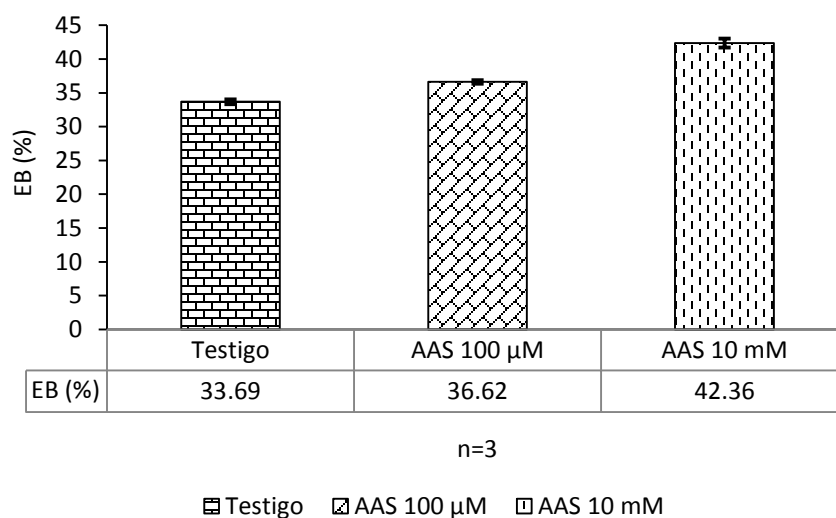
Las condiciones de fructificación de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* que se presentaron en el módulo de producción fueron temperaturas máximas de 27°C y mínimas de 14°C, con una humedad relativa promedio de 80% (Figura 18).



**Figura 18.** Condiciones ambientales registradas en el módulo de producción de hongos comestibles del COLPOS *campus* Puebla durante la fructificación de las cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* cultivada en la formulación COLPOS-17. A. Temperaturas máximas (27°C) y mínimas (14°C). B. Humedad relativa (80%).

#### 9.4 Eficiencia biológica (EB) de *Hericium erinaceus* e Índice Eficiente de Degradación (IED)

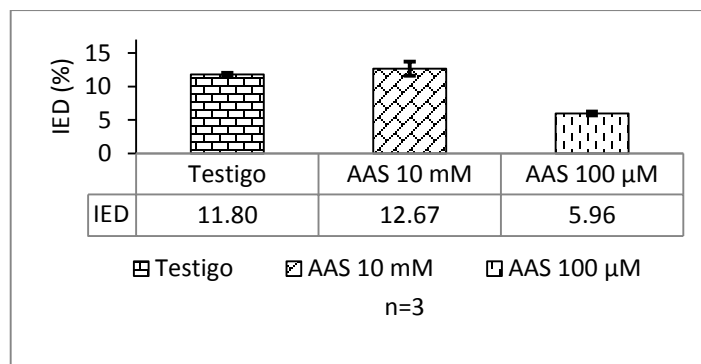
Una vez caracterizados y procesados los basidiocarpos de *H. erinaceus* se les calculó la eficiencia biológica (EB) acumulada de la primera, segunda y tercera cosecha en los tratamientos a los que fue sometido. Se encontró que para el tratamiento con AAS 10 mM se obtuvo una eficiencia del 42.36 % siendo la mayor durante el ciclo de cultivo, siguiéndole la del tratamiento con AAS 100  $\mu$ M en la cual se obtuvo un 36.62 %, y la del testigo fue de 33.69 % (Figura 19).



**Figura 19.** Eficiencia biológica (%) acumulada del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663), cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) y en dos concentraciones de AAS 100  $\mu$ M y 10 mM. AAS= Ácido acetil salicílico.

#### 9.5 Índice Eficiente de Degradación (IED) de *Hericium erinaceus*

De acuerdo al cálculo y resultados obtenidos del Índice de Eficiencia de Degradación (IED) en el tratamiento con AAS 10 mM se obtuvo un IED de 13.73 %, seguido del testigo con 12.47 % y el más bajo fue el del tratamiento con AAS 100  $\mu$ M con 6.17 % (Figura 20).



**Figura 20.** Índice de Eficiencia de Degradación (IED) obtenido después de cultivar la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* en la formulación COLPOS-17 a los 98 días.

Las variables, características morfológicas y del sustrato fueron evaluadas durante el ciclo de cultivo de los basidiocarpos cultivados de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* en la formulación COLPOS-17 en dos concentraciones de ácido acetil salicílico (AAS) y su testigo y se muestran en las Cuadro 6 y 7.

**Cuadro 6.** Características morfológicas y variables del cultivo del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) perteneciente a la primera cosecha, cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratado con agua (testigo) y dos concentraciones de AAS (10 mM y 100 μM).

Tratamiento	Diámetro (cm)		Largo de las espinas (cm)	Colonización de sustrato (días)	Ciclo de cultivo (días)
	Largo	Ancho			
				20	90-98
Testigo	11.4 ± 0.87 <sup>A</sup>	10.6 ± 1.06 <sup>A</sup>	1.02 ± 0.4 <sup>A</sup>		
AAS 100 μM	11.7 ± 1.15 <sup>A</sup>	10.1 ± 0.57 <sup>A</sup>	1.14 ± 0.3 <sup>A</sup>		
AAS 10 mM	11.3 ± 0.66 <sup>A</sup>	10.8 ± 0.33 <sup>A</sup>	1.02 ± 0.4 <sup>A</sup>		

AAS= Ácido acetil salicílico. COLPOS= Formulación. Los valores representan el promedio de 3 réplicas. Valores que comparten una misma letra no son significativamente diferentes con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

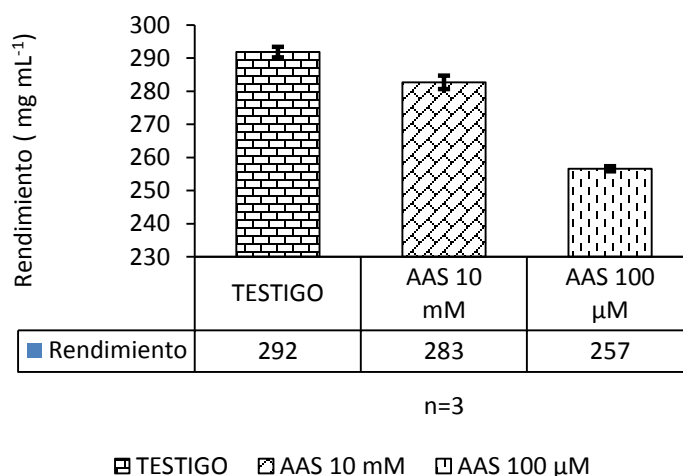
**Cuadro 7.** Variables evaluadas del sustrato COLPOS-17 al inicio y final del ciclo de cultivo.

Tratamiento	pH inicial	pH final	Peso seco inicial (PSI) de la U.P. (g)	Peso seco final (PSF) de la U.P. (g)	Índice eficiente de degradación (IED %)
Testigo	5.44 ± 0.02 <sup>A</sup>	4.15 ± 0.02 <sup>B</sup>	855.92	764.29	11.80 ± 0.25 <sup>A</sup>
AAS 100 μM	5.47 ± 0.01 <sup>A</sup>	4.37 ± 0.02 <sup>A</sup>	807.82	743.48	11.87 ± 0.27 <sup>A</sup>
AAS 10 mM	4.68 ± 0.02 <sup>B</sup>	4.36 ± 0.06 <sup>A</sup>	895.49	737.67	12.67 ± 1.05 <sup>A</sup>

AAS= Ácido acetil salicílico. COLPOS= Formulación. U.P.= Unidades de producción. Los valores representan el promedio de 3 réplicas. Valores que no comparten una misma letra son significativamente diferentes con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

### 9.6 Extractos obtenidos de *Hericiium erinaceus* (CP-663)

Se obtuvieron en total 15 extractos alcohólicos con 10 g de muestra de basidiocarpos deshidratados y molidos de cada tratamiento (AAS 10 mM, AAS 100  $\mu$ M y testigo) de los cuáles se procedió a analizar sus propiedades funcionales. Se obtuvieron 5 extractos en un volumen total de 50 mL de cada uno de los tratamientos. Posterior a esto se realizó el análisis para determinar el rendimiento de los extractos de cada uno de los tratamientos (Figura 21), dónde se muestra que el mayor rendimiento obtenido fue el del tratamiento testigo con 292 mg mL<sup>-1</sup> siguiéndole el del tratamiento con AAS 10 mM con 283 mg mL<sup>-1</sup> y, el menor rendimiento fue del tratamiento con AAS 100  $\mu$ M con 257 mg mL<sup>-1</sup>.



**Figura 21.** Rendimiento de los extractos obtenidos de los basidiocarpos del cultivo de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* cultivado en la formulación COLPOS-17 en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 $\mu$ M y 10 mM). AAS= Ácido acetyl salicílico.

Una vez obtenidos los rendimientos se definió la concentración de las diluciones de los extractos de los tres tratamientos de la microplaca por fila (Cuadro 8).

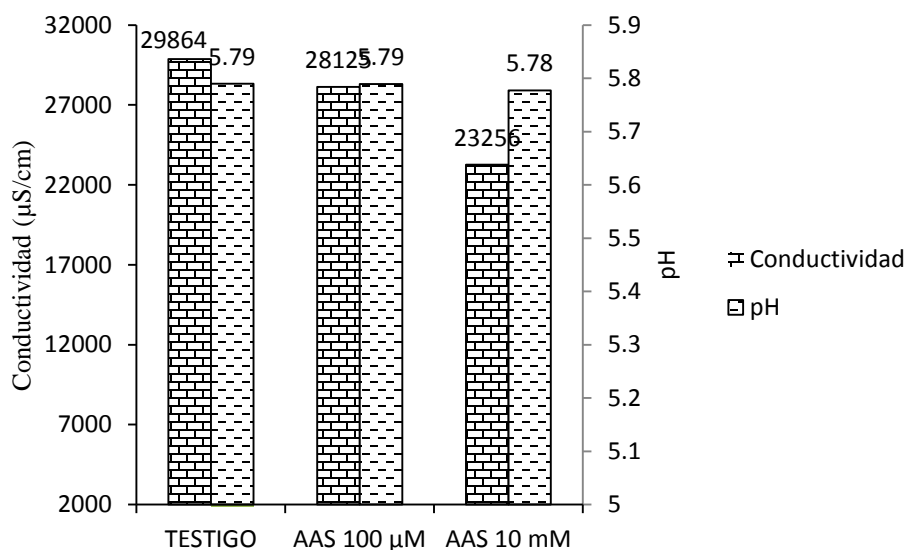
**Cuadro 8.** Concentración de los extractos de *Hericiium erinaceus* por el nivel de dilución realizada en la microplaca.

Fila	Dilución	Extracto (mg mL <sup>-1</sup> )/pozo (testigo)	Extracto (mg mL <sup>-1</sup> )/pozo (100 μM)	Extracto (mg mL <sup>-1</sup> )/pozo (10 mM)
A	D1	146	128.5	141.5
B	D2	73	64.25	70.75
C	D3	36.5	32.13	35.38
D	D4	18.25	16.06	17.69
E	D5	9.13	8.03	8.84
F	D6	4.56	4.02	4.42
G	D7	2.28	2.01	2.21

AAS= Ácido acetil salicílico. D= Dilución.

### 9.7 Análisis de la conductividad y pH de los concentrados de los extractos

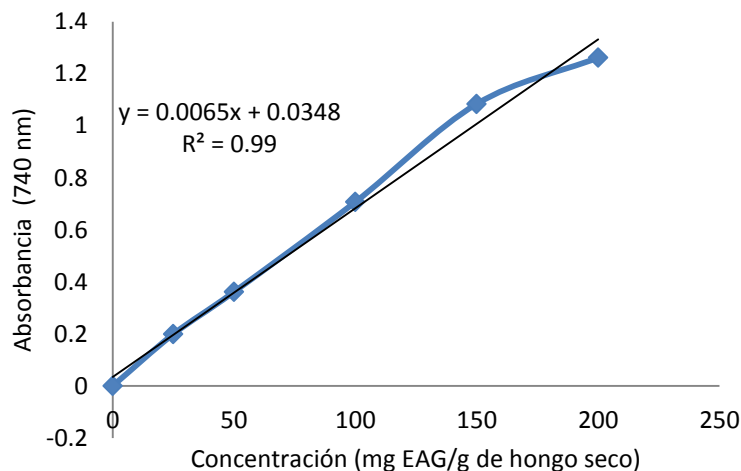
Las lecturas obtenidas en el potenciómetro se muestran en la figura 22, a las cuales se les analizó la conductividad y el pH de los extractos concentrados (50 g) de cada tratamiento (testigo, AAS 100 μM y 10 mM).



**Figura 22.** Conductividad y pH de los extractos obtenidos de los basidiocarpos de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* cultivado en la formulación COLPOS-17 en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100μM y 10 mM). AAS= Ácido acetil salicílico.

## 9.8 Análisis de fenoles totales y proteína en los extractos de *Hericiium erinaceus* (CP-663)

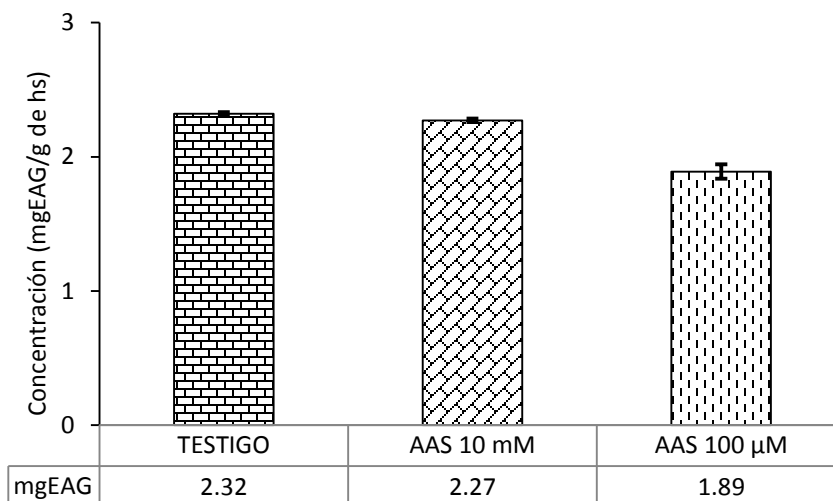
La concentración de fenoles totales fue expresada en mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG). Para la determinación del contenido de los fenoles en los extractos de los basidiocarpos, se procedió a realizar la curva de calibración estándar con ácido gálico (Figura 23).



**Figura 23.** Curva de calibración con ácido gálico para medir la concentración de fenoles totales, en la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus*. EAG= Equivalentes de ácido gálico.

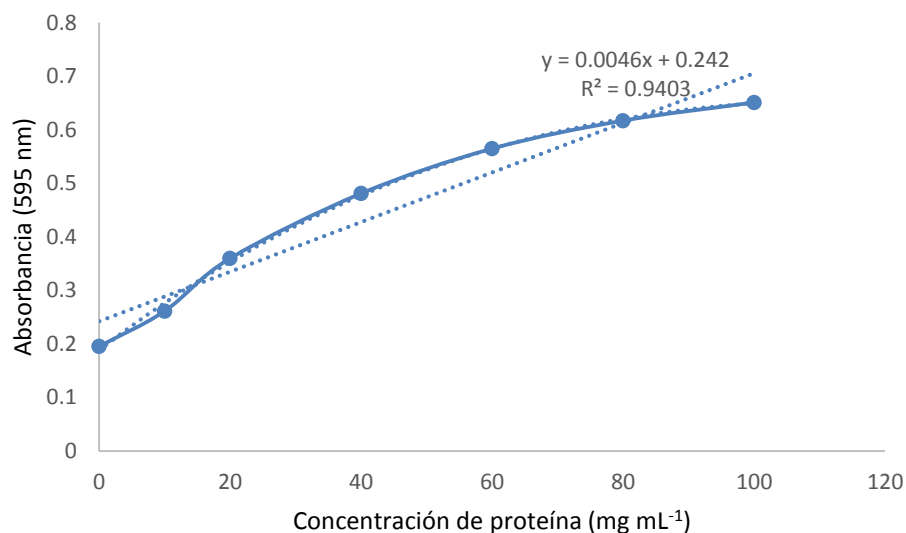
Se encontró que el tratamiento con mayor cantidad de polifenoles totales fue el AAS 10 mM con 2.271 mg EAG/g de hongo seco, seguido por el testigo con 2.319 mg EAG/g de hongo seco y, el tratamiento que tuvo una menor concentración fue la del AAS 100  $\mu$ M con 1.892 mg EAG/g de hongo seco (Figura 24).





**Figura 24.** Concentración de polifenoles totales obtenidos de basidiocarpos del hongo *Hericiium erinaceus* (CP-663) en los macerados en tequila blanco en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μM y 10 mM) expresado en mg EAG/gramo de hongo seco (hs). AAS= Ácido acetil salicílico. EAG= Equivalentes de ácido gálico.

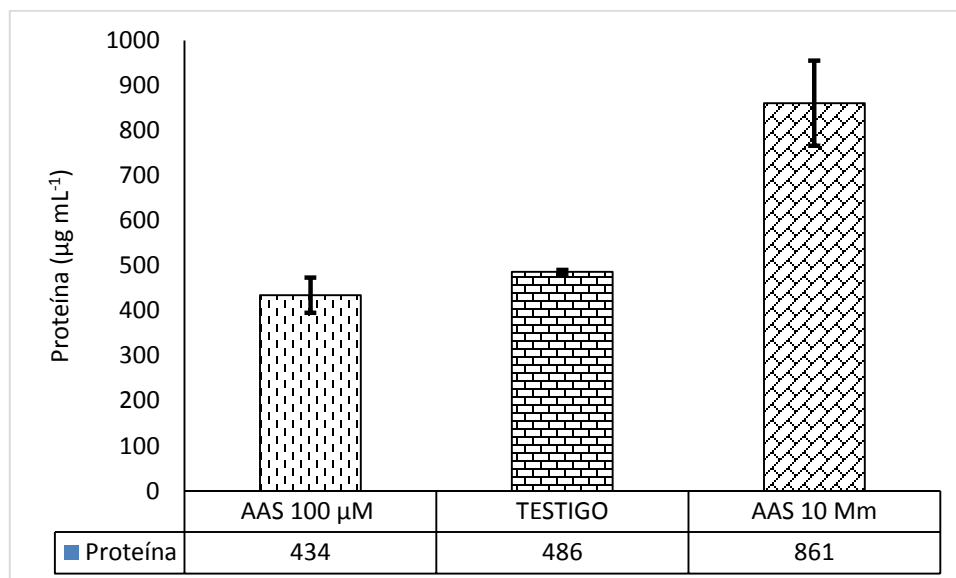
Para la determinación del contenido de proteína en los extractos de los basidiocarpos, se procedió a realizar la curva de calibración mediante BSA (Albumina de Suero Bovino Sigma) de 0 a 100 μg mL<sup>-1</sup> (Figura 25).



**Figura 25.** Curva de calibración para medir la concentración de protreína en la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* en sus tres tratamientos.

El tratamiento con mayor cantidad de proteína fue el del AAS 10 mM con 860.49 μg mL<sup>-1</sup>, seguido del tratamiento testigo con 486.12 mL<sup>-1</sup> y la menor concentración fue en el tratamiento

con AAS 100  $\mu\text{M}$  con 434.42  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Estos valores fueron expresados en  $\mu\text{g mL}^{-1}$  por cada 50 g de peso seco de basidiocarpo como se muestra en la figura 26.



**Figura 26.** Cantidad de proteína obtenida de basidiocarpos del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) en los extractos obtenidos en sus tres tratamientos, expresado en  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . AAS= Ácido acético salicílico.

## 9.9 Resultados del análisis estadístico para *Hericium erinaceus*

Los análisis obtenidos mediante el programa SAS versión 9.0 se muestran en la Cuadro 9.

Cuadro 9. Variables analizadas de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) en respuesta a tratamientos con AAS a dos concentraciones.

Tratamiento	EB (%)	Proteína ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Antioxidantes (mg EAG/ g hs)	Rendimiento (g $\text{mL}^{-1}$ )
Testigo	33.68 $\pm$ 0.20 <sub>C</sub>	486.12 $\pm$ 2.45 <sub>B</sub>	2.319 $\pm$ 0.006 <sub>A</sub>	291.00 $\pm$ 0.57 <sub>A</sub>
AAS 100 $\mu\text{m}$	36.62 $\pm$ 0.15 <sub>B</sub>	434.42 $\pm$ 22.58 <sub>B</sub>	1.892 $\pm$ 0.030 <sub>B</sub>	256.66 $\pm$ 0.33 <sub>C</sub>
AAS 10 mM	42.36 $\pm$ 0.37 <sub>A</sub>	860.49 $\pm$ 54.49 <sub>A</sub>	2.271 $\pm$ 0.007 <sub>A</sub>	283.33 $\pm$ 0.88 <sub>B</sub>

EB: Eficiencia biológica. mg EAG/g hs: miligramos de equivalente de ácido gálico por gramos de hongo seco. Los valores representan el promedio de 3 réplicas. Valores que no comparten una misma letra son significativamente diferentes con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

### 9.9.1 Eficiencia biológica (EB %)

De acuerdo al análisis obtenido del programa SAS para la prueba de Tukey se encontró que para el tratamiento con AAS 10 mM se obtuvo una media en la eficiencia de 42.36  $\pm$  0.37 % siendo esta la mayor durante el ciclo de cultivo, siguiéndole el tratamiento con AAS 100  $\mu\text{M}$

con  $36.62 \pm 0.15$ , y el testigo con  $33.68 \pm 0.20$  %. De acuerdo a lo anterior se puede determinar que estadísticamente el tratamiento AAS 10 mM fue el mejor en cuanto a la eficiencia biológica con una marcada diferencia significativa frente a los demás tratamientos.

### **9.9.2 Proteína**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en el programa SAS, correspondiente a la curva de calibración de la albumina bovina dio un valor de F de 46.52 y  $Pr > 0.0002$  poco significativa, con una  $R^2 = 0.939$  (es decir: la ecuación obtenida esta representando al resultado experimental, lo cual demuestra el grado de confiabilidad de cada uno de los experimentos). Los resultados obtenidos de acuerdo al programa SAS nos dicen que el tratamiento con mayor cantidad de proteína fue el tratamiento con AAS (10 mM) con  $860.49 \pm 54.49 \mu\text{g mL}^{-1}$ , siguiéndole el tratamiento sin AAS (testigo) con  $486.12 \pm 2.45 \text{ mL}^{-1}$  y el que tuvo la menor concentración de proteína fue el tratamiento con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) con  $434.42 \pm 22.58 \mu\text{g mL}^{-1}$ . El mejor tratamiento en cuanto a la cantidad de proteína fue el del AAS 10 mM, siguiéndole el testigo, aunque cabe señalar que el programa agrupo a este último tratamiento con el tratamiento AAS 100  $\mu\text{M}$ , por lo que se puede decir que no hay una diferencia significativa entre estos dos tratamientos, sugiriendo que son estadísticamente similares en cuanto a la cantidad de proteína.

### **9.9.3 Polifenoles totales (Antioxidantes)**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en el programa SAS, correspondiente a la curva de calibración del ácido gálico dio un valor de F de 155.04 y  $Pr < 0.0001$  altamente significativa, con una  $R^2 = 0.981$ , lo cual muestra que hay diferencias altamente significativas entre los tratamientos en relación a la concentración de fenoles totales (antioxidantes). Los resultados obtenidos de acuerdo al programa SAS nos dicen que el tratamiento con mayor cantidad de polifenoles totales fue el tratamiento con AAS (10 mM) con  $2.271 \pm 0.007 \text{ mg EAG/g}$  de hongo seco, siguiéndole el tratamiento sin AAS (testigo) con  $2.319 \pm 0.006 \text{ mg EAG/g}$  de hongo seco y el tratamiento que tuvo una menor concentración fue el tratamiento con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) con  $1.892 \pm 0.030 \text{ mg EAG/g}$  de hongo seco. El programa asigno al tratamiento AAS 10 mM y al testigo dentro del mismo grupo ya que no existe diferencia significativa entre ellos y son estadísticamente similares, pudiéndose decir que el mejor

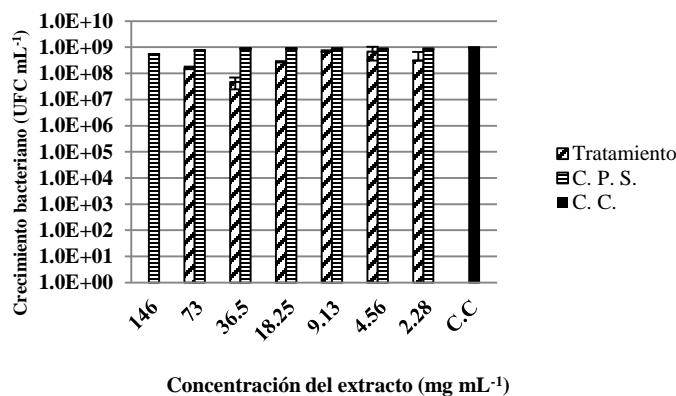
tratamiento fue el del testigo en cuanto a la obtención de antioxidantes y el más bajo el del tratamiento AAS 100  $\mu\text{M}$ .

#### 9.9.4 Rendimiento de los extractos

Los resultados obtenidos de acuerdo al programa SAS nos dicen que el mayor rendimiento obtenido fue el del tratamiento sin AAS (testigo) con  $291.00 \pm 0.57 \text{ mg mL}^{-1}$  siguiéndole el del tratamiento con AAS 10 mM con  $283.33 \pm 0.88 \text{ mg mL}^{-1}$  y el menor el del tratamiento con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) con  $256.66 \pm 0.33 \text{ mg mL}^{-1}$ . El programa diferencio claramente en tres grupos distintos a cada uno de los tratamientos, habiendo una diferencia estadística significativa entre los tres, siendo el mejor el del tratamiento testigo, siguiéndole el correspondiente al AAS 10 mM y el más bajo fue el del AAS 100  $\mu\text{M}$ .

#### 9.10 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Salmonella typhi* (CPB-1)

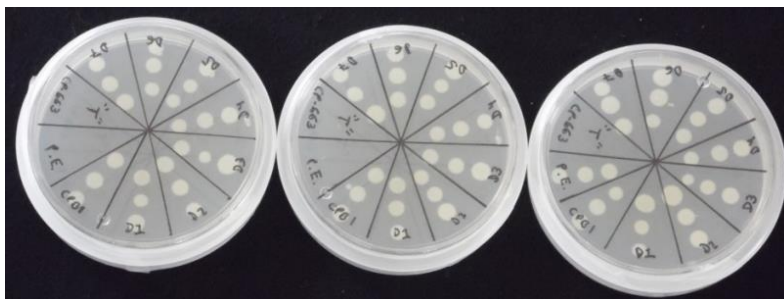
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292  $\text{mg mL}^{-1}$ . Se tuvo un efecto bacteriostático en la primera dilución con un rendimiento de 146  $\text{mg mL}^{-1}$  (Figura 27).



**Figura 27.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivados en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-1 de *Salmonella typhi* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.11 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Salmonella typhi* (CPB-1)

Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) no se encontró ningún efecto bactericida en ninguna dilución al medir el efecto contra la CPB-1 (*S. typhi*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 28).



**Figura 28.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-1 (*Salmonella typhi*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-1 (C.C.)= Control de crecimiento de la bacteria de *S. typhi*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.12. Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Salmonella typhi* (CPB-1) en 50 $\mu$ L de inóculo

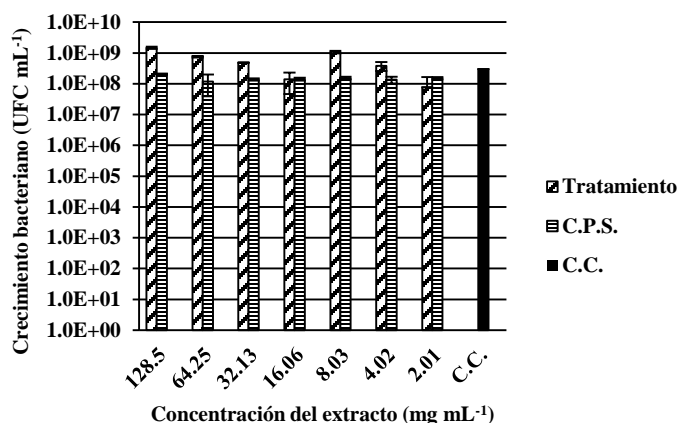
Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la CPB-1 de *Salmonella typhi* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C (Figura 29).



**Figura 29.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-1 de *Salmonella typhi*.

### 9.13 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs *Salmonella thyphi* (CPB-1)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100  $\mu$ M) fue de 257mg mL<sup>-1</sup>. Al hacer el análisis no presento efecto bacteriostático (Figura 30).



**Figura 30.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivados en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS 100  $\mu$ M sobre la bacteria CPB-1 (*Salmonella typhi*) a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.14 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs *Salmonella thyphi* (CPB-1)

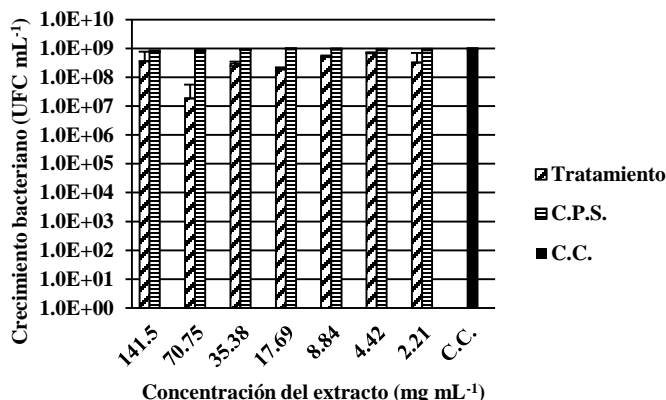
El tratamiento con AAS (100  $\mu$ M) no presento ningún efecto bactericida en ninguna dilución al evaluarlo contra la CPB-1 (*S. typhi*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 31).



**Figura 31.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100  $\mu$ M) sobre la bacteria CPB-1 (*Salmonella typhi*) a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-1(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. typhi*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.15 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Salmonella typhi* (CPB-1)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se encontró que no hubo un efecto bacteriostático en ninguna dilución (Figura 32).



**Figura 32.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-1 de *Salmonella typhi* a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.16 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Salmonella typhi* (CPB-1)

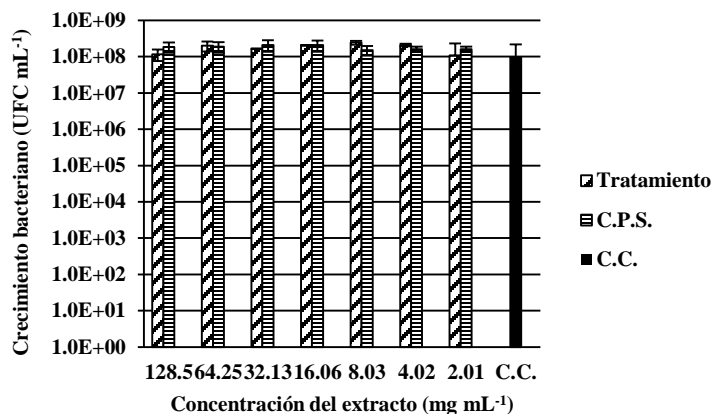
Se encontró que para el tratamiento con AAS (10 mM) no se encontró ningún efecto bactericida en ninguna dilución al medir el efecto contra la CPB-1 (*S. typhi*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 33).



**Figura 33.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-1 (*Salmonella typhi*) a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-1(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. typhi*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.17 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

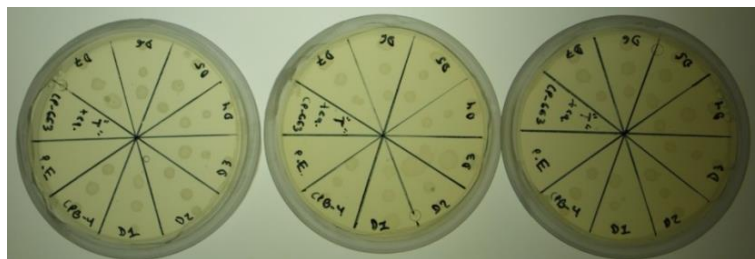
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la primera dilución con un rendimiento de 146 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 34).



**Figura 34.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-4 de *Streptococcus agalactiae* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.18 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) no se encontró ningún efecto bactericida en ninguna dilución al medir el efecto contra la CPB-4 (*S. agalactiae*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 35).

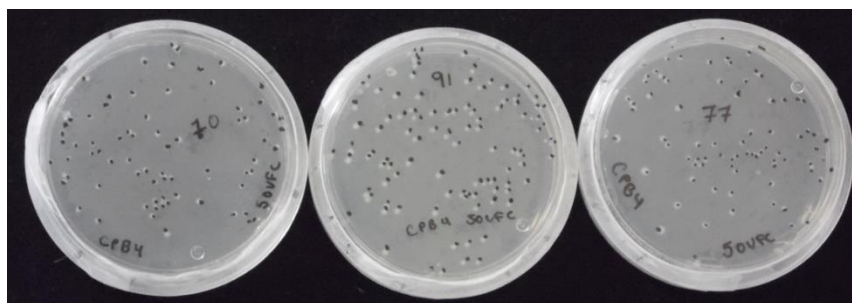


**Figura 35.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-4 (*Streptococcus agalactiae*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-4 (C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. agalactiae*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.



### 9.19 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Streptococcus agalactiae* (CPB-4) en 50 $\mu$ L de inóculo

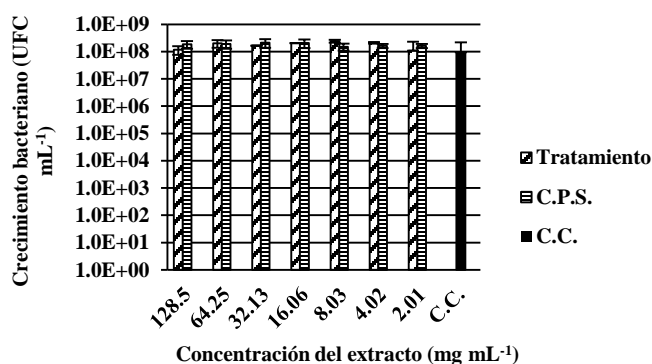
Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la CPB-4 de *Streptococcus agalactiae* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28\pm 2$  °C (Figura 36).



**Figura 36.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-4 (*Streptococcus agalactiae*).

### 9.20 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100  $\mu$ M) fue de 257 mg mL<sup>-1</sup>. Se encontró que no hubo efecto bacteriostático en ninguna dilución (Figura 37).



**Figura 37.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericum erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100  $\mu$ M) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-4 de *Streptococcus agalactiae* a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.21 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

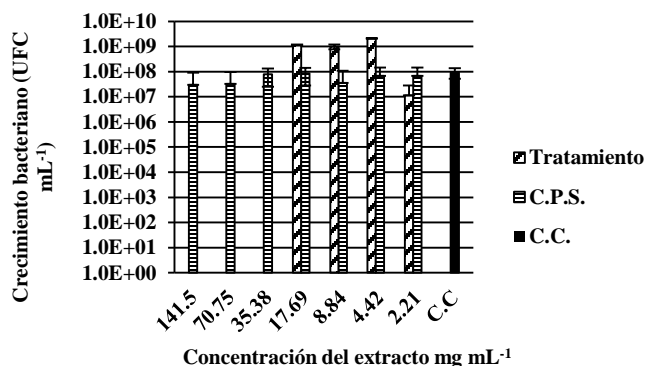
El tratamiento con ASS (100 µM) no presentó efecto bactericida en ninguna dilución al evaluarlo contra la CPB-4 (*S. agalactiae*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 38).



**Figura 38.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-4 (*Streptococcus agalactiae*) a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-4(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. agalactiae*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.22 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

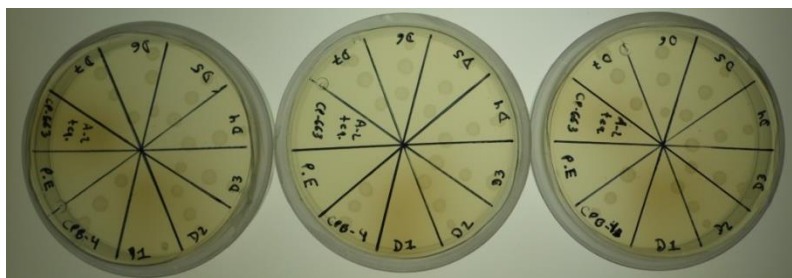
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la dilución tres la cual corresponde a una concentración de 35.38 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 39).



**Figura 39.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-4 de *Streptococcus agalactiae* a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetil salicílico. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.23 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

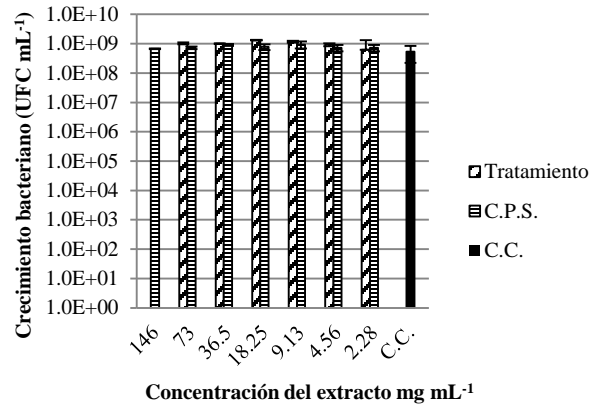
Se encontró que para el tratamiento con ASS (10 mM) se encontró un efecto bactericida en la dilución uno al medir el efecto contra la CPB-4 (*Streptococcus agalactiae*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 40).



**Figura 40.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-4 (*Streptococcus agalactiae*) a las 24 horas de incubación. AAS= Ácido acetyl salicílico. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-4(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. agalactiae*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.24 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

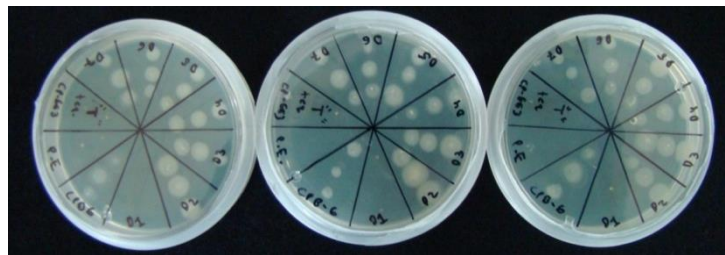
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la primera dilución con un rendimiento de 146 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 41).



**Figura 41.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.25 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

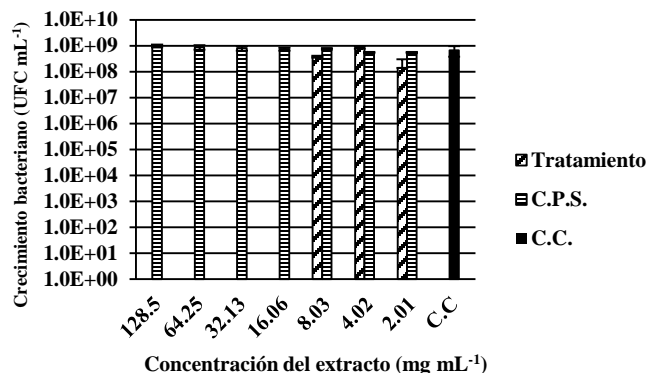
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) hubo efecto bactericida en la dilución uno al medir el efecto contra la CPB-6 (*P. aeruginosa*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 42).



**Figura 42.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-6 (*Pseudomonas aeruginosa*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-6(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.26 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

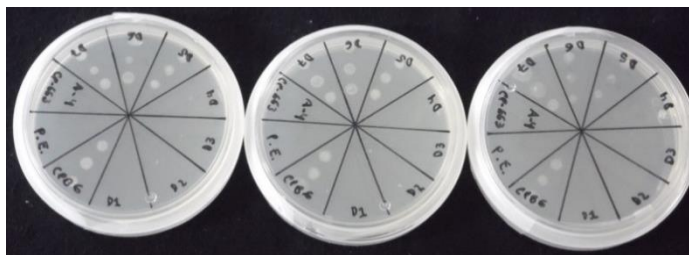
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100 µM) fue de 257 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la cuarta dilución con un rendimiento de 16.06 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 43).



**Figura 43.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.27 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

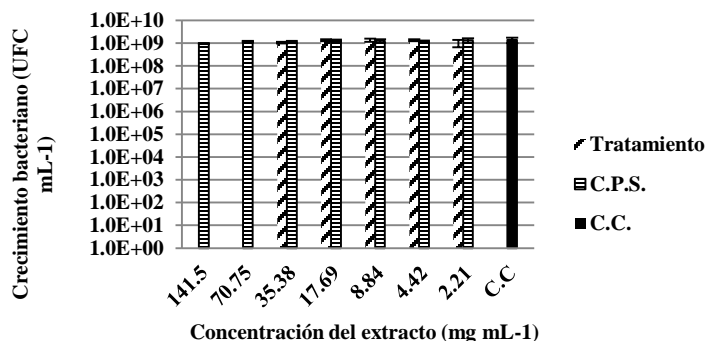
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100 µM) el efecto bactericida se observó en la dilución cuatro contra la CPB-6 (*P. aeruginosa*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 44).



**Figura 44.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-6 (*Pseudomonas aeruginosa*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-6(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.28 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

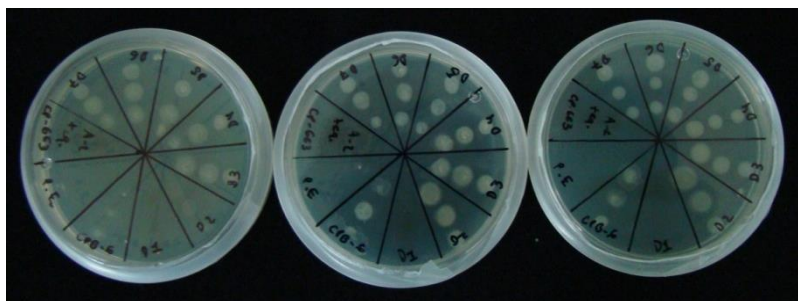
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>, se tuvo un efecto bacteriostático en la segunda dilución con un rendimiento de 70.75 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 45).



**Figura 45.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.29 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

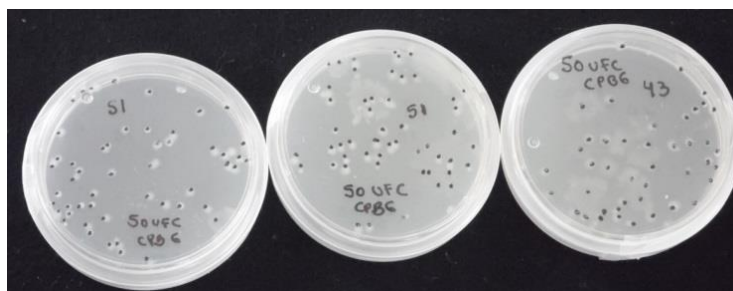
Se encontró que para el tratamiento con ASS (10 mM) se encontró efecto bactericida en la dilución uno al medir el efecto contra la CPB-6 (*P. aeruginosa*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 46).



**Figura 46.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-6 (*Pseudomonas aeruginosa*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-6(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.30 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Pseudomona aeruginosa* (CPB-6) en 50 $\mu\text{L}$ de inóculo

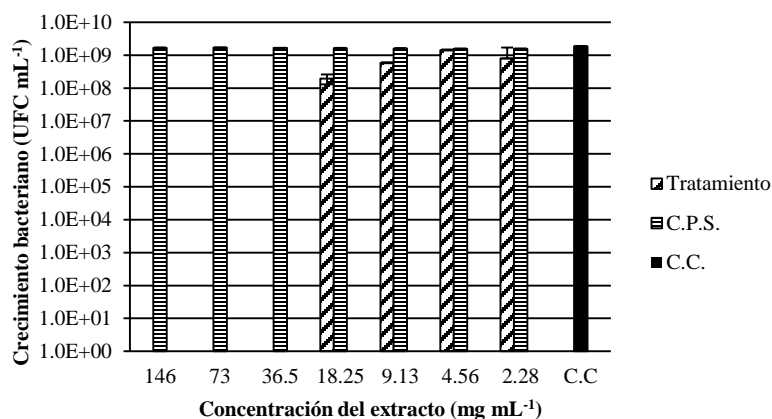
Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* se tomaron 50  $\mu\text{L}$  y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28\pm 2$  °C (Figura 47).



**Figura 47.** Concentración de bacterias en 50  $\mu\text{L}$  de inóculo de la CPB-6 (*Pseudomonas aeruginosa*).

### 9.31 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292  $\text{mg mL}^{-1}$ . Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 36.5  $\text{mg mL}^{-1}$  (Figura 48).



**Figura 48.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-7 de *Stenotrophomonas maltophilia* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.32 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7)

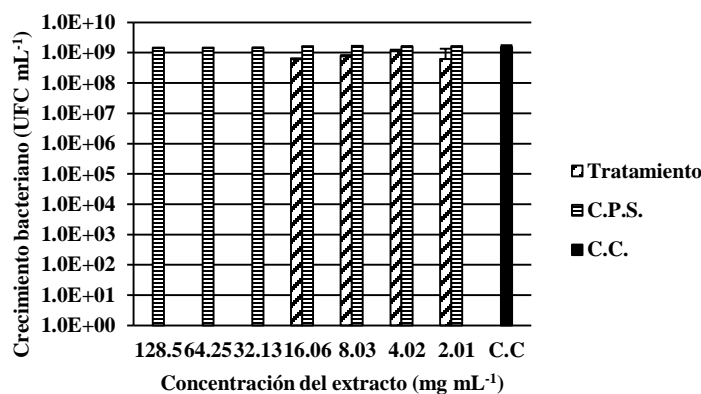
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) hubo efecto bactericida hasta la dilución tres al medir el efecto contra la CPB-7 (*S. maltophilia*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 49).



**Figura 49.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-7 (*Stenotrophomonas maltophilia*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-7(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. maltophilia*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.33 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100 µM) fue de 257 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 32.13 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 50).



**Figura 50.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-7 de *Stenotrophomonas maltophilia* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.



### 9.34 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7)

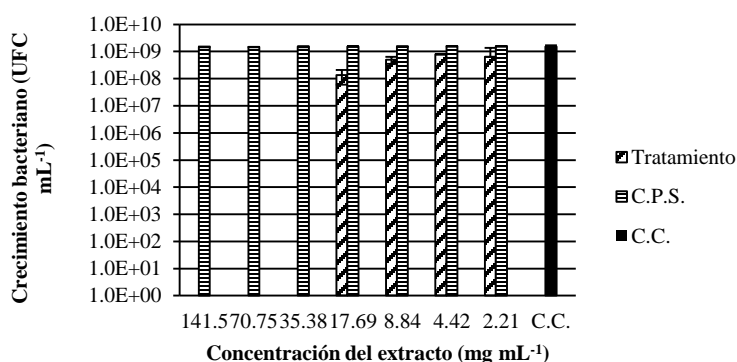
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100 µM) se encontró efecto bactericida en la dilución tres al medir el efecto contra la CPB-7 (*S. maltophilia*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 51).



**Figura 51.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-7 (*Stenotrophomonas maltophilia*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-7(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. maltophilia*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.35 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 35.38 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 52).



**Figura 52.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-7 de *Stenotrophomonas maltophilia* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.36 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7)

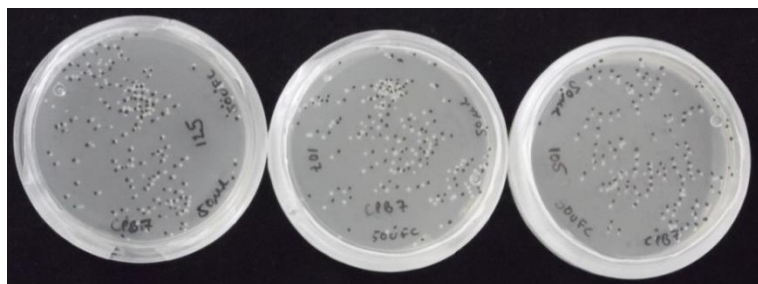
Se encontró que para el tratamiento con ASS (10 mM) se encontró efecto bactericida en la dilución uno al medir el efecto contra la CPB-7 (*S. maltophilia*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 53).



**Figura 53.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-7 (*Stenotrophomonas maltophilia*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-7(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. maltophilia*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.37 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Stenotrophomonas maltophilia* (CPB-7) en 50 $\mu$ L de inóculo

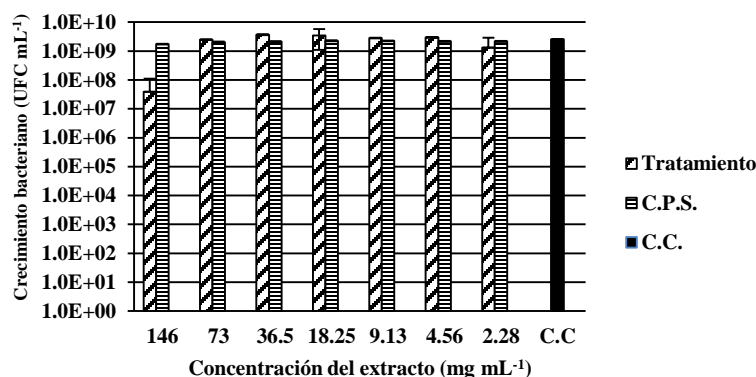
Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la CPB-7 de *Stenotrophomonas maltophilia* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C (Figura 54).



**Figura 54.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-7 (*Stenotrophomonas maltophilia*).

### 9.38 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Escherichia coli* (CPB-8)

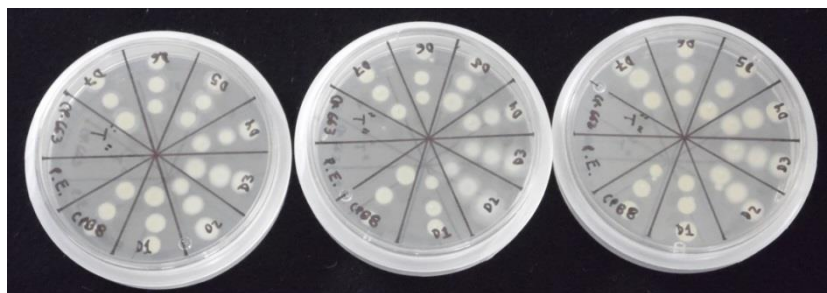
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Este tratamiento no presenta efecto bacteriostático (Figura 55).



**Figura 55.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-8 de *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.39 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Escherichia coli* (CPB-8)

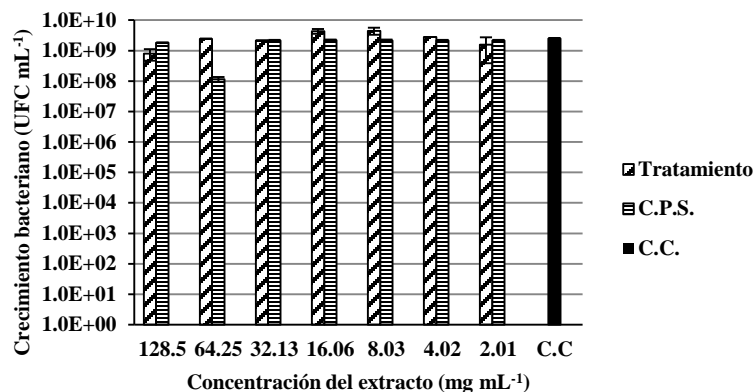
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) no hubo efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-8 (*E. coli*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 56).



**Figura 56.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-8 (*Escherichia coli*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-8(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *E. coli*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

#### 9.40 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu\text{M}$ ) vs *Escherichia coli* (CPB-8)

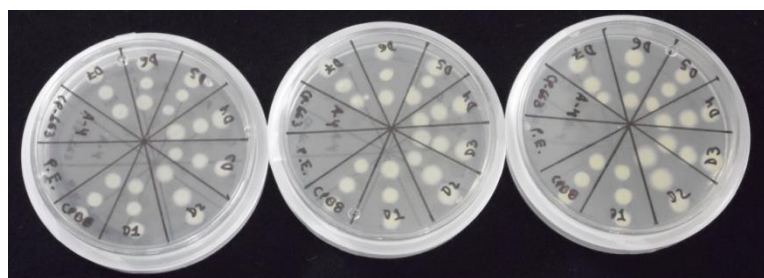
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) fue de 257  $\text{mg mL}^{-1}$ . No hubo efecto bacteriostático en ninguna dilución (Figura 57).



**Figura 57.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-8 de *Escherichia coli* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

#### 9.41 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu\text{M}$ ) vs *Escherichia coli* (CPB-8)

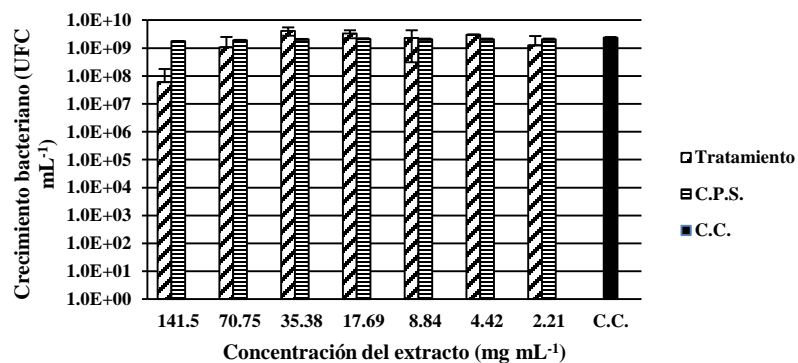
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100  $\mu\text{M}$ ) no hubo efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-8 (*Escherichia coli*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 58).



**Figura 58.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) sobre la bacteria CPB-8 (*Escherichia coli*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-8(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *E. coli*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.42 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Escherichia coli* (CPB-8)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se encontró que no hubo un efecto bacteriostático (Figura 59).



**Figura 59.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-8 de *Escherichia coli* las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.43 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Escherichia coli* (CPB-8)

Se encontró que para el tratamiento con ASS (10 mM) se encontró efecto bactericida en la dilución uno al medir el efecto contra la CPB-8 (*Escherichia coli*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 60).



**Figura 60.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-8 (*Escherichia coli*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-8(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *E.coli*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

#### 9.44 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* (CPB-8) en 50 $\mu$ L de inóculo

Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la CPB-8 de *Escherichia coli* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C (Figura 61).



Figura 61. Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-8 (*Escherichia coli*).

#### 9.45 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Bacillus subtilis* (CPB-9)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la segunda dilución con un rendimiento de 76 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 62).

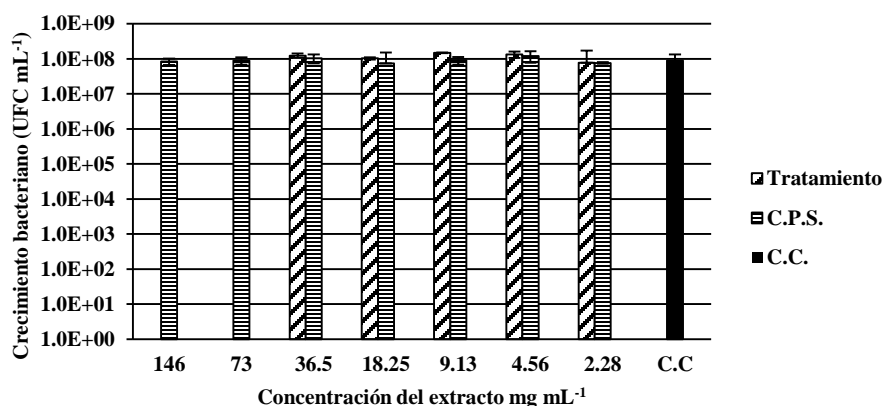
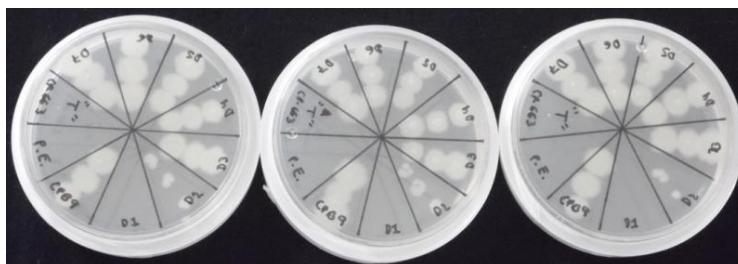


Figura 62. Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-9 de *Bacillus subtilis* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

#### 9.46 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Bacillus subtilis* (CPB-9)

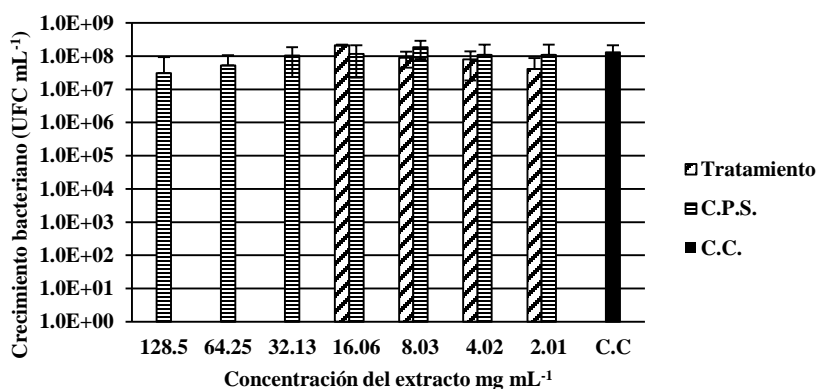
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) hubo efecto bactericida en la dilución uno al medir el efecto contra la CPB-9 (*B. subtilis*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 63).



**Figura 63.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-9 (*Bacillus subtilis*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-9(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *B. subtilis*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

#### 9.47 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Bacillus subtilis* (CPB-9)

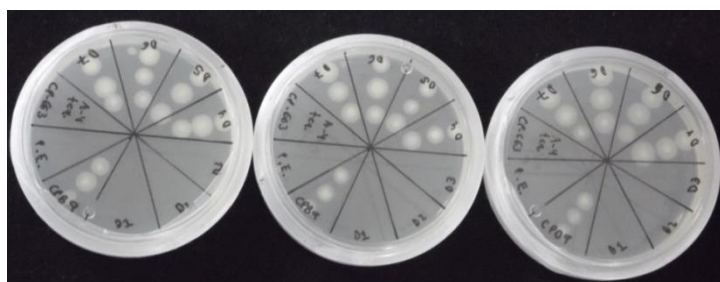
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100 µM) fue de 257 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 32.13 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 64).



**Figura 64.** Efecto del extracto del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado la formulación COLPOS-17 hidratado con solución de AAS 100 µM sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-9 (*Bacillus subtilis*) a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

#### 9.48 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Bacillus subtilis* (CPB-9)

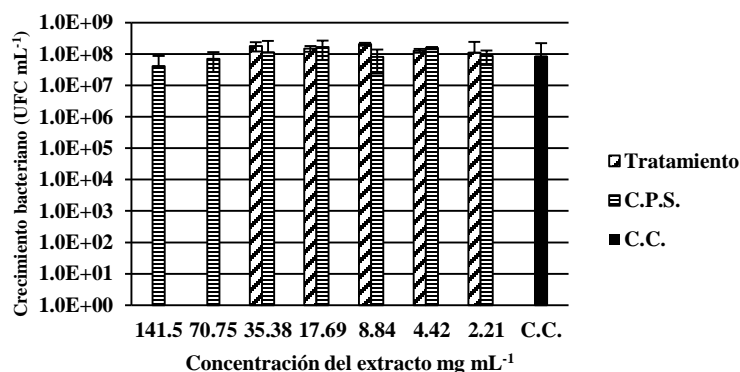
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100 µM) se encontró efecto bactericida en la dilución cuatro al medir el efecto contra la CPB-9 (*B. subtilis*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 65).



**Figura 65.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre la bacteria CPB-9 (*Bacillus subtilis*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-9(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *B. subtilis*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

#### 9.49 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Bacillus subtilis* (CPB-9)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la segunda dilución con un rendimiento de 70.75 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 66).



**Figura 66.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-9 de a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.



### 9.50 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Bacillus subtilis* (CPB-9)

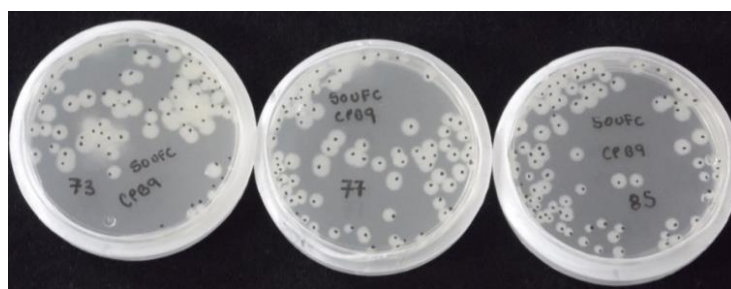
Se encontró que para el tratamiento con AAS (10 mM) se encontró efecto bactericida en la dilución dos al medir el efecto contra la CPB-9 (*B. subtilis*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 67).



**Figura 67.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-9 (*Bacillus subtilis*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-9(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *B. subtilis*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.51 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Bacillus subtilis* (CPB-9) en 50 $\mu$ L de inóculo

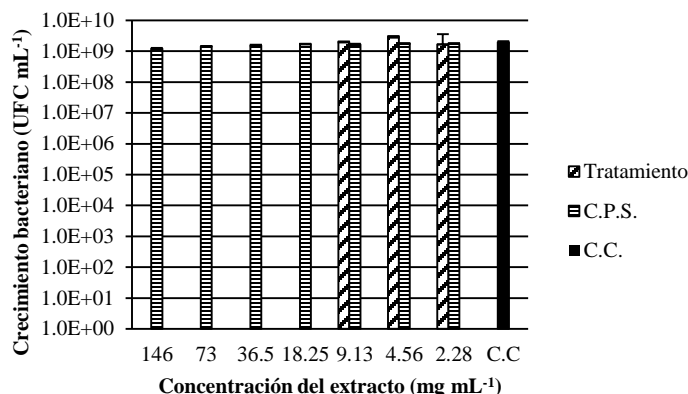
Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la CPB-9 de *Bacillus subtilis* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C (Figura 68).



**Figura 68.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-9 (*Bacillus subtilis*).

### 9.52 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Staphilococcus aureus* (CPB-10)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la cuarta dilución con un rendimiento de 18.25 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 69).



**Figura 69.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-10 de *Staphilococcus aureus* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.53 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Staphilococcus aureus* (CPB-10)

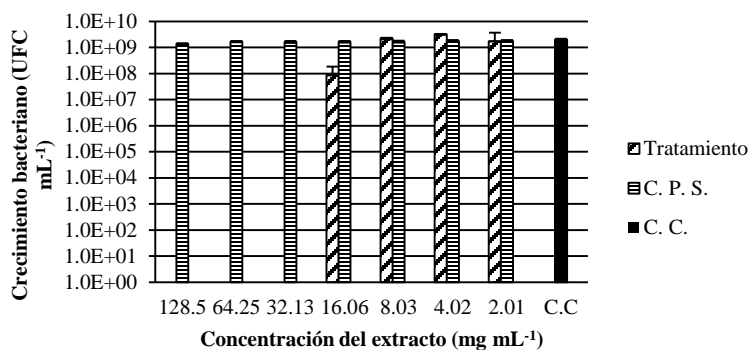
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) hubo efecto bactericida en la dilución tres al medir el efecto contra la CPB-10 (*S. aureus*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 70).



**Figura 70.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-10 (*Staphilococcus aureus*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-10(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. aureus*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.54 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu\text{M}$ ) vs *Staphilococcus aureus* (CPB-10)

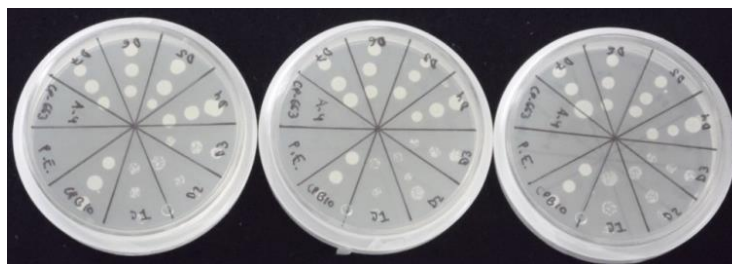
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) fue de 257  $\text{mg mL}^{-1}$ . Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 32.13  $\text{mg mL}^{-1}$  (Figura 71).



**Figura 71.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-10 de *Staphilococcus aureus* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.55 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu\text{M}$ ) vs *Staphilococcus aureus* (CPB-10)

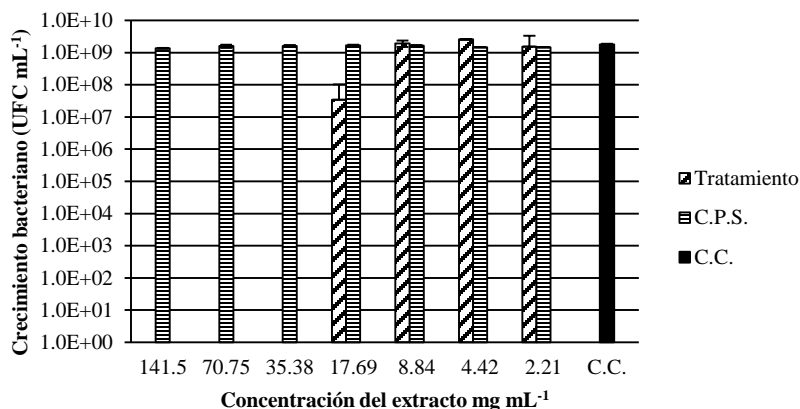
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100  $\mu\text{M}$ ) no se encontró efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-10 (*S. aureus*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 72).



**Figura 72.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) sobre la bacteria CPB-10 (*Staphilococcus aureus*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-10(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. aureus*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.56 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Staphiloccoccus aureus* (CPB-10)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 35.38 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 73).



**Figura 73.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericum erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-10 de *Staphiloccoccus aureus* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.57 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Staphiloccoccus aureus* (CPB-10)

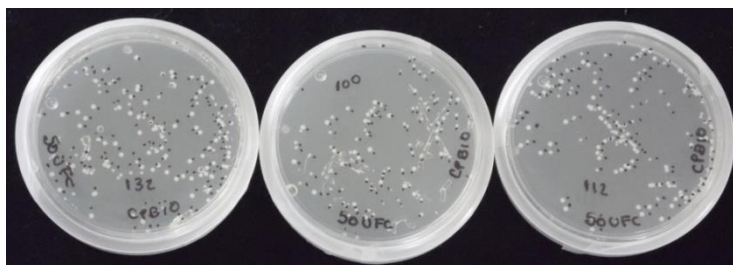
Se encontró que para el tratamiento con ASS (10 mM) no se encontró efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-10 (*S. aureus*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 74).



**Figura 74.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericum erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-10 (*Staphiloccoccus aureus*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-10(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *S. aureus*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.58 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Staphilococcus aureus* (CPB-10) en 50 $\mu$ L de inóculo

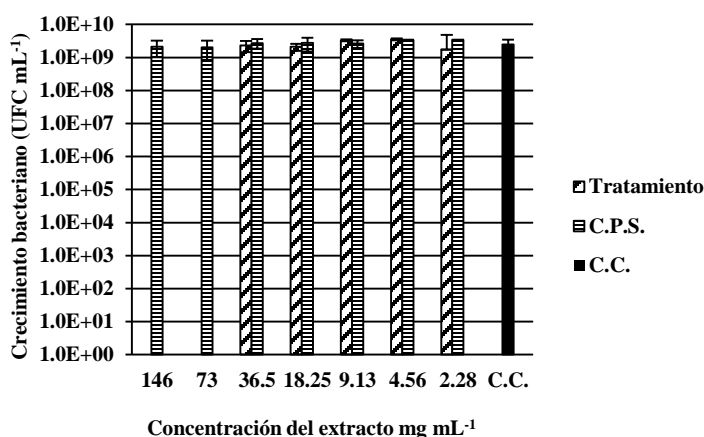
Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la bacteria *Staphilococcus aureus* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C (Figura 75).



**Figura 75.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-10 (*Staphilococcus aureus*).

### 9.59 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

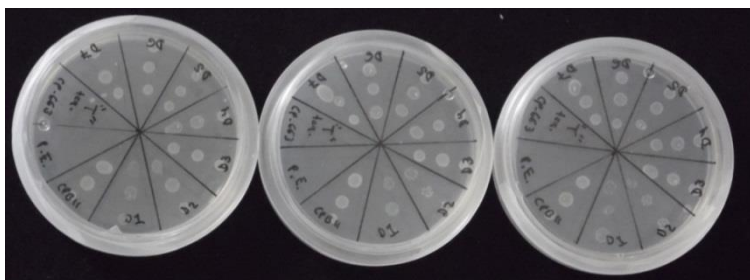
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la segunda dilución con un rendimiento de 73 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 76).



**Figura 76.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-11 de *Listeria monocytogenes* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.60 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

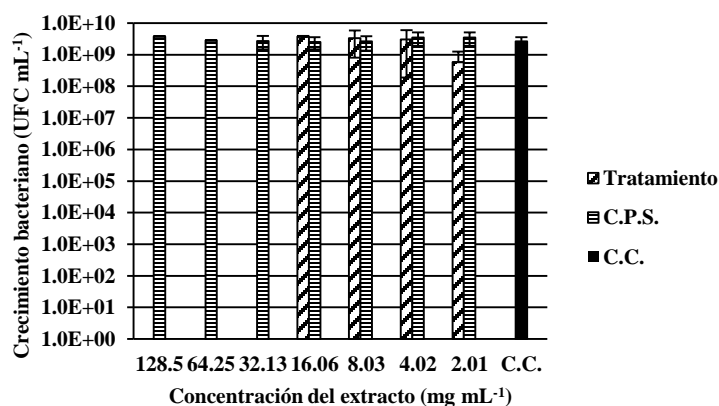
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) no hubo efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-11 (*L. monocytogenes*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 79).



**Figura 77.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-11 (*Listeria monocytogenes*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-11(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *L. monocytogenes*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.61 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 µM) vs *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

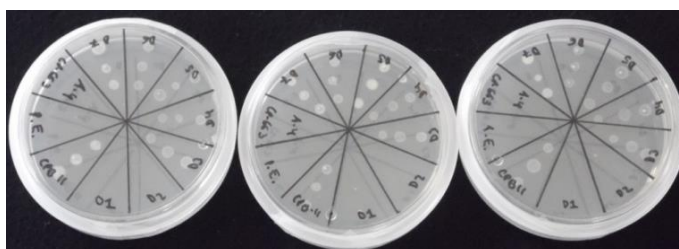
La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100 µM) fue de 257 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 16.06 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 78).



**Figura 78.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100 µM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-11 de *Listeria monocytogenes* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.62 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu$ M) vs *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

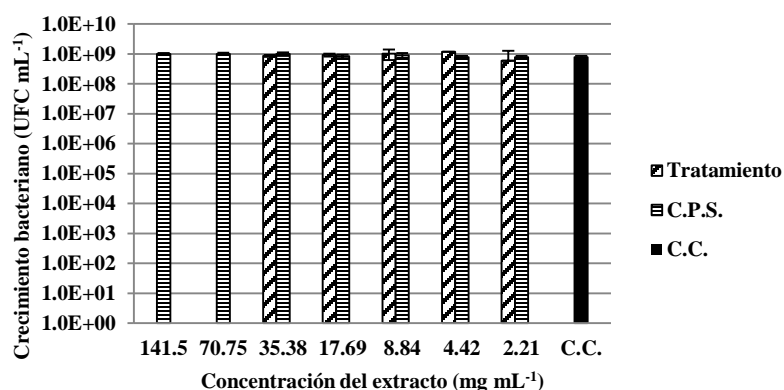
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100  $\mu$ M) se encontró efecto bactericida en la dilución dos al medir el efecto contra la CPB-11 (*L. monocytogenes*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 79).



**Figura 79.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100  $\mu$ M) sobre la bacteria CPB-11 (*Listeria monocytogenes*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-11(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *L. monocytogenes*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.63 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se tuvo un efecto bacteriostático en la segunda dilución con un rendimiento de 70.75 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 80).



**Figura 80.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-11 de *Listeria monocytogenes* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

#### 9.64 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

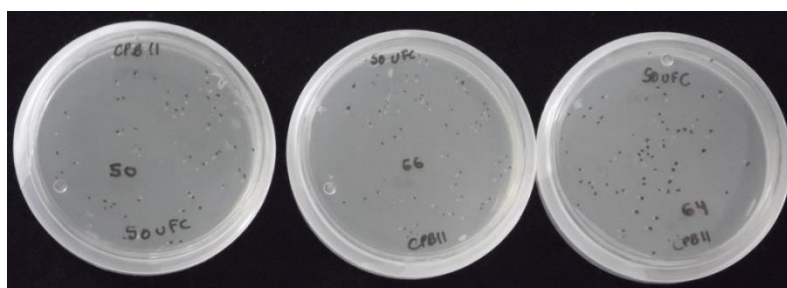
Se encontró que para el tratamiento con ASS (10 mM) no se encontró efecto al medir el efecto contra la CPB-11 (*L. monocytogenes*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 81).



**Figura 81.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-11 (*Listeria monocytogenes*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-11(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *L. monocytogenes*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

#### 9.65 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Listeria monocytogenes* (CPB-11) en 50 $\mu$ L de inóculo

Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la bacteria *L. monocytogenes* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28\pm 2$  °C (Figura 82).

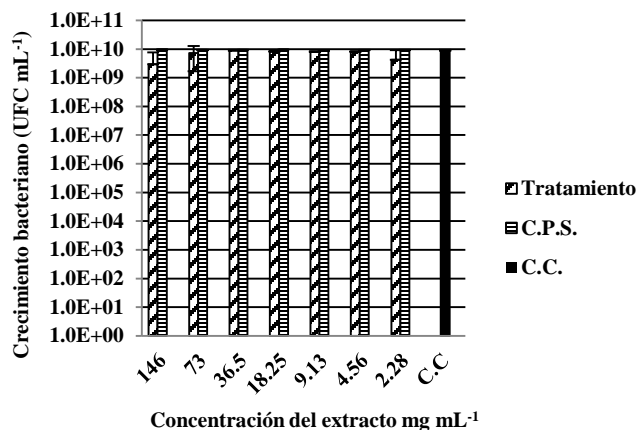


**Figura 82.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-11 (*Listeria monocytogenes*).



### 9.66 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados sin AAS (testigo) fue de 292 mg mL<sup>-1</sup>. Se encontró que no hubo efecto bacteriostático al evaluar el efecto de los extractos (Figura 83).



**Figura 83.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con agua (testigo) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-13 de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.67 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado sin AAS (testigo) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13)

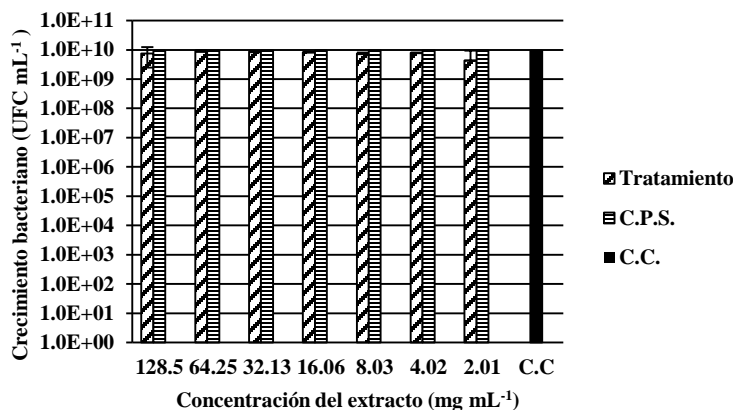
Se encontró que para el tratamiento sin AAS (testigo) no hubo efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-13 (*P. aeruginosa*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 84).



**Figura 84.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericiium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con agua (testigo) sobre la bacteria CPB-13 (*Pseudomonas aeruginosa*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-13(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa*. T (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.68 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu\text{M}$ ) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) fue de 257  $\text{mg mL}^{-1}$ . Se encontró que no hubo efecto bacteriostático (Figura 85).



**Figura 85.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-13 de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.69 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (100 $\mu\text{M}$ ) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13)

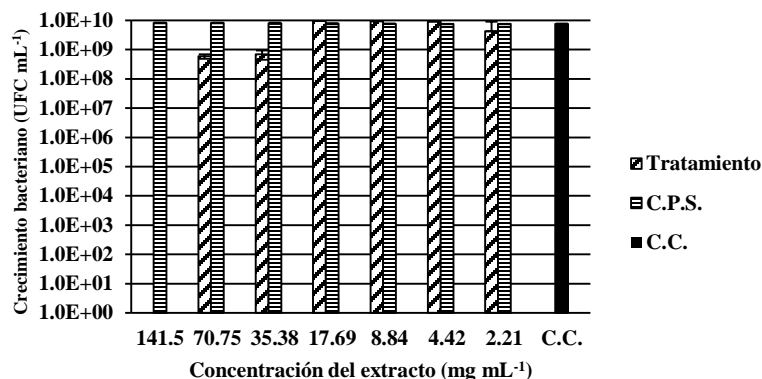
Se encontró que para el tratamiento con ASS (100  $\mu\text{M}$ ) no hubo efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-13 (*P. aeruginosa*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 86).



**Figura 86.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericium erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (100  $\mu\text{M}$ ) sobre la bacteria CPB-13 (*Pseudomonas aeruginosa*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-13(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa*. A-4 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

### 9.70 Efecto de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13)

La concentración inicial del extracto alcohólico de basidiocarpos cultivados con AAS (10 mM) fue de 283 mg mL<sup>-1</sup>. Se encontró que hubo un efecto bacteriostático en la dilución uno, con una concentración del extracto de 141.5 mg mL<sup>-1</sup> (Figura 87).



**Figura 87.** Efecto del extracto (tratamiento) de los basidiocarpos de *Hericum erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación COLPOS-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre el crecimiento bacteriano de la CPB-13 de *Pseudomonas aeruginosa* a las 24 horas de incubación. UFC= Unidades formadoras de colonias. C.P.S.= Control positivo del solvente. C.C.= Control de crecimiento de la bacteria.

### 9.71 Efecto bactericida de los extractos de la CP-663 cultivado con AAS (10 mM) vs *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13)

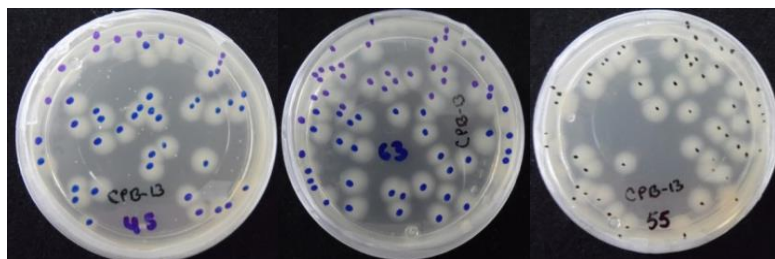
Se encontró que para el tratamiento ASS 10 mM no se encontró efecto bactericida al medir el efecto contra la CPB-13 (*P. aeruginosa*), de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel” (Figura 88).



**Figura 88.** Efecto bactericida del extracto (tratamiento) del hongo *Hericum erinaceus* (CP-663) cultivado en la formulación Colpos-17 hidratada con AAS (10 mM) sobre la bacteria CPB-13 (*Pseudomonas aeruginosa*) a las 24 horas de incubación. D1 a la D7= Microdiluciones del tratamiento. CPB-13(C.C)= Control de crecimiento de la bacteria *P. aeruginosa*. A-2 (B.P.T.)= Blanco positivo del tratamiento. P.E. (C.E.)= Control de esterilidad.

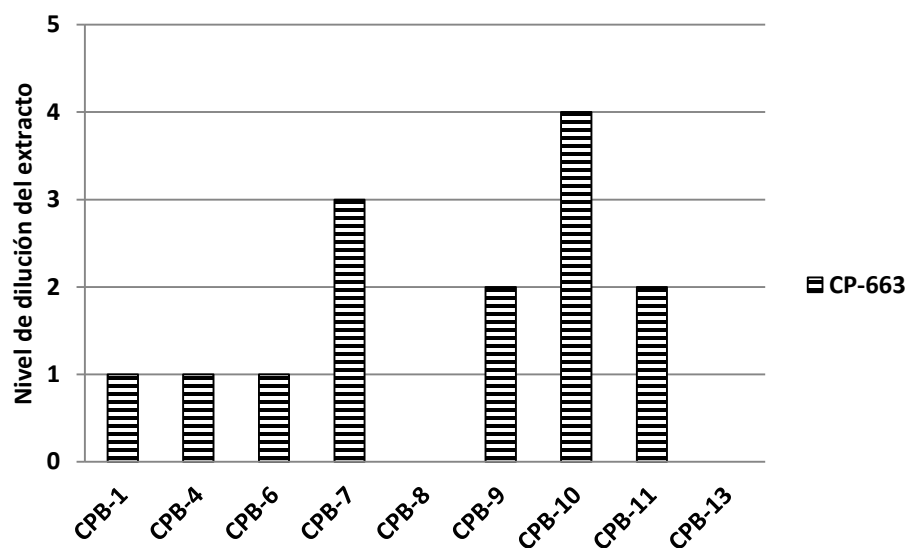
### 9.72 Unidades formadoras de colonias (UFC) de *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13) en 50 $\mu$ L de inóculo

Para determinar la concentración de bacterias del inóculo o semilla de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* se tomaron 50  $\mu$ L y se vertieron por triplicado en cajas Petri con agar Mueller Hinton, mismas que se incubaron por 24 horas a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C (Figura 89).

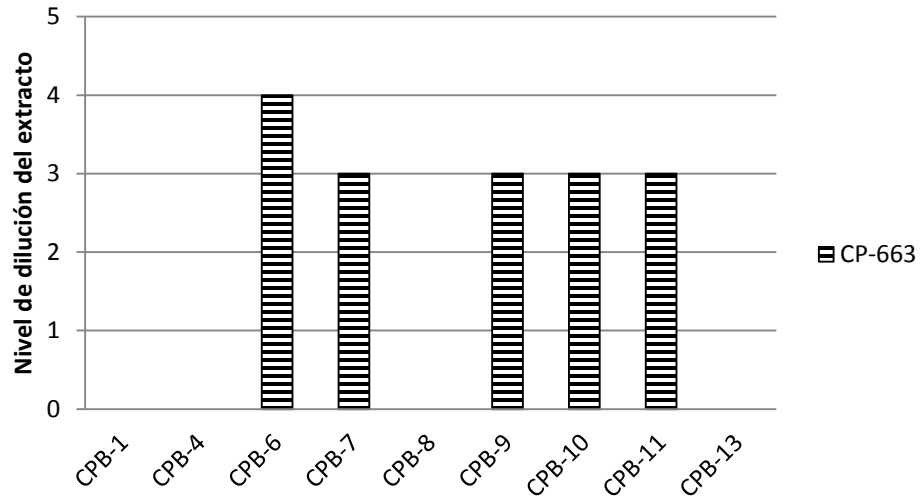


**Figura 89.** Concentración de bacterias en 50  $\mu$ L de inóculo de la CPB-13 (*Pseudomonas aeruginosa*).

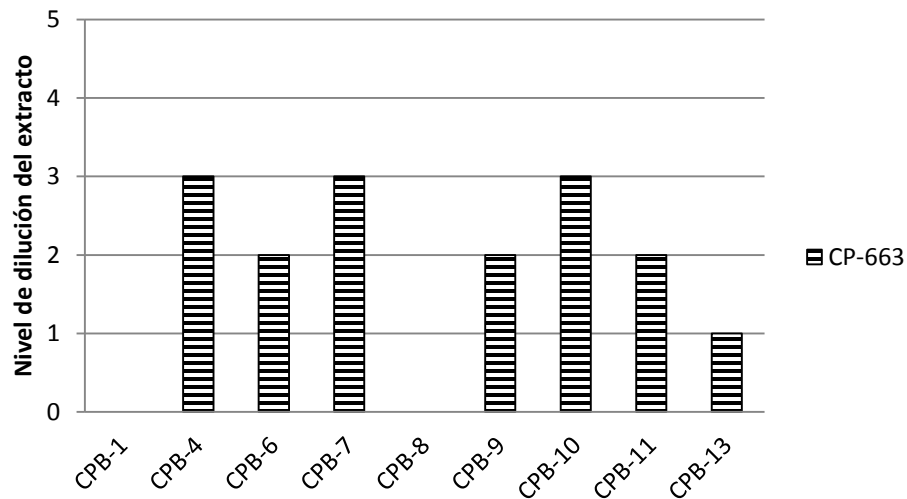
El efecto individual de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de la CP-663 de *H. erinaceus* por tratamiento se muestran en las figuras 90-95.



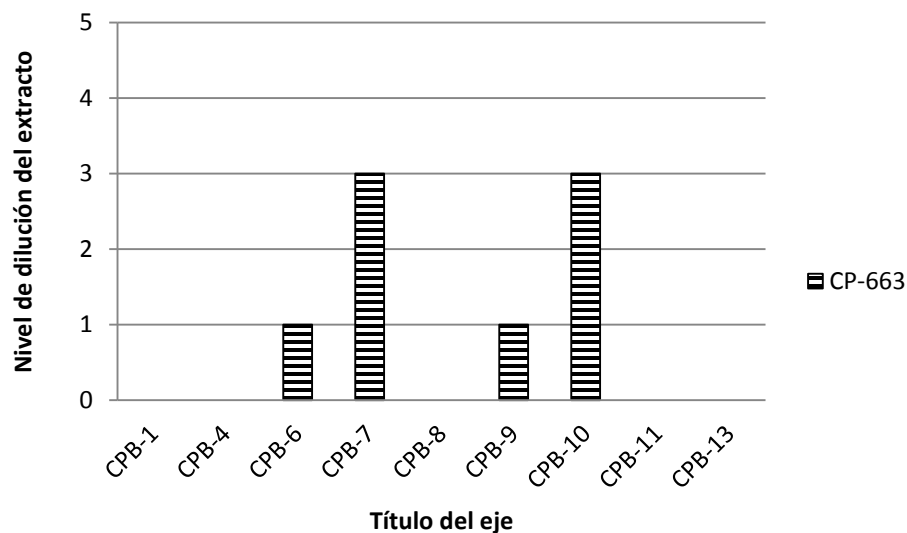
**Figura 90.** Representación del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 del tratamiento sin AAS (testigo) sobre las bacterias estudiadas.



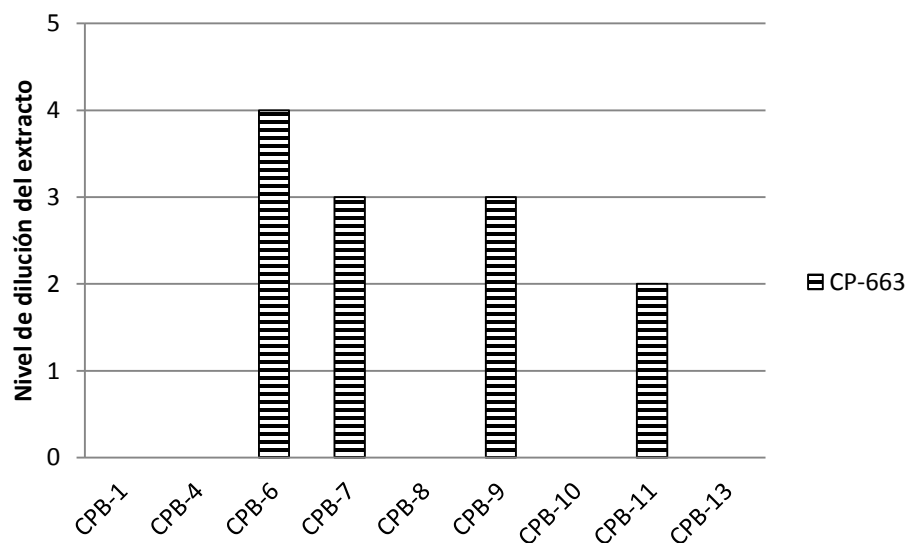
**Figura 91.** Representación del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 del tratamiento con AAS (100 µM) sobre las bacterias estudiadas.



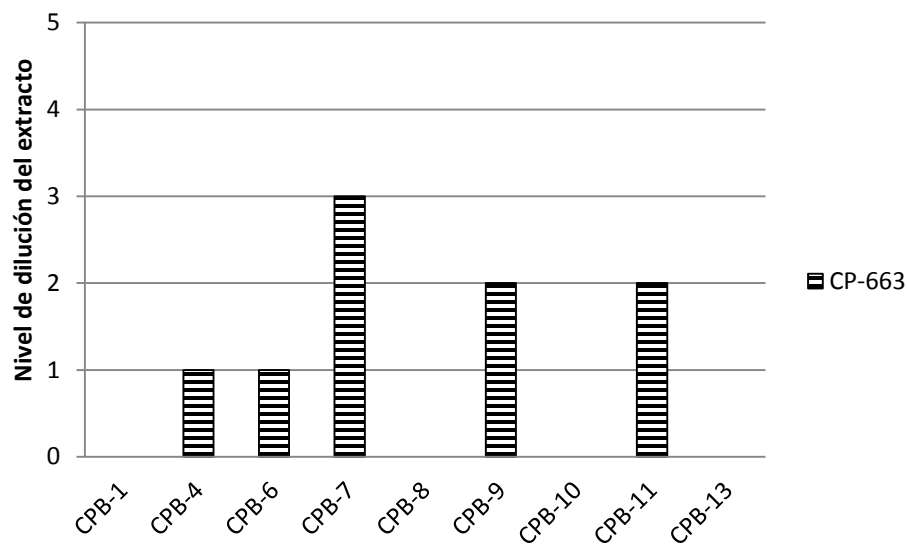
**Figura 92.** Representación del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 del tratamiento con AAS (10 mM) sobre las bacterias estudiadas.



**Figura 93.** Representación del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) del efecto de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17, hidratado sin AAS (testigo) sobre las bacterias estudiadas

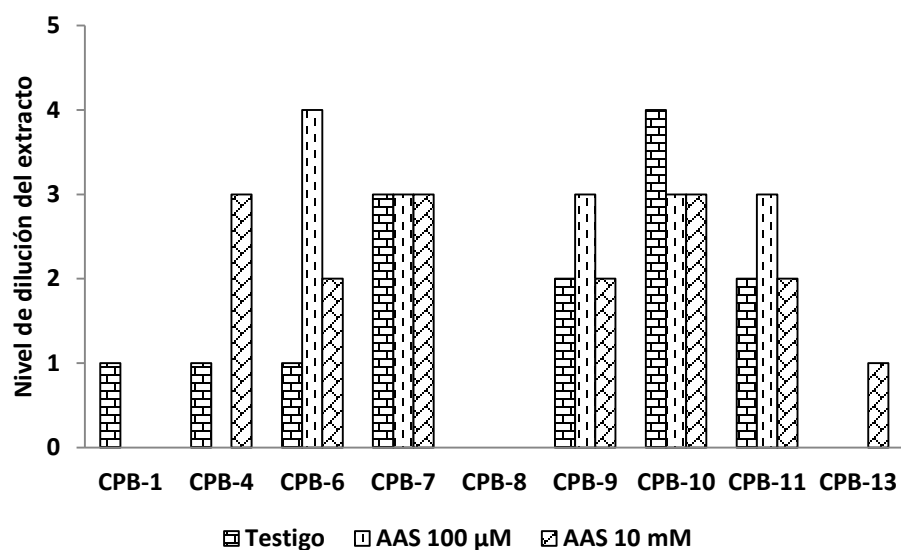


**Figura 94.** Representación del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 del tratamiento con AAS (100 µM) sobre las bacterias estudiadas.

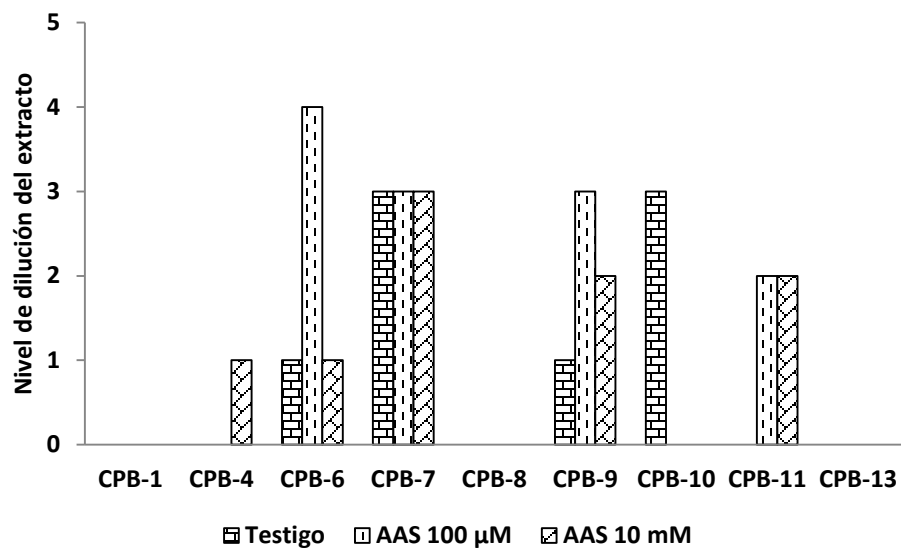


**Figura 95.** Representación del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 del tratamiento con AAS (10 mM) sobre las bacterias estudiadas.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de los tres tratamientos (testigo, AAS 100µM y 10 mM) de la CP- 663 de *H. erinaceus* se resumen en las figuras 96 y 97 y en la Cuadro 10 y 11.



**Figura 96.** Resumen del efecto bacteriostático (concentración mínima inhibitoria) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 en sus tres tratamientos: sin AAS (testigo), y con AAS (100 µM y 10 mM) sobre las bacterias estudiadas.



**Figura 97.** Resumen del efecto bactericida (concentración mínima bactericida) de los extractos de la CP-663 (*Hericium erinaceus*) cultivado en la formulación COLPOS-17 en sus tres tratamientos: sin AAS (testigo), y con AAS (100 µM y 10 mM) sobre las bacterias estudiadas.

**Cuadro 10.** Efecto bacteriostático de los extractos de *Hericium erinaceus* (CP-663) contra las nueve bacterias analizadas.

Registro	Especie	Promedio de UFC del inóculo	Tratamientos					
			Testigo		AAS 100 µM		AAS 10 mM	
			Nivel de dilución	CMI (mg mL <sup>-1</sup> )	Nivel de dilución	CMI (mg mL <sup>-1</sup> )	Nivel de dilución	CMI (mg mL <sup>-1</sup> )
CPB-1	<i>Salmonella typhi</i>	81 ± 21	D1	146	SE	128.5	SE	141.5
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	79 ± 11	D1	146	SE	128.5	D3	35.38
CPB-6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48 ± 5	D1	146	D4	16.06	D2	70.75
CPB-7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	112 ± 11	D3	36.5	D3	32.13	D3	35.38
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	193 ± 11	SE	146	SE	128.5	SE	141.5
CPB-9	<i>Bacillus subtilis</i>	82 ± 8	D2	73	D3	32.13	D2	70.75
CPB-10	<i>Staphylococcus aureus</i>	115 ± 16	D4	18.25	D3	32.13	D3	35.38
CPB-11	<i>Listeria monocytogenes</i>	57 ± 8	D2	73	D3	32.13	D2	70.75
CPB-13	<i>P. aeruginosa</i>	54 ± 9	SE	146	SE	128.5	D1	141.5

SE: Sin efecto. CMI: Concentración mínima inhibitoria. UFC= Unidades formadoras de colonias. D= dilución.



**Cuadro 11.** Efecto bactericida de los extractos de *Hericium erinaceus* (CP-663) contra las nueve bacterias analizadas.

Registro	Especie	Promedio de UFC del inóculo	Tratamientos					
			Testigo		AAS 100 $\mu$ M		AAS 10 mM	
			Nivel de dilución	CMB (mg mL <sup>-1</sup> )	Nivel de dilución	CMB (mg mL <sup>-1</sup> )	Nivel de dilución	CMB (mg mL <sup>-1</sup> )
CPB-1	<i>Salmonella typhi</i>	81 $\pm$ 21	SE	146	SE	128.5	SE	141.5
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	79 $\pm$ 11	SE	146	SE	128.5	D1	141.5
CPB-6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48 $\pm$ 5	D1	146	D4	16.06	D1	141.5
CPB-7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	112 $\pm$ 11	D3	36.5	D3	32.13	D3	35.38
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	193 $\pm$ 11	SE	146	SE	128.5	SE	141.5
CPB-9	<i>Bacillus subtilis</i>	82 $\pm$ 8	D1	146	D3	32.13	D2	70.75
CPB-10	<i>Staphylococcus aureus</i>	115 $\pm$ 16	D3	36.5	SE	128.5	SE	141.5
CPB-11	<i>Listeria monocytogenes</i>	57 $\pm$ 8	SE	146	D2	64.25	D2	141.5
CPB-13	<i>P. aeruginosa</i>	54 $\pm$ 9	SE	146	SE	128.5	SE	141.5

SE: Sin efecto. CMB: Concentración mínima bactericida. UFC= Unidades formadoras de colonias. D= dilución.

## **X. DISCUSIÓN**

En la presente investigación se estudió el cultivo de hongos comestibles de *Hericium erinacus*, *Volvariella bombycina* y *Fistulina guzmanii*, así como las propiedades antioxidantes y pruebas de sensibilidad antibacteriana de *H. erinaceus*. Las cepas estudiadas se cultivaron *in vitro*, así como en substrato sólido estéril a base de aserrín de encino, paja estéril y la formulación COLPOS-17 e hidratada con soluciones de AAS (10 mM y 100  $\mu$ M) y su respectivo testigo sin AAS, hasta la obtención de basidiocarpos en condiciones de módulo experimental. Por razones de mayores ciclos de cultivo, mayor biomasa deshidratada obtenida y por motivos de tiempo para la realización del presente trabajo, se eligió a *H. erinaceus* para análisis de funcionalidad realizándole extractos alcohólicos (tequila blanco), empleando en cada caso 50 g de basidiocarpos secos y molidos. En las tres condiciones de cultivo, no hubo influencia del AAS en la morfología ni en el color de los basidiocarpos de las cepas estudiadas.

### ***Fistulina guzmanii***

Los antecedentes de este hongo solo se remontan a estudios taxonómicos y ecológicos (Brusis, 1972), a nivel de género se registran estudios de cultivo (Hattori, 1997) y funcionales (Ribeiro *et al.*, 2007) para el caso de *Fistulina hepatica*. En el presente estudio se logró la fructificación por primera vez de este recurso genético nativo cultivado en aserrín de encino suplementado con ácido acetyl salicílico (AAS) a dos concentraciones (10 mM y 100  $\mu$ M) y su testigo. Este hongo nativo de México requirió de una humedad del 85 al 90%, por lo que se puede suponer que el cultivarlo en temporada de lluvias, ayudó en gran parte a la fructificación de este hongo. El color de los basidiocarpos no varió en ninguno de los tratamientos el cual fue rosa mexicano, igual al de su crecimiento en forma silvestre. La concentración 10 mM ayudó a generar fructificaciones más grandes y por lo tanto una mayor obtención de biomasa tanto fresca como deshidratada, pero con un tiempo de colonización de las bolsas más lento que el de los otros dos tratamientos (testigo y 100  $\mu$ M), en base a lo anterior se puede suponer que la adición de AAS en substratos suplementados para su cultivo, podría producir basidiocarpos más grandes que los obtenidos en el presente estudio, y así poder caracterizarlo a nivel funcional.

Este recurso genético nativo es poco conocido en mercados regionales de la zona centro de México, es por eso que mediante trabajos como el realizado se pretende comenzar a difundir,

proponer y generar estrategias sociales y ambientales para promoverlo como un recurso fúngico nativo con aspiraciones futuras de comercialización.

### ***Volvariella bombycina***

El cultivo de este recurso genético fúngico podría tener un alto impacto en cuanto a la aceptación social para su consumo y cultivo en la región central de México, debido a que en esta región, la mayoría de las personas tienen conocimiento respecto al consumo de hongos comestibles de temporada, que obtienen en mercados regionales (tianguis, mercados locales) por recolectores silvestres. Además de que el sustrato en el que fue cultivado (paja de trigo), es accesible y no es caro, su velocidad de desarrollo y, teniendo en cuenta que puede fructificar en climas tropicales, semicálidos y templados así como el conocimiento tradicional de su uso como alimento en algunos estados (Morelos y Puebla) de la zona centro lo hace considerarlo como recurso con un gran potencial de cultivo y de comercialización. La humedad requerida para este cultivo fue del 85% con temperaturas que fueron de 27° C a 14° C. El color de los basidiocarpos obtenidos fue amarillo intenso en todos los tratamientos tornándose rojo cobrizo al paso del tiempo, además de que en cuanto al tamaño de los mismos, los del tratamiento testigo fueron ligeramente más grandes que los de los otros tratamientos cultivados con AAS 10 mM y 100 µM.

De acuerdo a lo analizado en este trabajo no se recomienda la hidratación del sustrato (paja de trigo) con ácido acetil salicílico (AAS) ya que disminuye gradualmente la eficiencia biológica (EB) al hidratar el sustrato con una mayor concentración de este (10 mM), el tratamiento que más degradó el sustrato fue el del tratamiento testigo, siendo el de mayor eficiencia biológica, mientras que el tratamiento que menos degradó sustrato y que tuvo la menor eficiencia biológica fue el AAS 10 mM. Sin embargo aún no se sabe si el AAS pueda incrementar la cantidad de antioxidantes y proteínas así como su actividad antibacteriana de este hongo, ya que por falta de tiempo no se pudieron llevar a cabo estos análisis. Según Kim y Ho (2009) al cultivar *V. bombycina* en aserrines previamente degradados por los hongos *Pleurotus* o *Auricularia*, 2% de salvado de arroz y 2% de urea, les dio como resultado una eficiencia biológica del 33% en promedio, esta eficiencia es igual a la obtenida en este trabajo en los tratamientos testigo y AAS 100 µM con 33.5% y 32.5% cultivado en paja de trigo.

Comparando lo obtenido por Smith *et al.*, (1988) que reportaron una EB del 6 al 10% en paja y del 30-45% en residuos de algodón compostado para *Volvariella volvacea* podría decirse que las eficiencias obtenidas en este trabajo fueron mucho mejores al utilizar la paja. En cuanto al rendimiento en peso fresco (biomasa fresca) promedio obtenido por estos autores es de 132 gramos de basidiocarpo fresco por cada 400 gramos de substrato seco, mientras que en este trabajo el rendimiento en peso fresco promedio fue de 91 g por cada 282 gramos de substrato seco, podría decirse que lo obtenido en este trabajo fue mayor a lo reportado en la literatura.

### ***Hericiium erinaceus***

La cepa utilizada respecto a este hongo (CP-663) es una cepa comercial, sin embargo este hongo suele aparecer en los meses de agosto y septiembre y es poco conocido en nuestro país, se han encontrado su uso como alimento solo en algunas regiones como Morelia Michoacán, donde es conocido como el hongo sopa. Debido a la versatilidad de este hongo se puede decir que es ampliamente recomendable su cultivo en México ya que se cuenta con una amplia variedad de climas en los que puede ser cultivado, utilizando diversos substratos suplementados, es rico en antioxidantes y proteína, se le han encontrado propiedades anticancerígenas y otras funcionales, además de que la biomasa fresca obtenida y deshidratada es alta, su fácil y rápida propagación en el substrato presentó pocas contaminaciones durante las primeras cosechas, incluyendo que la humedad necesaria para su cultivo fue del 80% con temperaturas máximas de 27 °C y de 14° C por lo que es un recurso genético fúngico adecuado a las condiciones ambientales de nuestro país. Este hongo se cultivó en dos concentraciones de ácido acetil salicílico (10 mM y 100 µM) y su testigo. La producción de basidiocarpos tuvo diferencias significativas entre los tres tratamientos, haciendo énfasis en el tratamiento 10 mM que tuvo un incremento considerable en la producción de basidiocarpos en relación al testigo y al AAS 100 µM con una media de 382.5 g. El color de los basidiocarpos en todos los tratamientos fue blanco intenso a marrón pasado el tiempo. La hidratación del substrato con AAS 10 mM es recomendable si lo que se busca es una mayor eficiencia biológica y una mayor concentración de proteína ya que incremento gradualmente la eficiencia biológica (42.36%) y la cantidad de proteína (860.49 µg mL<sup>-1</sup>) y por el contrario la hidratación del substrato con AAS 10 mM no es recomendable si lo que se busca es un mayor rendimiento de los extractos o una mayor cantidad de polifenoles totales (antioxidantes) ya que disminuyó

la concentración de antioxidantes (2.271mg EAG/ g hs) así como su rendimiento (283.3 g mL<sup>-1</sup>) de los extractos (tratamientos) analizados cuando se hidrato con esta concentración.

Los resultados referentes a la eficiencia biológica (EB) son análogos a los obtenidos por Siwulski (2009), Hassan (2007) y, Kirchhof (1996) que obtuvieron una EB que iba de 35 a 54%, menores a las reportadas por Ko *et al.*, (2005) que obtuvieron una EB del 70% y mayores a las reportadas por Chang y Roh (1999) que obtuvieron una EB del 17%. La mayor cantidad de biomasa fresca obtenida durante el ciclo de cultivo de *H. erinaceus* fue de 382.33 ± 3.48 perteneciente al tratamiento 10 mM, la que le siguió fue de 36.62 ± 0.15 y la más baja de 273.33 ± 0.33 en el tratamiento testigo. El pH fue incrementándose gradualmente en los tratamientos con AAS.

En cuanto a la biomasa fresca obtenida en promedio en los tres tratamientos se tuvo que por cada 850 gr de peso seco de substrato se obtuvieron 331 g de hongo fresco, esto es similar a la biomasa fresca obtenida por Wong *et al.*, (2009) la cual fue de 300 g por cada 800 g de substrato en peso seco, los resultados en esta investigación son mayores a los reportados por Stamets (2000) quien reporta que por cada 2.26 kg de peso seco se obtiene 550 g de hongo fresco.

### **Fenoles totales**

Respecto al contenido de fenoles totales mediante el ensayo de Folin Ciocalteu se pudo observar que la cantidad obtenida de fenoles totales en los tratamientos de *H. erinaceus* fue mayor el tratamiento testigo con 2.319 ± 0.006 mg EAG/ g hs (hongo seco) siguiendole el AAS 10 mM con 2.271 ± 0.007 mg EAG/ g hs y en menor cantidad el AAS 100 µM con 1.892 ± 0.030, usando como solvente tequila blanco (hidroalcohólico al ) estos resultados son similares a los obtenidos por Mau *et al.*(2002) con 2.37 ± 0.24 mg EAG/ g hs usando como solvente metanol, mayores a los obtenidos por Fu y Shieh (2002) quienes ontuvieron solo 0.46 ± 0.11 mg EAG/ g usando como solvente al etanol y menores a los fenoles totales reportados por Wong *et al.*(2009) quienes obtuvieron a partir del micelio de *H. erinaceus* 31.20 ± 2.66 mg EAG/ g usando metanol como solvente de extracción.

En la determinación de las propiedades antibacterianas de los extractos de *H. erinaceus*, se desarrolló un modelo poblacional empleando el programa Excel con macros. Este programa permitió ajustar eficientemente las diluciones bacterianas a la concentración de 1 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (la concentración puede ser ajustable por el operador) con un +/- 10% de error, en un

paso directo de dilución. También incluyó el cálculo para una segunda dilución que al inocular un volumen específico en una caja de Petri, creció un número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) que permitió comprobar la concentración y viabilidad bacteriana. Esto a su vez, permitió confirmar la ausencia de contaminación en la muestra. El método señalado en la presente investigación para la determinación de la concentración de las bacterias, resultó ser más eficaz cuantitativamente y en menor tiempo de ajuste de la concentración de bacterias que el método tradicionalmente usado para la estimación bacteriana establecido por MacFarland en el cual para hacer el ajuste de las bacterias a la concentración establecida se requerían de muchos experimentos y lecturas en la densidad óptica de la muestra por ser un método estimativo y de rebasar la concentración deseada hay que volver a iniciar el proceso de ajuste con el uso quizá no previsto de nuevo medio de cultivo (Escudero, 2014). La concentración deseada de bacterias se ajustó en un tiempo menor de 5 min, en una única dilución y en forma directa.

Este recurso genético fúngico no presentó una actividad bactericida y bacteriostática alta, sin embargo se definió la concentración a la cual el extracto inhibió o no inhibió las bacterias en estudio. Con los extractos de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* se realizaron pruebas de sensibilidad antibacteriana por medio del método de microdilución contra nueve bacterias de interés clínico, cuatro Gram-positivas y cinco Gram-negativas, (*Salmonella typhi* CPB-1, *Streptococcus agalactiae* CPB-4, *Pseudomonas aeruginosa* CPB-6 y CPB-13, *Stenotrophomona maltophilia* CPB-7, *Escherichia coli* CPB-8, *Bacillus subtilis* CPB-9, *Staphylococcus aureus* CPB-10 y *Listeria monocytogenes* CPB-11). Los extractos de los basidiocarpos cultivados en el testigo y en las dos concentraciones de AAS tuvieron un efecto bactericida en todas las bacterias, excepto en la CPB-8 de *E. coli*, la cual creció en todos los tratamientos. Se ha observado que las bacterias Gram-negativas tienen resistencia más alta hacia los agentes antimicrobianos. Esto es debido a que poseen una estructura diferente en su pared celular (Cox y Wright, 2013).

## **Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos de *H. erinaceus* sobre las bacterias estudiadas**

### **Testigo**

Se encontró que no hubo ningún efecto en las bacterias: *E. coli*, y *P. aeruginosa* (CPB-13), un efecto débil en *S. typhi*, *S. agalactiae*, *P. aeruginosa* (CPB-6), *B. subtilis*, *L. monocytogenes* con concentraciones mínimas de 146 y 73 mg mL<sup>-1</sup> y un efecto regular en: *S. maltophilia* y *S. aureus* con concentraciones mínimas del extracto de 36.5 y 18.5 mg mL<sup>-1</sup>.

### **AAS 100 µM**

Se encontró que no hubo ningún efecto en las bacterias: *S. typhi*, *E. coli*, y *P. aeruginosa* (CPB-13), un efecto regular en: *P. aeruginosa* (CPB-6), *S. agalactiae*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *S. maltophilia* y *S. aureus* con concentraciones mínimas de 32.13 y 16.06 mg mL<sup>-1</sup>.

### **AAS 10 mM**

Se encontró que no hubo ningún efecto en las bacterias: *E. coli* y *S. typhi*, un efecto débil en: *P. aeruginosa* (CPB-6), *P. aeruginosa* (CPB-13), *L. monocytogenes* y *B. subtilis* con concentraciones mínimas de 141.5 y 70.75 mg mL<sup>-1</sup> y un efecto regular en: *S. agalactiae*, *S. maltophilia* y *S. aureus* con una concentraciones mínimas de 35.38 mg mL<sup>-1</sup>.

## **Concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de *H. erinaceus* sobre las bacterias estudiadas**

### **Testigo**

Se encontró que no hubo ningún efecto en las bacterias: *E. coli*, *S. agalactiae*, *S. typhi*, *L. monocytogenes* y *P. aeruginosa* (CPB-13), un efecto débil en: *P. aeruginosa* (CPB-6) y *B. subtilis*, con una concentraciones mínimas de 146 mg mL<sup>-1</sup> y un efecto regular en: *S. maltophilia* y *S. aureus* con una concentraciones mínimas del extracto de 36.5 mg mL<sup>-1</sup>.

### **AAS 100 µM**

Se encontró que no hubo ningún efecto en las bacterias: *S. typhi*, *E. coli*, *S. agalactiae*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* (CPB-13), un efecto débil en: *L. monocytogenes* con una concentración de 64.25 mg mL<sup>-1</sup>, un efecto regular en: *P. aeruginosa* (CPB-6), *B. subtilis* y *S. maltophilia* con concentraciones mínimas de 32.13 y 16.06 mg mL<sup>-1</sup>.

### **AAS 10 mM**

Se encontró que no hubo ningún efecto en las bacterias: *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi* y *P. aeruginosa* (CPB-13), un efecto débil en: *P. aeruginosa* (CPB-6), *S. agalactiae*, *B. subtilis* y *L. monocytogenes* y con concentraciones mínimas de 141.5 y 70.75 mg mL<sup>-1</sup> y un efecto regular en: *S. maltophilia* y con una concentraciones mínimas de 35.38 mg mL<sup>-1</sup>.

Este recurso genético fúngico no presento una actividad bactericida y bacteriostática alta, sin embargo se definió la concentración a la cual el extracto inhibió o no inhibió las bacterias en estudio. La mejor actividad bactericida y bacteriostática de los extractos de *H. erinaceus* se presentó contra la cepa bacteriana CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* con una concentración del extracto de 16.06 mg mL<sup>-1</sup>.



## **XI. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS**

- 1) Se seleccionaron y cultivaron tres especies de recursos genéticos de hongos comestibles.
- 2) Se encontró un efecto diferenciado del ácido acetil salicílico (AAS) sobre la eficiencia biológica y las propiedades funcionales en los extractos hidroalcohólicos.

## **XII. CONCLUSIONES**

- 1) Se seleccionaron y cultivaron los tres hongos comestibles: *Fistulina guzmanii*, *Volvariella bombycina* y *Hericiium erinaceus*.
- 2) Se cultivó por primera vez en México el hongo nativo comestible *Fistulina guzmanii*.
- 3) El AAS no incremento la eficiencia biológica de *Volvariella bombycina*.
- 4) En el caso de *Hericiium erinaceus* hubo un efecto significativo del AAS sobre la eficiencia biológica (42.36 %) y la cantidad de proteína (860.49  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) en la concentración de AAS 10 mM.
- 5) La mejor actividad antibacteriana se observó en la dilución 4 (16.06 mg  $\text{mL}^{-1}$  de extracto hidroalcohólico de *H. erinaceus*) de la microplaca contra la CPB-6 (*Pseudomona aeruginosa*) en el tratamiento de AAS 100  $\mu\text{M}$ .
- 6) La bacteria *Escherichia coli* (CPB-8) fue la más resistente a los extractos hidroalcohólicos de *H. erinaceus*, ya que creció en todas las concentraciones de los extractos de los tres tratamientos (146, 129.5 y 141.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

### **XIII. PERSPECTIVAS**

- Recolectar recursos genéticos nativos de *Hericiium erinaceus*, aislarlo, cultivarlo, caracterizarlo y, hacer los subsecuentes análisis de proteína, antioxidantes y antibacterianos y compararlos con los resultados obtenidos del presente trabajo, ya que en esta investigación se trabajó con una cepa comercial de *H. erinaceus*.
- Buscar sustratos alternativos o formulaciones mediante las cuales se pudiera llevar a cabo un crecimiento mayor de los basidiocarpos de *Fistulina guzmanii*, para tener una mejor caracterización del mismo y obtener mayor biomasa deshidratada para análisis antibacterianos, antioxidantes y de proteína.
- Implementar un paquete tecnológico de cultivo de *Hericiium erinaceus* y *Volvariella bombycina* a pequeños, medianos y grandes productores de hongos, en zonas rurales y al público en general.

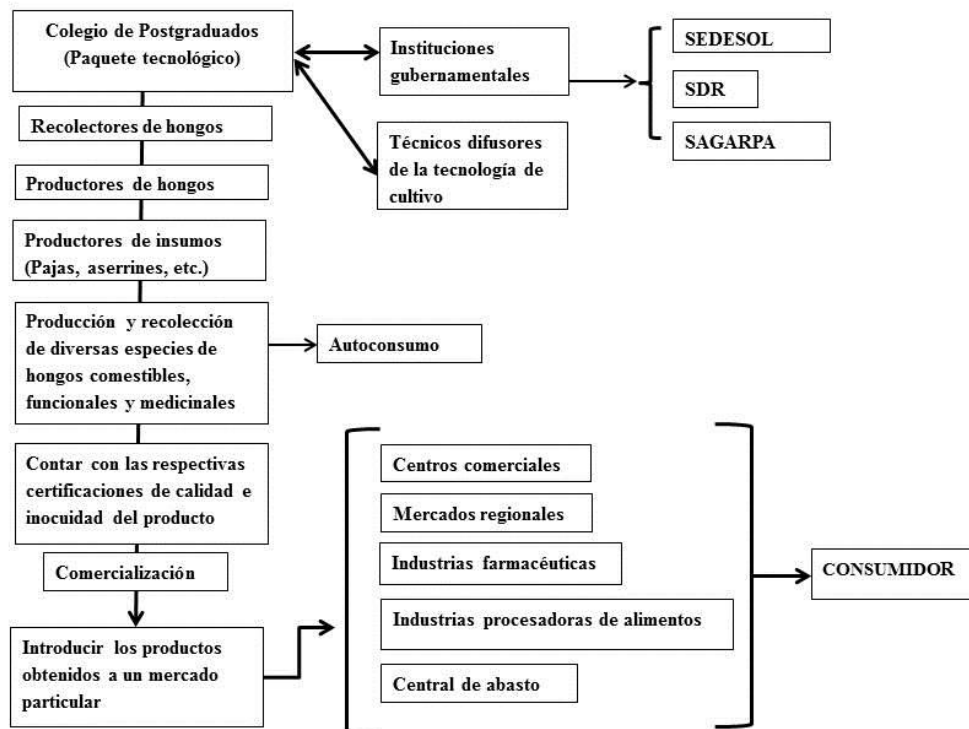
#### **XIV. ESTRATEGIA PROPUESTA PARA EL APROVECHAMIENTO Y CULTIVO DE LOS RECURSOS GENÉTICOS FÚNGICOS, COMESTIBLES, MEDICINALES Y FUNCIONALES: *Volvariella bombycina*, *Hericiium erinaceus* y *Fistulina guzmanii***

En el entendido de que nuestro país se encuentra en una crisis, opacada por el modelo neoliberalista en el cual se privilegia la privatización y la desregularización, se tiene que optar por estrategias y tecnologías que ayuden y promuevan la autosuficiencia alimentaria y la tan anhelada seguridad alimentaria. Haciendo énfasis en el concepto de estrategia se puede decir que una estrategia se refiere a una manera de cómo se resolverían los problemas o se alcanzaría un objetivo (Mintzberg, 1988). Las estrategias se diseñan para el futuro, tienen un profundo sentido metodológico y aplicado, están respaldadas por una filosofía y contienen un sentido político. En el terreno de las ciencias agrícolas, el concepto es utilizado como guía de acciones y decisiones (García-Herrera *et al.*, 2004): así mismo el propósito de la estrategia es proveer un mapa de la realidad, lo suficientemente preciso a fin de que quien la instrumente pueda efectuar cambios en el sistema (Felstehausen, 1992). En base a lo anterior, se propone un paquete tecnológico como estrategia utilizando el recurso genético nativo como materia primordial, la utilización de subproductos agrícolas, agroforestales y agroindustriales para fortalecer el proceso de desarrollo social, político y económico principalmente en el sector rural. La propuesta de estrategia en este trabajo de investigación está representada como un gran potencial con el cultivo de hongos comestibles funcionales buscando como objetivos principales: (1) generar incrementos en el aporte económico para las familias de escasos recursos, así como para pequeños y medianos productores agrícolas (2) comercio de productos novedosos con propiedades benéficas para la salud (3) degradación de los materiales de origen agroindustrial, agrícola y agroforestal por acción de su utilización en el cultivo de hongos funcionales (*H. erinaceus*, *F. guzmanii* y *V. bombycina*), (4) contribuir al mejoramiento de la producción para el autoconsumo familiar y comercial a nivel regional de hongos comestibles funcionales y (5) difusión de una cultura de consumo de hongos funcionales comestibles, medicinales y funcionales.

## **12.1 Actores principales en la propuesta de estrategia**

Los principales actores (Figura 98) se citan a continuación:

- Los productores de Maíz, frutales, amaranto, trigo, nueces, pajas, entre otros, ya que los subproductos agrícolas, agroforestales y agroindustriales se les dará un valor agregado como sustrato para el cultivo de dichos hongos.
- Los recolectores de hongos que usan estos recursos genéticos para autoconsumo y venta de los mismos en mercados regionales.
- Los productores de hongos y personas interesadas en la explotación de dichos productos.
- Los técnicos expertos en el manejo de esta tecnología, ya que tendrán oportunidades de trabajo mediante la contratación de productores de hongos comestibles para su asesoramiento.
- Las instituciones de investigación y organizaciones encargadas de proporcionar alternativas en paquetes tecnológicos viables con visión de mejorar la calidad de vida en el entorno social, político, económico, cultural y ecológico. Como es el caso del Colegio de Postgraduados Campus Puebla con su programa de biotecnología en hongos comestibles, universidades, institutos, centros de investigación y escuelas.
- El sector gubernamental, a través de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), SEDESOL, SDR, entre otras y fundaciones de otros organismos que están en posibilidades de brindar apoyos técnicos, financieros y administrativos.
- Los consumidores que finalmente son los segundos beneficiados más importantes del producto generado a través del paquete tecnológico.
- Industrias farmacéuticas, procesadoras de alimentos, centros comerciales, centrales de abasto así como mercados regionales de diversas regiones del país.



**Figura 98.** Mapa conceptual de la aplicación del paquete tecnológico aunado a la estrategia propuesta, intervenciones y actores principales

## **XV. PAQUETE TECNOLÓGICO**

El cultivo de los hongos comestibles, funcionales y medicinales representa hoy en día una importante actividad que ha dejado no solo beneficios económicos, sino también beneficios a la salud y a la alimentación de los seres humanos. En nuestro país se tiene poco conocimiento respecto al uso y cultivo de estos recursos fúngicos y a los beneficios que con ellos conllevan, más sin embargo la demanda de estos a nivel mundial y nacional se ha venido incrementando en la última década, representando una alternativa económica importante e impulsando la generación de empleos. En el entendido de que existe la necesidad de crear innovación en el sector agrícola, el objetivo de la propuesta de este paquete tecnológico elaborado en el Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla tiene como finalidad poder realizar la transferencia tecnológica de la producción de la especie *Hericium erinaceus* (CP-663), *Volvariella bombycina* (CP-675) y *Fistulina guzmanii* (CP-378) con fines de explotación comercial. Cabe resaltar la importancia de usar formulas o sustratos a base de residuos agrícolas, forestales y agroindustriales ya que el reciclado de estos ayudan a reducir el detrimento del ambiente e inclusive los sustratos de la post-cosecha pueden ser utilizados como composta en suelos para cultivos para ayudar a restaurar micro y macro nutrientes que son absorbidos por cosechas excesivas y/o por problemas de cultivo. Entre otras aportaciones de estos organismos puede mencionarse la utilización de sus enzimas para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Hoy en día gracias a los conocimientos, experiencias adquiridas y a las tecnologías generadas respecto a los hongos, se pueden generar estrategias para solucionar problemas de carácter social, económico y ecológico. Para la realización del paquete tecnológico es necesaria la integración multidisciplinaria de conocimientos, saber las necesidades de los consumidores, tecnologías de equipo, proceso, operación y de producto, universidades, institutos, centros de investigación y desarrollo, colegios, empresas, organizaciones financieras e instancias gubernamentales. El centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) posee una amplia diversidad de recursos genéticos fúngicos nativos y comerciales recolectadas en distintos lugares y en distintas condiciones ambientales, así como otras que fueron donadas y depositadas en este banco genético, lo cual perfila a muchas de ellas a tener un gran potencial de explotación.

La obtención de semilla para la siembra de las especies propuestas se puede obtener en el Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla en el laboratorio de hongos comestibles medicinales y funcionales en presentaciones de 5 kg y 3kg, la sugerencia para el cultivo de estos hongos puede variar de acuerdo a la especie, sugiriendo la formulación COLPOS-17 constituida por 6.43 kg de aserrín de encino, 1.23 kg de aserrín de *Bursera*, 1.28 kg de bagazo de caña de azúcar, 2.72 kg de olote de maíz, 2.97 kg de salvado de trigo, 450 g de Cal[Ca (OH)<sub>2</sub>] y 1800 g de yeso (CaSO<sub>4</sub>) y 26 L de agua con un pH de 6.7 y una humedad de 61.6%. La recomendación de esta formulación es debido a que se han obtenido altos rendimientos en cuanto a los basidiocarpos obtenidos durante el cultivo de diversas cepas.

La infraestructura mínima necesaria para el crecimiento de los hongos propuestos se puede dividir en cinco áreas que se citan a continuación:

#### Área de almacenamiento de los substratos

Para esta área se recomienda que se tengan unas dimensiones de 3 m de ancho por 3 m de largo y la altura de 3 m, semi-cerrada y libre de humedades y contaminantes así como de roedores.

Material imprescindible:

- Tambos de plástico y/o costales para almacenar los diferentes componentes para elaborar los substratos.
- Báscula granataria con capacidad mínima de 1 g y máxima de 20 kg
- Tinajas de plástico con tapa con capacidad de 200 litros
- Pala de metal para mezclar los diversos ingredientes

#### Área de preparación del substrato

Las dimensiones pueden ser de 3-4 m de ancho por 4 m de largo con una altura de 3 m, el área debe ser cerrada y libre de contaminantes como polvo.

Material imprescindible:

- Un extractor de aire colocado en alguna esquina del área en la parte superior.
- Báscula granataria con capacidad mínima de 1 g y máxima de 10 kg.
- Pala de metal para combinar los componentes.
- Tina de plástico de 500 litros.
- Ollas de presión de 21 litros con manómetro (All american).

- Parrilla con quemadores.
- Bolsas de polipropileno con filtro de 13.5 x 80 cm con filtro (Unicorn Imp.E.U.A).
- Pinzas de presión metálicas.
- Vaso graduado de 1 litro.
- Vasija de plástico de aproximadamente 5 litros.

Para la elaboración del sustrato (las cantidades que se proporcionan de la fórmula COLPOS-17 proporcionan 12 unidades de producción con 2000 g de sustrato): Los componentes son mezclados primeramente con la pala metálica dentro de la tina de plástico hasta homogenizarlos, posterior a esto se pesan individualmente en la vasija 1 kg de sustrato en peso seco y posteriormente se hidrata con 1.3 litros de agua, esto se mezcla hasta homogenizar la humedad con los componentes de la formulación, posteriormente el sustrato preparado es depositado en bolsas de polipropileno con filtro de 13.5 x 80 cm con filtro (Unicorn Imp.E.U.A) cerrando ligeramente las bolsas con pinzas de presión metálicas, las bolsas con sustratos son esterilizadas mediante ollas de presión por hora y media a 121 °C. Una vez transcurrido el tiempo las bolsas con sustrato estéril son enfriadas a temperatura ambiente durante 24 horas antes de ser utilizadas. Para el caso del aserrín de encino que fue utilizado en esta investigación como sustrato de cultivo para *Fistulina guzmanii*, es el mismo procedimiento que se describe anteriormente para la formulación COLPOS-17. En el caso de *Volvariella bombycina* fue el mismo procedimiento anterior a diferencia de que la cantidad pesada de paja molida en la vasija de plástico en sustrato seco fue de 1 kg hidratándose con 2 litros de agua, además de que las bolsas de polipropileno con filtro de 13.5 x 80 cm con filtro (Unicorn Imp.E.U.A) fueron llenadas con 750 g de sustrato en peso húmedo.

#### Área de inoculación

Las dimensiones pueden ser de 3 m de ancho por 4 m de largo y la altura de 3 m, el área debe ser cerrada y libre de cualquier contaminante, corrientes de aire y tránsito de personas.

- Termosellador electrónico (Impulse sealer UL).
- Campana de flujo laminar con norma ISO 9002 (filtro tipo HEPA).
- Dosificador de alcohol etílico.
- Papel absorbente (servilletas).
- Semilla de hongo.



- Tijeras.
- Plumón.
- Libreta para registros.
- Masking tape.
- Báscula granataraia con capacidad mínima de 1 g y máxima de 10 kg.

Inoculación del substrato y formación de las unidades de producción: las manos, la parte superior de la bolsa y las tijeras deben estar desinfectadas con alcohol etílico antes de cualquier procedimiento. En una campana de flujo laminar las bolsas con substrato se abren totalmente retirando las pinzas de presión metálicas. Posteriormente, el substrato es inoculado con aproximadamente 250 gramos de “semilla” de *Hericium erinaceus*, *Volvariella bombycina* o *Fistulina guzmanii*, dispersando el inóculo por todo el substrato, una vez homogenizadas las bolsas (unidades de producción) son selladas mediante un termo-sellador eléctrico y rotuladas con el masking tape. Una vez realizado este paso las bolsas son pesadas y registradas en una libreta para tener un parámetro del peso inicial y final al termino del ciclo de cultivo.

#### Área de incubación

Las dimensiones pueden ser de 3 m de ancho por 4 m de largo y una altura de 3 m, el área debe estar cerrada y estar libre de humedad, corrientes de aire bruscas y polvo.

Material indispensable:

- Estantes metálicos o de plástico
- Termómetro

La incubación se debe realizar en un área ventilada hasta que el micelio cubra completamente al substrato y los primordios sean visibles. Las unidades de producción no debn tener contacto directo con el sol, la iluminación debe ser del 50 al 80%. El área debe permanecer limpia libre de polvo y humedad a temperatura ambiente de entre 15 a 26 °C.

#### Área de fructificación

Las dimensiones pueden ser de 4 m de ancho por 4 m de largo y la altura de 3 m, el área debe ser cerrada y contener estructuras de metal o estantes de plástico con diferentes niveles y soportes para colocar las unidades de producción. El área de fructificación debe estar limpia de lodo o polvo y de unidades de producción contaminadas, también se debe procurar la

aireación continua a través de extractores, además del 50% de iluminación con una humedad relativa de entre 75- 90%. La humedad puede conseguirse de manera manual rociando agua con un recipiente en las paredes del área de fructificación y/o con una mochila fumigadora o automática, mediante un sistema de nebulización y riego automatizado, el riego por estos métodos deben ser los necesarios siempre y cuando se mantenga la humedad. A las unidades de producción se les retirará la parte superior de la bolsa exponiendo un 10% del substrato (para el caso de *Volvariella bombycina*) y/o realizándoles pequeños cortes en los costados para ayudar al crecimiento de los primordios (para el caso de *Hericiium erinaceus* y *Fistulina guzmanii*) y colocándolos sobre los soportes en los diferentes niveles hasta que los cuerpos fructíferos alcancen el estadio adulto y puedan ser cosechados y procesados. Las características favorables para la producción de cuerpos fructíferos fueron de una temperatura mínima de 15 y una máxima de 28 °C y una humedad relativa que fue del 70 al 90 % para las tres especies analizadas.

## XVI. LITERATURA CITADA

- Alvarez-Parrilla, E., L.A. de la Rosa, N.R. Martínez y G.A. González-Aguilar. 2007. Total phenols and antioxidant activity of comercial and wild mushrooms from Chihuahua, México. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5(5): 329-334.
- Alves, A.M.C.R., Record, E., Lomascolo, A., Scholtmeijer, K., Asther, M., Wessels, J.G.H. y Wösten H.A.B. 2004. Highly efficient production of lacasse by the basidiomycete *Pycnoporus cinnabarinus*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 6379-6384.
- Anke, T., Kupka, J., Schramm, G., y Steglich W. 1980. Antibiotics from basidiomycetes X. Scorodonin, a new antibacterial and antifungal metabolite from *Marasmius scorodonius* (Fr.) Fr. *Journal of Antibiotics* 33: 463-467.
- Arai, S. 2002. Global view on functional foods: Asian perspectives. *British Journal of Nutrition* 88: 139-143.
- Arias, M. A. 2003. Desarrollo sustentable: una propuesta ante la desilusión del progreso. En: [www.ambiental.ws/anea](http://www.ambiental.ws/anea). México. Academia Nacional de Educación Ambiental.
- Atsumi, S., Umezawa, K., Inuma, H., Naganawua, H., Nakamura, H., Litaka, Y. y Takeuchi, T. 1990. Production, isolation and strcutre determination of a novel b-glucosidase inhibitor, cyclophellitol, from *Phellinus* sp. *Journal of Antibiotics* 43: 49-53.
- Austin, G.T. 1984. Shreve's Chemical Process Industries, quinta edición. McGRAW-HILL, NuevaYork.
- Badalyan, S. M., 2003. Edible and medicinal higher basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 5(2): 153-162.
- Bauer, V., Jordanoski, B., Stefov, V., Kulevanova, S. 2001. Investigation of dietary fibre in some edible mushrooms from Macedonia. *Nutrition & Food Science* 31(5): 242-246.
- Bennati, E., Ferlit, L., Motta, M., Magnolfi, S.U., Malentacchi, F., Malaguamera, M., Petruzzi, E., Petruzzi, I. y P. Pinzani. 2008. Cognitive and functional status in the extreme longevity. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 46: 245-252.
- Beristain, A.S., Sánchez, R.M.A., Ruiz, M. y Mendoza, V.M. 2003. ¿Cómo evaluar la eficiencia del sistema antioxidante en el estrés oxidativo? Propuesta de un constructo. *Archivo Geriátrico* 6: 100-104.
- Bernabé-González, T. y Cayetano-Catarino, M. 2010. Investigación y producción de hongos comestibles en Guerrero, México en: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Capítulo 10, pp. 141-150.
- Bhatnagar, D., Yu, J. y Ehrlich, K. C. 2002. Toxins of filamentous fungi. *Chemical Immunology* 81: 167-206.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

- Brady, S. F., Wagenaar, M. M., Sing, M. P., Janso, J. E. y Clardy, J. 2000. The cytosporones, new octaketide antibiotics isolated from an endophytic fungus. *Organic Letters* 2(25): 4043-4046.
- Brizuela, M.A., García-Pérez, L. y Mansur, M. 1998. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. *Revista Iberoamericana de Micología* 15: 69-74.
- Brusis, O. A. 1972. A new species of *Fistulina* from México. *Mycologia* 64: 1248-1252.
- Buchanan, M. S., Gill, M. y Yu, J. 1997. Pigments of fungi .43. Cardinalins-1-6, novel pyranonaphtho-quinones from the fungus *Dermocybe cardinalis* Horak. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions I*: 919-925.
- Castaño, D., Valencia, P., Murillo, E., Eras, J. y Méndez, J. 2007. Ácidos grasos sustituidos en especies vegetales tropicales y su relación con la actividad antioxidante. *Scientia et Técnica* 33: 343-344.
- Cervantes, E., García, R. y Salazar, P. M. 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio* 61(1): 28-40.
- Chang, H.Y. y M. G. Roh. 1999. Physiological characteristics of *Hericium erinaceus* in sawdust media. *Korean Journal of Mycology* 27: 252-255.
- Chang, S. T. 1999. World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. in China. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1: 291-300.
- Chang, S.T. y Miles, P.G. 1987. Historical record of the early cultivation of *Lentinus* in China. *Mushroom Journal for the Tropics* 7: 47-52.
- Chang, S.T. y Miles, P.G. 2004. *Mushrooms cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. 2a ed. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc.
- Cheung, P.C.K. (Ed.). 2008. *Mushrooms as Functional Foods*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 259 pp.
- Chiu, S.W. y Moore, D. 1989. Basidiome polymorphism in *Volvariella bombycina*. *Mycological Research* 92 (I): 69-77.
- Chung, P. 2005. Hongos micorrícicos comestibles. Opción productiva aplicada a las plantaciones forestales. Aspectos generales. INFOR, Sede Bío Bío, Chile. 55pp.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. CLSI document M100-S16CLSI, Wayne, PA.
- Cohen, R., Persky, L. y Hadar, 2002. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* (58):582–594.
- Cossart, P. y Toledo, A. 2008. *Listeria monocytogenes*, a unique model in infection biology: an overview. *Microbes and Infection* 10:1041-50.
- Cox, G. y Wright, G. D. 2013. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology* 303(6-7): 287-92.

- Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Berté, F. y Gazzani, G. 2000. *In vitro* antioxidant and *ex vivo* protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1449-1454.
- Delfín, A. y Durán, B. 2003. Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos por *Pleurotus*. *Revista Internacional de contaminación Ambiental* (19): 37-45.
- Delmas, J. 1978. *Tuber spp.*, in: *The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*, Chang, S.T. and Hayes, W.A., Eds., Academic Press, New York, 645-681.
- Dubois, A. (2002). Un concepto de desarrollo para el siglo XXI. *Revista Asuntos económicos y administrativos* Núm. 8. Disponible en línea: <http://www.umanizales.edu.co/publicaciones/campos/economicas/luminal/html/8/concopedesar.pdf>. Revisado el 2 de Febrero de 2015.
- Dubost, N. J., Ou, B. y Beelman, R. B. 2007. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chemistry* 105: 727-735.
- Ellis, W., Wylie, M. y Matis, J. 1988. Dietary-digestive interactions determining the feeding value of forages and roughages. *World Animal Science* (4):17-179.
- Escalante, R. I. 2006. Desarrollo rural, regional y medio ambiente. *Economía Unam* 3(8): 70-94.
- Escudero, H., 2014. *Obtención y caracterización de extractos de hongos comestibles con impacto potencial en la salud humana, y el desarrollo de estrategias para su implementación por parte de los productores de la región de Puebla, México*. Tesis Doctoral (en proceso). Colegio de Postgraduados, Campus Puebla.
- Espino, S. 2000. *Hongos en el tratamiento de desechos forestales para la obtención de biofertilizantes*. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Durango. 48 p.
- Felstehausen, H. 1992. Case methods for environmental and natural resources research. Working Draft. University of Wisconsin. Madison, Wis., U.S.A. p. 10.
- Figueroa, I.M. y Verdugo, A. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 47(1-2): 25-42.
- Florey, H.W., Chain, W. y Heatley, N.G. 1949. *Antibiotics*. London, Oxford University Press.
- Fogel, R. 1997. Hechos increíbles de los hongos: Qué es un hongo (en línea). Trad. por Anthony Santana. Michigan, US. Consultado 15 Mayo. 2012. Disponible en <http://www.herbarium.usu.edu/fungi/FunFacts/Spanish/kingfactSP.htm>
- Franzoni, F., Colognato, R., Galetta, F., Laurenza, I., Barsotti, M., Di Stefano, R., Bocchetti, R., Regoli, F., Carpi, A., Balbarini, A. Migliore, L. y Santoro, G. 2006. An *in vitro* study on the free radical scavenging capacity of ergothioneine: comparison with reduced glutathione, uric acid and trolox. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 60: 453-457.
- Fu, H.Y. y Shieh. 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipids* 9: 35-46.
- Gaitán-Hernández, R., Salmores, D., Pérez-Moreno, R. y Mata, G. 2004. *Manual práctico de cultivo de hongos (Aislamiento, siembra y producción)*. INECOL. Xalapa. 55 pp.

- Galván, E., Pérez-Ramírez, L. y Cifuentes, J. 1997. Los hongos macroscópicos en la medicina. En: Congreso Nacional de Micología (Memorias). IX Jornadas científicas. UNACH- Sociedad Mexicana de Micología Tapachula, Chiapas.
- García-Herrera, E.J., Peña-Olvera, B., Estrella-Chulim, N., Manzo-Ramos, F. y Delgado-Wise, R. 2004. Componentes de una estrategia para el desarrollo agrícola regional en Pinos, Zacatecas: El nopal tunero como elemento central. *Comunicaciones en Socioeconomía, Estadística e Informática* 8(1): 83-102.
- Gilbertson, R.L. y Ryvarden, L. 1986. North American polypores. *Journal of Basic Microbiology* 1: 282.
- Goodman, W. G. 1989. Chitin: A magic bullet. *The Food Insects Newsletter* 2:1, 6-7.
- Gremaud, G. y Tabacchi, R. 1996. Relationship between the fungus *Ceratocystis fimbriata coffea* and the canker disease of the coffee tree. *Phytochemistry* 42(6): 1547-1549.
- Gross, B. y Asther, M. 1989. Aromes de basidiomycetes: caractéristiques, analyses et productions. *Sciences des Aliments* 9: 427-454.
- Guillen-Navarro, K.G., Márquez-Rocha, F.J. y Sánchez Vázquez, J.E. 1998. Producción de biomasa y enzimas lignolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. *Revista Iberoamericana de Micología* 15: 302-306.
- Gutiérrez, C. A., Reyes, E. y Corona, F. 2007. *Stenotrophomona maltophilia*, una bacteria multirresistente. *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva* 21(2): 91-94.
- Gutiérrez-Cogco, L., Montiel-Vázquez, E., Aguilera-Pérez, P. y González-Andrade, M.C. 2000. Serotipos de Salmonella identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública de México* 42: 490-495.
- Guzmán, G. 1997. Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina. Instituto de Ecología y CONABIO, Xalapa.
- Guzmán-Dávalos, L. 1998. Los estudios sobre Agaricales en México. *Boletín del IBUG*. 6: 279-295.
- Hadar, Y., Kerem, Z., Gorodecki, B. y Ardon O. 1992. Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom, *Pleurotus*. *Biodegradation* (3): 189-205.
- Harborne, J. B. 1982. *Introduction to ecological biochemistry*. 2nd edition. Academic Press, London.
- Hassan, F. R. H. 2007. Cultivation of monkey head mushroom (*Hericium erinaceus*) in Eryp. *Journal of Applied Sciences Research* 3(10): 1229-1233.
- Hattori, R. y Tanaka, H. 1997. Method for growing fruit body of *Fistulina Hepática*. U.S., 5,590,489. (47/1.1), Jan. 7, 1997. Appl. 305,353, Sep. 13, 1994, 8 p.
- Hautzel, R. y Anke, H. 1990. Screening of basidiomycetes and ascomycetes for plant growth regulating substances. *Introduction of the gibberellic acid induced de-novo synthesis of hydrolytic enzymes in embryoless seeds of Triticum aestivum as test system*. *Z. Naturforsch* 45: 1093- 1098.

- Hedden, P., Phillips, A. L., Rojas, M. C., Carrera, E. y Tudzynski, B. 2001. Gibberellin biosynthesis in plants and fungi: A case of convergent evolution. *Journal of Plant Growth Regulation* 20(4): 319-331.
- Herrera, T. y Ulloa, M., 1990. Estado actual del conocimiento sobre la microbiología de las bebidas fermentadas indígenas de México. *Anales del IBUNAM. Serie botánica* 47(53): 145-163.
- Huang, N.L. 1997. *Cultivation of Eighteen Precious and Delicious Edible Mushrooms*. Chinese Agricultural Press. Beijing, China.
- Hyunjong, K. y Thatithatgoon, S. 2005. Cultivo de hongos en el Norte de Tailandia. Capítulo 2: Cultivo de hongos para la subsistencia en el mundo en: *Manual del cultivador de hongos*. pp 33-41.
- Ihde, D. C. y D. Armstrong. 1973. Clinical spectrum of infection due to *Bacillus* species. *American Journal of Medicine* 55: 839- 845.
- Ikekawa, T. 1995. Enokitake, *Flammulina velutipes*: Antitumor Activity of Extracts and Polysaccharides. *Food Reviews International* 1: 203-206.
- Ikekawa, T. Uehara, N., Maeda, Y. Nakanishi, M. y Fukuoka, F. 1969. Antitumor activity of aqueous extracts of edible mushrooms. *Cancer Research* 29:734–735.
- Jancey, M.K., Schuchat, A., Brown, L.K., Ventura, V.L. y Markenson, G.R. 1996. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. *Obstetrics and Gynecology* 88: 811-5.
- Jegadeesh, R, Raaman, N., Periyasamy, K., Hariprasath, Thangaraj, R., Srikumar, R. y Ayyappan, S.R. 2010. Proximate Analysis and Antibacterial Activity of an Edible Mushroom *Volvariella bombycina*. *Internacional Journal of Microbiological Research* 1 (3): 110-113.
- Kenneth, J. 1995. *Shiitake: The Healing Mushroom*. Healing Arts Press, Vermont.
- Kim, B.G., Magae, Y., Yoo, Y.B. y Kwon S.T. 1999. Isolation and transformation of uracil auxotrophs of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *FEMS Microbiology Letters* 181: 225-228.
- Kim, T. T. y Ho, P. T. (2009). Experimental cultivation of the silver-silk straw mushroom *Volvariella bombycina* (Per. Ex. Fr) Sing. Isolated in Vietnam. Department of Plant Biotechnology and Bioconversión, University of Sciences – Vietnam National University, Ho Chi Minh, 227 Nguyen Van Cu, Ho Chi Minh, Vietnam.
- Kirchhoff, B. 1996. Biotechnological investigations of *Hericium erinaceum* (Bull.: Fr.) Pers. Bag-log cultivation to increase yield. In: D.J. Royse (Ed.). *Mushroom biology and mushroom product*. Proceed. of the Second International Conf. of Mushroom Biology and Mushroom Products. Penn State University, PA. 401-406.
- Kirk, T.K. 1971. Effects of microorganisms on lignin. *Annual Review of Phytopathology* 9: 185-210.
- Ko, H.G., S.H. Park, S.H. Kim, H.G. Park y W. M. Park. 2005. Detection and recovery of hydrolytic enzymes from spent compost of four mushroom species. *Folia Microbiol. (Praha)* 50: 103–106.

- Kobold, M. 2000. *Setas de prados y bosques: Como identificarlas, respetarlas, recogerlas y cocinarlas*. Susaeta Ediciones, S.A. Madrid, España. 126 p.
- Kobori, M., Yoshida, M., Ohnishi-Kameyama, M. y H. Shinmoto. 2007. Ergosterol peroxide from an edible mushroom suppresses inflammatory responses in RAW264.7 macrophages and growth of HT29 colon adenocarcinoma cells. *British Journal of Pharmacology* 150: 209-219.
- Krohn, K., Bahramsari, R., Flörke, U., Ludewig, K., KlicheSpory, C., Michel, A., Aust, H. J., Draeger, S., Schulz, B. y Antus, S. 1997. Dihydroisocoumarins from fungi: Isolation, structure elucidation, circular dichroism and biological activity. *Phytochemistry* 45(2): 313-320.
- Kuo, C.Y. y Huang C.T. 2008. A reliable transformation method and heterologous expression of  $\beta$ -glucuronidase in *Lentinula edodes*. *Journal of Microbiological Methods* 72: 111-115.
- Kuskoski, M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. y Fett, R. 2005. Aplicación de distintos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpas de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 25(4): 726-732.
- La Guardia, M., Venturella, G. y Venturella, F. 2005. On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus* taxa growing on umbelliferous plants (Apiaceae). *Journal of Agriculture Food Chemistry* 53: 5997-6002.
- Leifa, F., Soccol, A. T., Pandey, A., Souza, L. y Soccol, C. R. 2006. Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of *Pleurotus* on coffee husks. *Brazilian Journal of Microbiology* 37 (4): 420-424.
- Liu, C.Y. 1981. Technique of cultivation of monkeyhead mushroom, *Edible Fungi* 4: 33-34.
- Liu, F., Ooi, V.E.C. y Chang, S.T. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sciences* 60(10): 763-771.
- Lowy, F.D. 2003. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Infections Diseases* 111: 1265-1273.
- Lucas, E.H., Byerrum, R.U., Clarke, D.A., Reilly, H.C., Stevens, J.A. y Stoc, C.C. 1958. Production of Oncostatic Principles in vivo and in vitro by Species of Genus *Calvatia*. *Antibiot. Annu.* 6: 493-6.
- Lucas, E.H., Lucas E.H., Ringler, R.L., Byerrum, R.U., Stevens, J.A., Clarke, D.A. y Stock, C.C. 1957. Tumor Inhibitors in *Boletus edulis* and Others Holobasidiomycetes. *Antibiot. Chemotherapy* 7: 1-4.
- Mallavadhani, U.V., Sudhakar, K.V.S., Satyanarayana, A., Mahapatra, W. y VanBreeman, R.B. 2006. Chemical and analytical screening of some edible mushrooms. *Food Chemistry* 95: 58-64.
- Mao, X. 2002. Edible mushrooms resources and researches in China. *Mushroom Market* 8: 8.
- Marqués, S. 2010. *Valorización de diferentes cultivos lignocelulósicos para la fabricación de pasta de papel: Caracterización química, modificación estructural de sus constituyentes orgánicos durante los procesos de cocción y blanqueo y aplicaciones biotecnológicas*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Sevilla. 277 p.



- Martínez-Carrera, D., Curvetto, N., Sobal, M., Morales, P. y Mora, V. M. 2010. *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Prespectivas en el siglo XXI*. (Eds.) Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAPEP-IMINAP, Puebla. pp. 648.
- Martínez-Carrera, D., Larque-Saavedra, A., Aliphath, M., Aguilar, A., Bonilla, M. y Martínez, W. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. *Conacyt, Academia Mexicana de Ciencias*: 193-207.
- Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M. y Martínez, W. 2006. México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. En: *El cultivo de Pleurotus en México*. ECOSUR-IE-UNAM-COLPOS, México, D.F.
- Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M. y Martínez, W. 2007. México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. Capítulo 6.1. Pp. 209-224. En: *El cultivo de setas Pleurotus spp. en México*. Eds. Sánchez, J.E., Martínez-Carrera, D., Mata G. y Leal, H. ECOSUR, México D.F.
- Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M., Martínez, W. y Mayett, Y. 2012. Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. Pp. 449-474. In: *Memorias Reunión General de la Academia Mexicana de Ciencias: Ciencia y Humanismo (Agrociencias)*. *Academia Mexicana de Ciencias*, México, D.F. 750 pp.
- Martínez-Carrera, D., Pérez, B., Moreno, Y.M., Sobal, M., Morales, P., Ramírez, A.P. y Tello, I. 2014. Propiedades funcionales agregadas al tequila, otros mezcales y destilados de Agave convencionales, derivadas del extracto de un hongo comestible de uso tradicional en México (*Lentinula boryana*). (COLPOS) IMPI-MX/2009/042387.
- Mau, J.L., Lin, H.C. y Song, S.F. 2002. Antioxidant properties of several speciality mushrooms. *Food Research International* 35: 519-526.
- Maynard, L. A., Loosli, J. K., Hintz, H. F. y Warner. R. G. 1981. *Nutrición Animal*. Ed. McGraw-Hill. México. 640 p.
- Miles, P. G. y Chang, S. T. 1998. *Biología de las setas. Fundamentos básicos y acontecimientos actuales*. Singapore, New Jersey: World Scientific.
- Mintzberg, H. 1988. Las Cinco Ps de la Estrategia. En: *El proceso estratégico, conceptos, contextos y casos*. Mintzberg, H. y Brian, Q. (Editores). Prentice Hall, México. pp: 21-30.
- Mitzi, V. 2011. *Aislamiento y caracterización de oligosacáridos de Fistulina guzmanii e Ipomoea Stans*. Tesis de Licenciatura. Facultad de biología. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).
- Mizuno, T. 1999. Bioactive substances in *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Yamabushitake), and its medicinal utilization. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1:105-119.

- Mizuno, T., Waa, T., Ito, H., Suzuki, C. y Ukai, N. 1992. Antitumor-active polysaccharides isolated from the fruitbody of *Hericium erinaceum*, an edible and medicinal mushroom called yamabushitake or houtou. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 56(2): 347-8.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M. y V. Böhm. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*. 43: 992-999.
- Nagaraj, G., Uma, M. V., Shivayogi, M. S. y Balaram, H. 2001. Antimalarial activities of peptide antibiotics isolated from fungi. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(1): 145-149.
- Naranjo J. 1999. *Contenido de proteína detergente ácido en paja de maíz tratada con Pleurotus sp fermentado en estado sólido*. Tesis de maestría. Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de veterinaria y zootecnia. 68 p.
- Naranjo, N., Colmenero, A., Rosas, I. y Ortega, M. El cultivo de hongos comestibles para el desarrollo comunitario. *Vid supra* 4(1): 32-34.
- Navarro, P., Moral, H., Gómez, L. y Mataix, B. 1995. *Residuos orgánicos y agricultura*. Universidad de Alicante. I.S.B.N.: 84-7908-194-5. 155 p.
- Nieto, I. 2010. Química y biotecnología fúngica. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Norris, J.R., Berkeley, R.C.W., Logan, N.A. y O'Donnell, A.G. 1981. The genera *Bacillus* and *Sporolactobacillus*. In: Starr M.P., Stolp, H., Trüper, H. G., Balows, A. y Schlegel, H. (eds.) *The prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. Vol. 2, Springer- Verlag, Berlin and Heidelberg. pp 171 1-1742.
- Nyochembeng, L. M., Beyl, C. A., y Pacumbaba, R. P. 2008. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. *Bioresource Technology* 99(13): 5645-5649.
- OECD. 2006. "OECD Biotechnology Statistics - 2006", OECD.
- Pancorbo, C. y Madrigal, R. 2007. Evolución de los conocimientos sobre el Ácido Acetil Salicílico. *Rev. Méd. Electrón.* [Seriada en línea]. 29(4). Disponible en URL:<http://www.cpimtz.sld.cu/revista%20medica/ano%202007/vol4%202007/tema17.htm> [consulta: Septiembre 2014].
- Pedras, M. & C. Soledade, 2001. Phytotoxins from fungi causing blackleg disease on crucifers: isolation, structure determination, detection, and phytotoxic activity. *Recent Research Developments in Phytochemistry* 5: 109-117.
- Pérez-Armendáriz, B., Mayett, Y., Jiménez, F.R., Sobal, M., Morales, P., Bonilla, M., Ramírez-Carrasco, P., Tello, I., Trigos, Á., Mendoza, G., Soriano-Santos, J., González, N. y Martínez-Carrera, D. 2010. Desarrollo de bebidas y alimentos funcionales a partir de los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales en México en: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Capítulo 15, pp. 221-240.
- Pino, S., Prieto, S., Pérez, M.E. y Molina, J. (2004). Fuente de Metabolitos Secundarios con Actividad Biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense* 23(2): 252-8.

- Piqueras, J. 2004. Los hongos como alimentos funcionales. *Amfontiquer* 2:46-48.
- Prior, R.L., Wu, X. y Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10): 4290-4302.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43:439-463.
- Ravera, C., Bettera, C., Fernández, M., Estive, E. y Piñeda, H. 2008. Aprovechamiento de los residuos agrícolas, procesamiento de la caja del maní, su conversión biológica y productos. Memorias en extenso del I simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos. Departamento de Tecnología Química, Facultad de Ingeniería Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- Raymundo, T. y Valenzuela, R. 2003. Los poliporáceos de México VI. Los hongos poliporoides del estado de Oaxaca. *Polibotánica* 16: 79-112.
- Ribeiro, B., Valentao, P., Baptista, P., Seabra, R. y Andrade, P. 2007. Phenolic compounds, organic acids profiles and antioxidative properties of beefsteak fungus (*Fistulina hepatica*). *Food and Chemical Toxicology* 45: 1805-1813.
- Rifkin, J. K. 1998. *Tech Biotechnology Century*, New Cork Putnam
- Roberfroid, M.B. 1999. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition* 129: 1398-1401.
- Rodríguez, A.G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México* 44: 464-475.
- Royse, D.J. y Sanchez-Vazques, J. E. 2001. La importancia del cultivo de *Pleurotus spp.* Estadísticas mundiales de producción, con énfasis en Hispanoamérica. En: *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* ECOSUR. El colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, Ed. México.
- Ruiz, L. 2007. *Pseudomonas aeruginosa: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos*. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona.
- Sánchez, B. y Palencia, E. 2010. Infecciones por *Listeria*. *Medicine* 10(50): 3368-72.
- Sánchez, J. y Royse, D. 2002. *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Chiapas, México, D. F., MX, Editorial Limusa, S.A. 290 p.
- Sánchez-Vásquez, J.E y Royse, D.J. 2001. Crecimiento y fructificación. In: *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* Ecosur. El colegio de la Frontera Sur, San Cristobal de las Casas, Chiapas, México. Ed. México.
- Sánchez-Vásquez, J.E. (Ed.). 1994. *Producción de Hongos Comestibles*. Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste, San Cristobal de las Casas. 107 pp.
- Sánchez-Vásquez, J.E., Andrade-Gallegos, R.H. y Coello, M. 2010. Los hongos comestibles en el Sureste de México en: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Cap. 11, pp. 151-168.

- Sántiz de la Cruz, J.A. 2007. El cultivo rústico de *Pleurotus ostreatus* en Chiapas, México. Pp. 143-148. En: *El cultivo de setas (Pleurotus spp.) en México*. Eds. Sánchez-Vázquez, J.E., Martínez-Carrera, D., Mata, G. y Leal-Lara, H. ECOSUR, México, D.F.
- Saval, S. 2012. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *Revista de la sociedad Mexicana Biotecnología y Bioingeniería*. A.C. ISSN 0188-4786. (16):14-46.
- Senol, E. 2004. *Stenotrophomonas maltophilia*: the significance and role as a nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infection* 57: 1-7.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. y Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 2012: 1-26.
- Siwulski, M. y Pawlak, R., 2005. Influence of sawdust substrate and its heat treatment on the mycelium growth and yield of *Hericium erinaceus* (Bull. Fr.) Pers. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wroclawiu. Rolnictwo* 515(86): 491-496.
- Siwulski, M., Sobieralski, K. y Wojniłowicz, M. 2009. Comparison of mycelium growth and yielding of selected strains of *Hericium erinaceus* (Bull. Fr.) Pers. on sawdust substrates with the glucose addition. *Kerba polonica* 55(3): 266-272.
- Smith, J., Rowan, N. y Sullivan, R. 2002. Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Reino Unido: University of Strathclyde.
- Smith, J.F., Fermor, T.R., y Zadrazil, F. (1988). Pretreatment of lignocellulosics for edible fungi. In *Treatment of Lignocellulosics with White Rot Fungi*, pp. 3-13. Edited by Zadrazil, F. y Reiniger, P. London. Elsevier Applied Science.
- Soares, A. A., Giatti-Marques, C., Francielle, D., Pezente-Ferrari, G., Gomes, S.M. y Peralta, R. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry* 112: 775-781.
- Solbrig, O. (2004), "Ventajas y desventajas de la agrobiotecnología", en Bárcena y otros., *Los Transgénicos en América Latina y el Caribe. Un debate abierto*, CEPAL Naciones Unidas, Santiago de Chile.
- Sommerkamp, Y. 1990. Hongos comestibles en los mercados de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Dirección General de Investigación. Guatemala. 68p.
- Stamets, P. 2000. *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. 3rd Ed.; Ten Speed Press: CA, USA.
- Stamets, P. 2003. *Mycomedicinals: An Informational Treatise on mushroom*. Olympia 96 pp.
- Stärk, A., Anke, T., Mocek, U. y Steglich, W. 1991. Omphalones, an antibiotically active benzoquinone derivative from fermentations of *Lentinellus omphalodes* (1). *Z Naturforsch* 46: 989-992.
- Suárez, C. y Nieto, I. J. 2013. Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología* 30(1): 1-8.

- Tello, I. 2010. *Diversidad de los recursos genéticos mexicanos del hongo funcional Ganoderma (fungi Ganodermataceae), conocido como Reishi en los mercados internacionales, y su relevancia para el desarrollo regional*. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados Campus Puebla.
- Toledo, F., García, A., León, F. y Bermejo, J. 2004. Ecología química en hongos y líquenes. *Revista Académica Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 28 (109): 509-528.
- Toledo, V., Alarcón, P., Barón, P. 1997. Estudiar lo rural desde una perspectiva interdisciplinaria: Una aproximación al caso México. México: UNAM. pp.115-147.
- Trigos, Á. y Martínez-Carrera, D. 1999. Hongos comestibles cultivados como fuentes potenciales de ergosterol. Pp 62-85. En: *Producción de vitamina D<sub>2</sub> a partir de Hongos Macromicetos: Aspectos Científicos, Técnicos y Económicos*. Ed. Rivera, A. CYTED-COLCIENCIAS, Bogotá.
- Trigos, Á. y Suárez-Medellín, J. 2010. Los hongos como alimentos funcionales y complementos alimenticios en: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Capítulo 5, pp. 59-76.
- Tschierpe, H. J. y Hartmann, K. 1977. A comparison of different growing methods. *Mushroom Journal* 60: 404-416.
- Viegas, J., Larre, S. y Lopreto, C. 2004. Detección y caracterización de Streptococcus agalactiae en muestras para urocultivo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 38(4): 459-63.
- Villareal, L. y Pérez-Moreno, J. 1989. Los hongos comestibles silvestres de México un enfoque integral. *Micología Neotropical Aplicada* 2: 78-86.
- Wang, J.C., Hu, S.H., Wang, J.T., Chen, K.S. y Chia, Y.C. 2005. Hypoglycemic effect of extract of *Hericium erinaceus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 641-646.
- Wasser, S. P. y Weis, A. L. 1999. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycete mushrooms: current perspectives (review). *International Journal Medicinal Mushrooms* 1: 31-62.
- Wasser, S.P, Nevo, E., Sokolov, D., Reshetnikov, S. y Timor-Timenetsky, M. 2000. Dietary supplements from medicinal mushrooms: diversity of types and variety of regulations. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 2: 1-19.
- Wasser, S.P. 1997. *Medicinal Mushroom. Lentinus edodes (Berk.) Sing. (Shiitake Mushroom)*. Peledfus Publ.Co., Haifa.
- Wasson, R.G. 1993. *El hongo maravilloso: Teonanacátl Micolatría en Mesoamérica*. Fondo de Cultura Económica, México, D.F. 307 pp.
- Wiley, J. 1997. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, fifth edition on CD-ROM.
- Wong, J.Y. y Chye, F.Y. 2009. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 269-277.

- Wong, K. H., Sabaratnam, V., Abdullah, N., Kuppusamy, U. R., y Naidu, M. 2009. Effects of cultivation techniques and processing on antimicrobial and antioxidant activities of *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. extracts. *Food Technology and Biotechnology* 47(1): 47-55.
- Wong, K.H., Sabaratman, V., Abdullah, N., Kuppusamy, U.R. y Naidu, M. 2009. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *H. erinaceus*. *Food Technol. Biotechnol* 47 (1) 47–55.
- Wood, D. A. y Fermor, T. R. 1982. Nutrition of *Agaricus bisporus* in compost. *The Mushroom Journal* 114: 194-197.
- Yanai, K., Yonekura, K., Usami, H., Hirayama, M., Kajiwara, S., Yamazaki, T., Shishido, K. y Adachi, T. 1996. The integrative transformation of *Pleurotus ostreatus* using bialaphos resistance as a dominant selectable marker. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 60: 472-475.
- Yilmaz, N., Solmaz, M., Turkecul, I. y Elmastag, M. 2006. Fatty acids composition in some wild mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry*. 99: 168-174.
- York, W. S., Darvill, A.G. y Albersheim, P. 1984. Inhibition of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid-Stimulated Elongation of Pea Stem Segments by a Xyloglucan Oligosaccharide. *Journal of Plant Physiology* 75: 295-297.
- Yu, Z.H., Yin, L.H., Yang, Q. y Liu, Y. 2009. Effect of *Lentinus edodes* polysaccharide on oxidative stress, immunity activity and oral ulceration of rats stimulated by phenol. *Carbohydrate Polymers* 75: 115-118.
- Yuan, J.-P., Wang, J. H., Liu, X., Kuang, H.C. y Huang, X.N. 2006. Determination of ergosterol in *Ganoderma* spore lipid from the germinating spores of *Ganoderma lucidum* by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 6172-6176.
- Zamora-Martínez, M. 1999. Hongos comestibles de México. Memorias del ciclo de conferencias “La investigación y la educación forestal en México. (SEMARNAP).
- Zjawiony, J. K. 2009. Biologically active compounds from Aphyllophorales (Polypore) Fungi. *Journal Natural Products* 67: 300–310.