



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

**CULTIVO DE *Volvariella bombycina*, ESPECIE
COMESTIBLE CON POTENCIAL DE PRODUCCIÓN EN
LAS COMUNIDADES DEL CENTRO DE MÉXICO**

JOAN WINDHOEK OLVERA NORIEGA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2017



SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
CAMPUS PUEBLA

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

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

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 **Joan Windhoek Olvera Noriega**, 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 de la Profesora **Dra. Mercedes Sobal Cruz**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **CULTIVO DE *Volvariella bombycina*, ESPECIE COMESTIBLE CON POTENCIAL DE PRODUCCIÓN EN LAS COMUNIDADES DEL CENTRO 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, la Consejera 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, 28 de abril de 2017

Joan Windhoek Olvera Noriega

Vo. Bo.

Dra. Mercedes Sobal Cruz
Profesora Consejera

La presente tesis, titulada: **CULTIVO DE *Volvariella bombycina*, ESPECIE COMESTIBLE CON POTENCIAL DE PRODUCCIÓN EN LAS COMUNIDADES DEL CENTRO DE MÉXICO**, realizada por el alumno: **Joan Windhoek Olvera Noriega**, 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

CONSEJERA:



DRA. MERCEDES SOBAL CRUZ

ASESOR:



DR. DANIEL CLAUDIO MARTÍNEZ CARRERA

ASESOR:



DR. PORFIRIO MORALES ALMORA

ASESOR:



DR. BENJAMÍN VALERIANO PEÑA OLVERA

ASESOR:



DR. ISAAC TELLO SALGADO

Puebla, Puebla, México, a 28 de abril de 2017

CULTIVO DE *Volvariella bombycina*, ESPECIE COMESTIBLE CON POTENCIAL DE PRODUCCIÓN EN LAS COMUNIDADES DEL CENTRO DE MÉXICO

Joan Windhoek Olvera Noriega, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

En el presente trabajo, se cultivaron dos cepas de *Volvariella bombycina* (CP-675, CP-733) utilizando como sustratos paja hidratada estéril (PHE), aserrín de encino (AE) y aserrín de *Bursera* (AB), estos se hidrataron con soluciones de ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM. La mayor producción con 110 g de basidiocarpos frescos se obtuvo en la cepa CP-733 en AB en testigo. La cepa CP-675 tuvo mejor eficiencia biológica (EB) con 19.46% en PHE en testigo y el mayor índice de degradación (ID) en AE+ AAS 100 μ M con 11.14 \pm 0.17%, mientras que para la cepa CP-733 tuvo 10.37 \pm 1.47% de EB en AE en testigo. Para obtener un extracto hidroalcohólico de *V. bombycina* con un rendimiento alto son: 10 g de hongo deshidratado en PHE+ AAS 10 mM+ 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%, macerado por 72 h en agitación obteniendo 265.47 \pm 11.14 mg/mL. En la cuantificación de polifenoles totales se obtuvo 3,836.74 \pm 199.71 mg EAG/5 g de hongo seco para la cepa CP-733 en AE en testigo y una actividad antioxidante de 81.09 \pm 0.58% en PHE+ AAS 10 mM en la cepa CP-675. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para los extractos de los basidiocarpos cultivados en AE de las cepas CP-675 y CP-733 se presentaron en la dilución uno en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) sobre *Escherichia coli* (CPB-8) con concentraciones de extracto de 113.20, 76.05 y 105.40 mg/mL para la cepa CP-675, mientras que la cepa CP-733 presentó efecto a concentraciones de extracto de 118.35, 113.25 y 123.30 mg/mL en los tres tratamientos. La Concentración Mínima Bactericida (CMB) para los extractos de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 cultivados en AE, PHE y AB sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4) fue de 1.72 a 55.18 mg/mL.

Palabras clave: Ácido acetilsalicílico, basidiocarpos, extractos, sustratos, *Volvariella bombycina*.

CULTIVATION OF *Volvariella bombycina*, EDIBLE SPECIE WITH PRODUCTION POTENTIAL IN THE COMMUNITIES OF THE CENTER OF MEXICO

Joan Windhoek Olvera Noriega, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2017

In the present work, two strains of *Volvariella bombycina* (CP-675, CP-733) were cultivated using sterile hydrated straw (SHS), oak sawdust (OS) and *Bursera* sawdust (BS), which were hydrated with acetylsalicylic acid (ASA) solutions 100 μ M and 10 mM. The highest yield with 110 g of fresh basidiocarp was obtained in the strain CP-733 in BS in control. The CP-675 strain had the best biological efficiency (BE) with 19.46% in SHS in control and the highest degradation index (DI) in OS + ASA 100 μ M with $11.14 \pm 0.17\%$, whereas for the CP-733 strain $10.37 \pm 1.47\%$ of BE in OS in control. To obtain a hydroalcoholic extract of *V. bombycina* with a high yield are: 10 g of dehydrated mushroom in SHS+ ASA 10 mM+ 150 mL of hydroalcoholic solvent to 32%, macerated for 72 h in agitation obtaining 265.47 ± 11.14 mg/mL. In the quantification of total polyphenols, $3,836.74 \pm 199.71$ mg AGE/5 g of mushroom were obtained for the CP-733 strain in OS in control and an antioxidant activity of $81.09 \pm 0.58\%$ in SHS + ASA 10 mM in the strain CP-675. The minimum inhibitory concentration (MIC) for extracts of basidiocarps cultivated in OS from CP-675 and CP-733 strains were presented at dilution one in three treatments (control, ASA 100 μ M and ASA 10 mM) on *Escherichia coli* (CPB-8) with extract concentrations of 113.20, 76.05 and 105.40 mg/mL for strain CP-675, while strain CP-733 had an affect at extract concentrations of 118.35, 113.25 and 123.30 mg/mL in three treatments. The minimum bactericidal concentration (MBC) for extracts of the basidiocarps from the CP-675 and CP-733 strains grown in OS, SHS and BS on *Streptococcus agalactiae* (CPB-4) bacteria was 1.72 to 55.18 mg/mL.

Key words: Acetylsalicylic acid, basidiocarps, extracts, substrates, *Volvariella bombycina*.

Dedicatoria

A mi madre Ángela, responsable del gran porcentaje de mis logros académico-profesionales. Aún hoy está pendiente de mí y no cesa de brindarme sus sabios consejos. Anhele que la presente tesis signifique para ella un éxito compartido.

A mi padre Juan, quién me enseñó lo más importante en la vida: la dedicación y el empeño en cosas importantes que uno se traza a lo largo de nuestra vida.

A mi hermana Laura, por su apoyo incondicional y sus palabras alentadoras en los momentos difíciles de mi vida, gracias por ser fuente motivadora a seguir y excelente profesional.

A mi abuela, tíos, primos y amigos, por ser comprensivos, generosos y cuándo se les necesita siempre están para ayudar incondicionalmente.

Agradecimientos

Al pueblo de México a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por haber financiado mis estudios de Maestría en el Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla* durante el periodo 2015-2016.

Al Colegio de Postgraduados *Campus Puebla*, a la planta académica e integrantes de mi consejo particular: Dra. Mercedes Sobal Cruz, Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera, Dr. Porfirio Morales Almora, Dr. Benjamín Valeriano Peña Olvera y Dr. Isaac Tello Salgado, quienes depositaron en mí su confianza y fueron la base fundamental en mi formación académica y profesional, por haberme brindado sus conocimientos y guiarme en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Angeluz Olvera Velona y el Dr. Isaac Tello Salgado, por sus consejos y motivaciones, ya que han sido fundamentales en mi formación como futuro profesional.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales del Colegio de Postgraduados *Campus Puebla*, a los M. en C. Myrna Bonilla Quintero, Beatriz Inés Petlascalco Sánchez, Iván Omar Castillo Sebastian, Nora Eva Fernández Velázquez; al Dr. Alan Helios Escudero Uribe, al Biól. Wilfrido Martínez Sánchez, al Sr. Hugo Martínez Carrera y a la Srita. Margarita Romero Ramírez, quienes me brindaron su ayuda y amistad.

CONTENIDO		Página
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEÓRICO	3
2.1	Biotecnología y desarrollo.....	3
2.2	Los hongos comestibles, funcionales y medicinales en México.....	5
2.3	Beneficios en la alimentación de los hongos comestibles, funcionales y medicinales.....	6
2.4	Importancia del cultivo de hongos comestibles.....	7
2.5	Los hongos como fuente de antioxidantes.....	8
2.6	Producción rural de hongos comestibles.....	8
2.7	Generalidades de <i>V. bombycina</i>	9
III.	MARCO DE REFERENCIA	15
3.1	Requerimientos para el cultivo de hongos.....	15
3.2	Sustratos sólidos suplementados.....	17
3.3	Propiedades funcionales y medicinales de <i>V. bombycina</i>	18
3.4	Residuos agrícolas como sustrato para la producción de hongos.....	19
3.5	Cultivo de los hongos comestibles, funcionales y medicinales en sustratos sólidos suplementados.....	20
3.6	Antecedentes del cultivo de <i>V. bombycina</i> en México.....	21
3.7	El ácido acetilsalicílico como suplemento en sustratos sólidos.....	21
IV.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	23
V.	HIPÓTESIS	24
VI.	OBJETIVOS	24
6.1	Objetivo general.....	24
6.2	Objetivos específicos.....	24
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	25
7.1	Material biológico.....	25
7.2	Preparación del inóculo o "semilla".....	28
7.3	Preparación de las unidades de producción (UP) para el cultivo en sustrato sólido.....	28
7.4	Determinación del peso seco, temperatura y pH del sustrato.....	28
7.5	Inoculación del sustrato.....	29
7.6	Incubación de las unidades de producción (UP).....	29
7.7	Fructificación de las cepas en estudio.....	29
7.8	Caracterización de los basidiocarpos.....	29
7.9	Caracterización del sustrato residual.....	30
7.10	Obtención de compuestos bioactivos en macerados y extractos...	31
7.10.1	Variables preliminares.....	31
7.10.1.1	Cinética de maceración.....	32
7.10.2	Variables estandarizadas.....	33
7.11	Concentración de las muestras estandarizadas en rotavapor.....	34
7.12	Caracterización de los extractos.....	34
7.12.1	Rendimiento.....	35

7.12.2	Caracterización de los macerados y extractos preliminares y estandarizados.....	35
7.13	Propiedades funcionales.....	36
7.13.1	Polifenoles totales.....	37
7.13.2	Cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH.....	37
7.14	Diseño experimental.....	39
7.15	Propiedades medicinales.....	39
7.15.1	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de microdilución.....	39
7.15.1.1	Obtención del inóculo bacteriano de las cepas CPB-4 (<i>Streptococcus agalactiae</i>), CPB-8 (<i>Escherichia coli</i>) y CPB-13 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>).....	40
7.15.2	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	45
7.15.3	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)....	45
VIII.	RESULTADOS	47
8.1	Ciclo de cultivo de <i>V. bombycina</i>	47
8.2	Caracterización de los hongos.....	49
8.3	Eficiencia biológica (EB).....	55
8.4	Índice de degradación (ID).....	56
8.5	Caracterización de los macerados y extractos preliminares.....	57
8.6	Caracterización de los macerados y extractos estandarizados.....	83
8.7	Polifenoles totales.....	91
8.8	Actividad antioxidante por DPPH.....	100
8.9	Diseño experimental.....	103
8.10	Efecto bacteriostático en los extractos de la cepa CP-675 de <i>V. bombycina</i>	123
8.11	Efecto bacteriostático en los extractos de la cepa CP-733 de <i>V. bombycina</i>	135
8.12	Efecto bactericida en los extractos de la cepa CP-675 de <i>V. bombycina</i>	143
8.13	Efecto bactericida en los extractos de la cepa CP-733 de <i>V. bombycina</i>	149
IX.	DISCUSIÓN	153
X.	CONCLUSIONES	159
XI.	CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	160
XII.	PERSPECTIVAS	161
XIII.	ESTRATEGIA PARA EL CULTIVO DE <i>V. bombycina</i>, ESPECIE COMESTIBLE CON POTENCIAL DE PRODUCCIÓN EN LAS COMUNIDADES DEL CENTRO DE MÉXICO	162
XIV.	LITERATURA CITADA	172
XV.	ANEXO	180

LISTA DE FIGURAS		Página
Figura 1.	Basidiocarpos de <i>Volvariella bombycina</i> (CP-733) cultivada en aserrín de <i>Bursera</i>	10
Figura 2.	Localización del corredor biológico Chichinautzin en el Estado de Morelos.....	11
Figura 3.	Comerciantes de hongos silvestres en día de plaza en Tepoztlán, Morelos.....	12
Figura 4.	Ciclo biológico de <i>Volvariella bombycina</i>	13
Figura 5.	Etapas de desarrollo del cuerpo fructífero de <i>Volvariella bombycina</i>	14
Figura 6.	Fórmula estructural del ácido acetilsalicílico (AAS).....	22
Figura 7.	Diagrama de flujo para la extracción de compuestos bioactivos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> y estandarización las condiciones experimentales.....	26
Figura 8.	Diagrama de flujo general para la realización de este proyecto....	27
Figura 9.	Secado de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en la incubadora a 40 °C.....	30
Figura 10.	Proceso de molido de <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675).....	32
Figura 11.	Proceso de prensado de la muestra de <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675) en el sobre de papel filtro.....	33
Figura 12.	Filtración y concentración del macerado de <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675) en rotavapor.....	34
Figura 13.	Potenciómetro utilizado para la medición de pH, conductividad y resistividad.....	36
Figura 14.	Refractómetro para medir grados Brix de las muestras de <i>Volvariella bombycina</i> (CP-675 y CP-733).....	36
Figura 15.	Ajuste de la cantidad de las bacterias a una concentración de 1×10^8 UFC mL ⁻¹ para el diseño experimental y, de 1×10^4 UFC mL ⁻¹ para verificar el inóculo 50 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Mueller Hinton.....	41
Figura 16.	Distribución de las microdiluciones en la microplaca para la prueba de sensibilidad antibacteriana.....	42
Figura 17.	Especificaciones de la inoculación de la bacteria en estudio para realizar la prueba de sensibilidad antibacteriana en esta investigación.....	43
Figura 18.	Vista longitudinal de la forma en que se realizó la microdilución de los extractos en la microplaca.....	44
Figura 19.	a) Forma en la que se colocó la microplaca evitar la pérdida de humedad y b) Incubadora donde se colocó la microplaca.....	44
Figura 20.	Representación de los pozos de la microplaca de donde fueron tomadas las muestras para evaluar el efecto bactericida de los extractos de <i>Volvariella bombycina</i>	45

Figura 21.	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) de los extractos de <i>V. bombycina</i> diluido en la microplaca (D1-D7) y sembrado con la cepa bacteriana en estudio.....	46
Figura 22.	Temperaturas registradas en el área de incubación de las unidades de producción (UP) de <i>Volvariella bombycina</i>	48
Figura 23.	Temperatura y humedad registradas en el área de fructificación de las unidades de producción (UP) de <i>Volvariella bombycina</i>	48
Figura 24.	Biomasa fresca (g) producida en la primera cosecha de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivadas en sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=3).....	49
Figura 25.	Biomasa fresca (g) producida en la segunda cosecha de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivadas en sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (ASS) 100 μ M y 10 mM (n=3).....	50
Figura 26.	Biomasa fresca total (g) producida en la primera y segunda cosecha de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivadas en sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=3).....	51
Figura 27.	Temperatura de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> , CP-580 de <i>Lentinula edodes</i> y CP-145 de <i>Ganoderma lucidum</i> cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	51
Figura 28.	pH de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> , CP-580 de <i>Lentinula edodes</i> y CP-145 de <i>Ganoderma lucidum</i> cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	52
Figura 29.	Humedad (%) de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>V. bombycina</i> , CP-580 de <i>Lentinula edodes</i> y CP-145 de <i>Ganoderma lucidum</i> cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	53
Figura 30.	Peso seco en 100 g de muestra húmeda de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> , CP-580 de <i>Lentinula edodes</i> y CP-145 de <i>Ganoderma lucidum</i> cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	54
Figura 31.	Eficiencia biológica (%) acumulada de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=3).....	55

Figura 32.	Eficiencia biológica (%) acumulada de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=3).....	56
Figura 33.	Rendimiento de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	58
Figura 34.	Conductividad de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	59
Figura 35.	Resistividad de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	59
Figura 36.	pH de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	60
Figura 37.	Temperatura de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	61
Figura 38.	Grados Brix de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	61
Figura 39.	Rendimiento de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	62
Figura 40.	Conductividad de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	63
Figura 41.	Resistividad de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	64
Figura 42.	pH de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	64

Figura 43.	Temperatura de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	65
Figura 44.	Grados Brix de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	66
Figura 45.	Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	66
Figura 46.	Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M, a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	67
Figura 47.	Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM, a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	68
Figura 48.	Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM a las 24, 48 y 72 h en condición de agitación (n=4).....	69
Figura 49.	Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM a las 24, 48 y 72 h en condición de reposo (n=4).....	69
Figura 50.	Espectro de absorción del barrido de los macerados de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> (testigo) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración en condiciones de agitación.....	70
Figura 51.	Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> (testigo) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración, en condiciones de reposo.....	71
Figura 52.	Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> (AAS 100 μ M) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración en condiciones de agitación.....	71
Figura 53.	Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> (AAS 100 μ M) a las 24, 48, 72 h y extracto a las 72 h en condiciones de reposo.....	72

Figura 54.	Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> (AAS 10 mM) a las 24, 48, 72 h y extracto a las 72 h en condiciones de agitación.....	73
Figura 55.	Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> (AAS 10 mM) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración en condiciones de reposo.....	73
Figura 56.	Macerados a las 24 h (controles) de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril en diferentes tratamientos, en condiciones de agitación y reposo.....	74
Figura 57.	Rendimiento de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	75
Figura 58.	Conductividad de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	75
Figura 59.	Resistividad de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	76
Figura 60.	pH de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	76
Figura 61.	Temperatura de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	77
Figura 62.	Grados Brix de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	77
Figura 63.	Rendimiento de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	78
Figura 64.	Espectro de absorción del barrido de los extractos a las 72 h de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril en diferentes tratamientos en condiciones de agitación y reposo.....	79

Figura 65.	Extractos a las 24 h (controles) de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) en diferentes tratamientos, en condiciones de agitación y reposo.....	79
Figura 66.	Conductividad de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	80
Figura 67.	Resistividad de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	81
Figura 68.	pH de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	81
Figura 69.	Temperatura de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	82
Figura 70.	Grados Brix de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	83
Figura 71.	Rendimiento de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	84
Figura 72.	Conductividad de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	84
Figura 73.	Resistividad de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	85
Figura 74.	pH de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	85
Figura 75.	Temperatura de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	86

Figura 76.	Grados Brix de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	86
Figura 77.	Rendimiento de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	87
Figura 78.	Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-550 nm de los extractos de las cepas CP-675 CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetil salicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM.....	88
Figura 79.	Conductividad de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	89
Figura 80.	Resistividad de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	89
Figura 81.	pH de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	90
Figura 82.	Temperatura de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	90
Figura 83.	Grados Brix de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	91
Figura 84.	Curva de calibración del ácido gálico para la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i>	92
Figura 85.	Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	93
Figura 86.	Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	93
Figura 87.	Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	94

Figura 88.	Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	95
Figura 89.	Polifenoles totales de los extractos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM a las 24 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4).....	96
Figura 90.	Curva de calibración del ácido gálico para las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i>	96
Figura 91.	Cuantificación de polifenoles totales de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	97
Figura 92.	Cuantificación de polifenoles totales de los extractos de las Cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	98
Figura 93.	Cuantificación de polifenoles totales de los macerados y extractos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4).....	99
Figura 94.	Cuantificación de polifenoles totales de los macerados y extractos de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM.	99
Figura 95.	Determinación de DPPH para la solución estándar (BHT).....	100
Figura 96.	Actividad antioxidante del BHT usando la solución estándar.....	102
Figura 97.	Grados Brix (%) de los macerados preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	110
Figura 98.	Rendimiento de los macerados preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	112
Figura 99.	Polifenoles totales de los macerados preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	114
Figura 100.	Grados Brix (%) de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	116

Figura 101.	Rendimiento de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	118
Figura 102.	Polifenoles totales de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	120
Figura 103.	Actividad antioxidante (%) de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5).....	122
Figura 104.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	125
Figura 105.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	125
Figura 106.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	126
Figura 107.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	126
Figura 108.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	127
Figura 109.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	128
Figura 110.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	128
Figura 111.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	129
Figura 112.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	129

Figura 113.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	130
Figura 114.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	130
Figura 115.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	131
Figura 116.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 100 µM sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	131
Figura 117.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 100 µM sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	132
Figura 118.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 100 µM sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	132
Figura 119.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	133
Figura 120.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	133
Figura 121.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	134
Figura 122.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	137
Figura 123.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	137
Figura 124.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	138
Figura 125.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 µM sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	138

Figura 126.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 µM sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	139
Figura 127.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 µM sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	139
Figura 128.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	140
Figura 129.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	140
Figura 130.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	141
Figura 131.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de <i>Bursera</i> sobre la bacteria <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4).....	141
Figura 132.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de <i>Bursera</i> sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> (CPB-8).....	142
Figura 133.	Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de <i>Bursera</i> sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-13).....	142
Figura 134.	Actores de la estrategia para la producción de <i>Volvariella bombycina</i>	164
Figura 135.	Metodología para la obtención de compuestos bioactivos	171

LISTA DE CUADROS

LISTA DE CUADROS		Página
Cuadro 1.	Taxonomía de <i>Volvariella bombycina</i>	9
Cuadro 2.	Selección de cepas de <i>Volvariella bombycina</i> para la realización de este trabajo.....	25
Cuadro 3	Concentración de la muestra y estándar para la determinación de la actividad antioxidante con el reactivo DPPH.....	38
Cuadro 4.	Distribución de la prueba de sensibilidad antibacteriana usando extracto de hongo como agente antimicrobiano.....	43
Cuadro 5.	Ciclo de producción de las cepas de <i>Volvariella bombycina</i> desde la colonización hasta la segunda cosecha.....	47
Cuadro 6.	Caracterización de los basidiocarpos frescos de los géneros de <i>Volvariella</i> (CP-675 y CP-733), <i>Ganoderma</i> (CP-145) y <i>Lentinula</i> (CP-580) cultivados en aserrín de encino y suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.....	54
Cuadro 7.	Índice de Degradación (ID) obtenido después de cultivar las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.....	57
Cuadro 8.	Actividad antioxidante y concentración de inhibición al 50% de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.....	101
Cuadro 9.	Actividad antioxidante y concentración de inhibición al 50% de los extractos de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.....	103
Cuadro 10.	Eficiencia biológica (EB) del cultivo de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.....	104
Cuadro 11.	Índice de Degradación (ID) del cultivo de las cepas CP-675 y CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.....	104
Cuadro 12	Resultados de los rendimientos de los macerados preliminares de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en paja hidratada estéril (PHE).....	105
Cuadro 13.	Rendimiento de los extractos preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i>	106
Cuadro 14.	Polifenoles totales de los macerados preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i>	107

Cuadro 15.	Cuantificación de los polifenoles totales de los extractos preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i>	108
Cuadro 16.	Nivel de microdilución que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.....	123
Cuadro 17.	Concentración del extracto (mg/mL) que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.....	123
Cuadro 18.	Nivel de microdilución en la que se confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.....	124
Cuadro 19.	Concentración del extracto (mg/mL) que confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.....	124
Cuadro 20.	Nivel de microdilución que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y aserrín de <i>Bursera</i>	135
Cuadro 21.	Concentración del extracto (mg/mL) que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y aserrín de <i>Bursera</i>	135
Cuadro 22.	Nivel de microdilución en la que se confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y aserrín de <i>Bursera</i>	136
Cuadro 23.	Concentración del extracto (mg/mL) que confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> cultivada en aserrín de encino y aserrín de <i>Bursera</i>	136
Cuadro 24.	Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de encino en testigo (AE) en tres cepas de bacterias.....	143
Cuadro 25.	Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M en tres cepas de bacterias.....	144
Cuadro 26.	Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en tres cepas de bacterias.....	145

Cuadro 27. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en paja hidratada estéril en testigo (PHE) en tres cepas de bacterias	146
Cuadro 28. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en paja hidratada estéril adicionada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M en tres cepas de bacterias.....	147
Cuadro 29. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de <i>Volvariella bombycina</i> en paja hidratada estéril adicionada con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en tres cepas de bacterias.....	148
Cuadro 30. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de encino en testigo (AE) en tres cepas de bacterias.....	149
Cuadro 31. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M en tres cepas de bacterias.....	150
Cuadro 32. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en tres cepas de bacterias.....	151
Cuadro 33. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de <i>Volvariella bombycina</i> en aserrín de <i>Bursera</i> en testigo (AB) en tres cepas de bacterias.....	152

I. INTRODUCCIÓN

Los hongos han sido valorados en todo el mundo, tanto como alimento o como medicina, por miles de años, anteriormente eran consumidos principalmente por su sabor, actualmente por su alto valor nutricional, contenido de proteínas que poseen, así como vitaminas y minerales, además de propiedades medicinales. El cultivo de hongos está ganando popularidad debido al bajo costo de tecnología que se necesita para producirlos, así como la fácil disponibilidad de diversos sustratos utilizados para su cultivo.

Al género *Volvariella* se adscriben diversas especies comestibles que se cultivan actualmente en el sureste de Asia, principalmente en Vietnam, China, Taiwán, Tailandia e Indonesia entre otros (Chang y Miles, 2004). Este género de hongos, a diferencia de otros como el champiñón, se puede cultivar a temperaturas cálidas y al aire libre, esta característica lo convierte en una alternativa potencial para las regiones tropicales y subtropicales, considerándose idónea para las zonas rurales, ya que requieren bajos costos de inversión (Stamets, 1993; Quimio, 2002). En las áreas tropicales de México, los desechos lignocelulósicos derivados de la agricultura son abundantes y *Volvariella* spp. puede ser una alternativa de cultivo aprovechando esa gran cantidad de desechos agroindustriales (Sánchez *et al.*, 1997; Martínez-Carrera *et al.*, 1991; Salmones, 1993). La biotecnología de hongos comestibles puede adoptarse y adaptarse a las necesidades rurales proporcionando ingresos, oportunidades de trabajo y alimento (ingesta de proteína) a la población rural.

Dentro de este género se encuentra la especie de *Volvariella bombycina*, recurso genético mexicano con alto valor potencial, el cual es un hongo comestible perteneciente a la familia *Pluteaceae*, posee un sabor exquisito, un gran valor alimenticio y gastronómico y es apreciado por sus características nutricionales y químicas; se han reportado una buena cantidad de antioxidantes y efectos antitumorales e hipercolesterolémicos (Badalyan, 2003), por lo que es importante efectuar más investigaciones con énfasis en esta especie.

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo pretende fomentar y generar información con respecto a esta especie, mediante el cultivo de dos cepas de la especie de *V. bombycina* utilizando como sustratos residuos agrícolas tales como paja de trigo, aserrín de encino y aserrín de *Bursera* suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) en dos concentraciones 100 μ M y 10 mM y la obtención y análisis de extractos hidroalcohólicos, los cuales pueden presentar compuestos bioactivos y propiedades antibacterianas que puedan beneficiar la salud del ser humano.

La estrategia propuesta en esta investigación busca como objeto principal: el incremento al aporte económico para familias de escasos recursos, la oferta de productos novedosos con propiedades benéficas para la salud, la disminución de los materiales de origen agroindustrial por acción de su utilización en el cultivo de *Volvariella* spp. y contribuir al mejoramiento de la producción comercial de hongos comestibles funcionales.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Biotecnología y desarrollo

La biotecnología es considerada como una de las áreas de desarrollo científico y tecnológico más relevantes en la actualidad. Su uso e impacto involucra áreas como la salud, el sector agrícola, pecuario, el medio ambiente, y el sector industrial entre otros, las cuales son la base del desarrollo de los países latinoamericanos (FAO, 2004). El gran desarrollo científico y tecnológico, particularmente en el ámbito de las ciencias de la vida, que se ha dado desde los años cincuenta del siglo pasado, nos ha permitido aplicar principios científicos y de ingeniería a la transformación de materiales por acción de agentes biológicos (microorganismos, enzimas, células de animales o de plantas, principalmente) con el fin de proveer a nuestra sociedad de bienes y servicios (Blanch, 2010).

México, con más de 100 millones de habitantes, y con crecimiento previsible de 20 millones más en los próximos 20 años, enfrenta grandes retos para poder proporcionar a sus habitantes servicios y condiciones necesarias para una vida digna. Las demandas por alimentos seguros y nutritivos, medicamentos y servicios de salud modernos, con un medio ambiente no contaminado por industrias con procesos limpios y productos competitivos, cuidando y usando sustentablemente nuestra biodiversidad, representan retos extraordinarios para la sociedad mexicana que debemos enfrentar y resolver de manera concertada, inteligente y respetuosa con el medio ambiente. La biotecnología es una de las herramientas más poderosas con las que cuenta México para contender con muchos de estos retos nacionales (Bolívar-Zapata, 2003).

El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) define la biotecnología como: toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (FAO, 2004). Se trata de una tecnología que tiene un conjunto de principios científicos y técnicos comunes y, una larga lista de técnicas aplicables a desarrollos específicos. Es una plataforma tecnológica que sirve de base para tecnologías de uso concreto en actividades productivas (Bisang *et al.*, 2009).

Al ser considerado México como un país biológicamente megadiverso, la biotecnología moderna debe servir para el manejo y preservación de estos recursos indispensables, para el mantenimiento sustentable de los ecosistemas nacionales y globales. Precisamente, por la gran diversidad con la que cuenta, además de promover el desarrollo de la investigación biotecnológica, es necesario generar capacidades para analizar y evaluar las múltiples implicaciones del uso de la biotecnología; en el ámbito ecológico, el de la salud humana, en los sectores de la producción y en el aspecto social (Bolívar-Zapata, 2003). Por la notable biodiversidad que caracteriza al país, existen especies novedosas de hongos comestibles que son consumidas o utilizadas tradicionalmente por las comunidades rurales de diversas regiones del país. Este es el caso, por ejemplo, de los “Hongos del Maguey” (*Pleurotus* sp.), el “Hongo de Encino” [*Lentinula boryana* (Berk. y Mont.) Pegler], y las “Repisas” (*Ganoderma* spp.), cuyo cultivo intensivo ha sido desarrollado sobre sustratos estériles suplementados. Estos recursos genéticos nativos tienen gran potencial para incorporarse en el corto plazo a la producción comercial de los hongos comestibles, funcionales y medicinales en México (Martínez-Carrera *et al.*, 2010).

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).

2.2 Los hongos comestibles, funcionales y medicinales en México

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 del 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 nutraceuticos 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, cuya función es la regularización de la homeostasis del calcio y el fósforo (Trigos y Martínez-Carrera, 1999; Yuan *et al.*, 2006).

2.3 Beneficios en la alimentación de los hongos comestibles, funcionales y medicinales

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 a la salud del consumidor, debido a la acción biológica de algunos de sus componentes que 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 el cáncer o trastornos cardiovasculares (Arai, 2002).

Las propiedades funcionales de los hongos comestibles y medicinales pueden concentrarse mediante extractos acuosos y alcohólicos, a través de los cuales pueden obtenerse lecitinas y polisacáridos de alto peso molecular, tales como α - glucanos, β - glucanos, heteroglicanos, proteoglucanos y polisacaropéptidos. Se ha demostrado ampliamente que estas macromoléculas bioactivas purificadas tienen propiedades funcionales sin efectos secundarios adversos y que incluso pueden modificarse químicamente para mejorarlas (Martínez-Carrera *et al.*, 2010).

2.4 Importancia del cultivo de hongos comestibles

La producción mundial de los hongos (*Pleurotus*, *Lentinula*, *Agaricus* y *Flammulina*) hasta 1996 fluctuaba en 4 909 000 ton/año. En México, ésta actividad comercial de hongos comestibles es relevante desde el punto de vista social, económico y ecológico ya que para el 2004 se registró un total de 6.2 millones de toneladas del cual 38,708 toneladas fueron producidas en México, lo que constituye el 59% del total de los países latinoamericanos y, por ello nuestro país ocupa el 18º lugar a nivel mundial, generando un importante impacto económico ya que el monto generado supera los 150 millones de dólares y los volúmenes de exportación aportan divisas a nuestro país por más de 4 millones de dólares anuales, generando 20 mil empleos directos e indirectos.

La importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 386,000 toneladas anuales de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales (Martínez-Carrera *et al.*, 2004). Actualmente, los volúmenes de producción en México ascienden a más o menos 62,374 toneladas anuales de hongos comestibles frescos. Nuestro país es el mayor productor de Latinoamérica y cuenta con los desarrollos tecnológicos ya que genera alrededor del 80.8% de la producción total de esa región, seguido por Brasil (7.7%) y Colombia (5.2%), ubicándose en el lugar 13 a nivel mundial. Los hongos comestibles que se cultivan y/o procesan comercialmente en México son: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Ganoderma* y *Ustilago*.

El valor funcional y medicinal de los hongos comestibles incluye propiedades anticancerígenas, antibióticas (antimicrobianas, antivirales, antibacterianas,

antiparasitarias), antioxidantes, reductoras del nivel de colesterol, hipertensión, antitrombóticas y antidiabéticas. A partir de estas propiedades, se estima que se generan operaciones comerciales de alto valor agregado superiores a los 6 billones de dólares en los mercados internacionales de la industria alimentaria y farmacéutica. En los países asiáticos, (China y Japón) los hongos *Lentinula*, *Ganoderma*, *Grifola* y *Pleurotus* se han utilizado para desarrollar alimentos funcionales diversos, tales como platillos, concentrados, extractos, aderezos (micelio o cuerpos fructíferos pulverizados).

2.5 Los hongos como fuente de antioxidantes

Algunos compuestos antioxidantes que se pueden encontrar en los hongos son: La ergotioneína, 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).

Los 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).

2.6 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).

2.7 Generalidades de *V. bombycina*

Al género *Volvariella* se adscriben diversas especies de hongos comestibles que se cultivan comercialmente en el Sureste de Asia (Chang *et al.*, 2004). Estas especies, a diferencia de otras de interés comercial como *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, se desarrolla a temperaturas cálidas y al aire libre, por lo que representan una alternativa productiva para las regiones tropicales y subtropicales, considerándose su cultivo idóneo para las zonas rurales, ya que requieren bajos costos de inversión (Quimio, 1993; 2002; Reyes *et al.*, 2004).

Entre las especies de *Volvariella* con mayor importancia económica destaca *V. volvacea* (Bull.: Fr.) Sing., conocido comercialmente como “paddy straw mushroom” o “chinese mushroom”, cuyos cultivos aportan cerca del 6% de la producción mundial de hongos (Chang *et al.*, 2004). Para el cultivo comercial de *V. volvacea* se han utilizado materiales lignocelulósicos tan diversos como los desechos de algodón, la paja de arroz, lirio acuático, bagazo de caña de azúcar, desechos de coco, plátano y piña, entre otros (Alicbusan, 1982; Chang *et al.*, 2004; Quimio, 1993; 2002; Reyes *et al.*, 2004; Stamets, 1993).

V. bombycina es un hongo comestible perteneciente a la familia *Pluteaceae* (Cuadro 1), comúnmente llamado el hongo de paja sedoso de plata (Mallavadhani *et al.*, 2006).

Cuadro 1. Taxonomía de *Volvariella bombycina*.

Reino: Fungi	Familia: Pluteaceae
Filo: Basidiomycota	Género: <i>V.</i>
Clase: Agaricomycetes	Especie: <i>V. bombycina</i>
Orden: Agaricales	

Fuente: Rendón-Hernández (2015).

Este hongo presenta un 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 (bombyx = “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 esporular cambia 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) y la esporada es rosa (Chiu y Moore, 1989). Hábitat: Saprófita tocones de latifolios: alcornoque, aliso, fresno, sauce, olmo. También se desarrolla sobre aserrín (Fig. 1). 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.



Figura 1. Basidiocarpos de *Volvariella bombycina* (CP-733) cultivada en aserrín de *Bursera*.

En México, se tienen reportes que *Volvariella* spp. se comercializa en los municipios que comprende el corredor biológico Chichinautzin (Fig. 2) en el estado de Morelos (Huitzilac, Tepoztlán, Tlayacapan, Yautepec y Tlalnepantla), pero también se tienen indicios que se comercializa en los municipios de la región poniente del estado (Mazatepec, Tetecala, Amacuzac y Coatlán del Río).

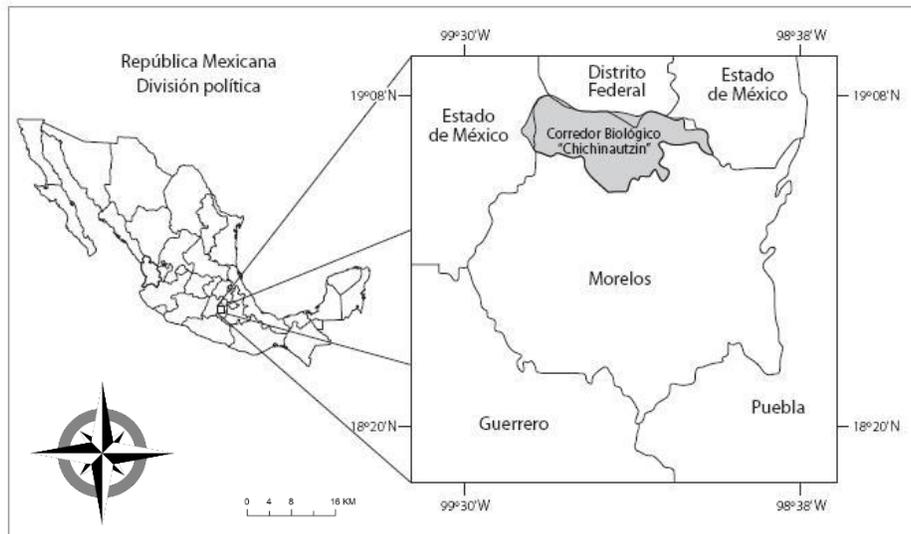


Figura 2. Localización del corredor biológico Chichinautzin en el estado de Morelos. Fuente: Rendón-Hernández (2015).

Las personas que colectan y venden hongos principalmente en las cabeceras de los municipios llaman a *Volvariella* spp. como hongo de cazahuate, poloncos, clavitos, trompitos, yemas de huevo, yemitas y calaveritas; se encuentran en la hojarasca cerca de árboles de encino y ocote; y en árboles muertos de cazahuate, amate, pochote, copal, ciruelo, nopal de campo o silvestre, y estiércol de ganado bovino. El costo de *Volvariella* spp. oscila entre los 20 y 25 pesos mexicanos (agosto 2016) por 250 g dependiendo la calidad del hongo así como la fase de maduración en la que se encuentre, ya que tiene mayor valor la fase temprana o de huevo, que la fase madura o adulta (Fig. 3), desafortunadamente la recolección masiva de esta especie hongo pone en riesgo su existencia y a largo plazo su extinción, cada año la colección es más escasa debido a los periodos irregulares de lluvias, escaso sustrato en donde crezcan los hongos (troncos muertos de cazahuates) y la recolección excesiva que existe en el corredor biológico Chichinautzin; ya que personas principalmente del

estado de México y el Distrito Federal recolectan sin permiso de las autoridades correspondientes. Además de la comercialización de *V. spp.* en los mercados municipales, se encuentran otros hongos de importancia alimenticia tales como el hongo azul (*Lactarius indigo*), oreja de cazahuate (*P. ostreatus*) y esobetas (*Ramaria spp.*) que oscilan entre los 20-30 pesos mexicanos (agosto 2016).



(a)



(b)

Figura 3. Comerciantes de hongos silvestres en día de plaza en Tepoztlán, Morelos. Doña Ernestina de Zaide (a) se dedica a recolectar hongos (*Volvariella spp.* y *Pleurotus spp.*) y hiervas silvestres en la localidad de San Andrés de la Cal, municipio de Tepoztlán, Morelos. La señora Ana Ocampo con su esposo Eduardo Jaimes (b), recolectan y venden hongos silvestres (*Lactarius indigo* y *V. spp.*) y leña en la localidad de San Juan Tlacotenco, Municipio de Tepoztlán, Morelos (Fotos: Olvera, agosto 2016).

V. bombycina al ser un basidiomycete, presenta en su ciclo biológico formación de esporas de origen sexual llamadas basidiosporas, las cuales se forman sobre células especializadas llamadas basidios que se encuentran en el himenio del basidiocarpo (Herrera y Ulloa, 1998). Según Chang y Yau (1971), cuando estas basidiosporas germinan, generan un micelio primario haploide, también llamado monocariótico, el cual es compatible entre sí. Cuando se fusiona por anastomosis (fusión de hifas por puentes), se forma el micelio secundario el cual dará origen a la formación de primordios, iniciando así la formación del cuerpo fructífero del hongo.

Cuando este llega a su estado maduro, las células terminales de las hifas en el himenio se agrandan gradualmente en forma grupal. Estas células binucleadas constituyen las basidias. Es ahí donde se efectúa la cariogamia (fusión de núcleos), dando lugar a un gran núcleo diploide. Cuando la célula se agranda, el núcleo sufre división meiótica en la base del basidio y cuatro núcleos haploides se forman; a la vez cuatro esterigmas avanzan hacia afuera al final del basidio, formándose las basidiosporas iniciales. Los cuatro núcleos y del citoplasma emigran hacia arriba y pasan por el pasaje del esterigma, el cual se cierra formando una pared y conformándose así las basidiosporas uninucleadas, quedando la basidia vacía (Fig. 4). A este patrón de reproducción sexual de le conoce como homotalismo.

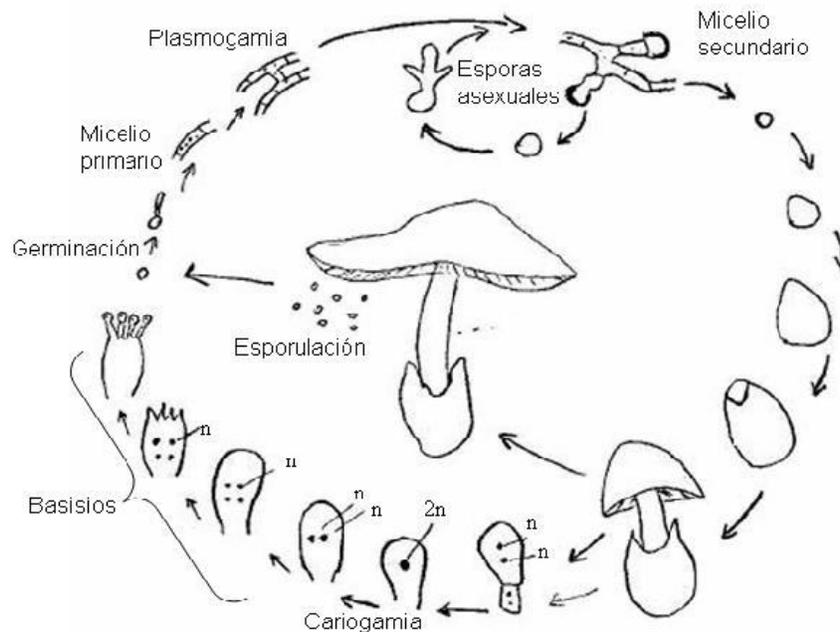


Figura 4. Ciclo biológico de *Volvariella bombycina*. Fuente: Julián-Carlos (2006).

Cuando el hongo dentro de su ciclo biológico se encuentra como micelio monospórico, se pueden formar numerosas clamidosporas (esporas asexuales), las cuales macroscópicamente se detectan como manchas café-rojizas; esto es anteriores a la anastomosis. Estas clamidosporas multinucleadas son sucesoras de células hinchadas en el micelio, generalmente se forman cuando se presentan condiciones adversas y tienen la capacidad de germinar (Li, 1982). Dentro del ciclo biológico de *V.*

bombycina, se contempla seis etapas de formación del cuerpo fructífero, las cuales son: cabeza de alfiler, botón pequeño, botón, huevo, elongación y adulto (Fig. 5); aunque las etapas de importancia comercial se enfocan a la de “huevo” y “adulto” (Chang y Yau, 1971; Chang y Miles, 1989).

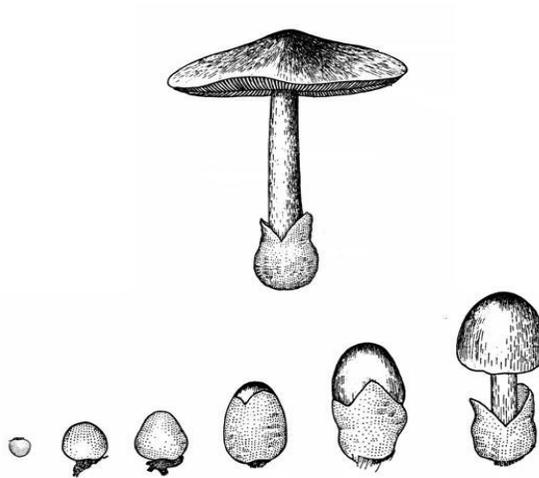


Figura 5. Etapas de desarrollo del cuerpo fructífero de *Volvariella bombycina*. Fuente: Julián-Carlos (2006).

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Requerimientos para el cultivo de hongos

La producción de hongos comestibles cultivados es un proceso de reconversión ecológica, pues transforma materiales lignocelulósicos residuales en alimento proteínico y en mercancía para la venta. En muchos países asiáticos y del Hemisferio Norte, el cultivo de hongos comestibles es una agroindustria desarrollada y significativa, donde no sólo se generan divisas, sino que también absorben cuantiosa mano de obra durante todo el año. El desarrollo expansivo y tecnológico de este tipo de cultivos se debe principalmente al considerable aumento del consumo en E.E.U.U. y Europa. La mayoría de los países productores también son importadores ya que el consumo promedio en esos países es significativamente alto.

Se estima que en Alemania, Canadá y Estados Unidos se consumen unos 4 kg/hab/año. En los países bajos el consumo llega a los 14 kg/hab/año. Para hacer frente a este consumo, que está muy lejos de ser estacional, muchos países han desarrollado estrategias propias de producción para abastecer tanto a los mercados locales como externos, lo que ha generado procesos productivos que prácticamente no se detienen durante todo el año y que aprovechan diversos desechos agroforestales como sustratos para el cultivo y transformándolos en productos mucho menos nocivos para el ambiente (Schiess, 2006).

El cultivo de hongos comestibles representa en la actualidad una alternativa para fomentar el desarrollo en áreas rurales. La técnica básica está establecida y no requiere de economías a gran escala para realizarse, pero la mayoría de intentos han fracasado, debido a la ignorancia sobre el tema y la falta de asistencia técnica e información disponibles para cualquier persona común y corriente que pretenda cultivar hongos. El cultivo de hongos requiere control sobre las condiciones del medio (temperatura, humedad, ventilación, luz, oscuridad, etc.). Entre más factores del medio se puedan controlar, más costos se tendrán que incorporar a la inversión para el cultivo. Los cultivos son más estables y más productivos cuando el lugar de cultivo posee aire acondicionado, pero los costos de producción se elevan. Sin embargo, las

condiciones de cultivo artesanal son baratas, aunque dependientes de las condiciones del ambiente y son productivas a bajo nivel, suficiente para autoconsumo y comercialización del excedente. En el cultivo artesanal de hongos se puede ejercer también cierta regulación sobre los factores del medio, acondicionando de tal manera los locales para permitir el flujo de corrientes de aire y aplicación de riego (López, 1995).

Aunque en los países desarrollados se requiere de un significativo capital para establecer una planta de producción de hongos, en muchos países subdesarrollados es suficiente sólo una fracción de dicho capital por dos razones principales: La mano de obra es barata y el clima es más benigno que en las latitudes situadas más allá de los trópicos de Cáncer y Capricornio. En estos casos no se necesita el equipo altamente tecnificado que se emplea en los países ricos para sustituir su costosa labor humana, ni los sistemas de calefacción, enfriamiento y los materiales aislantes que son indispensables para afrontar las inclemencias de un clima extremo. 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 incrementó la cantidad y el lugar de producción de algunas especies de hongos comestibles, sino también 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 agroindustriales, por ejemplo, semillas de algodón, olotes, semillas de girasol, residuos de papel, etc.

3.2 Sustratos sólidos suplementados

La generación de residuos agroindustriales ha sido tema de interés entre investigadores de todo el mundo, puesto que algunos de sus constituyentes son vistos como materia prima para la generación de gran diversidad de productos de aplicación e importancia industrial. Estos trabajos inicialmente se enfocaron a la obtención de productos con un valor agregado, sin embargo, con el paso del tiempo y con la aplicación de procesos biotecnológicos, vieron en el aprovechamiento de estos residuos una alternativa para su disposición, reduciendo así los impactos generados a raíz de su producción (Saval, 2012; Ravera *et al.*, 2008).

En la actualidad los residuos tienen gran aplicación en los diferentes sectores productivos, siendo utilizados como sustrato para la producción de metabolitos de interés industrial a través de procesos fermentativos, como en la obtención de pasta de celulosa para la fabricación de papel; como sustratos en la obtención de bioenergéticos, en la preparación de suplementos alimenticios y el mejoramiento de suelos mediante el compostaje (Saval, 2012; Marqués, 2010). El cultivo de hongos comestibles es otra aplicación, cuya importancia se ve reflejada en las ganancias generadas por esta actividad. La adaptación de modelos biotecnológicos en las comunidades contribuye al desarrollo de actividades productivas complementarias a prácticas agrícolas tradicionales mediante las que es posible no solo la obtención de alimentos de alto valor nutricional sino también su aplicación en diversas áreas de producción, dicho de otra manera, por Monroy y Viniegra (1990) “lo que antes se consideraba como desecho, es ahora valorado como materia prima en la producción de alimento y uso industrial”.

Tan solo en nuestro país, la actividad forestal es responsable de la generación de gran cantidad de residuos agroforestales, mismos que pueden ser aprovechados

como sustratos con gran potencial en el cultivo de hongos comestibles (Bautista *et al.*, 2007; COLPOS, 2003). Estados como Durango, Chihuahua y Michoacán, que representan el 66% de la producción de subproductos forestales a nivel nacional pueden ser vistos como áreas de oportunidad para la apertura de empresas rurales dedicadas a esta labor, lo que permitiría la generación de empleos y la obtención de alimento de alto valor nutricional.

3.3 Propiedades funcionales y medicinales de *V. bombycina*

Es apreciado por sus características nutricionales y químicas y se le han reportado una buena cantidad de antioxidantes y efectos antitumorales e hipercolesterolémicos (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 mostró 24.6% de fibra dietética, 28.3% de proteína cruda, 2.72% lípidos, 10.09% ceniza, 9.68% humedad y 38.9% de carbohidratos (Jegadeesh *et al.*, 2010).

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. 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 (Álvarez-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). 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).

3.4 Residuos agrícolas como sustrato para la producción 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, desprovistos de protección y áreas especiales para su acumulación los 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. Una opción 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).

3.5 Cultivo de los hongos comestibles, funcionales y medicinales en sustratos sólidos suplementados

El cultivo de hongos comestibles, funcionales y medicinales sobre sustratos lignocelulósicos es una buena alternativa para producir alimentos. Los hongos comestibles convierten los desechos agrícolas en alimentos, por lo que son considerados como una fuente barata de proteína. La mayoría pueden ser producidos en un corto período de tiempo a bajo costo y en áreas reducidas. Además, el desarrollo del cultivo de setas a pequeña escala en países en desarrollo necesita una tecnología sencilla, de condiciones poco sofisticadas. Después del proceso de cultivo y la cosecha de las setas, el sustrato remanente es aprovechable como abono orgánico, por su alto contenido en nitrógeno, fósforo y potasio (Chang, 2007).

El cultivo de hongos comestibles como actividad productiva ha ido ganando terreno en el mercado nacional, principalmente por que los insumos utilizados para su

cultivo son subproductos agrícolas, forestales y agroindustriales como bagazo tequilero, caña de azúcar, pulpa de café entre otros, lo que representa alternativas atractivas para el uso integral del recurso disponible. Los costos de inversión requeridos son bajos (Naranjo y Herrera, 2000), generando una importante dinámica económica en torno a esta actividad, observándose incremento en el número de empresas dedicadas a la comercialización del producto tanto en fresco como procesado (COLPOS, 2003). No obstante, en nuestro país la recolección y cultivo de hongos comestibles son consideradas actividades extra agrícolas, desarrolladas en su mayoría por sistemas familiares rurales, este fenómeno se observa principalmente en la región central del país (Martínez-Carrera *et al.*, 2007).

3.6 Antecedentes del cultivo de *V. bombycina* en México

En México *V. bombycina*, aún no es objeto de cultivo comercial, pero crece silvestre sobre diversos materiales agroindustriales parcialmente degradados, como los bagazos de caña de azúcar, henequén, maguey tequilero, pulpa de café y sobre troncos en descomposición de diferentes especies tropicales y subtropicales (Guzmán *et al.*, 1993).

La población rural conoce a este hongo con los nombres de “pollitos”, “hongo del bagazo”, “hongo del rastrojo”, “hongo de la pulpa de café”, “hongo de las huertas”, “silver straw mushroom” (Guzmán, 1997) y “hongo del plátano” (Sánchez *et al.*, 1997). A nivel experimental se han obtenido sus fructificaciones en bagazo de henequén, paja de cebada y pulpa de café (Ancona y Salmenes, 1996; Salmenes y Guzmán, 1994, Salmenes *et al.*, 1996; Vela y Martínez-Carrera, 1989), pero a nivel rural no se tienen antecedentes del cultivo de esta especie.

3.7 El ácido acetilsalicílico como suplemento en sustratos sólidos

El ácido salicílico ha sido reconocido por tener un papel en la capacidad de defensa de las plantas ante el ataque de patógenos. En medicina tradicional la corteza de los árboles de sauce (*Salix spp.*) se masticaba para proporcionar alivio del dolor y la inflamación, como se describe en los escritos por el médico griego, Hipócrates (Siglo V a. C.) y el médico y botánico Dioscórides (Siglo I d. C.). El ácido salicílico,

componente terapéutico en la corteza de sauce, fue identificado por primera vez y aislado durante el siglo XIX y modificado químicamente en lo que se conoce hoy en día como la aspirina o ácido acetilsalicílico (Delaney, 2010). El ácido acetilsalicílico (AAS) es un metabolito secundario de síntesis orgánica, derivado del grupo de los fenilpropanoides o también llamados compuestos fenólicos, descendientes del fenol (Fig. 6), dichos compuestos están ligados a las actividades de defensa de las plantas, así como al endurecimiento de la pared celular (ligninas), actividad antimicrobiana (furanocumarinas, isoflavonoides y estirpenos), repelentes (taninos) y en procesos de señalización. Actualmente, se ha considerado al AAS como un biorregulador del crecimiento de las plantas (Taiz y Zeiger, 2006). Rendón-Hernández (2015), indicó que el ácido acetilsalicílico tiene un efecto en la fisiología de los hongos *Fistulina guzmanii*, *Volvariella bombycina* y *Hericium erinaceus*, así como en su eficiencia biológica y en el contenido de proteínas a una concentración de AAS 100 µM.

La especie de *Ganoderma lucidum* (cepa CP-145) conocida por las comunidades indígenas y campesinas en México se ha cultivado axénicamente en medios y sustratos convencionales, así como modificados a través de la adición de ácido acetilsalicílico. El AAS tiene un efecto importante sobre el rendimiento, la composición, así como las propiedades funcionales y medicinales de los extractos hidroalcohólicos estandarizados obtenidos a partir de los basidiocarpos cosechados en ambas condiciones de estudio (control *versus* tratamiento con AAS). En comparación con los extractos naturales obtenidos a partir de basidiocarpos de *G. lucidum* cultivados sobre aserrín de encino, se obtiene un mayor rendimiento (8.7%) en los extractos modificados obtenidos a partir de basidiocarpos cultivados sobre aserrín de encino con AAS (Martínez-Carrera *et al.*, 2016).

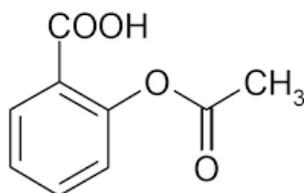


Figura 6. Fórmula estructural del ácido acetilsalicílico (AAS). Fuente: Martínez-Carrera *et al.*, (2016).

IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

México es un país megadiverso, principalmente en hongos comestibles, lo cual representa un gran potencial en recursos genéticos nativos. En esta investigación se seleccionó y estudió a *V. bombycina*, un hongo comestible que crece sobre materia en descomposición, raíces y troncos de diferentes especies de árboles, principalmente caducifolios, también suele crecer sobre ramas muertas de manzanos.

En la década de 1980s en el entonces Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB), en Xalapa, Veracruz, se iniciaron las investigaciones encaminadas a la producción de hongos comestibles, entre ellas, la obtención de fructificaciones de *Volvariella bombycina* var. *flaviceps* (Murill) Shaffer sobre paja de sorgo o en mezcla con cáscara de cacahuete (Bernabé-González, 1994). Rendón-Hernández (2015), cultivó la cepa CP-675 de *V. bombycina* en paja hidratada estéril hidratada con soluciones de ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM, estableciendo las condiciones de cultivo y la caracterización de los cuerpos fructíferos en los diferentes tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM).

Los hongos comestibles del género *Volvariella* son poco conocidos, aunque se tienen reportes de que se consume de manera silvestre y se comercializa en los mercados de la región central de México. Posee características atractivas por su color amarillo limón, textura suave y valor nutricional y funcional. Se reporta por primera vez su cultivo en condiciones controladas en sustratos sólidos estériles suplementados, con el fin de realizar un paquete tecnológico y ofrecerlo a las comunidades para su cultivo y comercialización. La estrategia directa se basa en el aprovechamiento del recurso genético nativo, así como la utilización de productos agroindustriales suplementados, para apoyar el proceso de desarrollo social y económico principalmente del sector rural. También se estudiaron los factores físicos, químicos y biológicos para optimizar el método estandarizado de extracción de compuestos bioactivos de hongos comestibles, funcionales y medicinales, utilizando una solución hidroalcohólica para extraer dichas propiedades del *V. bombycina*. Se presenta el primer reporte sobre las propiedades funcionales de *V. bombycina*, recurso genético nativo de la región central del país.

V. HIPÓTESIS

En el hongo comestible *Volvariella bombycina*, las propiedades funcionales (antioxidantes y antimicrobianas) de los basidiocarpos cosechados varían de acuerdo a los sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS).

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Determinar las propiedades funcionales (antioxidantes y antimicrobianas) de los basidiocarpos de *Volvariella bombycina* cultivados en sustratos sólidos suplementados, generando una técnica de producción con potencial en la región central de México.

6.2 Objetivos específicos

1. Cultivar el hongo comestible de *V. bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS).
2. Determinar las propiedades funcionales (antioxidantes y antimicrobianas) de los extractos de *Volvariella bombycina*.
3. Desarrollar una estrategia para el aprovechamiento de los recursos genéticos de *V. bombycina*, con base en sus propiedades funcionales y potencial de cultivo a nivel de pequeña y gran escala, para las comunidades del centro de México.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Material biológico

Las cepas de *V. bombycina* se conservan en la Unidad de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (UREGENHC) del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla (Cuadro 2).

Cuadro 2. Selección de cepas de *Volvariella bombycina* para la realización de este trabajo.

Registro	Apariencia	Procedencia	Sustrato
CP-675		Estado de Morelos	Tronco de árbol muerto
CP-733		Carretera federal Atlixco-Puebla	Tronco de árbol muerto

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales en la Unidad de Productos Biotecnológicos del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. En la figura 7 se muestra la metodología general del presente trabajo de investigación.

Se procedió a preparar medio de cultivo para mantener y propagar los hongos en estudio, siendo el medio de cultivo completo para levaduras (CYM [Complete Yeast Medium]) utilizado.

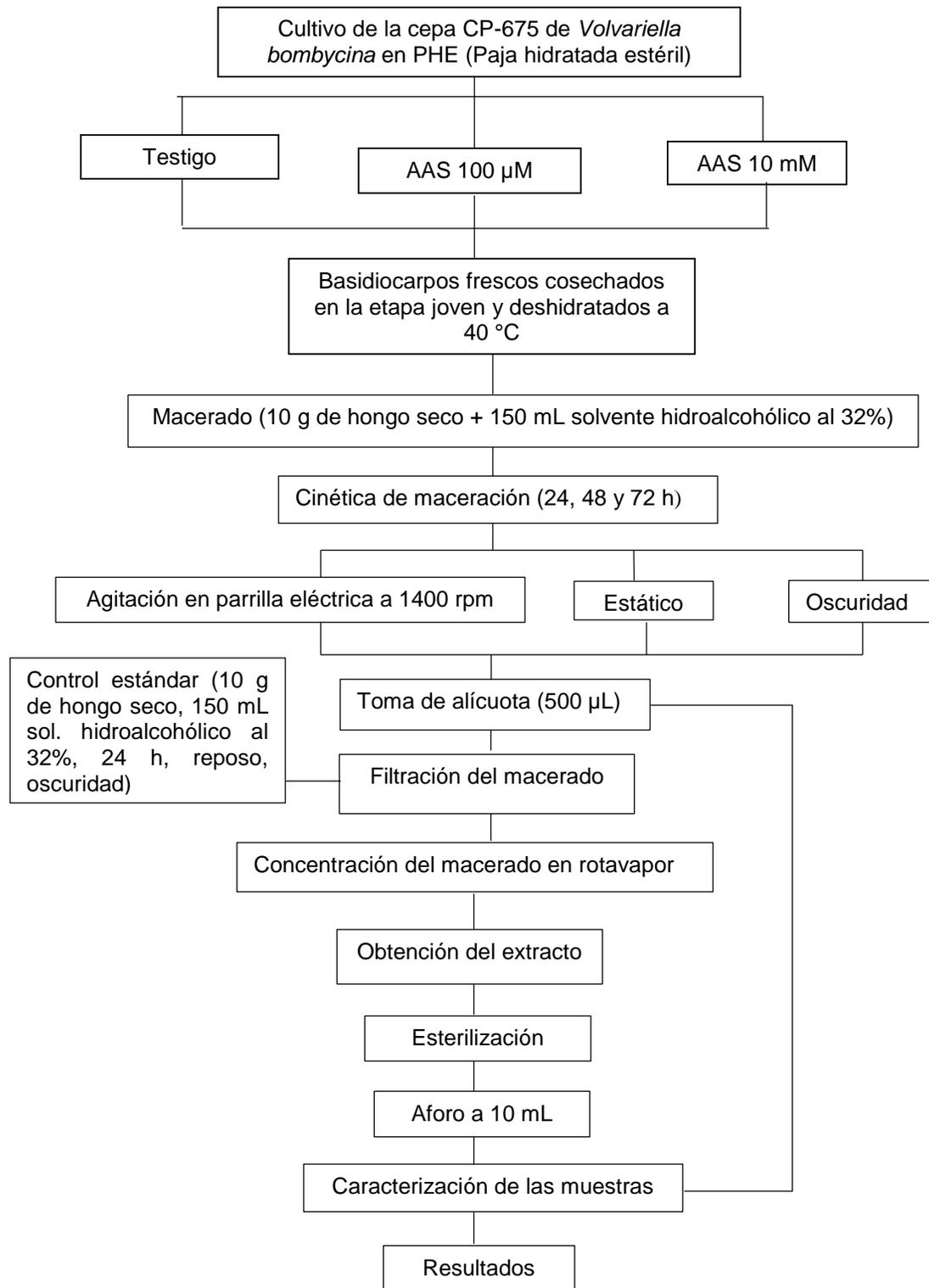


Figura 7. Diagrama de flujo para la extracción de compuestos bioactivos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* y estandarización las condiciones experimentales. AAS=Ácido acetilsalicílico.

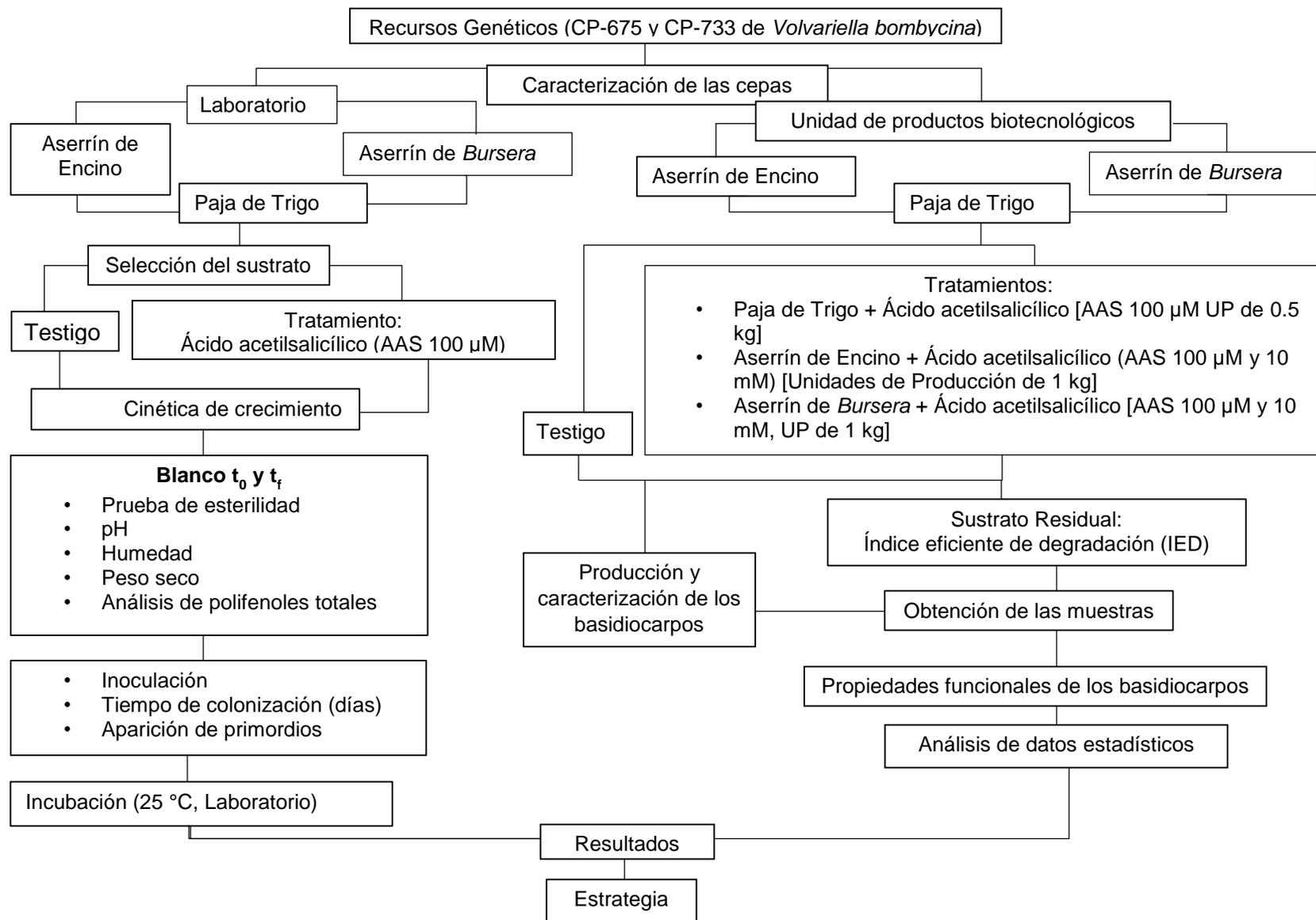


Figura 8. Diagrama de flujo general para la realización de este proyecto.

7.2 Preparación del inóculo o “semilla”

Para la elaboración de la semilla, se hidrataron los granos de trigo en agua caliente por 20 minutos. Posteriormente, los granos de trigo se dejaron reposar por otros 20 minutos. Después de este tiempo, se transvasaron a una tina para eliminar el exceso de humedad y enfriar la semilla, se agregaron 4 gramos de cal y 12 gramos de yeso por cada kilogramo de trigo en peso seco, la mezcla se distribuyó bien y el trigo se colocó en frascos de vidrio de 1 L de capacidad.

Los frascos con la semilla de trigo se esterilizaron en una autoclave u olla de presión (All American) a 121°C con 1.05 kg/cm² de presión o 15 libras/pulg², durante 1 hora y 30 minutos. Posteriormente, los frascos se enfriaron a temperatura ambiente antes de ser inoculados, previamente las cepas del hongo *V. bombycina* (CP-675 y CP-733) se cultivaron en cajas Petri en el medio de cultivo CYM. Posteriormente, se sembraron los frascos de vidrio, incubándose de 14 a 20 días a 25 °C ± 3 °C hasta que el micelio cubrió al 100% la semilla, a este cultivo se le llamó inóculo.

7.3 Preparación de las unidades de producción (UP) para cultivo en sustrato sólido

Los sustratos sólidos elegidos fueron: paja, aserrín de encino y aserrín de palo mulato (*Bursera* spp). Se usó agua potable para hidratar los sustratos del testigo y también se prepararon las soluciones de ácido acetilsalicílico (SIGMA, China), a diferentes concentraciones (AAS 100 µM y AAS 10 mM) consideradas como tratamientos. Se elaboraron unidades de 1 kg de sustrato húmedo en bolsas de polipropileno de 13.5 x 80 cm con filtro (Unicorn Imp. E.U.A).

7.4 Determinación del peso seco, temperatura y pH del sustrato

De cada sustrato elaborado se tomaron 5 réplicas de 5 g c/u, antes y después de su esterilización, 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, 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 pH 4 (J: T: Backer, México). Para cada lectura se registraron 5 repeticiones homogenizando la mezcla previa a la lectura.

7.5 Inoculación del sustrato

A las bolsas con sustrato estéril se les agregó aproximadamente 200 g de inóculo y se distribuyó por toda la bolsa en campana de flujo laminar. Las bolsas fueron selladas con un sellador termo electrónico (Impulse Sealer, UL), para evitar la contaminación y la pérdida de humedad.

7.6 Incubación de las unidades de producción (UP)

Las unidades de producción se incubaron en un cuarto con ciclos de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad, a temperatura máxima de 27 °C y mínima de 19 °C durante 20 días hasta que se observó la presencia de primordios.

7.7 Fructificación de las cepas en estudio

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, las unidades de producción se transfirieron al módulo de fructificación, se perforaron las bolsas con ayuda de unas tijeras para la liberación de los primordios, las unidades de producción se mantuvieron de 40-45 días con un rango de temperatura de 25 °C y 20 °C con una humedad relativa superior al 75% hasta que los basidiocarpos alcanzaron el estadio adulto. Finalmente, los cuerpos fructíferos fueron cosechados desprendiéndolos desde la base del sustrato y fueron procesados.

7.8 Caracterización 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 les midió la conductividad, resistividad, pH, temperatura y peso seco en cada tratamiento. Para poder comparar estas variables con otros hongos funcionales y medicinales, se utilizaron los basidiocarpos de *Ganoderma lucidum* (CP-145) y *Lentinula edodes* (P-580) cultivado en la unidad de productos biotecnológicos.

Los basidiocarpos se deshidrataron en charolas en una incubadora (Ili Lab-line, México) durante un periodo de 48 horas a 40 °C (Fig. 9) 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.

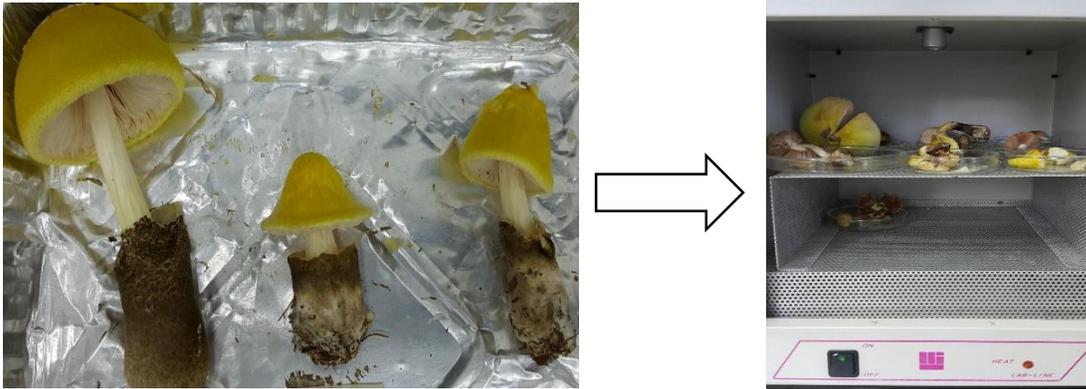


Figura 9. Secado de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* a 40 °C.

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 de degradación (ID) 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 peso seco inicial de la unidad de producción multiplicado por 100 (Nyochembeng *et al.*, 2008).

7.9 Caracterización del sustrato residual

De las unidades de producción (UP) cosechadas con basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina*, se les tomó y registró el peso fresco residual a cada unidad de producción y se tomaron 5 réplicas de 5 g por UP. para la obtención del

peso seco residual final, se homogenizaron y se pesaron en una balanza analítica (Ohaus, USA). Las muestras de sustrato fresco residual se colocaron en un horno (Felisa, México) para su secado a 100°C durante 48 horas. Para determinar el pH y temperatura de los sustratos residuales, se utilizó una relación 1:2 de sustrato y agua destilada estéril, ya que las muestras tomadas estaban deshidratadas dificultando su lectura. Para la lectura del pH se utilizó un potenciómetro (*Conductronic*) previamente calibrado.

7.10 Obtención de compuestos bioactivos en macerados y extractos

Para la obtención de compuestos bioactivos se estableció la determinación de polifenoles totales utilizando el método colorimétrico-espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Müller *et al.*, 2010); para la determinación de la actividad antioxidante por DPPH se utilizó el protocolo descrito por Öztürk *et al.* (2011), donde se determinaron las respectivas alícuotas necesarias para preparar concentraciones de 800, 700, 600, 500, 400, 200, 100 y 0 µg/mL de los extractos.

7.10.1 Variables preliminares

Las variables propuestas para la realización de este proyecto se muestran a continuación:

- 1) Muestra: 10 g de basidiocarpos deshidratados de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.
- 2) Sobres de papel filtro de poro mediano de 6.0 cm de ancho x 9.5 cm de largo.
- 3) Volumen de solvente: Para obtener los extractos por maceración se usaron frascos de vidrio con boca ancha y tapón de rosca con capacidad de 250 mL. Se utilizó un solvente hidroalcohólico al 32%. Se usó un sólo volumen de solvente (150 mL).
- 4) Temperatura: Las muestras se conservaron a temperatura ambiente y en oscuridad.
- 5) La maceración se llevó a cabo en dos condiciones para cada muestra:

- En agitación utilizando una parrilla eléctrica (Cimarec, Thermo Fisher Scientific U.S.A) a 140 rpm para mantener el macerado en movimiento.
 - En estado estático o reposo, las cuales se agitaron cada 24 horas.
- 6) Tiempos: Los macerados se obtuvieron después de 24, 48 y 72 horas.
- 7) Toma de muestras de la cinética:
- Macerados se tomaron 3 mL de cada macerado a las 24, 48 y 72 horas y se colocaron en tubos estériles Falcón y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.
 - Extractos se tomaron 3 mL de cada extracto y se colocaron en tubos estériles Falcón y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.
- 8) Decantación: Al término del tiempo de maceración se vertió la fase líquida en un vaso de precipitados, las muestras se presionaron manualmente y después con una prensa hidráulica a 2.6 toneladas de presión (300 Kg/cm²).

7.10.1.1 Cinética de maceración

Se pesaron 10 g de basidiocarpo seco de la cepa CP-675 de *V. bombycina* y se molió en vasos de licuadora de 200 mL (Osterizer) con 2 pulsos de 10 s cada uno para evitar que se caliente la muestra hasta obtener un tamaño de partícula lo más fina posible (Fig. 10). 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 con hilo blanco marca Seralón.



Figura 10. Proceso de molido de *Volvariella bombycina* (CP-675).

Las muestras de 10 g de basidiocarpo en peso seco contenidas en los sobres de papel filtro se colocaron en un frasco estéril de vidrio con tapa de rosca de 250 mL y en seguida a cada frasco se le agregaron 150 mL de una solución hidroalcohólica (32%)

El tiempo de maceración fue de 24, 48 y 72 horas en condiciones de obscuridad y a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se retiró el sobre y exprimió hasta recuperar el macerado en una prensa hidráulica (Fig.11). Los extractos se obtuvieron después de 24 y 72 horas de maceración.

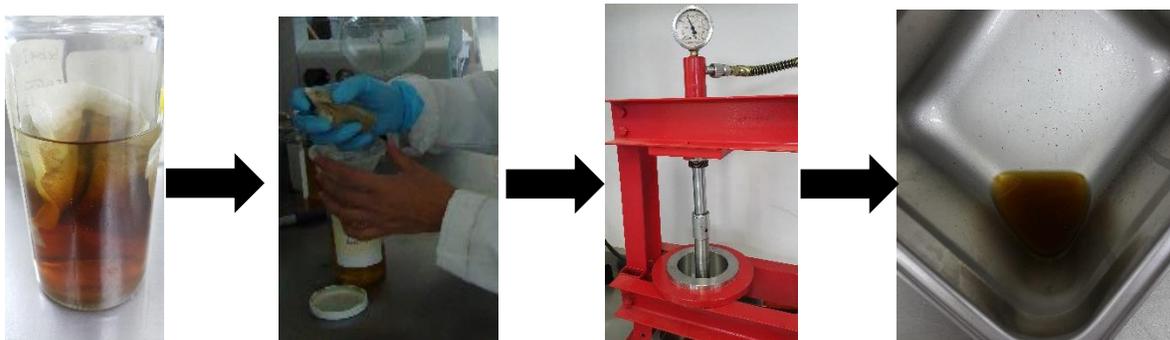


Figura 11. Proceso de prensado de la muestra de *Volvariella bombycina* (CP-675) en el sobre de papel filtro.

7.10.2 Variables estandarizadas

Con los datos obtenidos de las variables preliminares, se determinaron las variables estandarizadas para la realización de este proyecto, las cuales se muestran en la siguiente lista:

1. Muestras: 5 g de hongo seco de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivados en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM.
2. Sobre de papel filtro de 6.0 cm de ancho x 9.5 cm de largo.
3. Volumen de solvente: frascos de vidrio con boca ancha y tapón de rosca con capacidad de 250 mL. Solvente hidroalcohólico al 32% v/v. Volumen de solvente (150 mL).
4. Temperatura: Las muestras se conservaron a temperatura ambiente y en obscuridad.
5. La maceración se llevó acabo en una condición para cada muestra, en estado estático o reposo.
6. Tiempos: Los macerados se obtuvieron después de 24 horas.

7. Toma de muestras de la cinética:

- Macerados se tomaron 4 mL de cada macerado a las 24 horas y se colocaron en tubos estériles Falcón y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.
 - Extractos se tomaron 2 mL de cada extracto y se colocaron en tubos estériles Falcón y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.
8. Decantación: Al término del tiempo de maceración se vertió la fase líquida en un vaso de precipitados, las muestras se presionaron manualmente y después con una prensa hidráulica a 1.5 toneladas de presión.

7.11 Concentración de las muestras estandarizadas en rotavapor

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 de 5-7 mL. El concentrado obtenido se aforó a 10 mL en un matraz de 10 mL con el mismo solvente (Fig. 12). Posteriormente, el extracto se esterilizó en un sistema Sterifilm (Merk Millipore) con filtros S-Pak de poro de 0.45 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 posterior análisis.



Figura 12. Filtración y concentración del macerado de *Volvariella bombycina* (CP-675) en rotavapor.

7.12 Caracterización de los extractos

La caracterización de los extractos consistió en el rendimiento, cuantificación del contenido de polifenoles totales, obtención de la actividad antioxidante por DPPH y en la evaluación del efecto bacteriostático y el efecto bactericida de los extractos de

basidiocarpos deshidratados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivados en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM, contra cepas bacterianas de *Streptococcus agalactiae* (CPB4), *Escherichia coli* (CPB-8) y *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

7.12.1 Rendimiento

El rendimiento se determinó por gravimetría y consistió en lo siguiente: de los macerados antes de concentrar en rotavapor y los extractos obtenidos, con ayuda de una micropipeta de 1 mL (marca Thermo Scientific, Finnpiquette) se tomaron 5 réplicas de cada muestra, 0.5 mL para el caso de macerados y 0.2 mL para extractos, en cajas de Petri previamente pesadas y se colocaron en un horno de secado (Lab-line, U.S.A.) a 40 °C por 24 horas hasta la evaporación del solvente y peso constante. Posteriormente, se realizaron las operaciones para calcular el rendimiento en mg/mL de cada muestra.

Para la obtención del rendimiento por densidad óptica (D.O.) consistió de la siguiente manera: de cada muestra se tomaron 100 μ L con una micropipeta (Thermo Scientific, Finnpiquet) y se colocaron en un pozo de una microplaca transparente de 96 pozos y se leyó en un espectrofotómetro de microplacas (EPOCH, Biotek) a longitudes de onda de 200 a 1000 nm.

7.12.2 Caracterización de los macerados y extractos preliminares y estandarizados

Se llevó a cabo la medición de la conductividad, resistividad, pH y temperatura con un medidor de pH (Seven Excellence Multiparameter, Mettler Toledo E.U.A) como se muestra en la figura 13, se realizaron 5 réplicas de 4 mL de los macerados antes de la concentración en rotavapor y 5 réplicas de 2 mL de los extractos. De cada muestra se tomó 2 mL con la ayuda de una pipeta y se colocó en una probeta de 10 mL.



Figura 13. Potenciómetro utilizado para la medición de pH, conductividad y resistividad.

Cuantificación de los grados Brix: con la ayuda de una micropipeta de 1 mL (Thermo Scientific, Finnpiquette) se tomaron réplicas ($n=5$) de 300 μ l de cada macerado antes de concentrar en el rotavapor y de extracto. Cada muestra se colocó en el lector del refractómetro (PAL-1 ATAGO), como se observa en la figura 14, previamente calibrado con agua destilada.



Figura 14. Refractómetro para medir grados Brix de las muestras de *Volvariella bombycina* (CP-675 y CP-733).

7.13 Propiedades funcionales

Para cuantificar las propiedades funcionales de los extractos del hongo *V. bombycina*, se utilizó la cuantificación de polifenoles totales y la medición de la actividad antioxidante por DPPH.

7.13.1 Polifenoles totales

Para la cuantificación de los polifenoles totales en los extractos se usó el método colorimétrico-espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Müller *et al.*, 2010). Para la determinación de Polifenoles totales se prepararon las siguientes soluciones:

Solución saturada de carbonato de sodio (Sigma, Aldrich). Se disolvieron 7.5 g de carbonato de sodio en 100 mL de agua destilada. Para inducir a la precipitación se agregaron 0.3 g de carbonato de sodio y se colocó en refrigeración durante una hora.

Folin-Ciocalteu. En un matraz volumétrico de 10 mL se puso 1 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma, Aldrich) y se aforó con agua.

Solución stock de ácido gálico (Sigma, Aldrich) a 1000 ppm. Se pesaron 0.010050 g de ácido gálico y se disolvió en 0.5 mL de etanol para ayudar a su disolución, se aforó a 10 mL con agua destilada.

Curva de calibración. En matraces aforados de 10 mL y envueltos con papel aluminio para evitar la luz, se colocaron 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mL de la solución stock de ácido gálico (Meyer) y se aforaron con agua destilada. Dichas soluciones tuvieron una concentración de 0, 25, 50, 100, 150 y 200 ppm, respectivamente. En una microplaca de 96 pozos se tomaron 4 réplicas de 20 μ L de cada muestra, sólo en el caso de los extractos debido a la intensidad de su color se tuvo que hacer diluciones 1:50 para evitar que los valores de la absorbancia fueran mayores a 1.5. Posteriormente, se agregaron 100 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu, 75 μ L de solución saturada de carbonato de sodio. La placa se incubó a temperatura ambiente y en oscuridad por 2 horas. Al término del tiempo de incubación, se leyó la placa en un espectrofotómetro de microplacas (EPOCH, Biotek) a una longitud de onda de 740 nm. La ecuación para el cálculo de polifenoles totales como equivalentes de ácido gálico se determinó en el programa de cómputo Excel, en base a los datos graficados de la curva de calibración. Con los valores de la solución estándar de ácido gálico se construyó una línea de tendencia, la ecuación de la recta y el valor de R^2 . Los valores de la ecuación ($y = mx + b$) se utilizaron para determinar la concentración del ácido gálico presente en los extractos.

7.13.2 Cuantificación de la actividad antioxidante por DPPH

Preparación de la muestra a partir de los extractos en sus diferentes solventes de las soluciones stock, en el programa en Excel “Diluciones”, se determinaron las respectivas alícuotas, necesarias para preparar concentraciones de 800, 700, 600, 500, 400, 200, 100 y 0 µg/mL de los extractos. Preparación del estándar: A partir de una solución stock de estándar en el programa Excel archivo “DPPH Original” se hicieron diluciones para determinar las curvas de concentración siendo las mostradas en el cuadro 3.

Cuadro 3. Concentración de la muestra y estándar para la determinación de la actividad antioxidante con el reactivo DPPH.

Muestra (µg/mL)	BHT (µg/mL)
0	0.00
100	0.25
200	0.50
400	0.75
500	1.00
600	5.00
700	10.00
800	25.00

Fuente: Escudero (2015).

Preparación de la solución de DPPH: La solución del radical libre 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) (0.4 mM) en metanol grado analítico se preparó en un matraz completamente cubierto con papel aluminio. El volumen a preparar depende de la cantidad de muestras a evaluar (4 mL por microplaca de 96 pozos). El peso molecular del DPPH es de 394.32 g/L. Para preparar 10 mL en concentración 0.4 mM se requiere de 0.0015773 g de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH). Para la reparación de la microplaca se hicieron réplicas por columnas (n=4); se pusieron 160 µL del extracto en sus diferentes concentraciones y 40 µL de la solución de DPPH (0.4 mM); se incubaron en obscuridad por 30 minutos; se reventaron las burbujas y se leyó en el espectrofotómetro Epoch a una longitud de onda de 517nm. A partir de las absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de actividad antioxidante con la ecuación que se presenta en la siguiente ecuación (Murillo *et al.*, 2007).

$$\text{Actividad Antioxidante (\%)} = \frac{A_{\text{control(-)}} - A_{\text{extracto}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

Acontrol (-): Absorbancia del DPPH (solo) al tiempo 0.
Aextracto: Absorbancia de los extractos.

El IC50 está definido como la cantidad de antioxidante al disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto (Deng *et al.*, 2011). En otros trabajos se reportaron criterios de selección para extractos vegetales con base en el IC50; considerando de alto potencial antioxidante aquellos con concentraciones menores a 30 µg/mL, con moderado potencial ubicados en un rango entre 30 µg/mL y 100 µg/mL y de bajo potencial antioxidante aquellos con una concentración de inhibición al 50 % por encima de 100 µg/mL (Ramos *et al.*, 2003).

7.14 Diseño experimental

Para la obtención de la información para contrastar las hipótesis establecidas, se hicieron las determinaciones procedentes utilizando un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones para la eficiencia biológica e índice de degradación, cuatro repeticiones para la determinación de plifenoles totales y actividad antioxidante y cinco repeticiones para rendimiento y grados Brix. Para el análisis de varianza se utilizó el Statistical Analysis System 9.4 (SAS, 2013).

7.15 Propiedades medicinales

Para demostrar los efectos que puedan tener los extractos de *V. bombycina* en algunas principales bacterias patógenas del ser humano, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) en la cual se explica a continuación.

7.15.1 Prueba de la susceptibilidad antimicrobiana por el método de microdilución

Preparación de medios de cultivo.

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.

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.

7.15.1.1 Obtención del inóculo bacteriano de las cepas CPB-4 (*Streptococcus agalactiae*), CPB-8 (*Escherichia coli*) y CPB-13 (*Pseudomonas aeruginosa*)

De un cultivo fresco (24 h 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 µL 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 ésas 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 ése al matraz (1) para tener una concentración de 1×10^8 bact/mL. Asimismo, se determinó el volumen a pasar del matraz 1 al matraz 2, para que al inocular 4 µL de este último en cajas de Petri de medio de cultivo Agar Mueller Hinton se confirmara una población de 50 Unidades Formadoras de Colonias, se 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 μL 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 1×10^8 bact/mL. Así mismo, se determinó el volumen a pasar del matraz 1 al matraz 2 para que al inocular 50 μL 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 (Fig. 15).

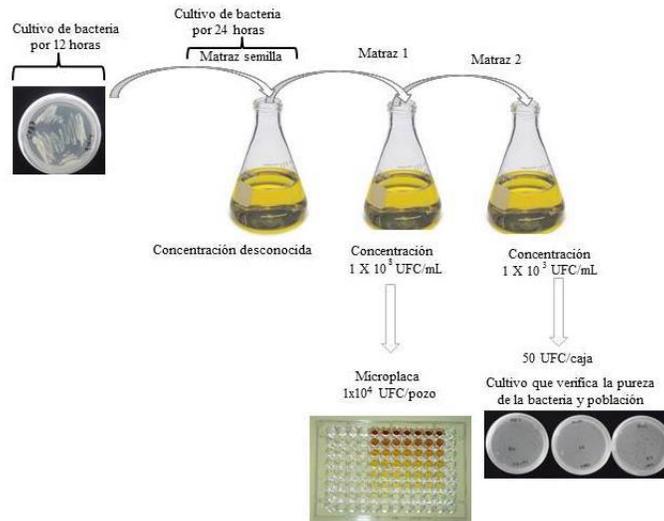


Figura 15. Ajuste de la cantidad de las bacterias a una concentración de 1×10^8 UFC mL⁻¹ para el diseño experimental y, de 1×10^4 UFC mL⁻¹ para verificar el inóculo 50 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Mueller Hinton. Fuente: Rendón-Hernández (2015).

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 μL 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. 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. 16).

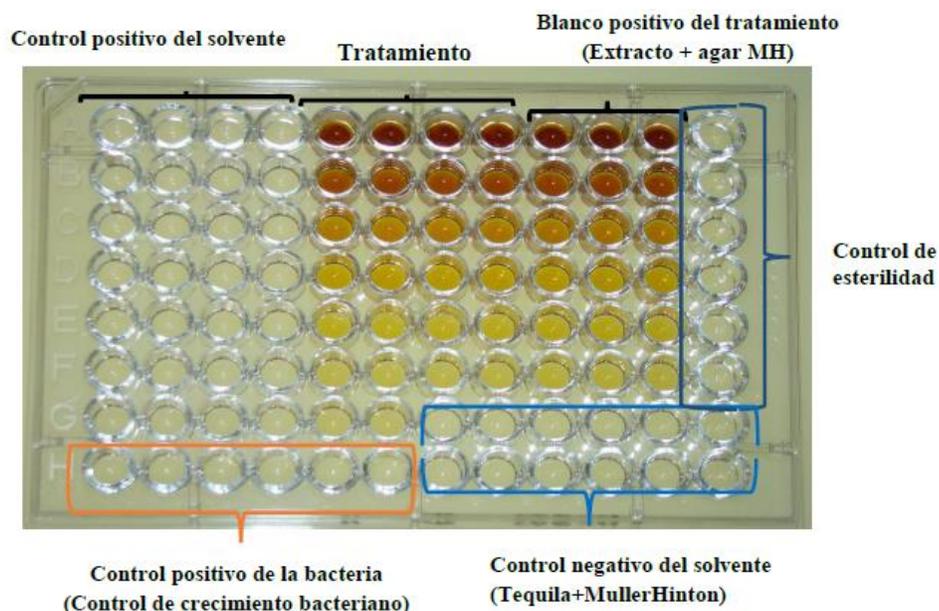


Figura 16. Distribución de las microdiluciones en la microplaca para la prueba de sensibilidad antibacteriana. Fuente: Rendón-Hernández (2015).

Después de realizada la distribución se procedió a inocular la microplaca con 2 μL de inóculo bacteriano (B), según se indica en la figura 17. El volumen final de cada pozo fue de 200 μL .

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

Figura 17. Especificaciones de la inoculación de la bacteria en estudio para realizar la prueba de sensibilidad antibacteriana en esta investigación. Fuente: Rendón-Hernández (2015).

El cuadro 4 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 (2015).

Cuadro 4. Distribución de la prueba de sensibilidad antibacteriana usando extracto de hongo como agente antimicrobiano. Cada pozo de la placa contenía 100 μ L de medio de cultivo estéril Mueller Hinton (MH).

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

Fuente: Rendón-Hernández (2015).

La concentración del extracto (tratamiento) en cada microdilución está representada en la figura 18. Dependiendo de la microdilución se tomaron 100 μ L de ese pozo y se transfirieron a la siguiente columna y así sucesivamente, hasta el último pozo de cada tratamiento. Los últimos 100 μ L de cada pozo se eliminaron.

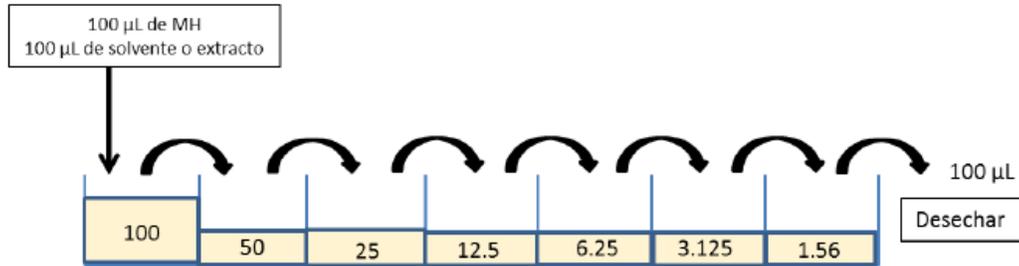


Figura 18. Vista longitudinal de la forma en que se realizó la microdilución de los extractos en la microplaca. El valor que está indicado dentro de cada pozo representa la dilución del extracto o del solvente, expresado en %, 100 µL fue el valor de la concentración inicial, 50 µL fue el valor de la concentración diluida a la mitad, y así sucesivamente. El volumen total de la microdilución de cada pozo fue de 200 µL. Fuente: Rendón-Hernández (2015).

Una vez terminada las microdiluciones de la microplaca se colocó en una caja semi hermética simulando una cámara húmeda usando agua destilada estéril (Figura 19a) y se incubó en una incubadora orbital (Thermo scientific, modelo MAXQ 4000) a 35.5 °C (Figura 19b). 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

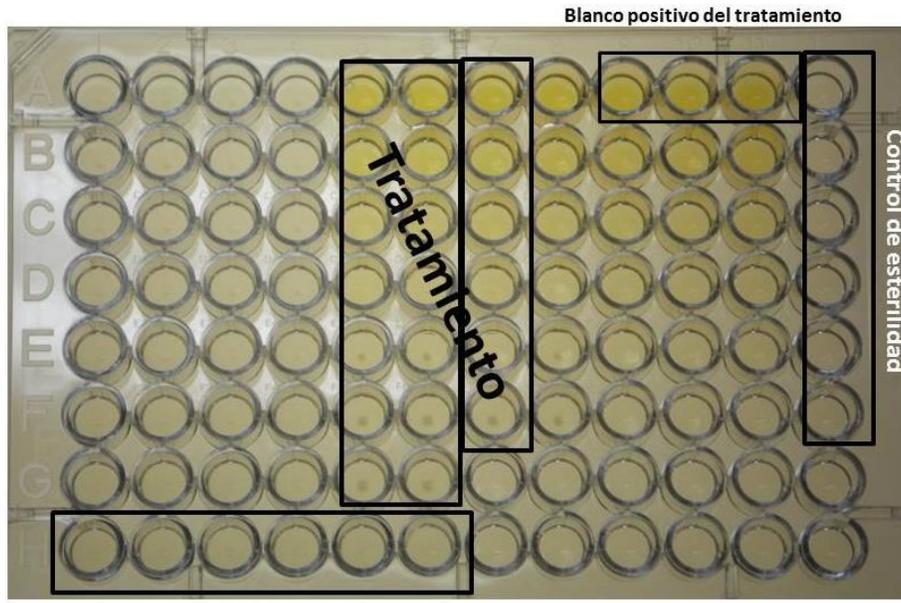


B



Figura 19. a) Forma en la que se colocó la microplaca para 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 (Fig. 20).



Control positivo de la bacteria (Control de crecimiento bacteriano)

Figura 20. Representación de los pozos de la microplaca de donde fueron tomadas las muestras para evaluar el efecto bactericida de los extractos de *Volvariella bombycina*. Fuente: Escudero (2015).

7.15.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

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 (Fig. 21). Después de leer en el espectrofotómetro la placa de la prueba de sensibilidad bacteriana (24 horas de incubación), se sembraron 1.3 μ 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.

7.15.3 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

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.

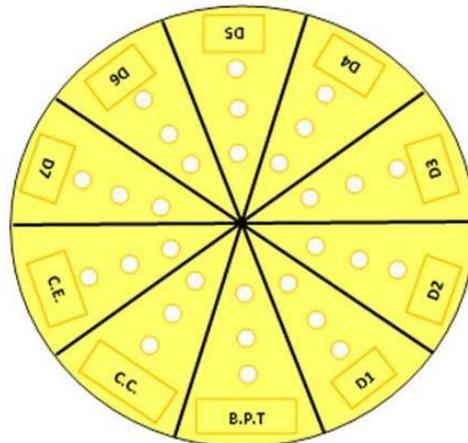


Figura 21. Modo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton para verificar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de *V. bombycina* diluido en la microplaca (D1-D7) y sembrado con la cepa bacteriana en estudio. C.E.= Control de esterilidad. C.C.= Control de crecimiento bacteriano (Blanco positivo de la bacteria). B.P. T= Blanco positivo del tratamiento. Fuente: Petlcalco (2016).

VIII. RESULTADOS

8.1 Ciclo de cultivo de *V. bombycina*

El hongo, desde la inoculación en sustrato sólido hasta la última cosecha, presentó un micelio ralo abundante de color blanquecino a hialino en el sustrato. El tiempo de colonización del sustrato fue de 22 días, la aparición de primordios, la primera y segunda cosecha para cada muestra se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Ciclo de producción de las cepas de *Volvariella bombycina* desde la colonización hasta la segunda cosecha.

Cepa	Colonización (días)	Aparición de primordios (días)	Primera cosecha (días)	Segunda cosecha (días)
CP-675	22	33	39	46
CP-733	17	22	24	26

Los tiempos de la aparición de primordios, la inducción térmica y de fructificación fueron variados dependiendo de los sustratos utilizados. El tiempo de colonización del sustrato por el hongo fue de 22 días para la cepa CP-675 y de 17 días para la cepa CP-733. El periodo de fructificación se inició con el desarrollo de los primordios a los 9 a 15 días y se diferenciaron totalmente en un lapso de 8 días en todos los tratamientos.

Las condiciones ambientales de fructificación de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* en el módulo de producción, y en el área de incubación tuvieron temperatura máxima de 27 °C y mínima de 19 °C (Fig. 22). La temperatura del área de incubación fue constante (máxima y mínima) en los meses de mayo, junio y julio, la máxima registrada fue de 27 °C, y la mínima fue de 20 °C, en los meses de mayo y junio.

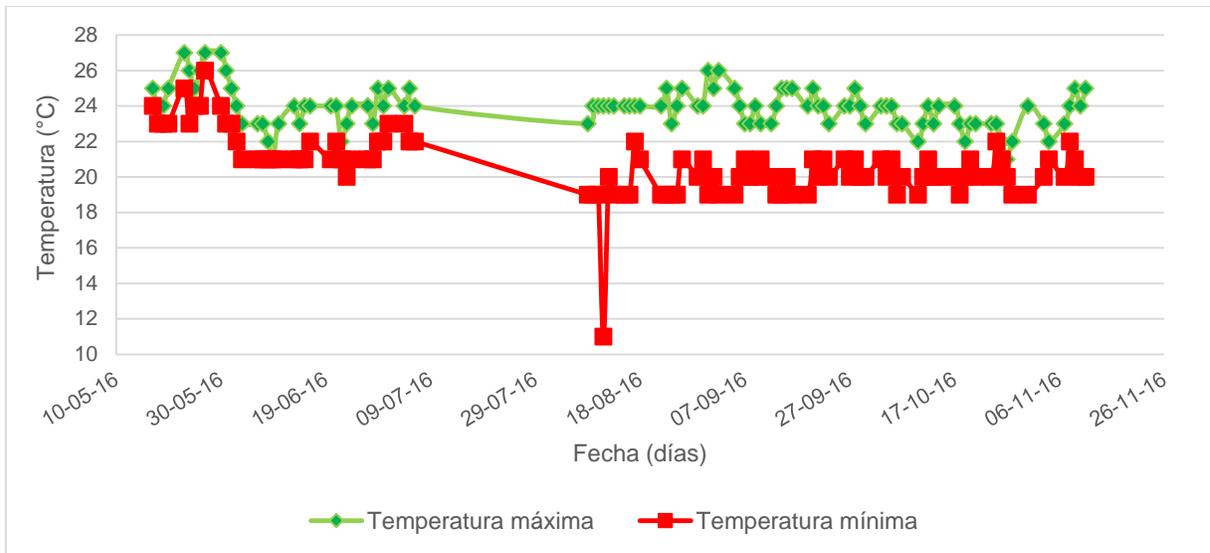


Figura 22. Temperaturas registradas en el área de incubación de las unidades de producción (UP) de *Volvariella bombycina*.

Se realizó otro monitoreo de temperatura y humedad en el área de fructificación en el módulo de producción en los meses de abril, mayo, junio y julio, la temperatura máxima registrada fue de 23 °C y mínima de 16 °C. En cuanto a la humedad registrada para ésta área fue de 89%, con una humedad máxima de 99% y una mínima de 66%, en los meses de mayo y junio (Fig. 23).

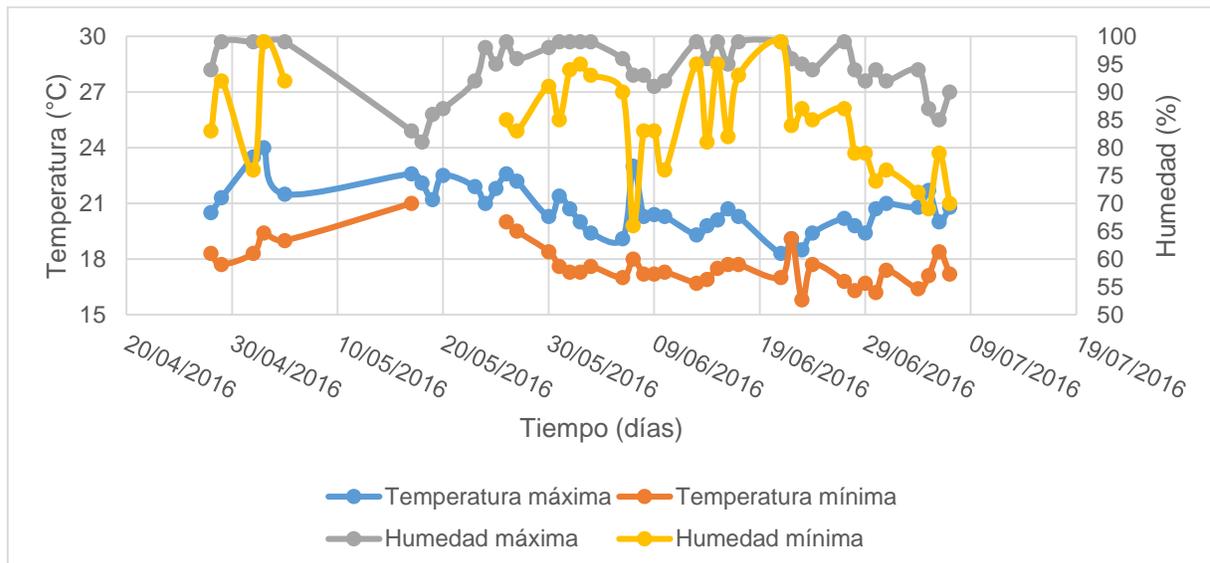


Figura 23. Temperatura y humedad registradas en el área de fructificación de las unidades de producción (UP) de *Volvariella bombycina*.

8.2 Caracterización de los hongos

En la figura 24 se muestra la producción de basidiocarpos de las cepas en estudio en diferentes sustratos sólidos suplementados en la primera cosecha, en donde la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en PHE obtuvo una mayor producción en biomasa fresca con 67 g, en comparación con los demás sustratos utilizados en la realización de este proyecto, la cepa CP-733 de *V. bombycina* cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) se cosecharon 63 g en biomasa fresca y en aserrín de encino testigo (AE) de 53.67 g, por el contrario, hubo una menor producción en la CP-733 en el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M con una producción de 9.86 g, la más baja producción que cualquier otro sustrato.

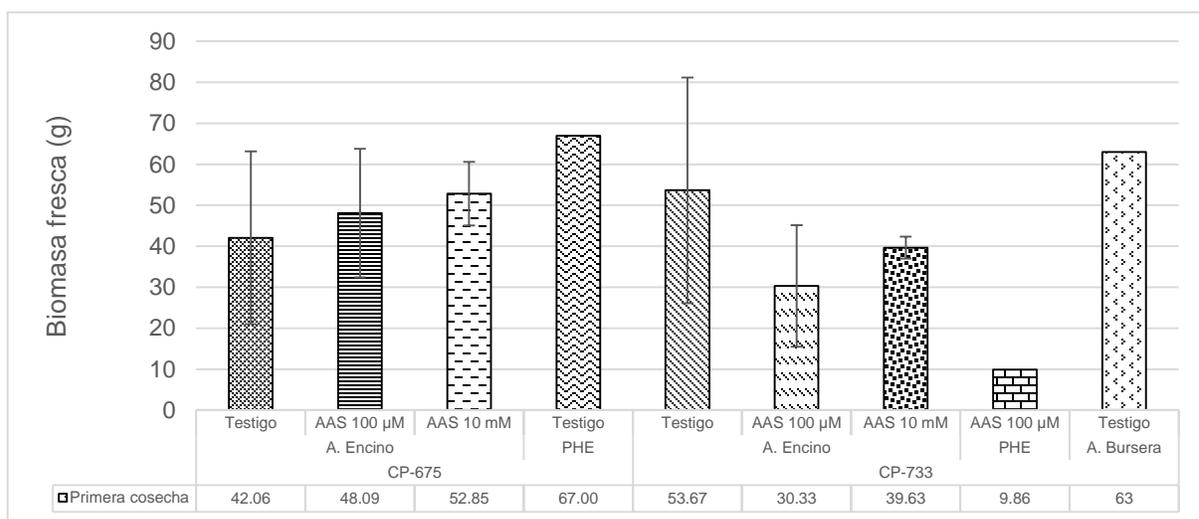


Figura 24. Biomasa fresca (g) producida en la primera cosecha de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivadas en sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=3). AAS= Ácido acetilsalicílico. A. Bursera= Aserrín de *Bursera*. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Sin embargo, en la segunda cosecha (Fig. 25), la mayor producción de biomasa fresca la obtuvo la cepa CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) con 47 g, seguido de aserrín de encino testigo (AE) con 34.75 g y AE+ AAS 10 mM con 23.93 g. Por el contrario, hubo una producción baja o casi nula de biomasa fresca para la cepa CP-675 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) y en AE+ AAS 100 μ M con una producción de 18.70 g y 21.24 g, respectivamente.

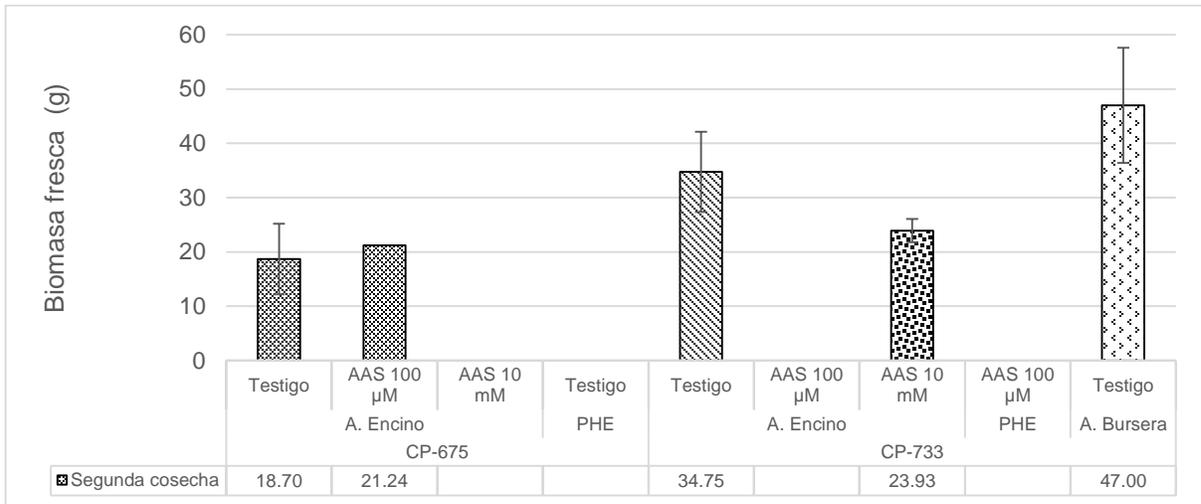


Figura 25. Biomasa fresca (g) producida en la segunda cosecha de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivadas en sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=3). AAS= Ácido acetilsalicílico. A. Bursera= Aserrín de *Bursera*. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

El total de la biomasa producida por las dos cepas en estudio en los diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) se muestra en la figura 26. La cepa CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) produjo 110 g, seguido de aserrín de encino en testigo (AE) con 88.42 g y AE+ AAS 10 mM con 63.57 g, por el contrario, la producción más baja fue en PHE+ AAS 100 μ M con 9.86 g. Sin embargo, la producción de biomasa fresca total para la cepa CP-675 en paja hidratada estéril en testigo (PHE) fue la más alta con 67 g, seguidos del tratamiento aserrín de encino en testigo (AE) con 60.76 g, el tratamiento AE+ AAS 100 μ M hubo una producción de 55.17g y en AE+ AAS 10 mM produjo 52.85 g en biomasa fresca.

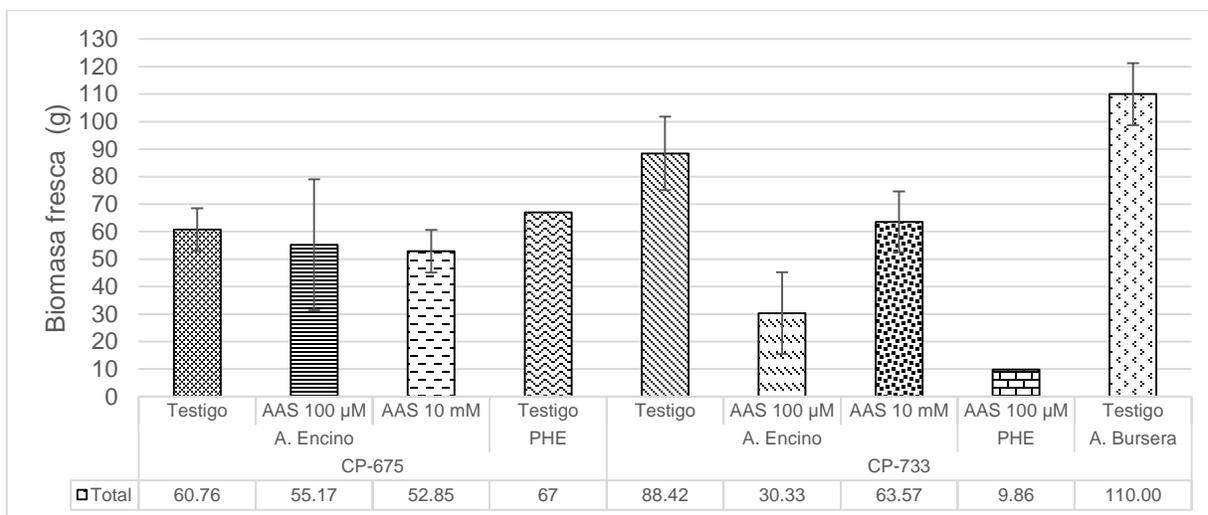


Figura 26. Biomasa fresca total (g) producida en la primera y segunda cosecha de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivadas en sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=3). AAS= Ácido acetilsalicílico. A. Bursera= Aserrín de *Bursera*. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

La caracterización de basidiocarpos frescos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* se compararon con otros hongos funcionales y medicinales como *Ganoderma lucidum* (CP-145) y *Lentinula edodes* (CP-580). La temperatura promedio que obtuvieron los basidiocarpos de los tres géneros fue de 23.76 °C. La temperatura mayor se presentó en el género *Volvariella* con la cepa CP-675 cultivada en el tratamiento AE+ AAS 100 µM con 24.54 °C, mientras que la menor temperatura se registró en la misma cepa en testigo con 23.42 °C (Fig. 27).

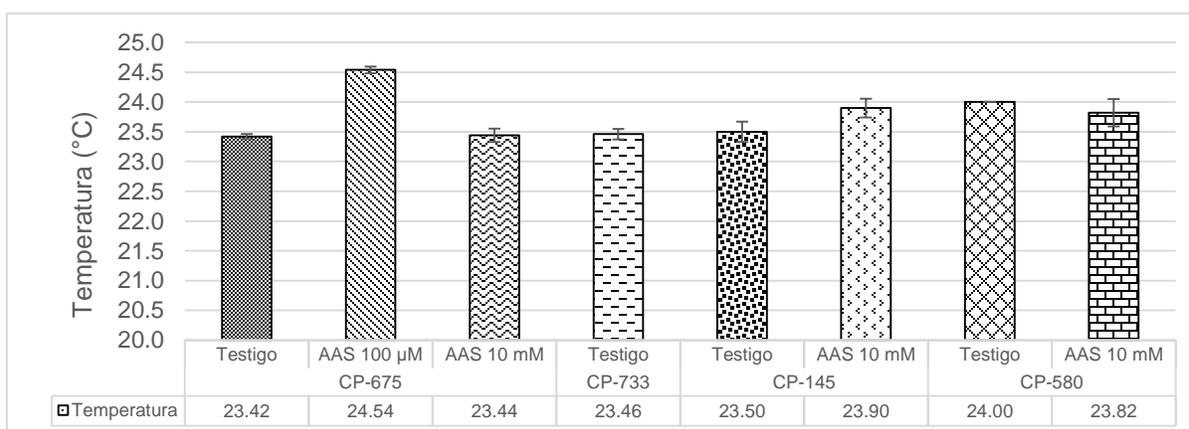


Figura 27. Temperatura de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina*, CP-580 de *Lentinula edodes* y CP-145 de *Ganoderma lucidum* cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico.

En el caso del pH, el género *Volvariella* obtuvo los valores más altos en comparación con los dos géneros restantes, para la cepa CP-675 se obtuvo un promedio de 7.71 en los tres tratamientos (testigo, AAS 100µM y AAS 10 mM), para la cepa CP- 733 se registró un pH de 7.43, inferior a la cepa CP-675. Para *Ganoderma*, con la cepa CP-145 se registró un pH promedio de 6.49 en dos tratamientos (testigo y AAS 10 mM), para *Lentinula* (CP-580) se registró un pH promedio de 6.49 en dos tratamientos (testigo y AAS 10 mM), igual al del género de *Ganoderma* (Fig. 28).

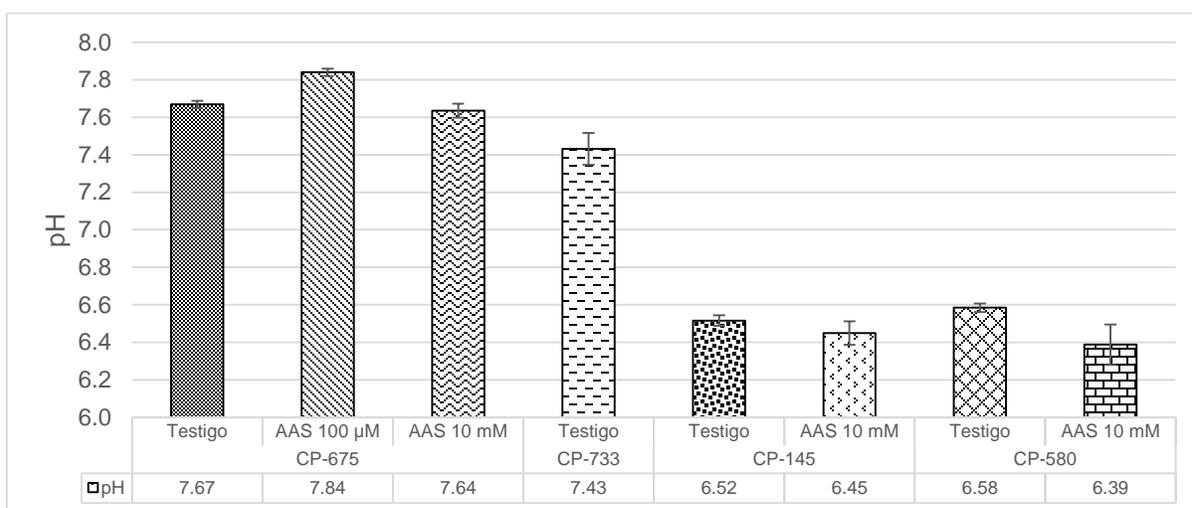


Figura 28. pH de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina*, CP-580 de *Lentinula edodes* y CP-145 de *Ganoderma lucidum* cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico.

El mayor contenido de humedad en los basidiocarpos se presentó tanto en la cepa CP-675 y CP-733 con una humedad promedio de 89.90% y 90.03% respectivamente, el segundo género fue *Lentinula*, que presentó una humedad promedio de 88.42% en sus dos tratamientos (testigo y AAS 10 mM), en el caso de *Ganoderma* en sus dos tratamientos (testigo y AAS 10 mM) se registró una humedad promedio de 17.02%, la humedad más baja de los tres géneros (Fig. 29).

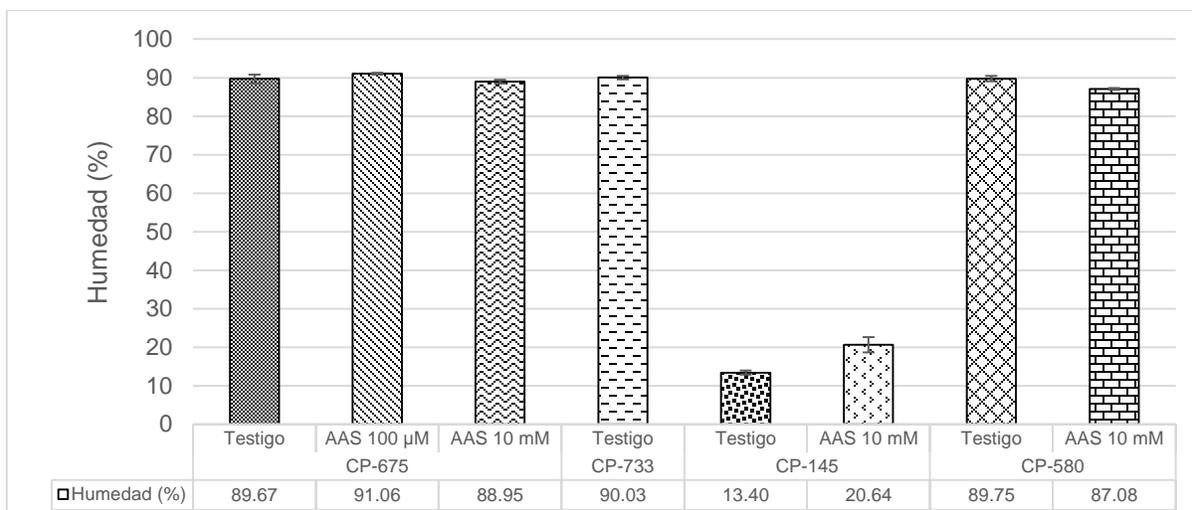


Figura 29. Humedad (%) de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina*, CP-580 de *Lentinula edodes* y CP-145 de *Ganoderma lucidum* cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico.

El mayor contenido de peso seco en 100 g de muestra húmeda en los basidiocarpos se presentó en el género *Ganoderma* (CP-145), con 82.98 g de peso seco en 100 g de muestra húmeda en sus dos tratamientos (testigo y AAS 10 mM), el segundo género que presentó más cantidad de peso seco en promedio fue *Lentinula*, con 11.59 g en sus dos tratamientos (testigo y AAS 10 mM), en el caso de *Volvariella* la cepa CP-675 en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 µM y AAS 10 mM) obtuvo un promedio de 10.11 g en peso seco, mientras que la cepa CP-733 en el tratamiento AE (testigo) se registró 9.97 g (Fig. 30).

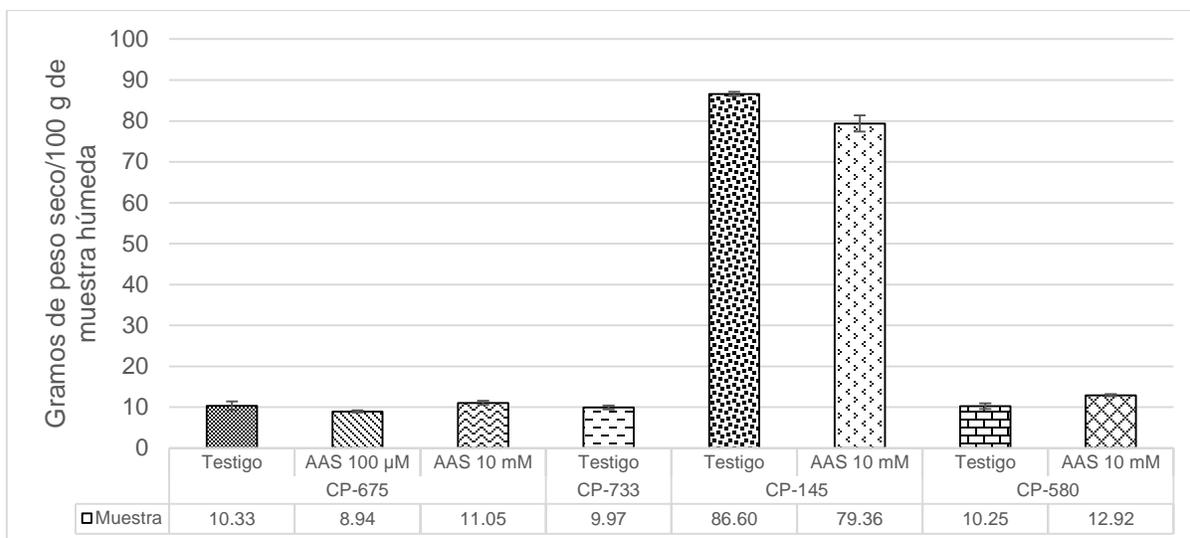


Figura 30. Peso seco en 100 g de muestra húmeda de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina*, CP-580 de *Lentinula edodes* y CP-145 de *Ganoderma lucidum* cultivadas en aserrín de encino suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico.

En el anexo se observan las gráficas de la conductividad de los basidiocarpos de los géneros de *Volvariella*, *Ganoderma* y *Lentinula* (Fig. 136-141). En el cuadro 6 se presenta de forma resumida la caracterización de los basidiocarpos de tres géneros de hongos (*Volvariella*, *Ganoderma* y *Lentinula*) con propiedades funcionales y medicinales.

Cuadro 6. Caracterización de los basidiocarpos frescos de los géneros de *Volvariella* (CP-675 y CP-733), *Ganoderma* (CP-145) y *Lentinula* (CP-580) cultivados en aserrín de encino y suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM.

Cepa	Tratamiento	Temperatura (°C)	pH	Humedad (%)	Peso seco/100 g de peso húmedo	Resistividad (Ω)	Conductividad (µS/cm)
CP-675	Testigo	23.42±0.04	7.67±0.02	89.67±1.11	10.33±1.11	688.33±117.8	903.73±146.47
CP-675	AAS 100 µM	24.54±0.05	7.84±0.02	91.06±0.27	8.94±0.27	1794±188.18	336.17±33.74
CP-675	AAS 10 mM	23.44±0.11	7.64±0.04	88.95±0.49	11.05±0.49	445±39.84	1379.27±128.12
CP-733	Testigo	23.46±0.09	7.43±0.08	90.03±0.46	9.97±0.46	317000±107203.5	2.1±0.72
CP-145	Testigo	23.5±0.17	6.52±0.03	13.4±0.51	86.6±0.51	1849333.33±240839.33	0.33±0.06
CP-145	AAS 10 mM	23.9±0.16	6.45±0.06	20.64±1.97	79.36±1.97	290133.33±43855.03	2.13±2.13
CP-580	Testigo	24±0	6.58±0.02	89.75±0.69	10.25±0.69	454.4±125.92	1431.06±460.5
CP-580	AAS 10 mM	23.82±0.23	6.39±0.11	87.08±0.27	12.92±0.27	2876.6±1555.37	258.68±117.31

AAS=Ácido acetilsalicílico.

8.3 Eficiencia biológica (EB)

Una vez cosechados los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *V. bombycina*, se calculó la eficiencia biológica (EB) acumulada de la primera cosecha en los tratamientos a los que fue sometido. Se encontró que para el sustrato de paja hidratada estéril en testigo (PHE) se obtuvo una eficiencia del 19.46%, siendo la mayor durante el ciclo de cultivo, seguido del tratamiento con AE+ AAS 100 mM con un 11.23%, en aserrín de encino en testigo (AE) fue de 8.31%, y en el tratamiento AE+ AAS 10 mM un 6.31%, por lo tanto, existe un 32% más de eficiencia biológica en PHE que en AE+ AAS 10 mM (Fig. 31).

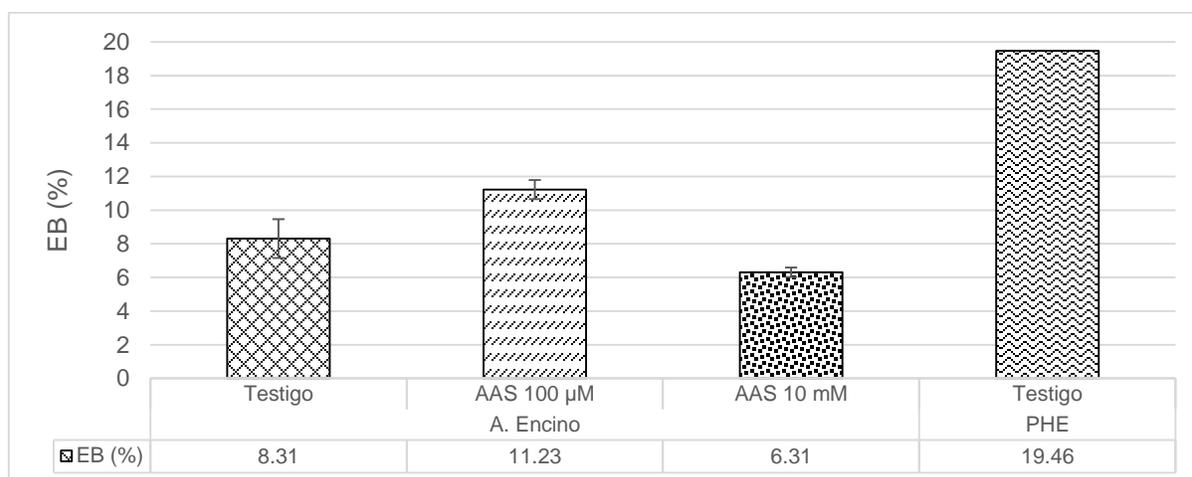


Figura 31. Eficiencia biológica (%) acumulada de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=3). AAS= Ácido acetilsalicílico. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

La eficiencia biológica (EB %) acumulada para la cepa CP-733 de *V. bombycina* en la primera cosecha se muestra en la figura 32, se obtuvo una EB en AB de 4.78%, mientras que para AE se obtuvo una eficiencia del 8.84% teniendo la mayor eficiencia biológica durante el ciclo de cultivo, siguiendo con el tratamiento AE+ AAS 100 mM donde se obtuvo un 6.51% y en el tratamiento AE+ AAS 100 µM fue de 6.51%, la menor eficiencia biológica se presentó en PHE+ AAS 100 µM con apenas un 0.48%, por lo tanto, existe un 5.42% más de EB en AE que en PHE + AAS 100 µM.

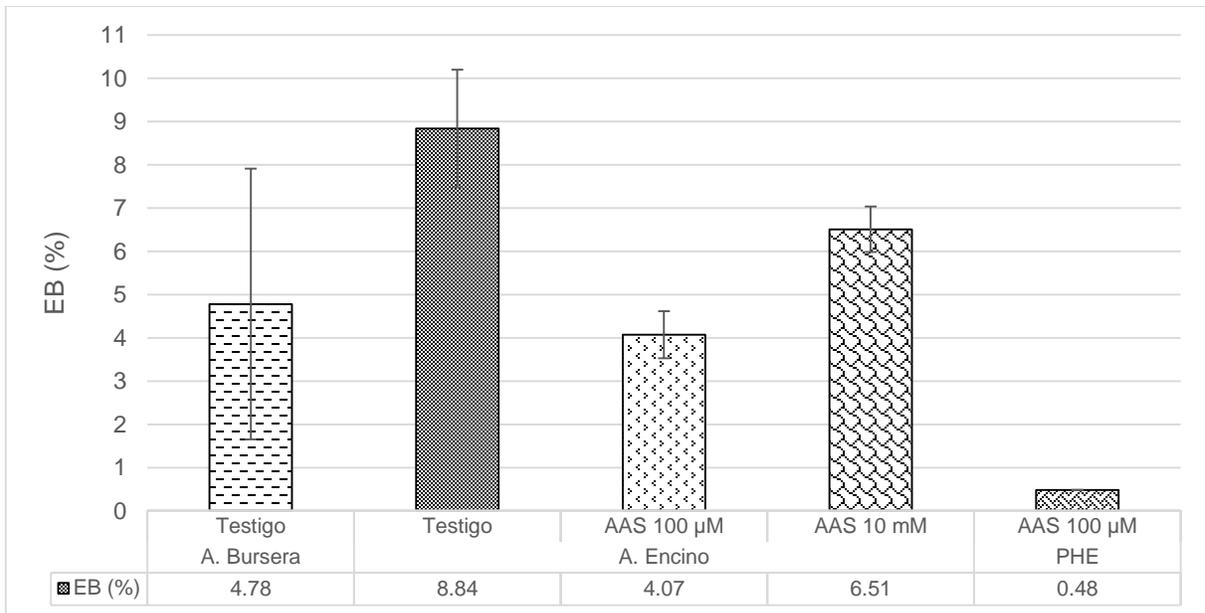


Figura 32. Eficiencia biológica (%) acumulada de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=3). AAS= Ácido acetilsalicílico. A. Bursera= Aserrín de *Bursera*. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

8.4 Índice de degradación (ID)

La fórmula para calcular el índice de degradación (ID) fue la siguiente:

$$ID (\%) = \frac{PSI - PSF}{PSI} \times 100$$

En donde el ID es el resultado de restar el peso seco inicial de la unidad de producción (PSI) menos el peso seco final de la unidad de producción (PSF) entre el peso seco inicial de la unidad de producción (PSI) multiplicado por 100 (Nyochembeng *et al.*, 2008). En el cuadro 7 se muestran el índice de degradación de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivadas en diferentes sustratos sólidos suplementados con AAS, para la cepa CP-675 cultivada AE+ AAS 100 µM se obtuvo el mayor ID el cual fue de 11.14±0.17%, el segundo ID fue de 10.17% en AE+ AAS 10 mM, el tercer ID se obtuvo en aserrín de encino en testigo (AE) con 9.77±0.28%, finalmente el menor ID se obtuvo en cultivar ésta cepa en paja hidratada estéril testigo (PHE) con apenas 7.81% por lo cual existe un 80% más de ID en AE que en PHE. En el caso de la cepa

CP-733 cultivada en AE se obtuvo el mayor ID con $10.37 \pm 1.47\%$, seguido por el tratamiento AE+ AAS 10 mM con apenas $2.24 \pm 0.59\%$, no se obtuvieron datos en los demás tratamientos, debido a la poca o nula producción. En el anexo (Fig. 142-146) se incluyen las figuras del ID de las dos cepas en estudio cultivadas en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM.

Cuadro 7. Índice de Degradación (ID) obtenido después de cultivar las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM.

Cepa	Sustrato	Tratamiento	ID (%)
CP-675	Aserrín de encino	Testigo	9.77 ± 0.28
		AAS 100 μM	11.14 ± 0.17
		AAS 10 mM	10.17 ± 0
CP-733	Paja hidratada estéril	Testigo	7.81 ± 0
		Testigo	10.37 ± 1.47
		AAS 100 μM	S/D
CP-733	Aserrín de encino	AAS 10 mM	2.24 ± 0.59
		Paja hidratada estéril	AAS 100 μM

AAS= Ácido acetilsalicílico. S/D= Sin Datos.

8.5 Caracterización de los macerados y extractos preliminares

En la figura 33 se muestran los macerados a las 24 h de la cepa CP-675 de *V. bombycina* en condición de agitación y reposo, cultivada en PHE y suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM. Se encontró una similitud en los valores de testigo en condición de agitación de 17.65 mg/mL, con el tratamiento PHE+ AAS 100 μM en reposo con 17.70 mg/mL, en el caso del tratamiento PHE+ AAS 10 mM los rendimientos, tanto en condición de agitación o reposo, se obtuvieron 14.30 mg/mL y 14.35 mg/mL, respectivamente.

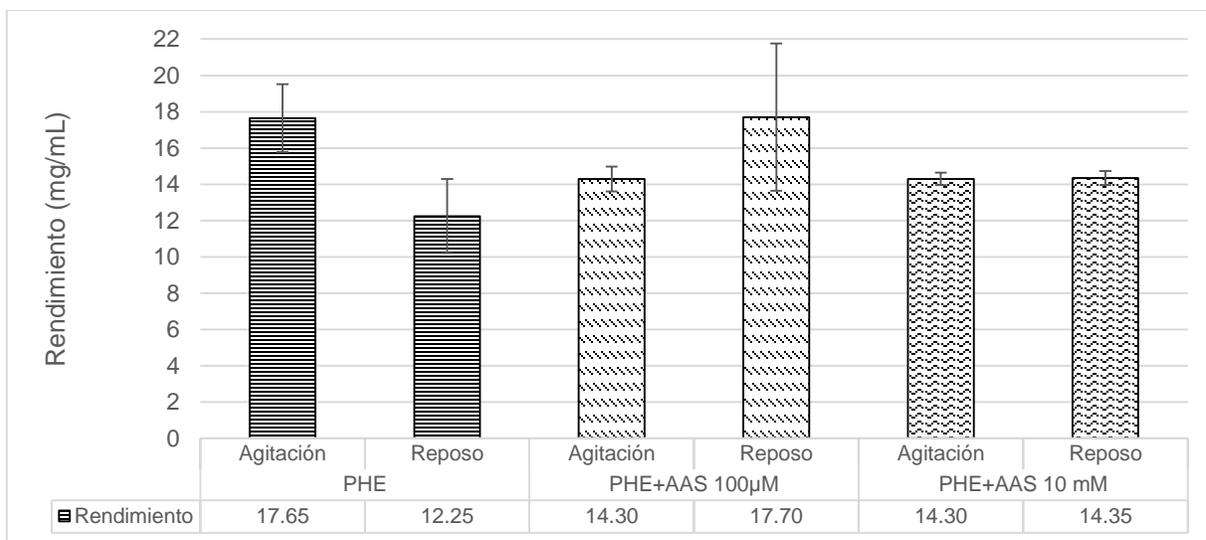


Figura 33. Rendimiento de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetisalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

La conductividad de los macerados de los basidiocarpos de la CP-675 cultivada en PHE, suplementada con AAS en dos concentraciones 100 μ M y 10 mM a las 24 h en condiciones de agitación y reposo se muestran en la figura 34, en el tratamiento testigo en condición de agitación, se registró una conductividad de 10,656.80 μ S/cm la más alta de los tres tratamientos, mientras que en reposo se obtuvo un valor de 7,428.05 μ S/cm, para el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M en condición de agitación se obtuvo una conductividad de 9,322.60 μ S/cm, mientras que en la condición en reposo se registró una conductividad de 9,131.38 μ S/cm, habiendo una diferencia de tan solo 191.22 μ S/cm entre las dos condiciones, la conductividad más baja registrada en los tres tratamientos se obtuvo en PHE+ AAS 10 mM, ya que en agitación se registraron 3,156.73 μ S/cm, mientras que en reposo 4,633.37 μ S/cm.

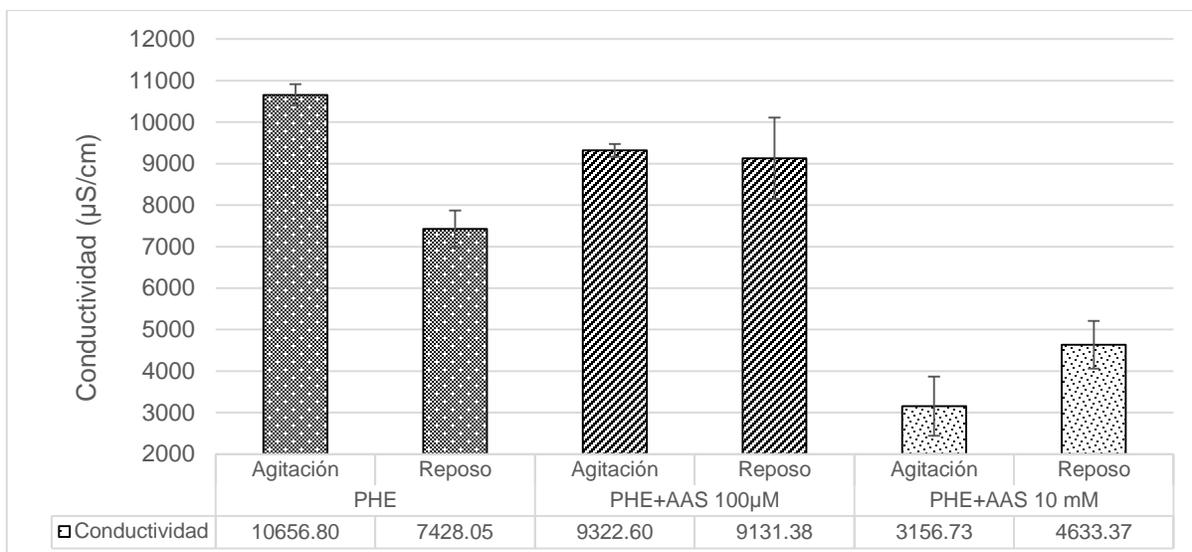


Figura 34. Conductividad de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

La mayor resistividad se obtuvo en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM en condición de agitación con un valor de 206.00 Ω, mientras que en reposo registró una resistividad de 125.25 Ω (Fig. 35).

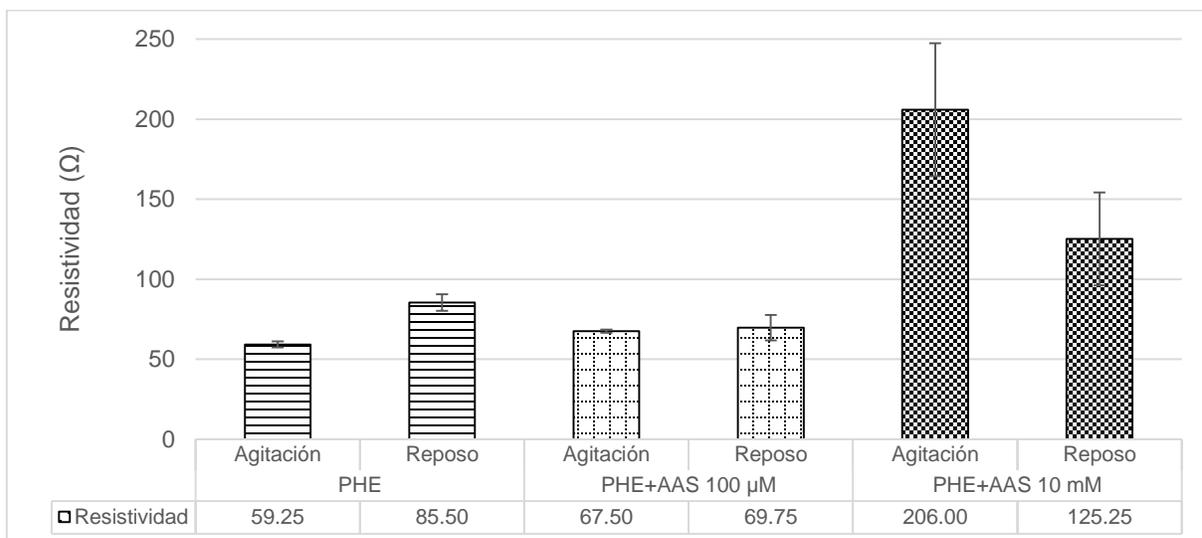


Figura 35. Resistividad de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

En el caso de pH (Fig. 36), los tres tratamientos, tanto en sus dos condiciones de agitación y una de reposo, los valores oscilaron en 7.

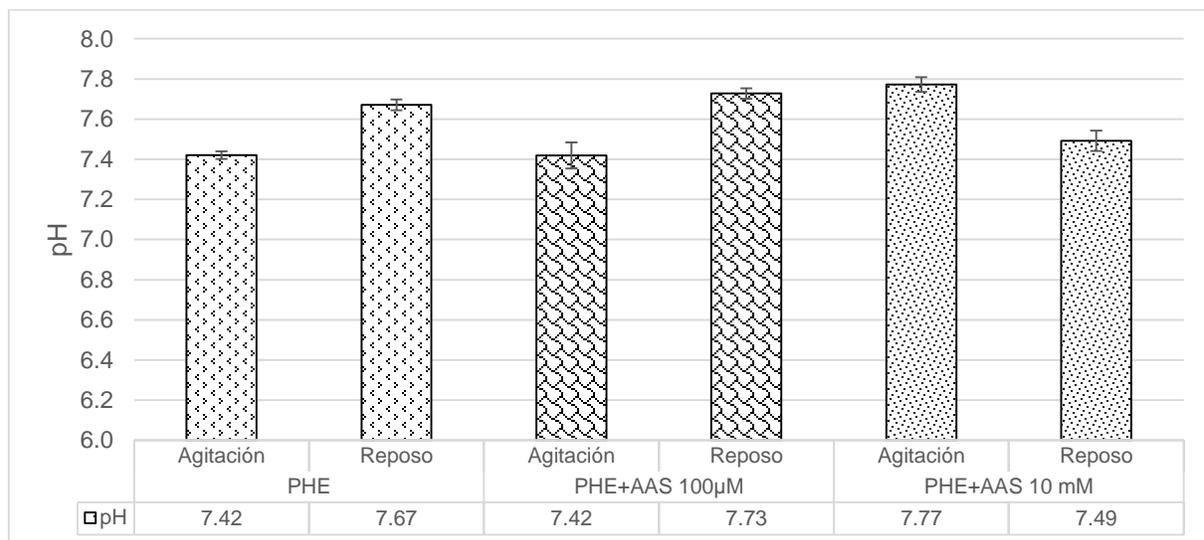


Figura 36. pH de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

Las temperaturas de los macerados a las 24 h se muestran en la figura 37, se observó que en los tres tratamientos la temperatura osciló entre los 21 °C, sin embargo, en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM, en la condición de agitación se obtuvo el mayor registro con una temperatura de 21.65 °C, mientras que en reposo hubo una temperatura de 21.43 °C, existiendo una diferencia de 0.22 °C, entre una condición y la otra.

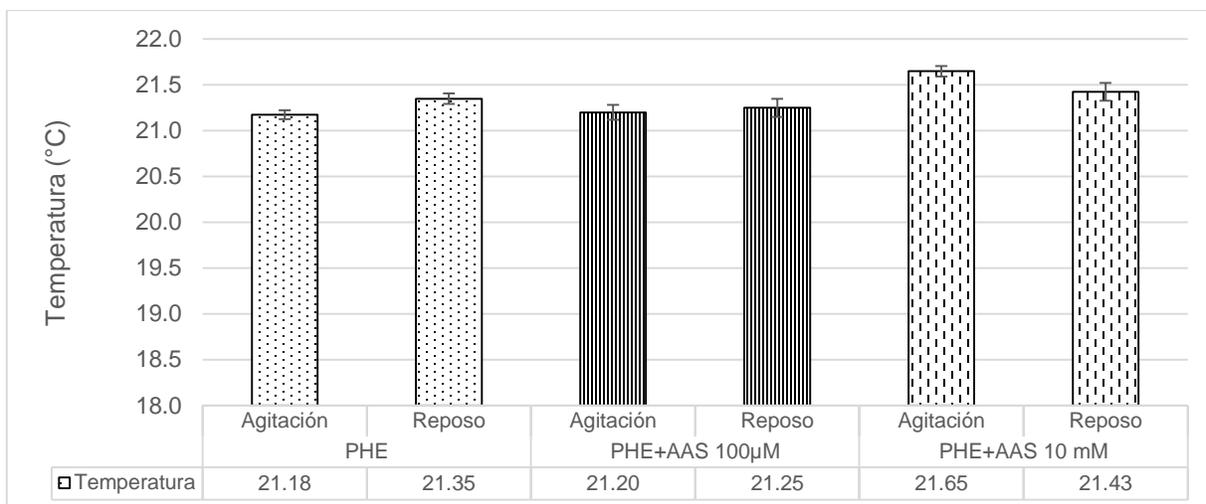


Figura 37. Temperatura de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

Los grados Brix de los macerados a las 24 h se muestran en la figura 38, Se observó que en PHE se obtuvieron 14.43% de grados Brix en condición de agitación y 14.08% en condición de reposo, en PHE+ AAS 100 µM obtuvo una concentración de 14.30% de grados Brix en condición de agitación, mientras que en reposo 14.60%, en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM en condición de agitación se registró 14.30% de grados Brix, mientras que en condición en reposo 13.63%.

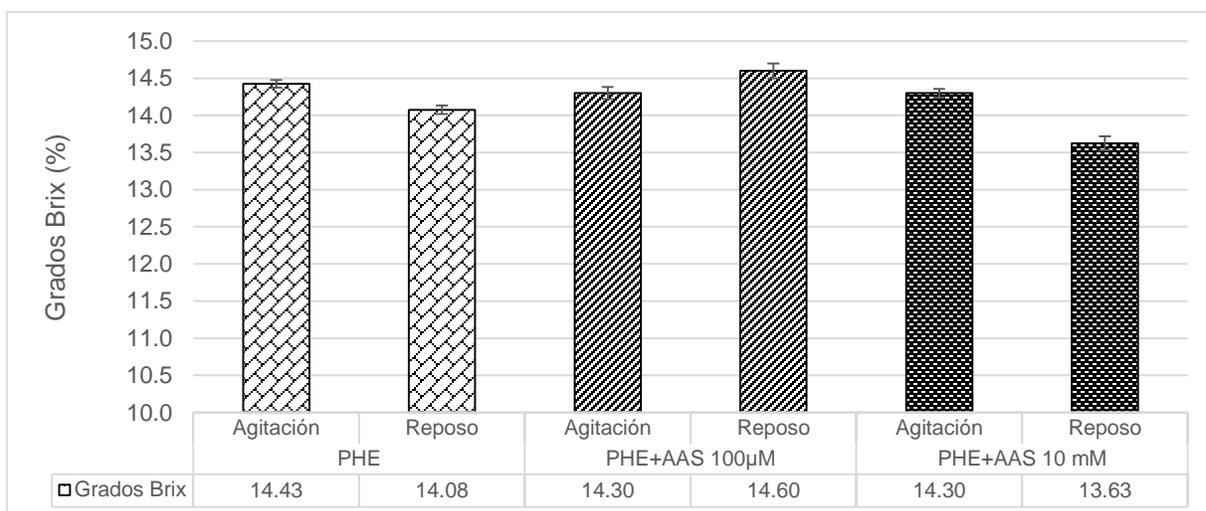


Figura 38. Grados Brix de los macerados a las 24 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *V. bombycina* a las 24, 48 y 72 h cultivados en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM

Los rendimientos de los macerados a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo se muestran en la figura 39, en donde se registraron los rendimientos más altos en PHE+AAS 10 mM en la condición agitación a las 72 h con 33.25 mg/mL, seguido de la condición en reposo a las 48 h con un rendimiento de 31.90 mg/mL, el tercer rendimiento se obtuvo en el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M en condición de agitación a las 72 h con 30.25 mg/mL, después el tratamiento PHE en reposo a las 72 h con un rendimiento de 28.70 mg/mL.

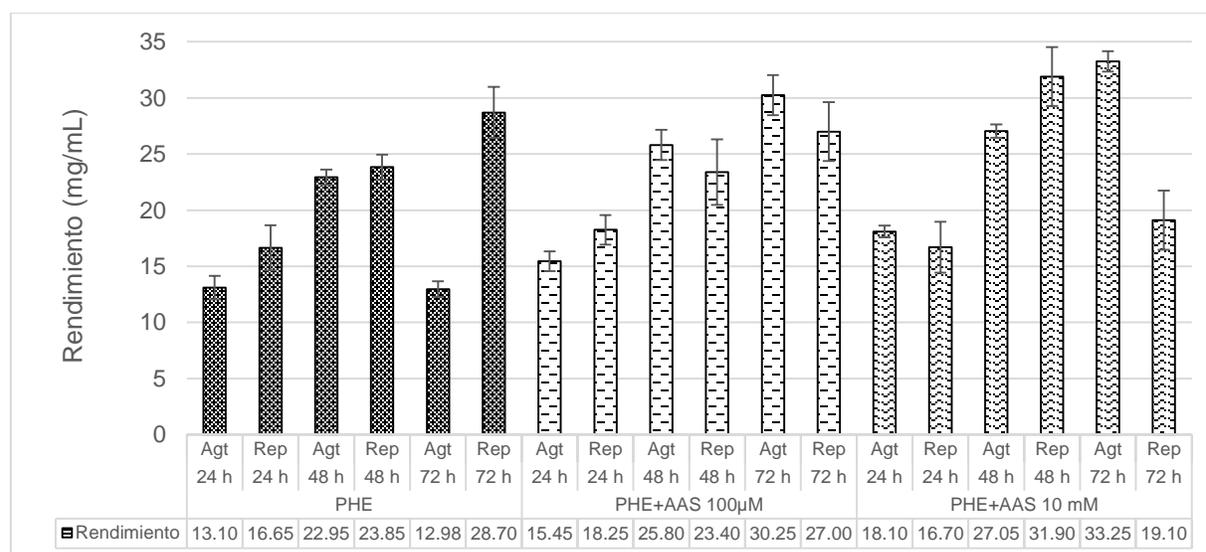


Figura 39. Rendimiento de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. PHE=Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

La conductividad de los macerados a las 24, 48 y 72 h en condición de agitación y reposo se muestran en la figura 40, en donde el tratamiento de PHE+AAS 10 mM a las 48 h en reposo registró 1,728 μ S/cm, siguiendo del mismo tratamiento a la 72 h en agitación con 1,715 μ S/cm, por lo tanto, se puede concluir que conforme pasa el tiempo de maceración mayor es la conductividad en los tres tratamientos estudiados.

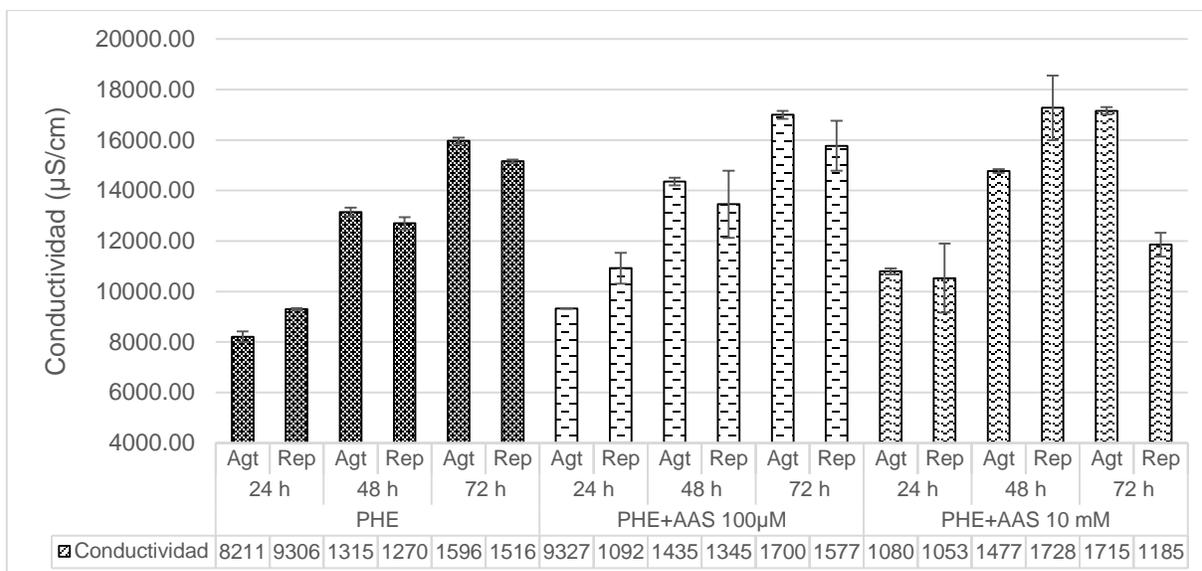


Figura 40. Conductividad de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. PHE=Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

Los resultados de resistividad de los macerados preliminares en diferentes condiciones y tiempos de maceración se muestran en la figura 41, el tratamiento que presentó mayor resistividad en los diferentes tiempos de maceración y en condiciones de agitación y reposo fue en testigo con 73.25 Ω en condición de agitación y 65.00 Ω en reposo a las 24 h, seguido del segundo tratamiento PHE+ AAS 100 µM, con 65.00 Ω en agitación y 55.75 Ω en reposo a las 24 h, por último, el tercer tratamiento PHE+ AAS 10 mM con 56.75 en condición de agitación y 58.50 en reposo a las 24 h, por lo tanto, conforme mayor es el tiempo de maceración, menor es la resistividad en los tres tratamientos.

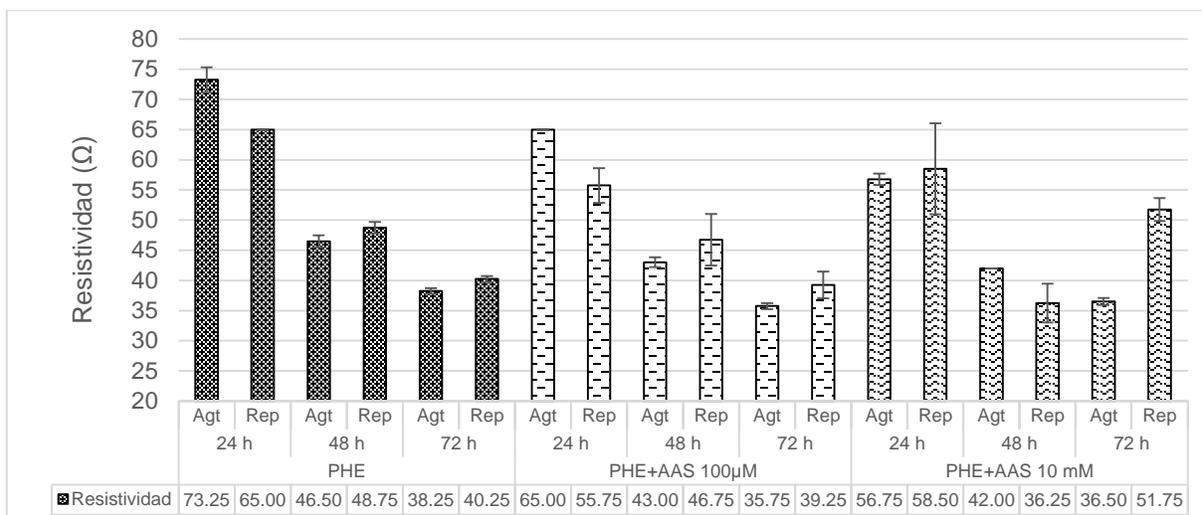


Figura 41. Resistividad de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. PHE=Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

Los resultados de pH para los macerados a la 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo, en los tres tratamientos y en las dos condiciones en que se sometieron los macerados se muestran en la figura 42. El pH osciló alrededor de 7, sin embargo, en el tercer tratamiento PHE+ AAS 10 mM presentó 7.97 en condición de agitación a las 72 h de maceración.

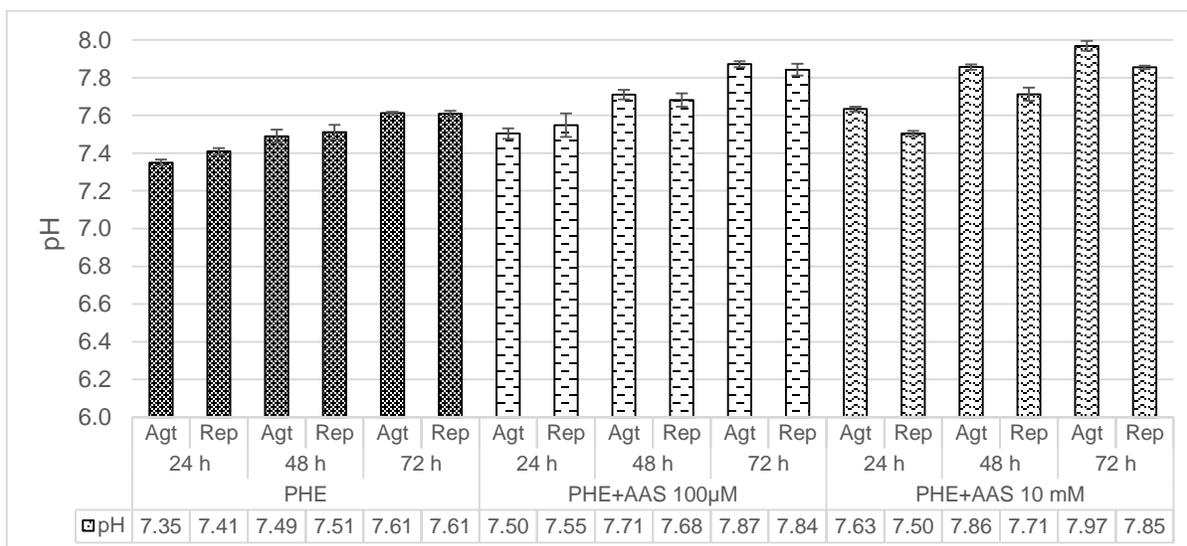


Figura 42. pH de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. PHE=Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

En la figura 43 se muestran los resultados de las temperaturas de los macerados de los tres tratamientos a las 24, 48 y 72 h, en condiciones de agitación y reposo, 24.15 °C y 23.63 °C respectivamente, se observó que en los tres tratamientos las temperaturas altas se registraron a las 24 h tanto en agitación y reposo, a las 48 h la temperatura disminuyó entre los 21.5 y 22.0 °C, a las 72 h aumentó la temperatura entre los 21.5 y 23 °C, este comportamiento se registró en los tres tratamientos.

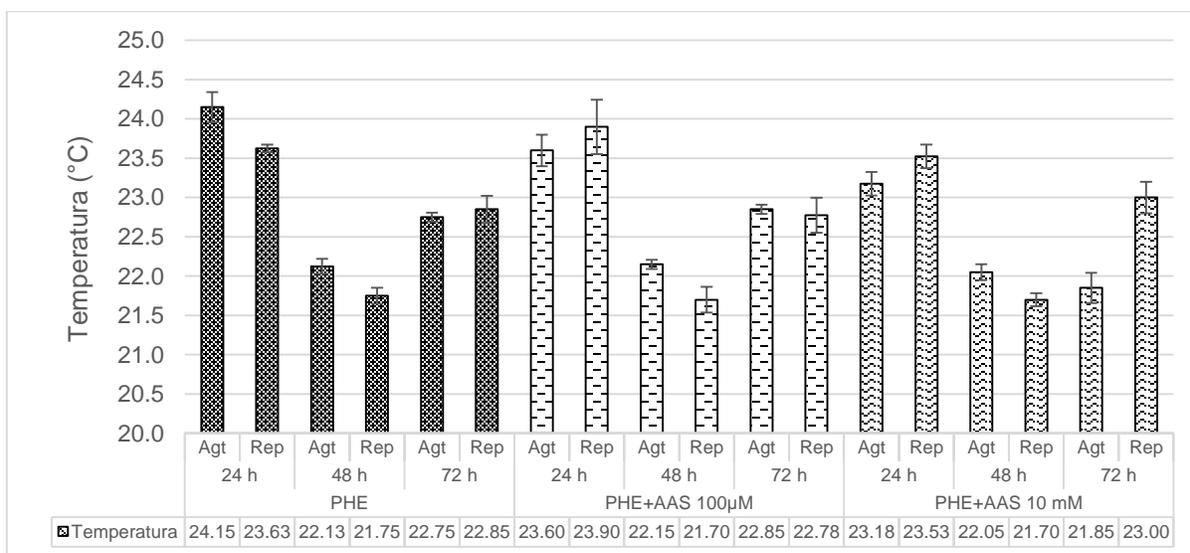


Figura 43. Temperatura de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. PHE=Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

Los resultados de los macerados referentes a los grados Brix de los tres tratamientos se muestran en la figura 44. Se puede observar que presentaron el mismo comportamiento, conforme pasó el tiempo de maceración, la cantidad de grados Brix fue mayor sin importar las condiciones de agitación o reposo, los valores de grados Brix oscilaron entre 13.98% y 15.76%.

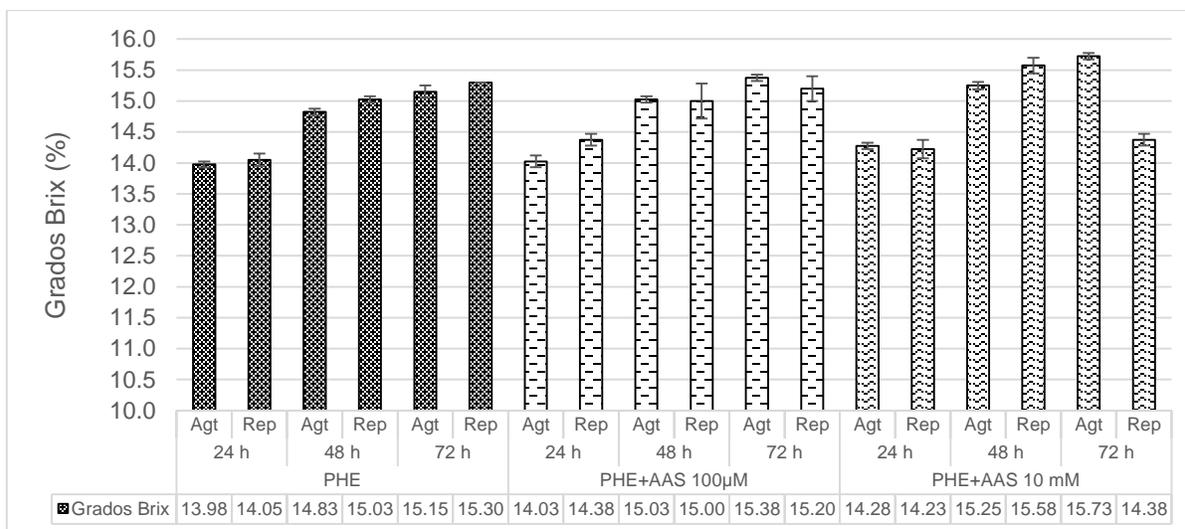


Figura 44. Grados Brix de los macerados a las 24, 48 y 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. PHE=Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

Rendimiento de los macerados preliminares a las 24, 48 y 72 h en condición de agitación y reposo

A continuación, se presentan los resultados de los macerados preliminares para el testigo, comparados con el control (cepa CP-675/10 g de hongo seco/150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/reposo/24h), donde se observó que a las 24, 48 y 72 h el rendimiento fue mayor en reposo que en agitación (Fig. 45).

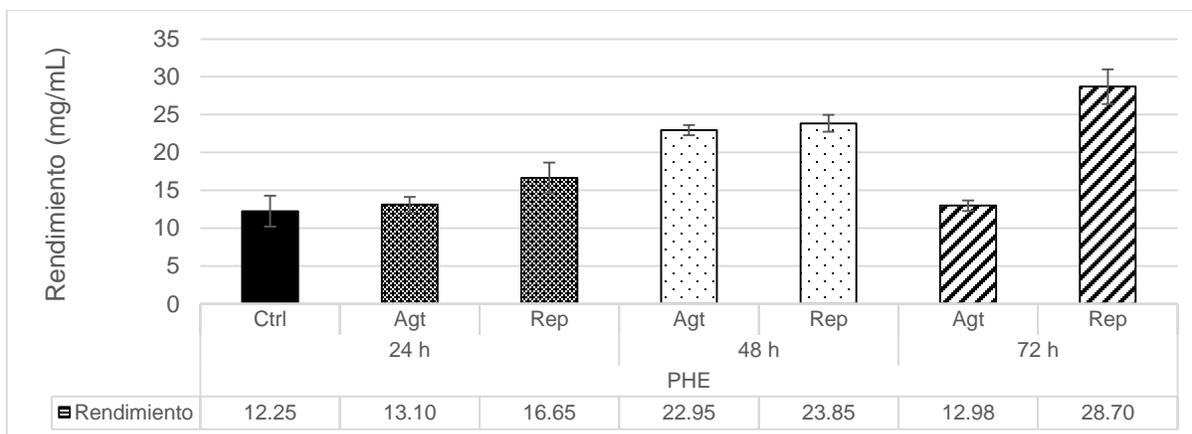


Figura 45. Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4). Agt= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

El rendimiento del tratamiento PHE+ AAS 100 μ M se muestra en la figura 46. Se observó que a las 24 h de maceración el mayor rendimiento fue en la condición en reposo con 18.25 mg/mL, mientras que en agitación se obtuvo un rendimiento de 15.45 mg/mL, a las 48 h de maceración el mayor rendimiento se registró en la condición en agitación con 25.80 mg/mL, mientras que en la condición en reposo se obtuvo 23.40 mg/mL de rendimiento, el rendimiento de los macerados a las 72 h fue de 30.25 mg/mL, mientras que en la condición en reposo se obtuvo un rendimiento de 27.00 mg/mL, a mayor tiempo de maceración, mayor es el rendimiento.

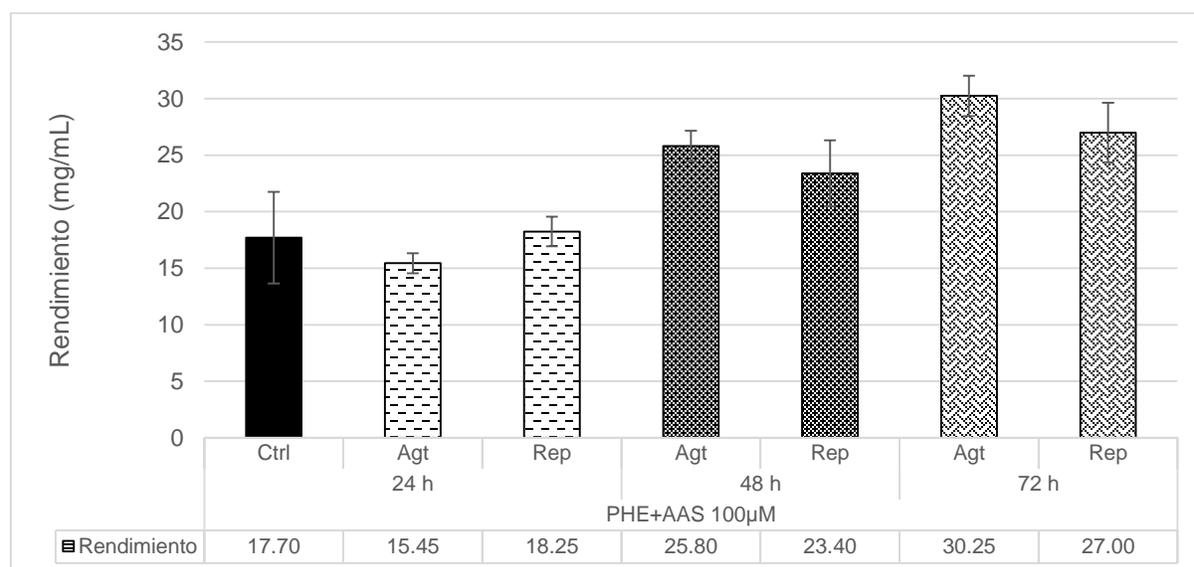


Figura 46. Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M, a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

En la figura 47 se muestran los rendimientos para el tratamiento PHE+ AAS 10 mM, donde se observa que conforme transcurre el tiempo de maceración, mayor fueron los rendimientos obtenidos comparados con el control, el rendimiento obtenido a las 24h en la condición en reposo fue de 18.10 mg/mL, mientras que en la condición en reposo se obtuvo un rendimiento de 16.70 mg/mL, a las 48h el mayor rendimiento se registró en la condición en reposo con 31.90 mg/mL, mientras que en agitación se obtuvo un rendimiento de 27.05 mg/mL, a las 72 h de maceración el rendimiento en la

condición en agitación fue de 33.25 mg/mL, mientras que en reposo fue de 19.10 mg/mL, por lo tanto, en este tratamiento se observó que conforme transcurre el tiempo de maceración el rendimiento aumenta.

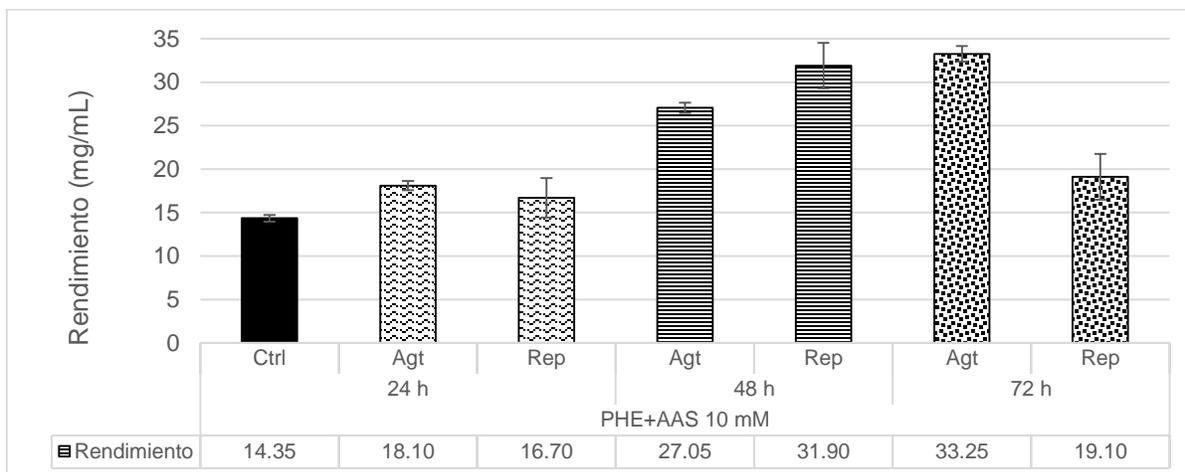


Figura 47. Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM, a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Agt= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril. Rep= Reposo.

El rendimiento de los macerados en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) en condición de agitación, comparados con sus controles de cada tratamiento se muestran en la figura 48, los mayores rendimientos se obtuvieron en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM, en maceración a las 24 h se obtuvo 18.10 mg/mL, a las 48 h fue de 27.05 mg/mL y a las 72 h de 33.25 mg/mL.

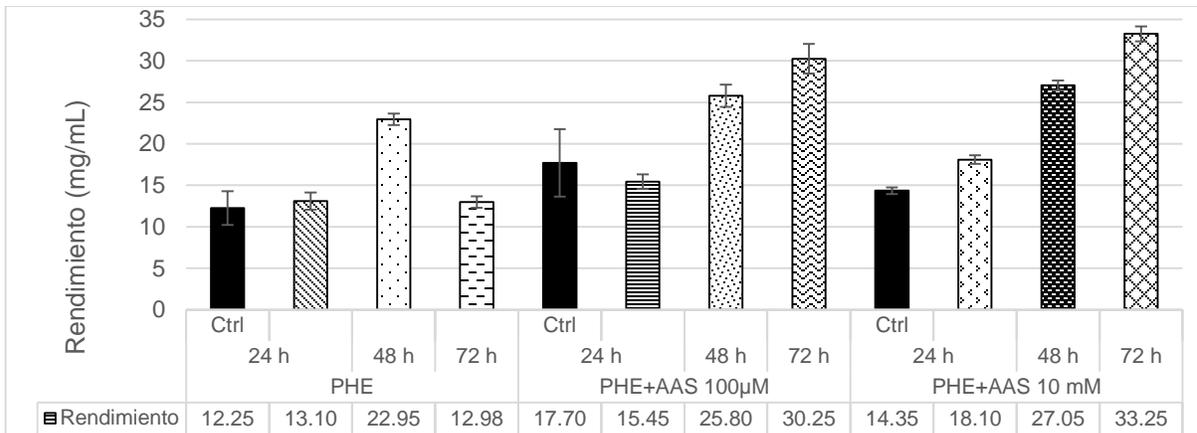


Figura 48. Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM a las 24, 48 y 72 h en condición de agitación (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

Los rendimientos de los macerados en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) en condición de reposo con sus respectivos controles se muestran en la figura 49, en donde el tratamiento testigo registró los mayores rendimientos comparados con las demás condiciones, a las 24 h de maceración se obtuvo un rendimiento de 16.65 mg/mL, a las 48 h un rendimiento de 23.85 mg/mL y a las 72 h de 28.70 mg/mL.

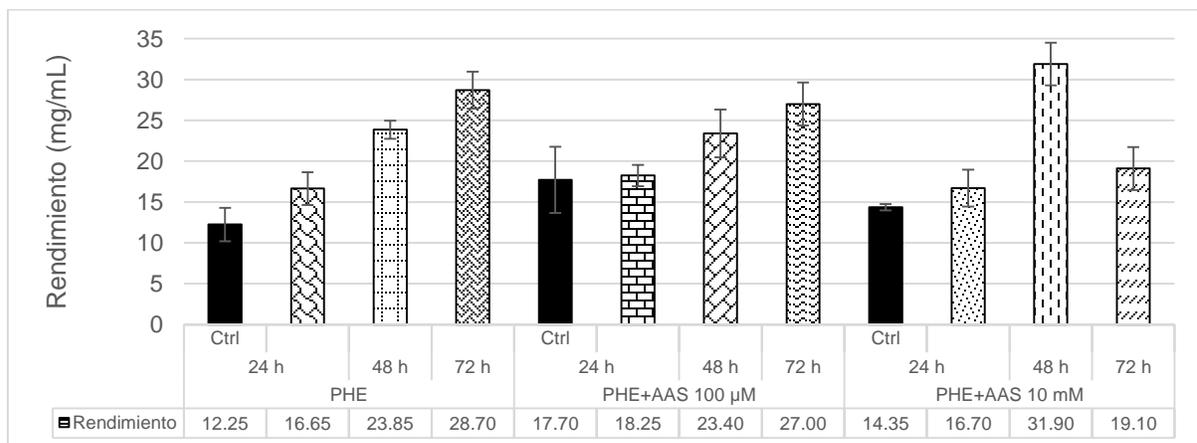


Figura 49. Rendimiento de los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM a las 24, 48 y 72 h en condición de reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

El rendimiento obtenido por densidad óptica (D.O.) de los macerados en diferentes tiempos y extracto final de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *V. bombycina* en paja hidratada estéril (PHE) en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) en condición de agitación se muestran en la figura 50. Se observaron picos en el espectro entre 220-280 nm tanto para los macerados como para el extracto final, el macerado a las 72 h y el extracto a las 72 h presentan los picos más densos en comparación con los macerados a las 24 y 48 h.

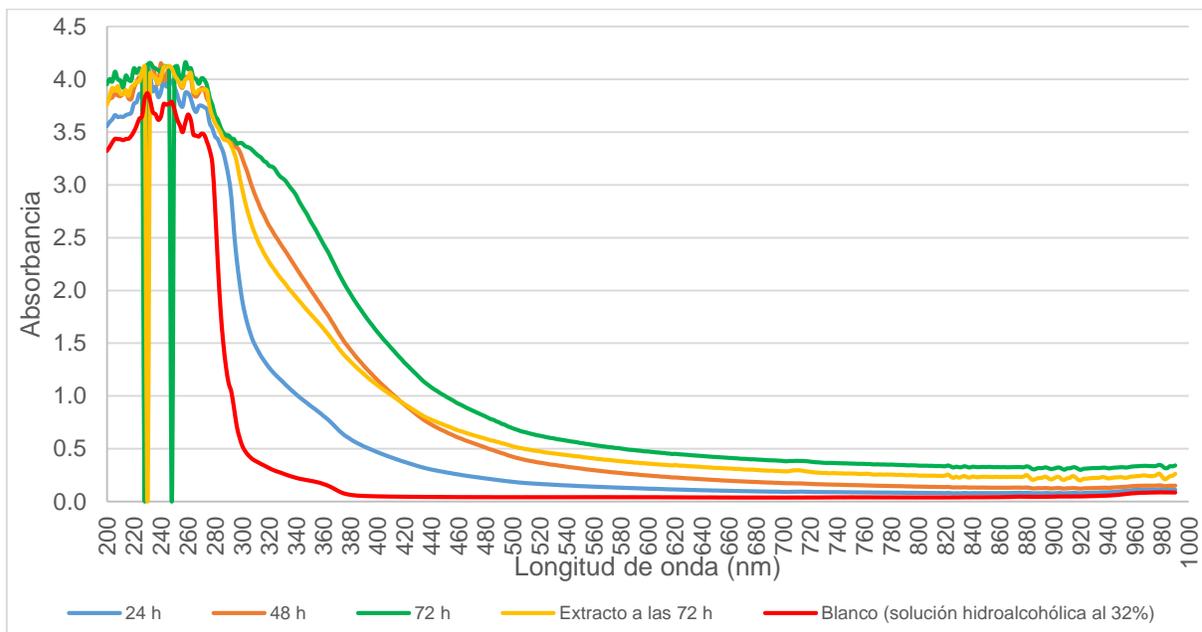


Figura 50. Espectro de absorción del barrido de los macerados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (testigo) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración en condiciones de agitación.

Los espectros de absorción del barrido de los macerados de la CP-675 cultivada en PHE en testigo a las 24, 48 y 72 h y extracto de las 72 h de maceración en condición de reposo, se muestran en la figura 51. Los picos de absorción se ubicaron en el espectro entre 240-280 nm, el macerado y el extracto a las 72 h presentaron una mayor concentración, y el segundo entre los 60-90 nm correspondiente al extracto del macerado de las 72 h.

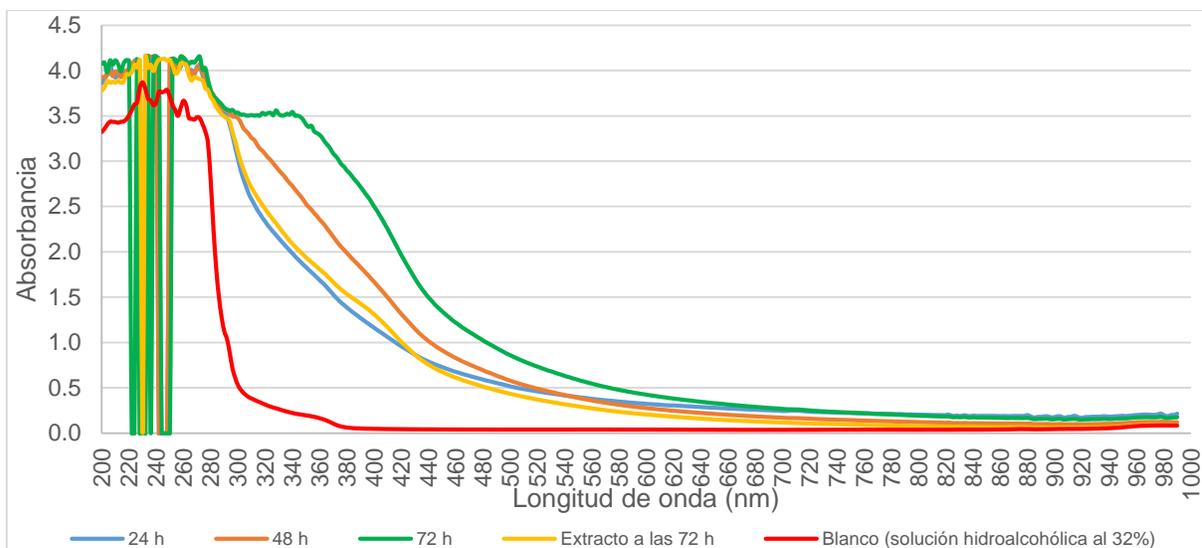


Figura 51. Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (testigo) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración, en condiciones de reposo.

Los espectros de absorción de los macerados del tratamiento PHE+ AAS 100 μM a las 24, 48 y 72 h, así como el extracto de las 72 h de maceración en condición de agitación, se ubicaron entre 210-290 nm, las muestras de los macerados a las 48 y 72 h y el extracto de las 72 h de maceración presentaron mayor concentración (Fig. 52).

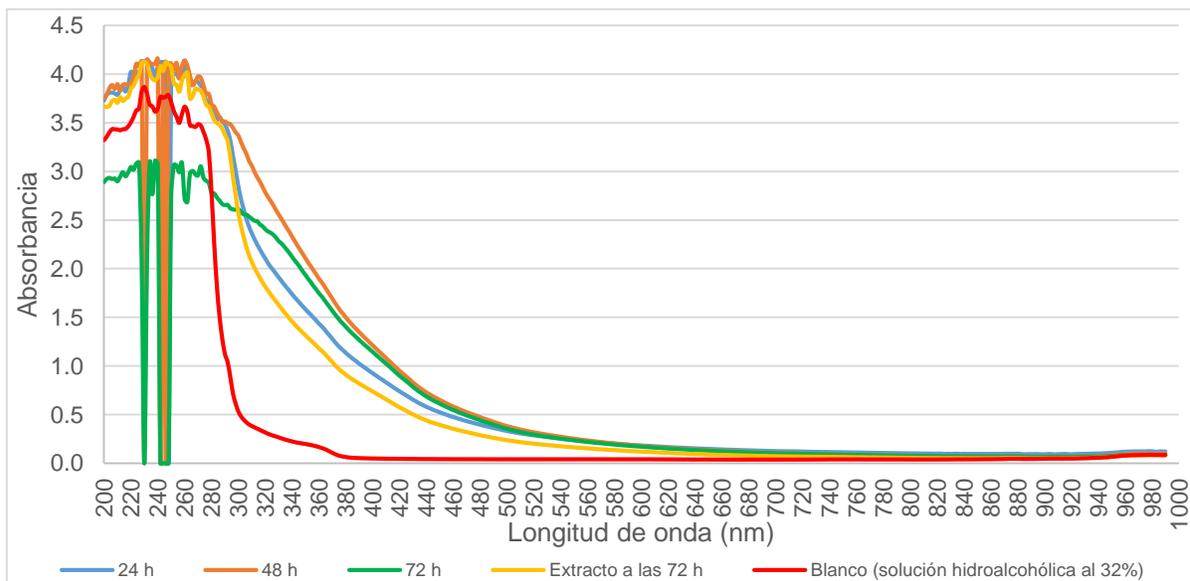


Figura 52. Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (AAS 100 μM) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración en condiciones de agitación.

En la figura 53 se presenta la densidad óptica de los macerados del tratamiento PHE+ AAS 100 μ M a las 24, 48 y 72 h, así como el extracto de las 72 h de maceración. Las mayores definiciones quedaron entre 200-270 nm, donde el macerado y el extracto de las 72 h de maceración presentaron mayor concentración.

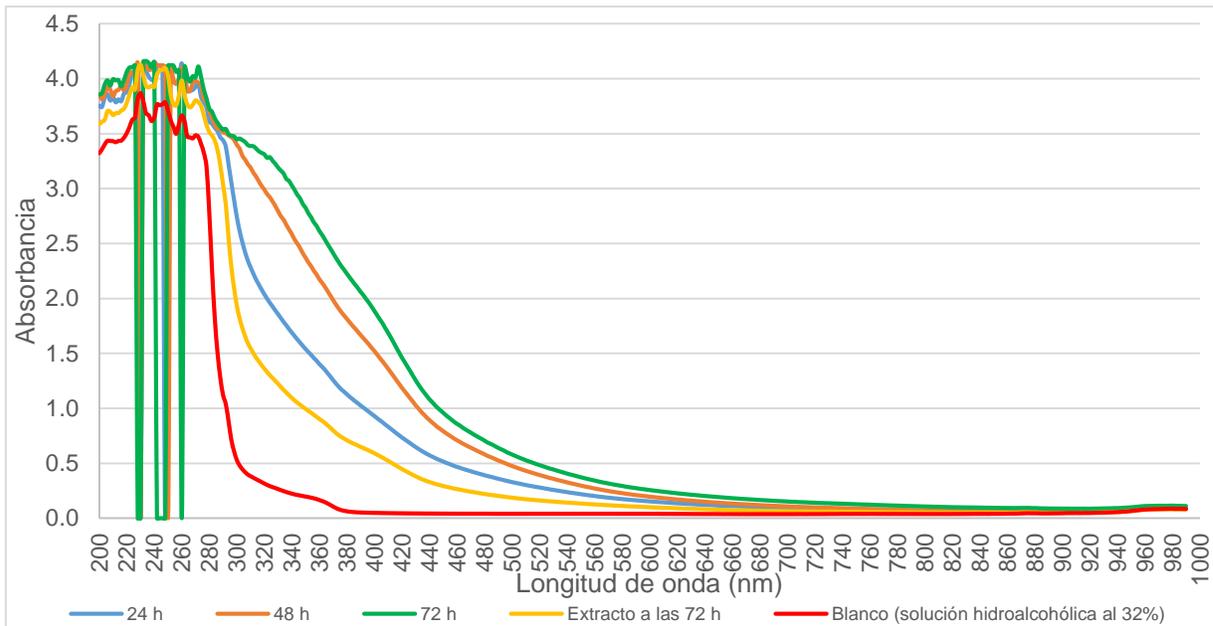


Figura 53. Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (AAS 100 μ M) a las 24, 48, 72 h y extracto a las 72 h en condiciones de reposo.

La densidad óptica de los macerados del tratamiento PHE+ AAS 10 mM a las 24, 48 y 72 h y el extracto de las 72 h de maceración se presentan en la figura 54. Los picos de absorción fueron a una longitud de onda de 230-340 nm, siendo las muestras del macerado y el extracto de las 72 h de maceración los que presentaron una mayor concentración en ese rango.

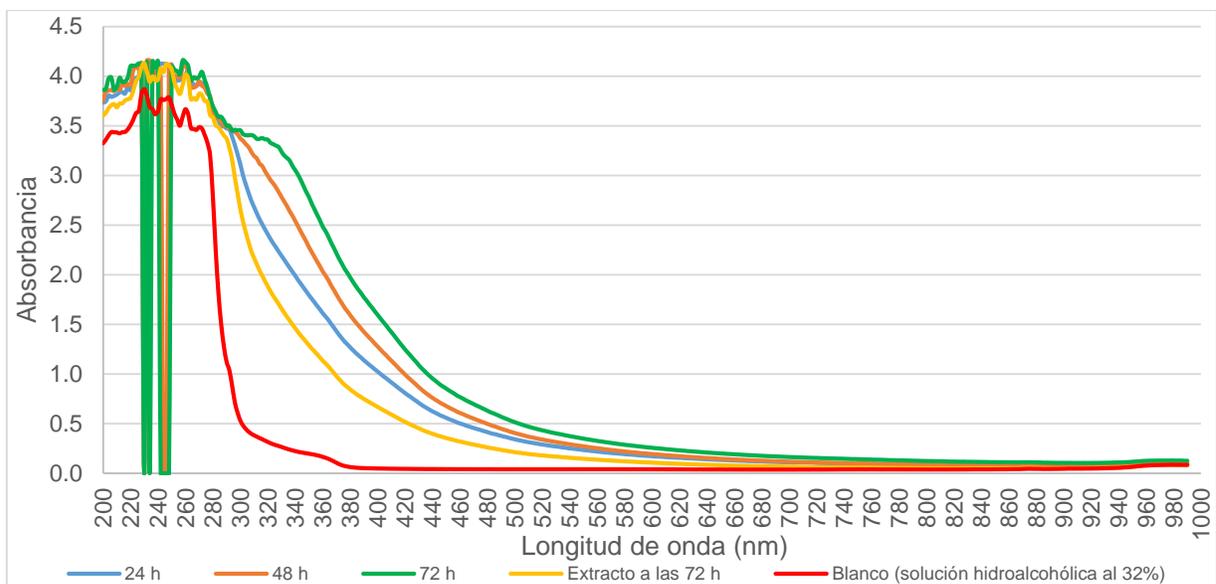


Figura 54. Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (AAS 10 mM) a las 24, 48, 72 h y extracto a las 72 h en condiciones de agitación.

La densidad óptica de los macerados en sus diferentes tiempos de maceración, así como el extracto a las 72 h se muestran en la figura 55, se observaron picos de absorción entre 220-300 nm donde la muestra del macerado a las 72 h se encontró a mayor concentración.

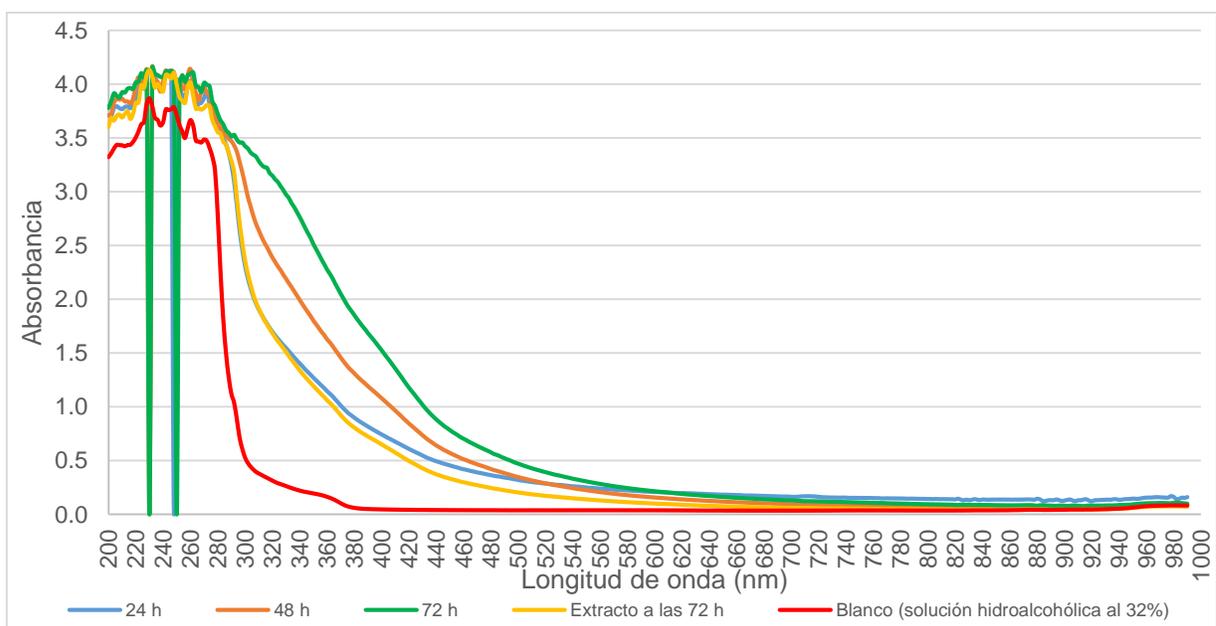


Figura 55. Macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (AAS 10 mM) a las 24, 48, 72 h y el extracto de las 72 h de maceración en condiciones de reposo.

En la figura 56 se muestra la densidad óptica de los macerados utilizados como controles en los diferentes tratamientos, en condiciones de agitación y reposo, se mostró un pico entre 220-300 nm, donde los macerados de los tratamientos PHE+ AAS 10 mM en condición de agitación y de reposo presentaron mayor concentración.

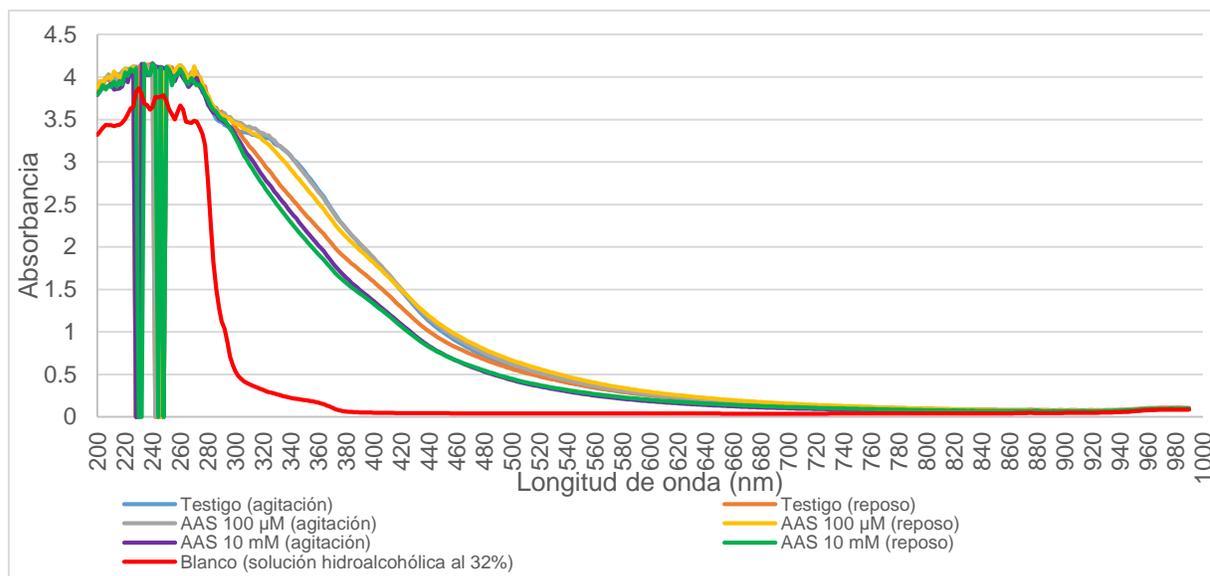


Figura 56. Macerados a las 24 h (controles) de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril en diferentes tratamientos, en condiciones de agitación y reposo. AAS= Ácido acetilsalicílico.

Funcionalidad de los extractos

Caracterización de extractos preliminares a las 24 h utilizados como estándares la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM

Se muestran los rendimientos de los extractos a las 24 h en los tres tratamientos, el mayor rendimiento registrado fue para el tratamiento PHE con un valor de 168.69 mg/mL, seguido del tratamiento PHE+ AAS 100 µM con un rendimiento de 136.90 mg/mL, y finalmente el tercer tratamiento PHE+ AAS 10 mM, obtuvo un rendimiento de 125.20 mg/mL, siendo el rendimiento más bajo comparado con los otros tratamientos (Fig. 57).

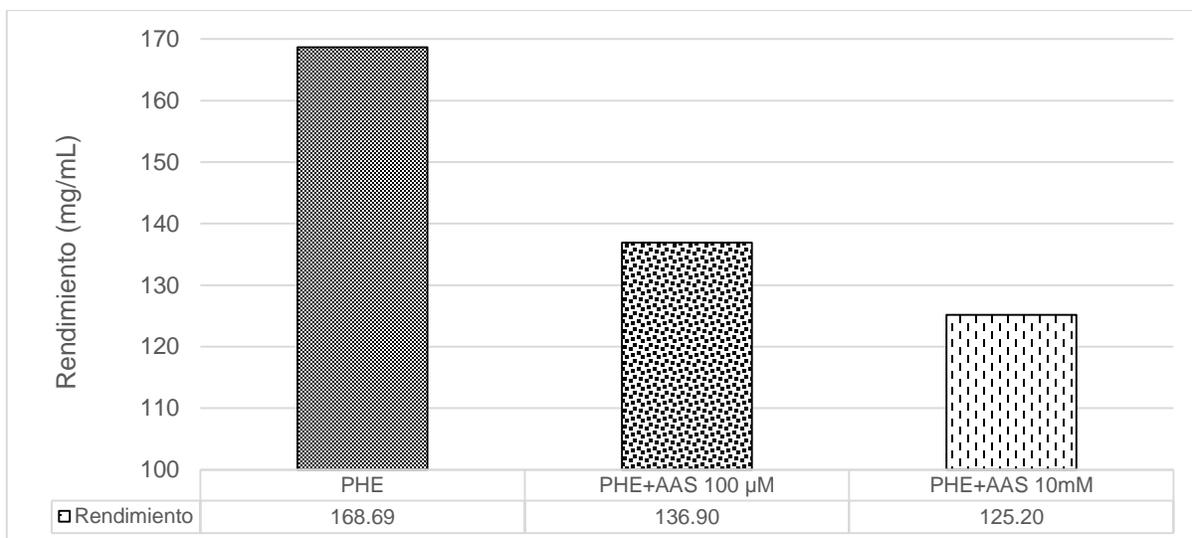


Figura 57. Rendimiento de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

La conductividad de los extractos a las 24 h en los tres tratamientos se muestra en la figura 58. El tratamiento PHE+ AAS 100 µM tuvo una conductividad de 106,874 µS/cm, seguido del tratamiento PHE+ AAS 10 mM con una conductividad de 102,096 µS/cm, el menor valor se registró en el tratamiento PHE con 96,489.9 µS/cm.

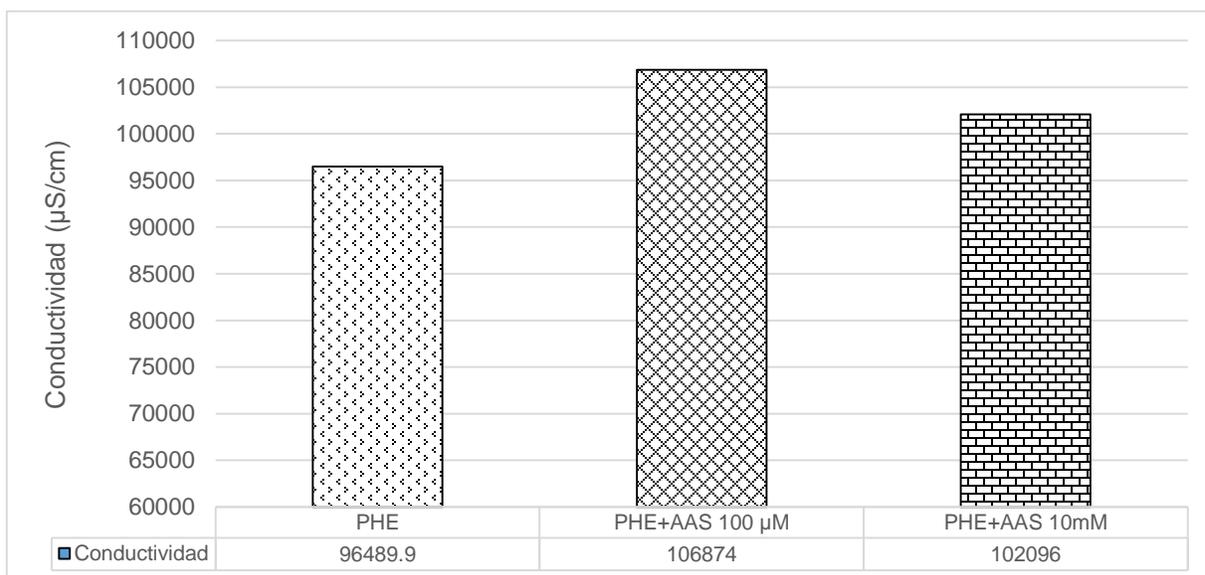


Figura 58. Conductividad de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

La resistividad de los extractos a las 24 h se muestra en la figura 59, en donde el menor valor lo obtuvo el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M con 5 Ω , mientras que PHE y PHE+ AAS 10 mM obtuvieron una resistividad de 6 Ω .

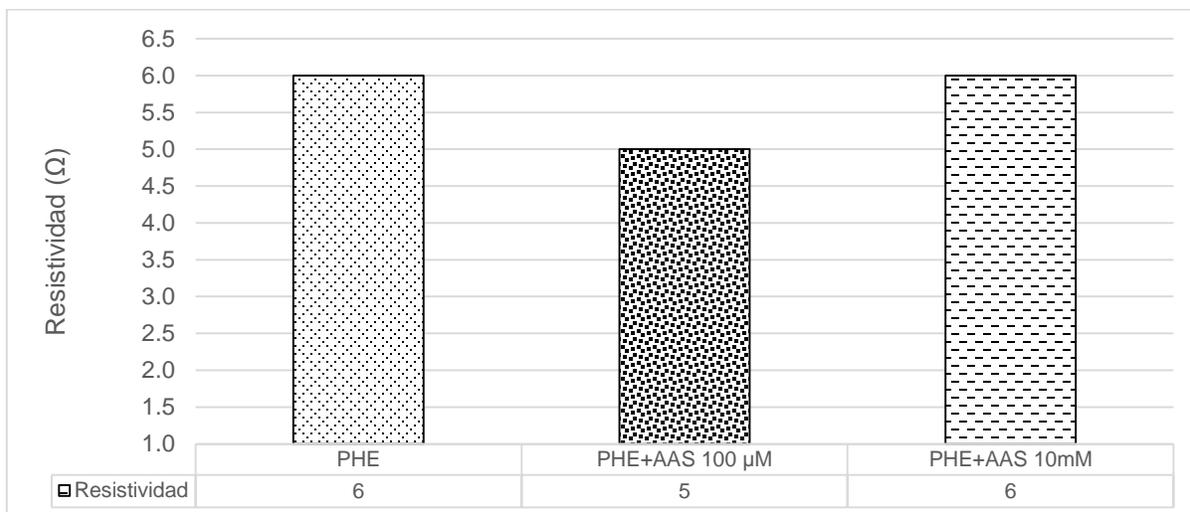


Figura 59. Resistividad de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

En el caso del pH (Fig. 60), los tres tratamientos oscilaron entre 7-8, el mayor pH se registró en PHE con un valor de 7.75, mientras que en PHE+ AAS 100 μ M y en PHE+ AAS 10 mM registraron un pH de 7.69 y 7.68, respectivamente.

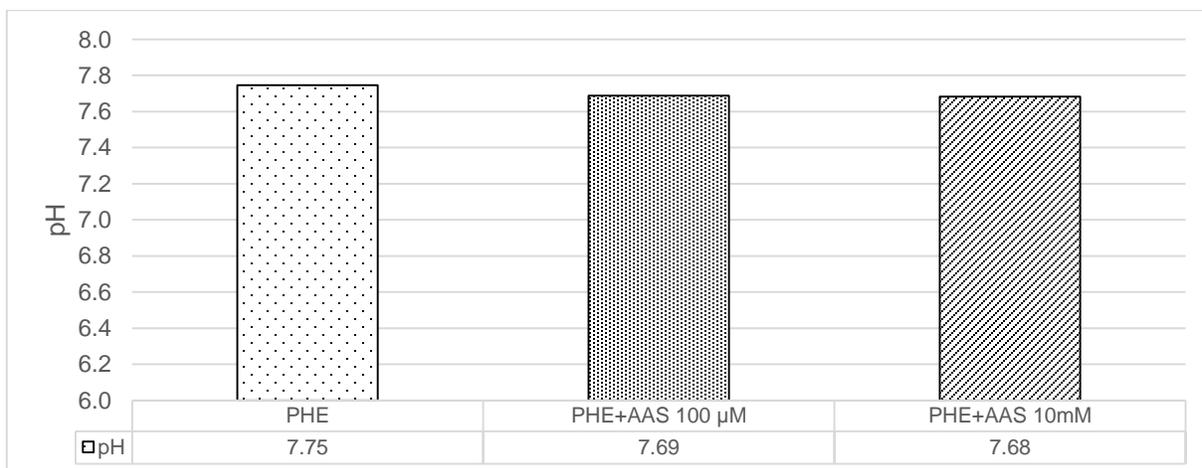


Figura 60. pH de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

La temperatura de los extractos a las 24 h en reposo se expone en la figura 61. El tratamiento PHE+ AAS 100 μ M obtuvo una temperatura de 27 $^{\circ}$ C, mientras que PHE registró una temperatura de 26.7 $^{\circ}$ C, en PHE+ AAS 10 mM una temperatura de 26.5 $^{\circ}$ C.

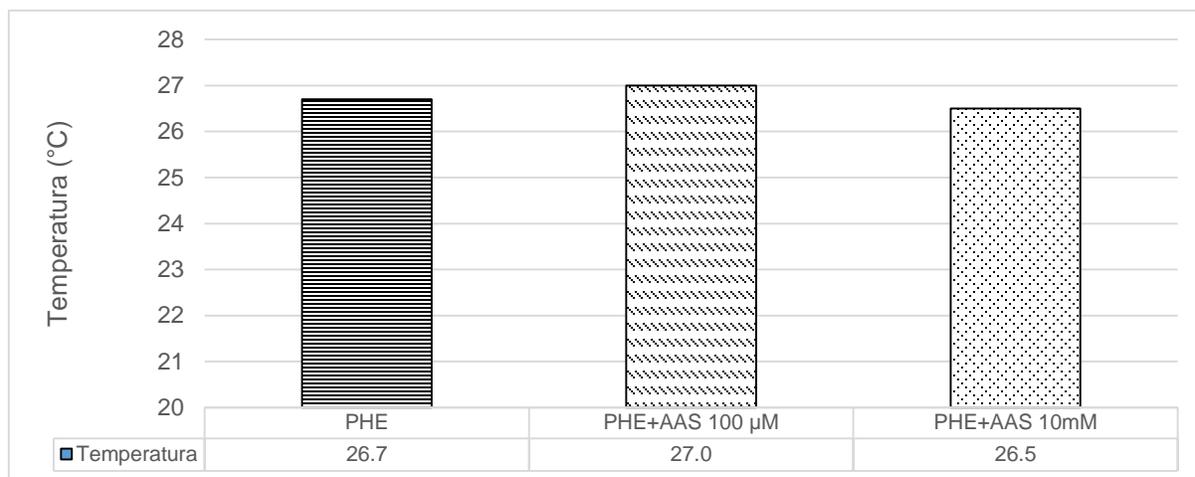


Figura 61. Temperatura de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

En la figura 62 se muestran los resultados con respecto a los grados Brix de los extractos a las 24 h, en PHE obtuvo un 22.5%, PHE+ AAS 100 μ M registró 21.4% de grados Brix, mientras que en PHE+ AAS 10 mM de 20.1%.

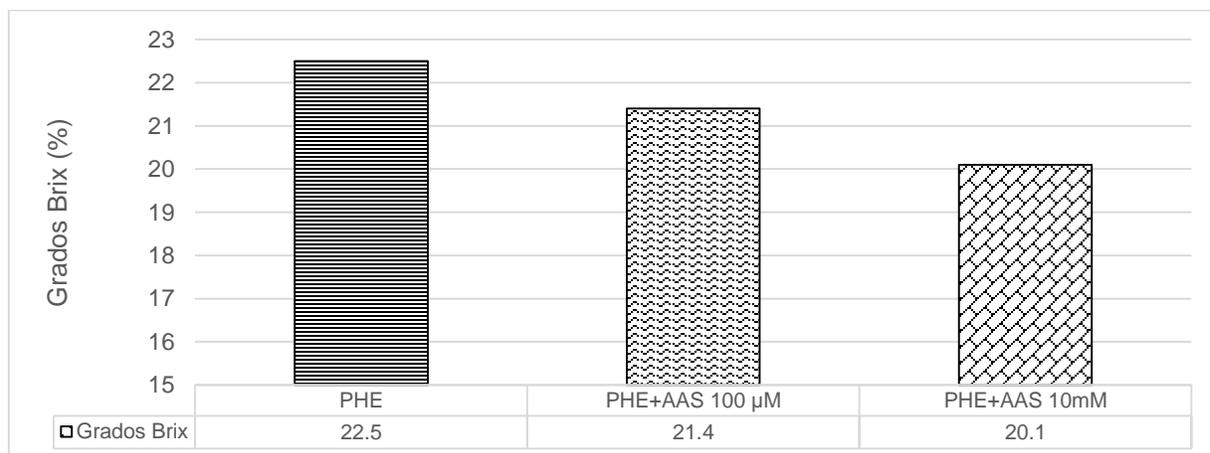


Figura 62. Grados Brix de los extractos a las 24 h en reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. PHE= Paja hidratada estéril.

Se presentan los resultados de los rendimientos de los extractos a las 72 h en los tres tratamientos comparados con su control, en el primer tratamiento correspondiente al testigo (PHE) se observó que en la condición en reposo presentó mayor rendimiento con 263.33 mg/mL, mientras que en la condición en agitación se obtuvo un rendimiento de 173.63 mg/mL, para PHE+ AAS 100 μ M en la condición en agitación presentó el mayor rendimiento con 260.93 mg/mL, mientras que en reposo se registró un rendimiento de 164.87 mg/mL, en PHE+ AAS 10 mM se obtuvo un mayor rendimiento en la condición en agitación con 265.47 mg/mL, mientras que en la condición en reposo 232.00 mg/mL (Fig. 63).

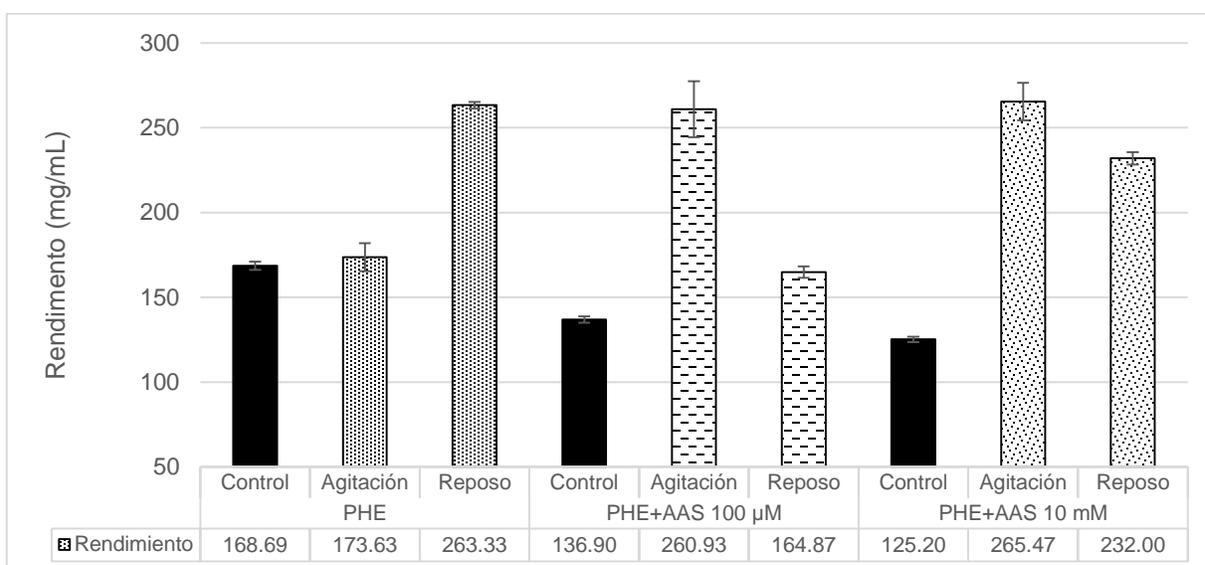


Figura 63. Rendimiento de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. Control= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

La densidad óptica de los extractos a las 72 h se observa en la figura 64, se registraron picos en el espectro entre 220-300 nm, en donde la muestra de testigo en reposo se encontró a mayor concentración.

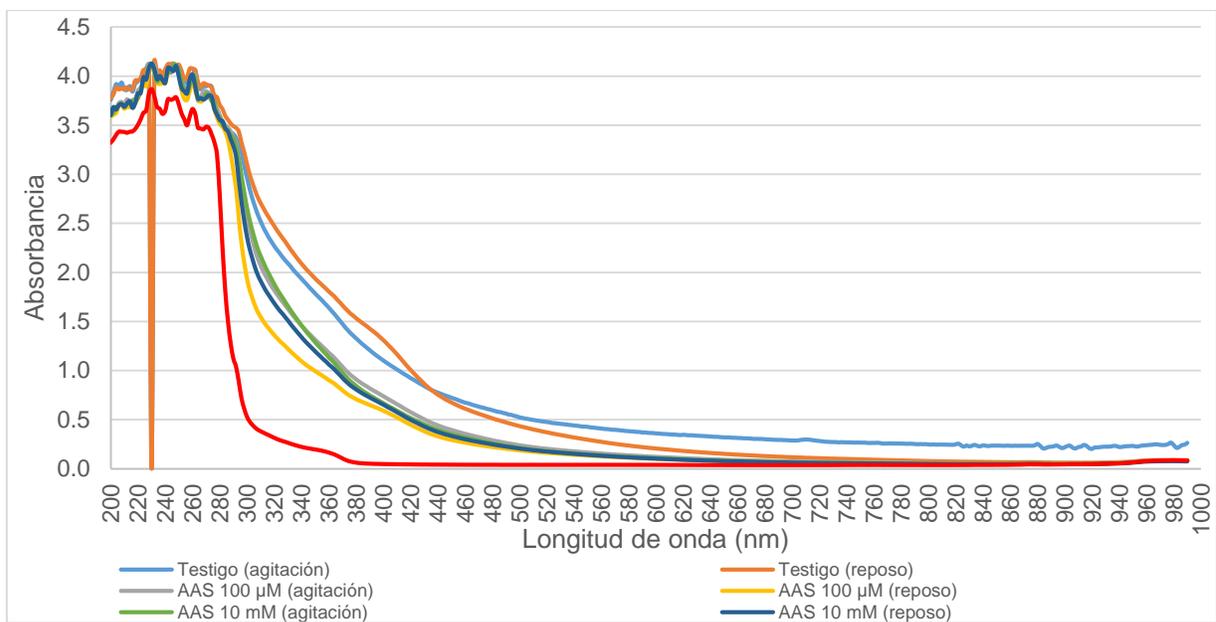


Figura 64. Espectro de absorción del barrido de los extractos a las 72 h de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril en diferentes tratamientos en condiciones de agitación y reposo. AAS= Ácido acetilsalicílico.

La densidad óptica de los extractos a las 24 h de los controles se puede observar en la figura 65 en donde las muestras presentaron mayor concentración entre 200-560 nm.

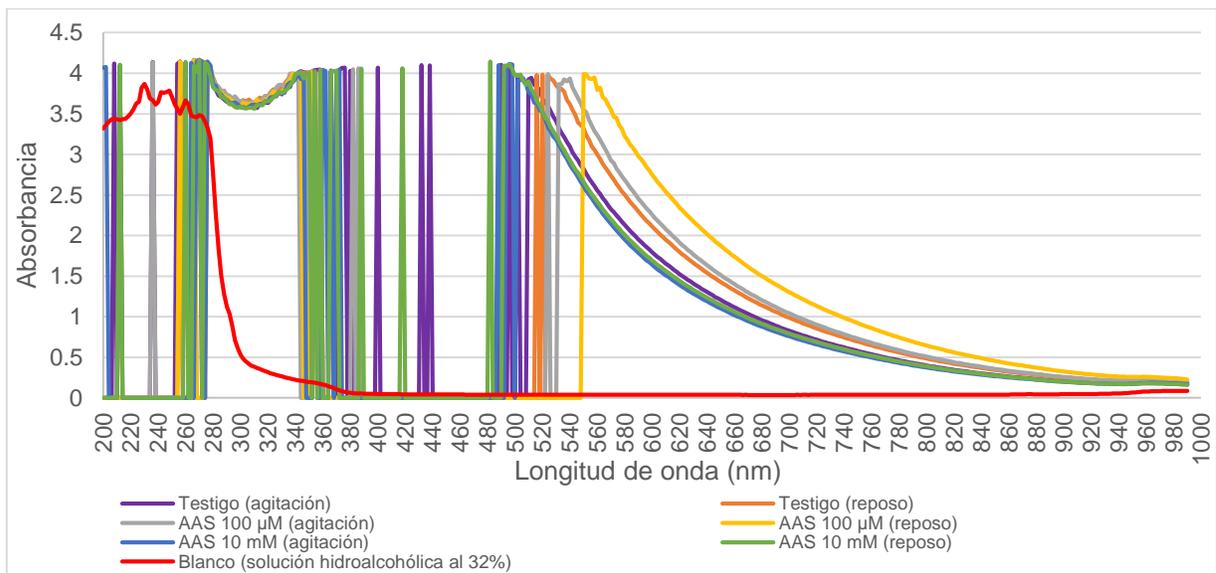


Figura 65. Extractos a las 24 h (controles) de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) en diferentes tratamientos, en condiciones de agitación y reposo. AAS= Ácido acetilsalicílico.

La conductividad de los extractos a las 72 h se muestra en la figura 66, en donde los extractos de los tres tratamientos presentaron un comportamiento exponencial en las condiciones de agitación y reposo, en PHE en la condición en agitación presentó 42,093.40 $\mu\text{S}/\text{cm}$, mientras que en la condición en reposo 51,139.30 $\mu\text{S}/\text{cm}$, PHE+ AAS 100 μM en condiciones de agitación presentó 56,929.40 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y en reposo 60,139.50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, PHE+ AAS 10 mM en agitación se obtuvo 64,699.00 $\mu\text{S}/\text{cm}$ mientras que en reposo 72,202.80 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

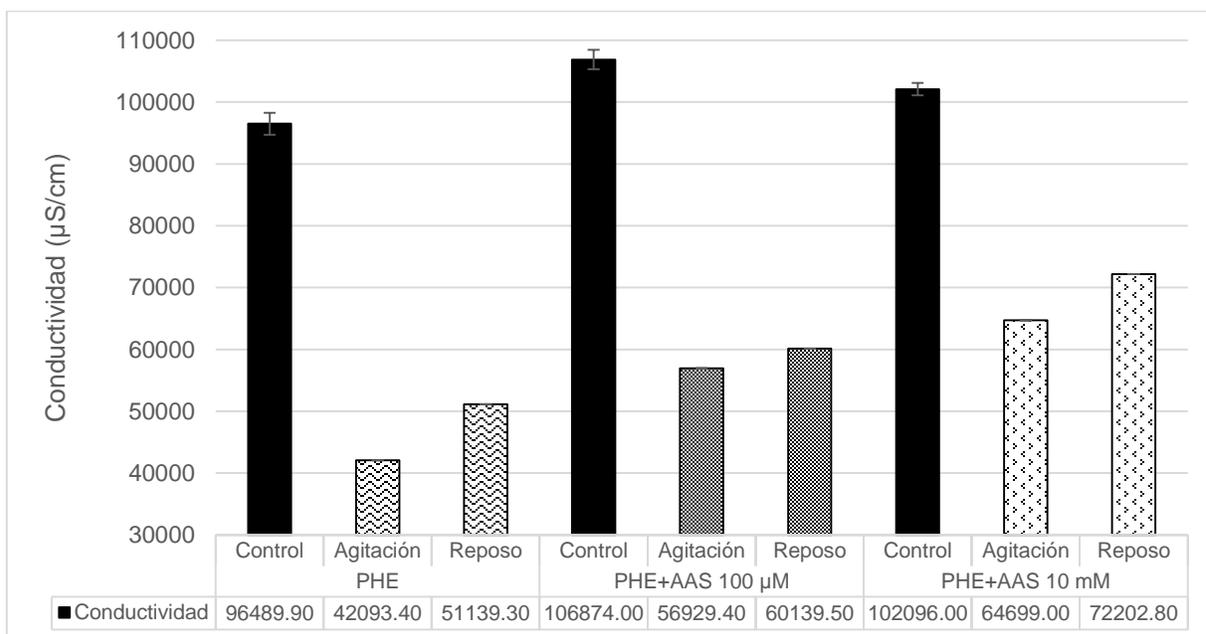


Figura 66. Conductividad de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM ($n=5$). AAS= Ácido acetilsalicílico. Control= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

En la figura 67 se muestra la resistividad de los extractos a las 72 h en donde los valores más altos se registraron en PHE con 15 Ω en condición de agitación y 12 Ω en reposo, PHE+ AAS 100 μM registró 11 Ω en agitación, mientras que en reposo se obtuvo 10 Ω , PHE+ AAS 10 mM en condición de agitación se obtuvo 10 Ω , mientras que en reposo la resistividad fue de 9 Ω .

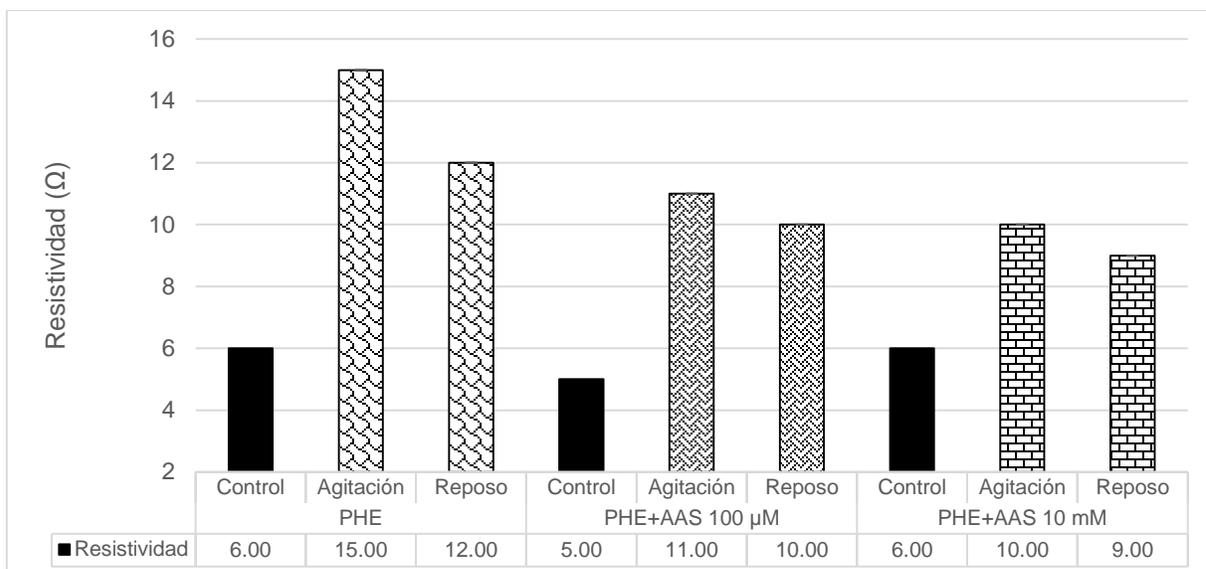


Figura 67. Resistividad de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. Control= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

El pH de los extractos a las 72 h en condición de agitación y reposo se muestran en la figura 68, en donde todas las muestras, incluyendo los controles de cada tratamiento oscilaron entre 7.

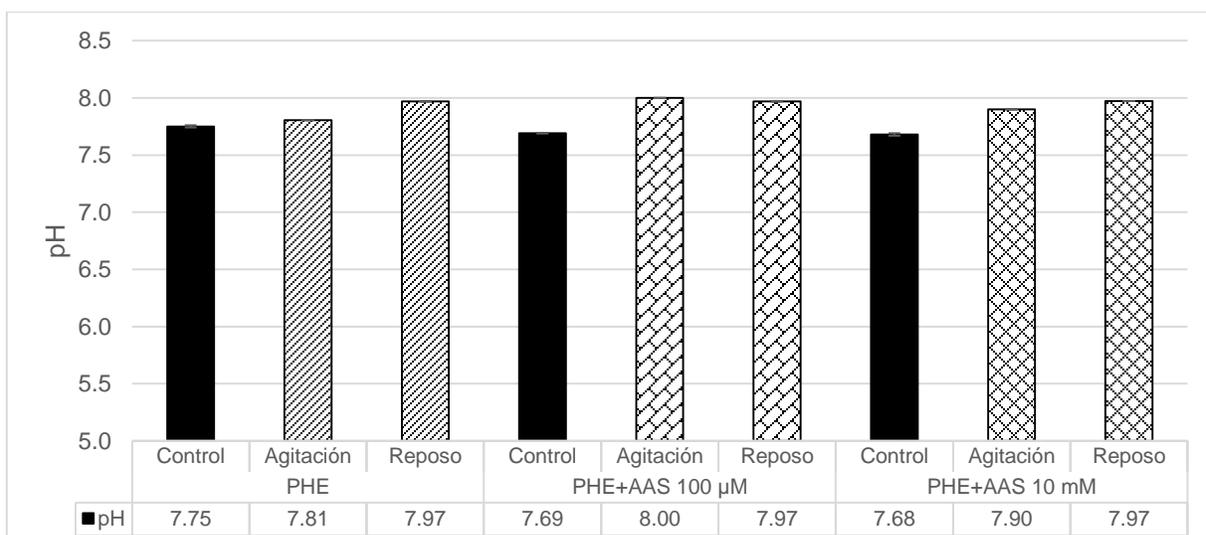


Figura 68. pH de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. Control= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

Las temperaturas registradas de los extractos en los tres tratamientos a las 72 h en condiciones de agitación y reposo con sus respectivos controles se muestran en la figura 69, se observó que la temperatura de los tres tratamientos osciló entre los 21 y 22 °C.

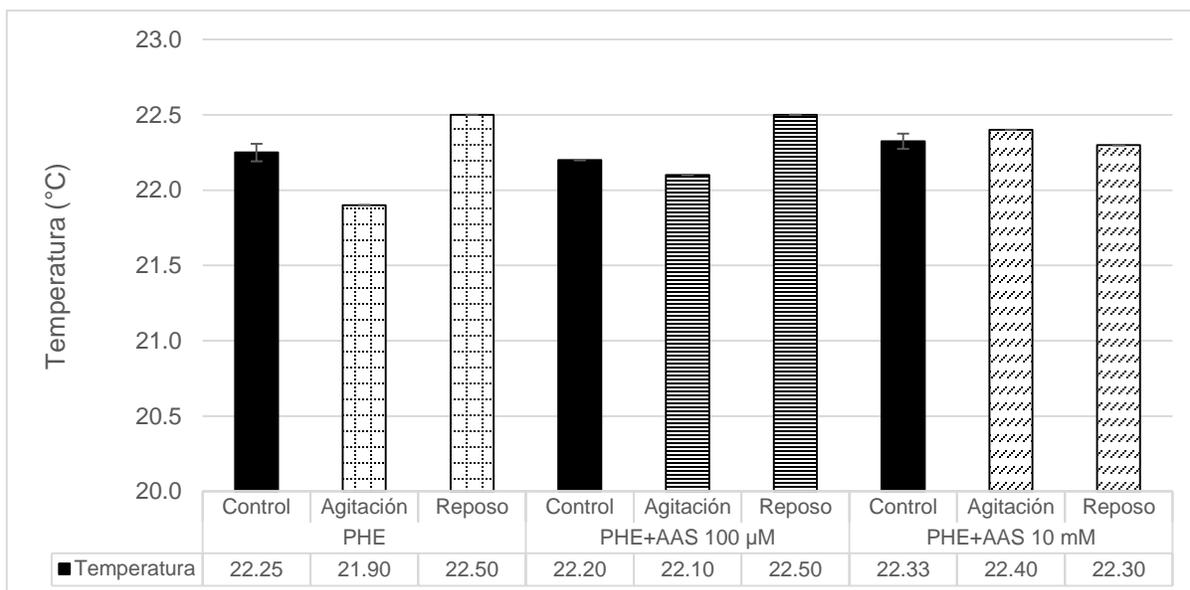


Figura 69. Temperatura de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. Control= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

Los grados Brix de los extractos a las 72 h en condiciones de agitación y reposo se muestran en la figura 70, en PHE se obtuvo el valor mayor en grados Brix en condición de reposo con 31.50%, mientras que en agitación un 23.00%, en PHE+ AAS 100 µM, se registraron 29.80% en agitación y en reposo 21.70% y en PHE+ AAS 10 mM en condición de agitación se obtuvieron 29.20% y en reposo 26.80% en grados Brix.

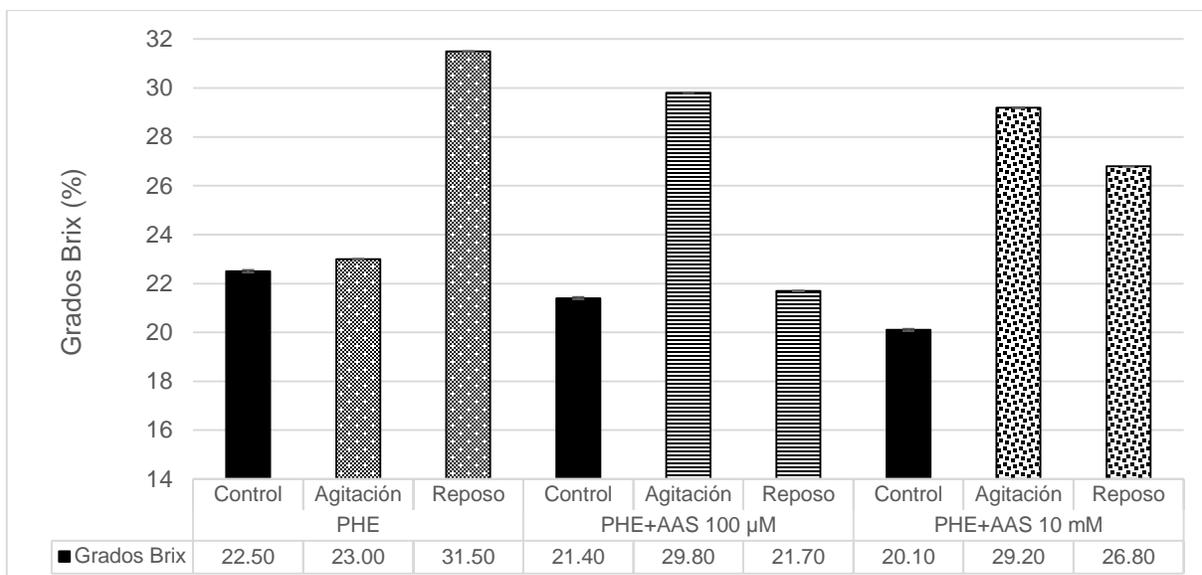


Figura 70. Grados Brix de los extractos a las 72 h en agitación y reposo de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE), suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. Control= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. PHE= Paja hidratada estéril.

8.6 Caracterización de los macerados y extractos estandarizados

Los resultados de los macerados y extractos estandarizados de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivados en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM se presentan a continuación.

Macerados estandarizados

A continuación, se muestran los rendimientos de los macerados estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina*, en donde el mayor rendimiento se obtuvo en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) para la cepa CP-733 con 19.16 mg/mL, siguiendo con aserrín de encino en testigo (AE) registrando 18.64 mg/mL, el macerado de la cepa CP-675 que obtuvo mayor rendimiento fue en tratamiento PHE+ AAS 10 mM con 18.48 mg/mL, siguiendo del tratamiento AE+ AAS 10 mM con un rendimiento de 17.24 mg/mL (Fig. 71).

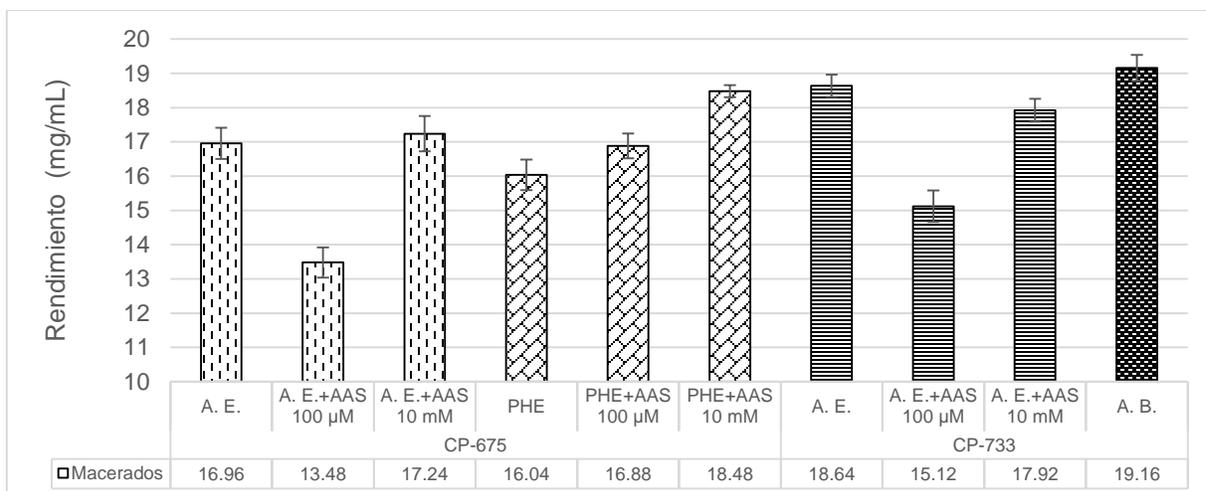


Figura 71. Rendimiento de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

La conductividad de los macerados estandarizados se muestra en la figura 72, tanto en la cepa CP-675 y en la CP-733 el mayor valor se registró en el tratamiento en aserrín de encino en testigo (AE) para la CP-675 con 10130.26 μ S/cm y 10310.66 μ S/cm en el tratamiento AE para la CP-733.

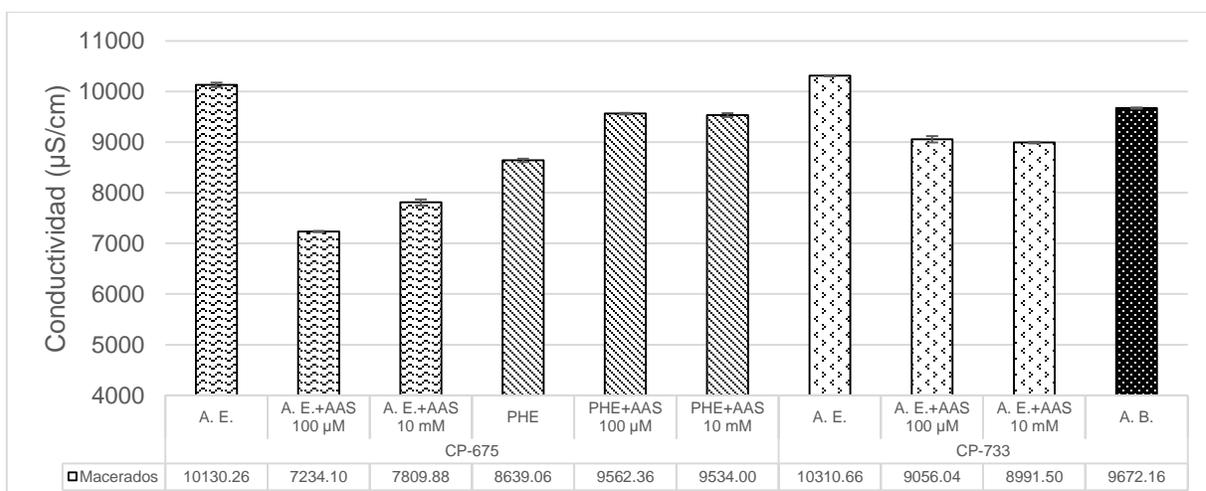


Figura 72. Conductividad de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Los resultados de la resistividad de los macerados estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 se muestran en la figura 73, los valores máximos se registraron en el tratamiento AE+ AAS 100 μ M en las dos cepas, en la cepa CP-675 se obtuvo 83 Ω , mientras que en la cepa CP-733 se registraron 69.40 Ω .

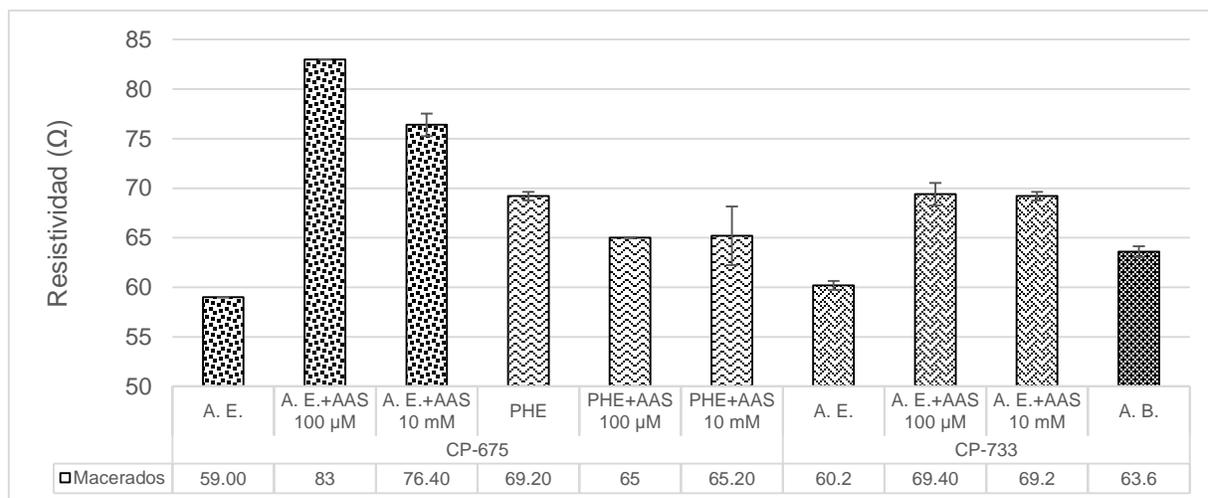


Figura 73. Resistividad de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

El pH de los macerados estandarizados se muestra en la figura 74, el máximo valor registrado para la cepa CP-675 en el tratamiento AE+ AAS 100 μ M fue de 8.36, mientras que para la cepa CP-733 fue de 8.72 en el tratamiento AE+ AAS 10 mM.

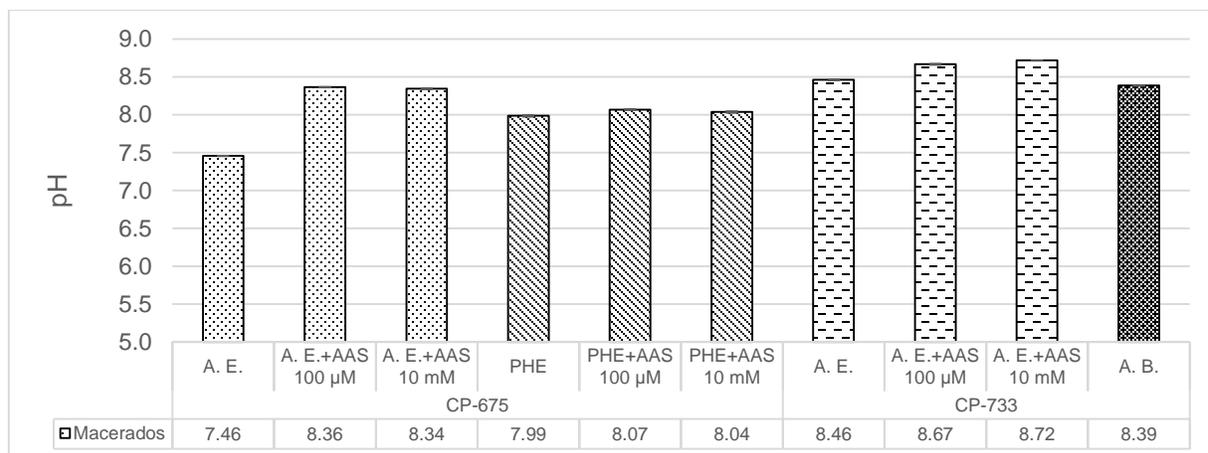


Figura 74. pH de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Las temperaturas registradas de los macerados estandarizados se pueden observar en la figura 75, el máximo valor registrado fue para la cepa CP-675 con 25.36 °C en AE, para la cepa CP-733 el máximo valor registrado fue en AE+ AAS 10 mM con 23.1 °C.

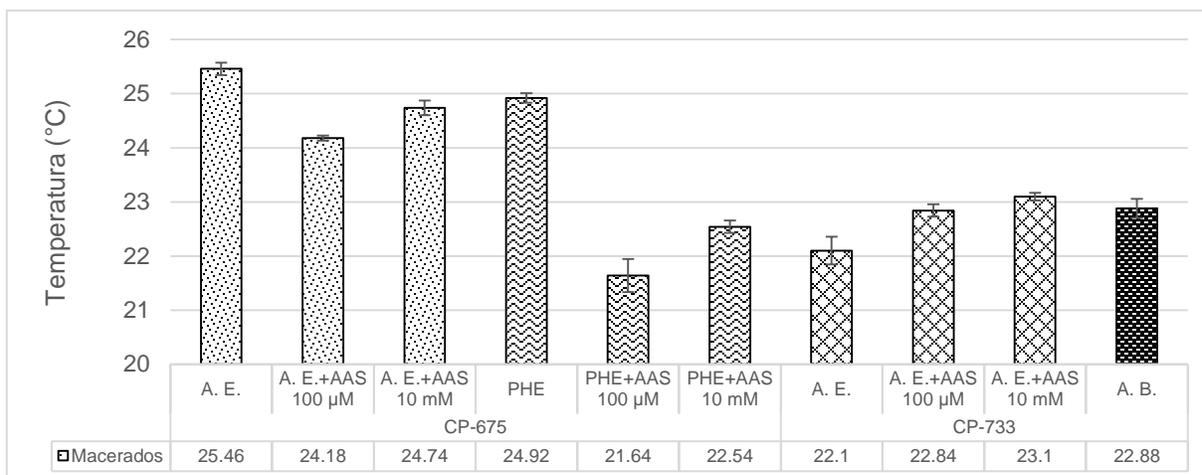


Figura 75. Temperatura de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Los grados Brix de los macerados estandarizados se presentan en la figura 76, en la cepa CP-675 el valor máximo se registró en el tratamiento AE+ AAS 10 mM con 14.30%, mientras que en la cepa CP-733 fue de 13.78% en AB.

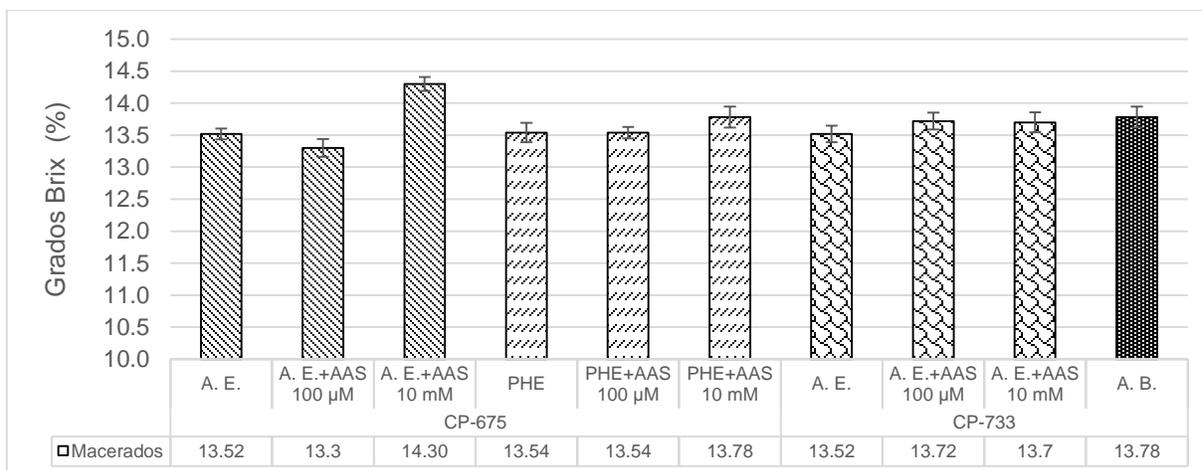


Figura 76. Grados Brix de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Extractos estandarizados

A continuación, se muestran los rendimientos obtenidos para los extractos estandarizados tanto de las cepas CP-675 y CP-733, el mayor rendimiento registrado para la cepa CP-675 fue en el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M con 244.70 mg/mL, para la cepa CP-733 el mayor rendimiento se registró en AB con 262.30 mg/mL (Fig. 77).

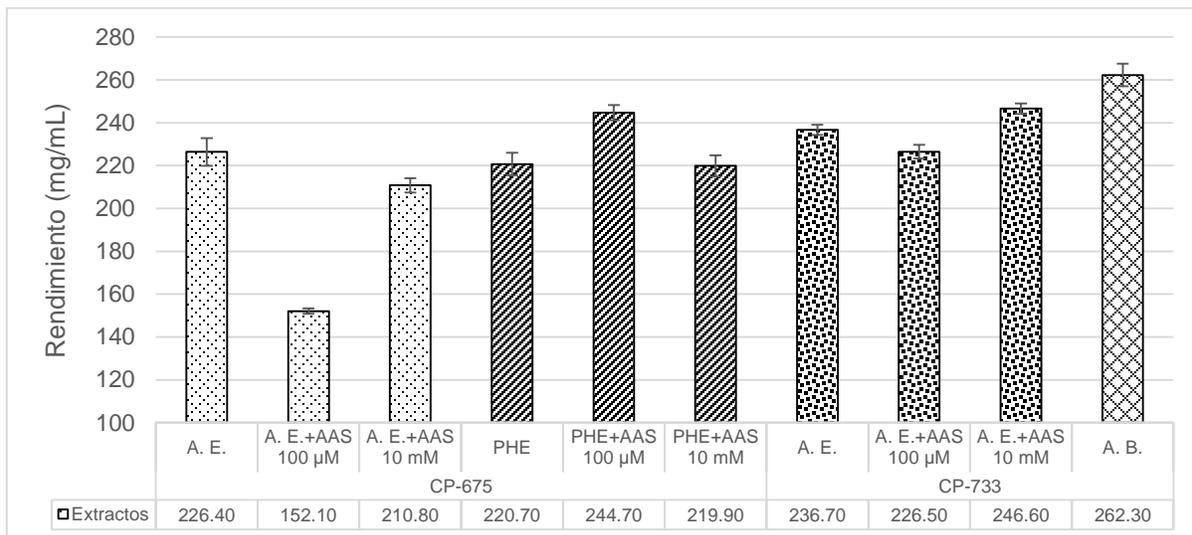


Figura 77. Rendimiento de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

En la figura 78 se presenta la densidad óptica de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* a las 24 h, se observaron tres picos en el espectro, el primero entre 230-235 nm, el segundo entre 235-245 nm y el tercero entre 255-265 nm en donde la muestra de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 100 μ M se encontró a mayor concentración.

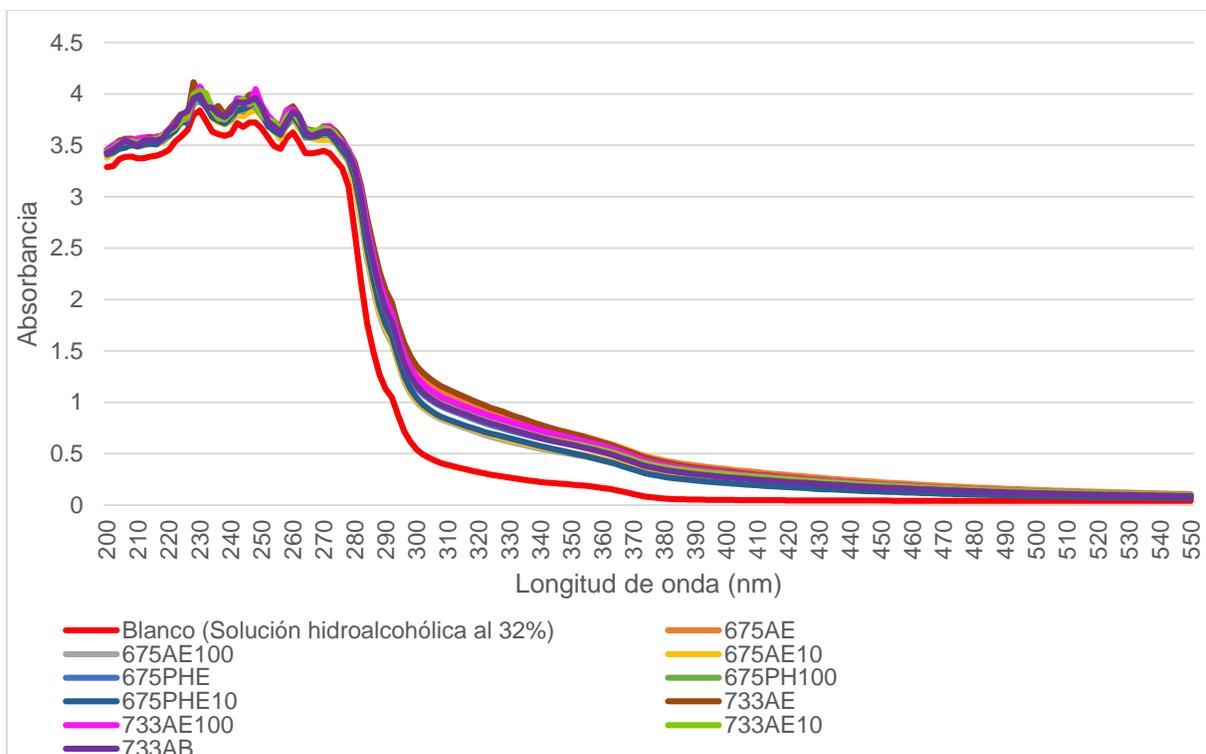


Figura 78. Espectro de absorción del barrido a una longitud de onda entre 200-550 nm de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM. 675AE= CP-675/ Aserrín de encino+ Testigo/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 675AE100= CP-675/ Aserrín de encino+ AAS 100 μ M/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 675AE10= CP-675/ Aserrín de encino+ AAS 10 mM/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 675PHE= CP-675/ Paja hidratada estéril+ Testigo/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 675PH100= CP-675/ Paja hidratada estéril+ AAS 100 μ M/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 675PHE10= CP-675/ Paja hidratada estéril+ AAS 10 mM/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 733AE= CP-733/ Aserrín de encino+ Testigo/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 733AE100= CP-733/ Aserrín de encino+ AAS 100 μ M/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 733AE10= CP-733/ Aserrín de encino+ AAS 10 mM/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h. 733AB= CP-733/ Aserrín de *Bursera*+Testigo/5g de hongo seco/150 mL de solución hidroalcohólica al 32%/reposito/24 h.

La conductividad de los extractos estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* se pueden observar en la figura 79, el valor mayor registrado de la cepa CP-675 fue en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM con 105832.00 μ S/cm, mientras que para la cepa CP-733 obtuvo 104871.80 μ S/cm en AE.

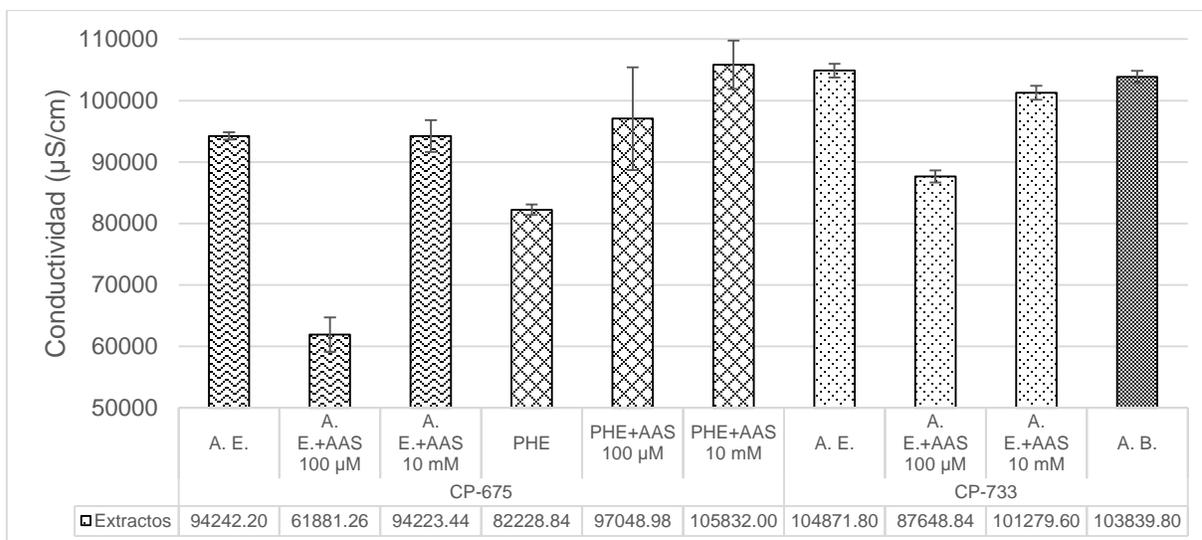


Figura 79. Conductividad de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Los resultados de resistividad de los extractos estandarizados se muestran en la figura 80, en donde la cepa CP-675 registró su valor máximo en el tratamiento AE+ AAS 100 µM con 9.8 Ω, mientras que en la cepa CP-733 su valor máximo registrado también fue en el mismo tratamiento que en la CP-675 con 7.00 Ω.

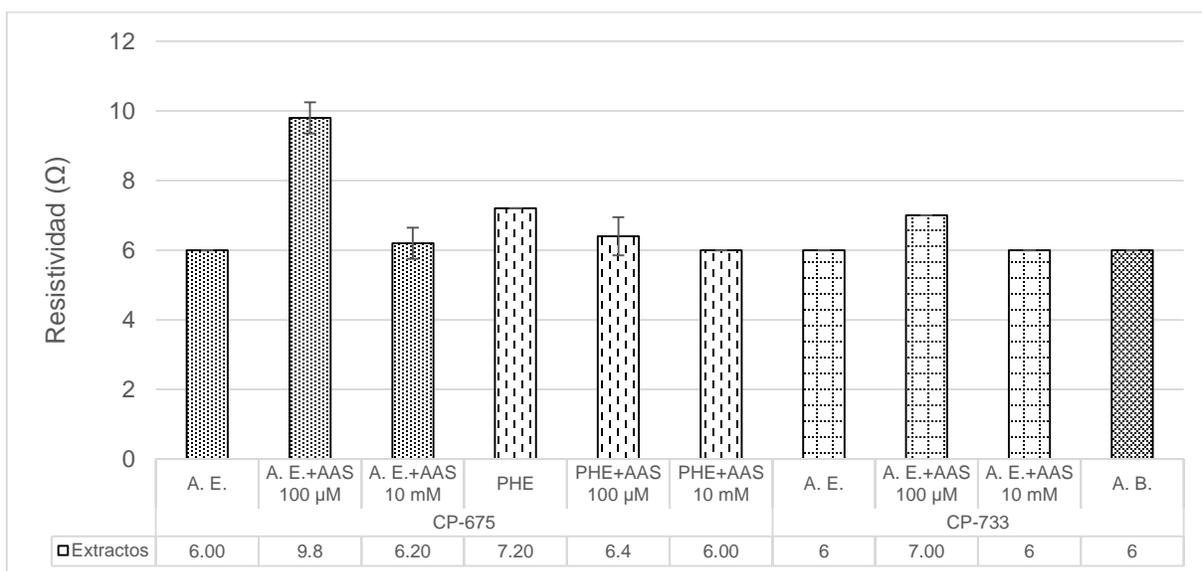


Figura 80. Resistividad de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

El pH de los extractos estandarizados obtenidos para las dos cepas en estudio osciló entre 7.28 y 8.28, para la cepa CP-675 el pH osciló entre el 7 en cualquiera de sus tratamientos, sin embargo, para el caso de la cepa CP-733 presentó un pH más básico, ya que en sus tratamientos el pH osciló entre 8.02 a 8.28 (Fig.81).

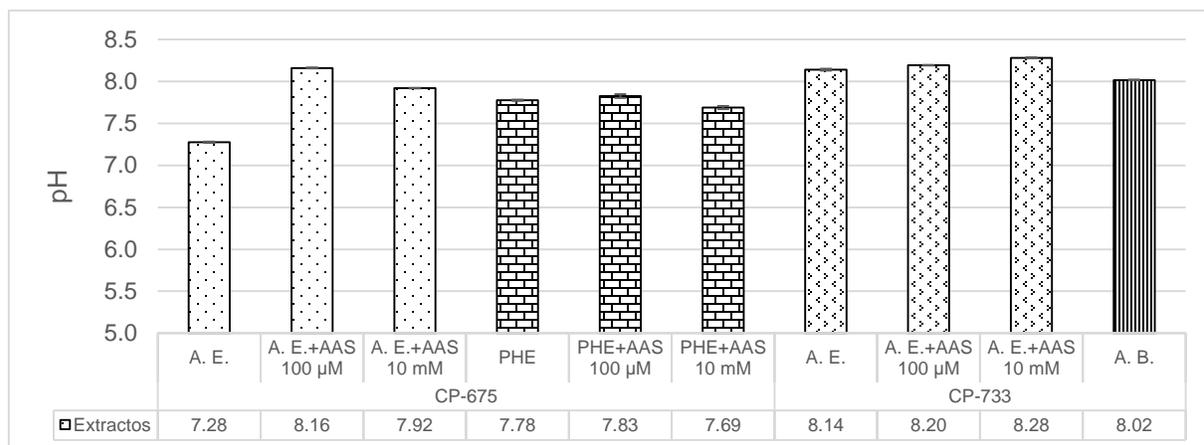


Figura 81. pH de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Las temperaturas registradas de los extractos estandarizados para las dos cepas en estudio, así como en sus tres tratamientos, en la cepa CP-675 fue de 23.90 a 24.62 °C, y para la cepa CP-733 osciló entre 23.04 a 23.72 °C, en sus tratamientos (Fig. 82).

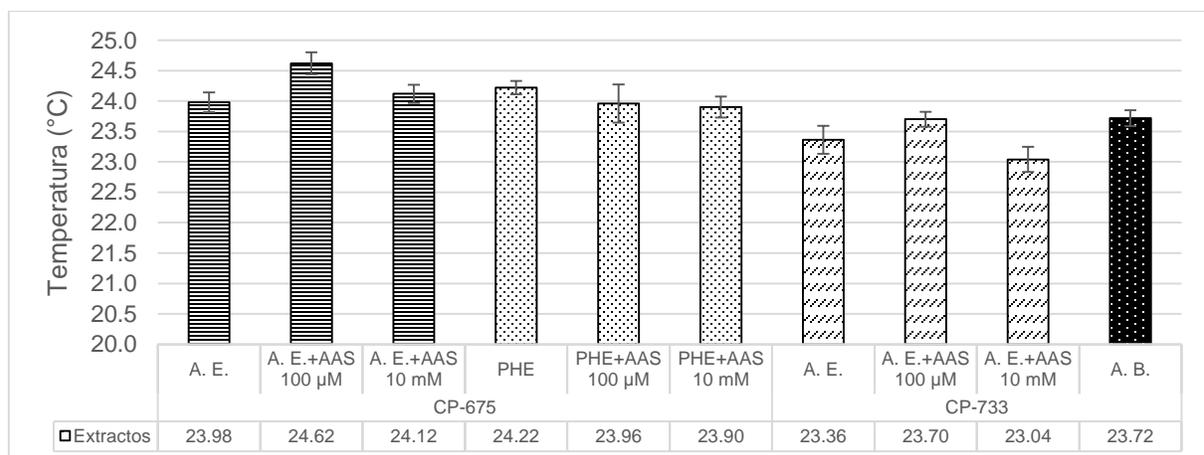


Figura 82. Temperatura de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Los resultados de los grados Brix de los extractos estandarizados se muestran en la figura 83. Los valores mayores registrados para la cepa CP-675 fueron de 23.88% para AE, de 23.74% para el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M y de 23.52% para PHE, en el caso de la cepa CP-733 los valores máximos fueron los siguientes: 23.5% para AB, 22.98% para AE + AAS 100 μ M y 22.96% para el tratamiento AE+ AAS 10 mM.

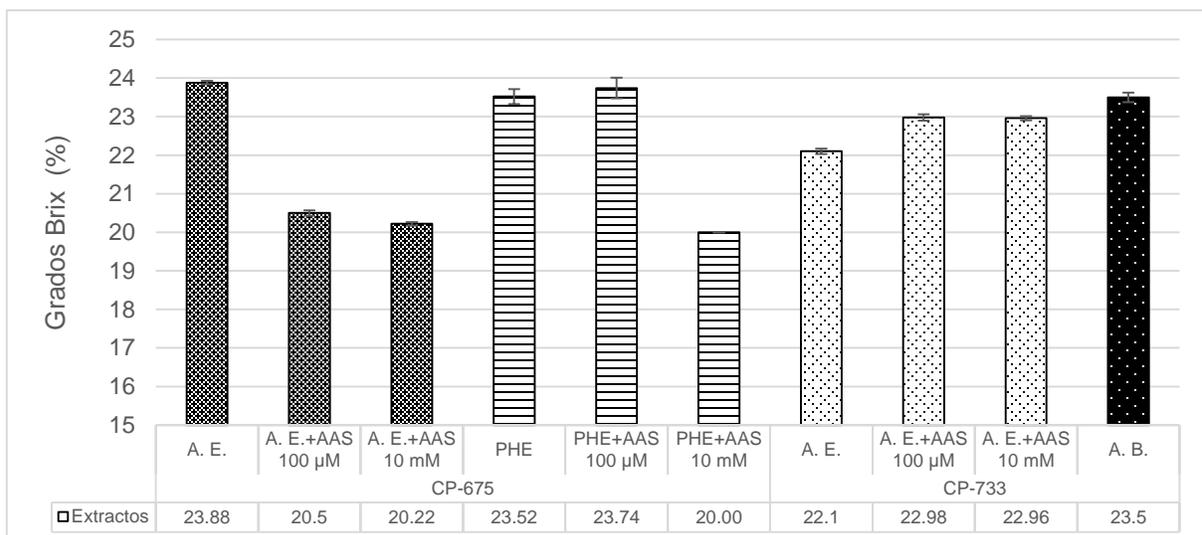


Figura 83. Grados Brix de los extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

8.7 Polifenoles totales

Polifenoles totales de los macerados y extractos preliminares

Inicialmente se realizó la lectura en el Epoch a la curva de calibración de ácido gálico (Fig. 84), con concentraciones de 0 a 200 mg/mL, para tener la ecuación de la recta y se confirmó con una R^2 de 0.9887.

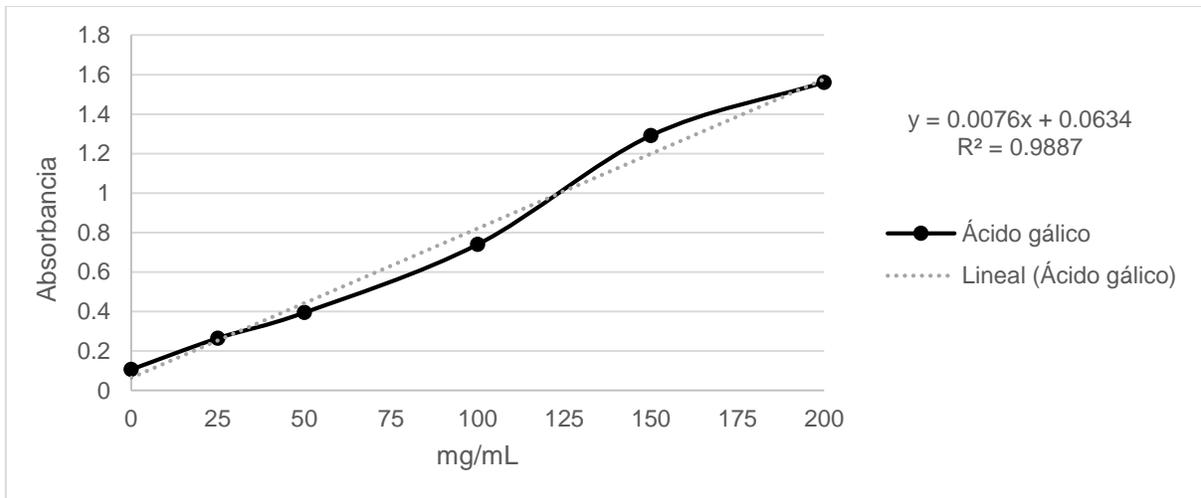


Figura 84. Curva de calibración del ácido gálico para la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina*.

Los resultados obtenidos para los macerados de las muestras testigo (Fig. 85), demostraron que conforme transcurre el tiempo, la concentración de mg EAG (Extracto de ácido gálico) en los 10 g de hongo seco aumentan considerablemente sin importar la condición de agitación o reposo comparado con el control del mismo tratamiento. En agitación se obtuvieron 163.37 mg EAG/10 g de hongo seco, a las 48 h presentó 225.61 mg EAG/10 g de hongo seco, y finalmente hubo un aumento de 269.20 mg EAG/10 g de hongo seco a las 72 h.

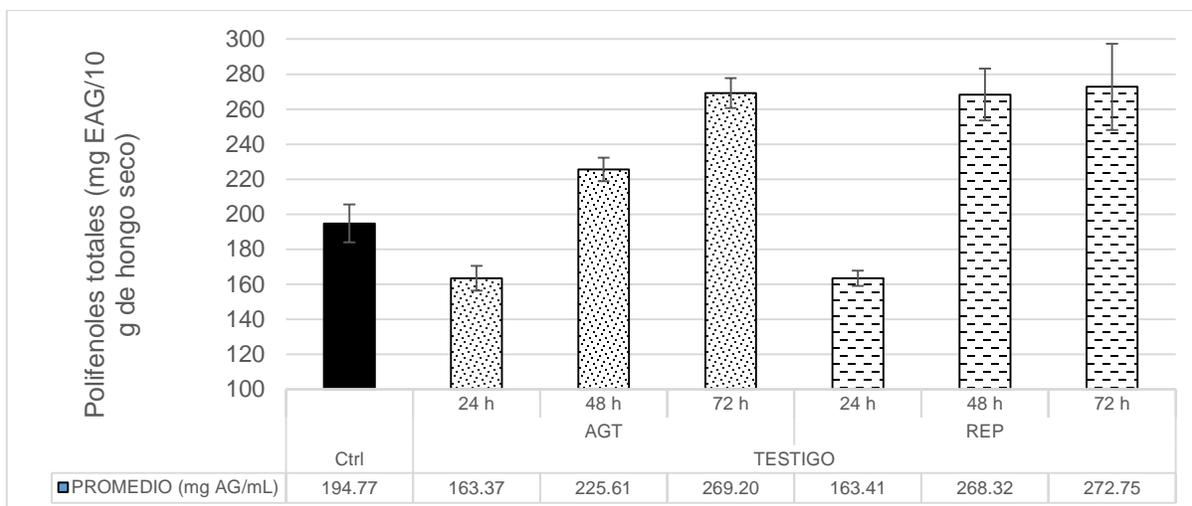


Figura 85. Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. AGT= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. REP= Reposo.

En el caso del tratamiento PHE+ AAS 100 μ M (Fig. 86), hubo una menor concentración de polifenoles totales conforme pasó el tiempo de maceración, tanto en agitación como en reposo comparado con el control, se obtuvo mayor concentración de polifenoles totales en agitación a las 72 h con 269.03 mg EAG/10 g de hongo seco.

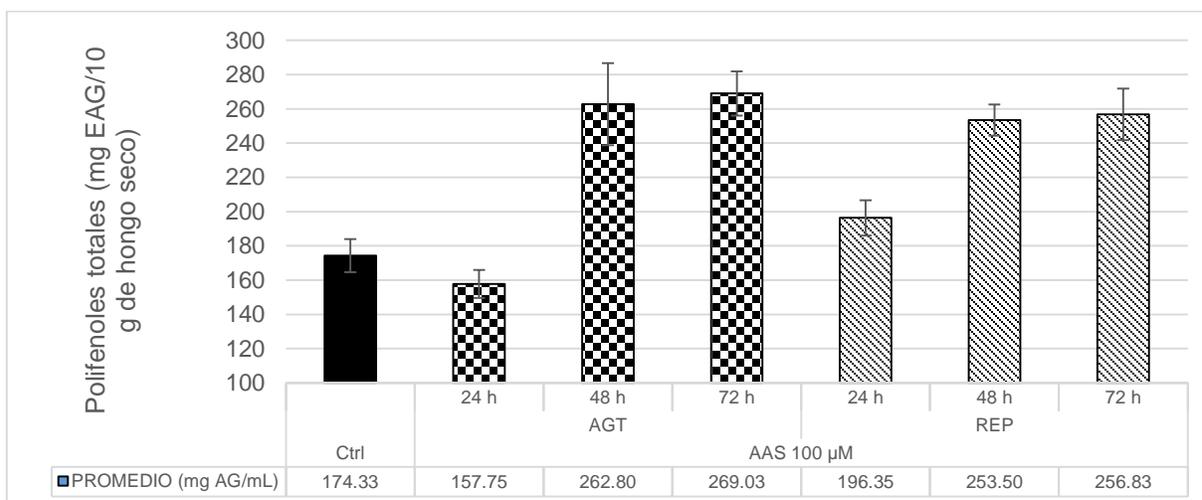


Figura 86. Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. AGT= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. REP= Reposo.

En el caso de los basidiocarpos cultivados en paja hidratada estéril adicionado AAS 10 mM (Fig. 87), se observó que a las 24 h hubo 193.32 mg EAG/10 g de hongo seco en condición de agitación, mientras que en reposo 177.54 mg EAG/10 g de hongo seco, a las 48 h hubo un incremento en la cantidad de polifenoles totales en agitación ya que se obtuvieron 265.39 mg EAG/10 g de hongo seco, mientras que en reposo también se incrementó la cantidad de polifenoles totales con 249.68 mg EAG/10 g de hongo seco, a las 72 h hubo una baja de polifenoles totales en la condición en agitación con 261.35 mg EAG/10 g de hongo seco, mientras que en reposo se incrementó con 277.40 mg EAG/10 g de hongo seco.

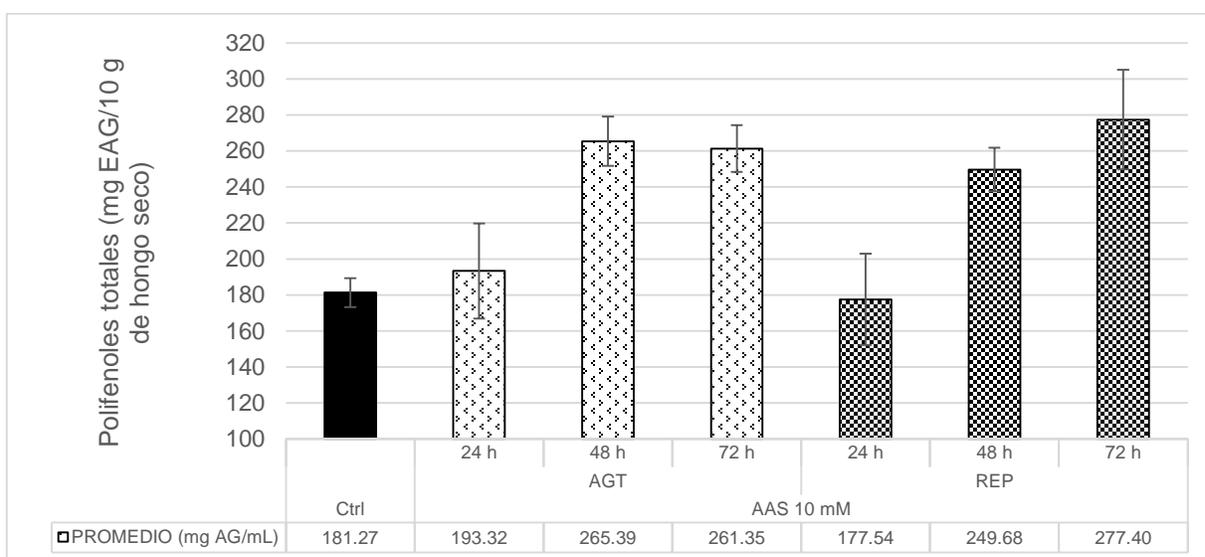


Figura 87. Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. AGT= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. REP= Reposo.

En la figura 88 se resume la cuantificación de polifenoles totales de los macerados, así como sus controles de cada tratamiento, en donde se puede observar que la cantidad de polifenoles totales incrementa conforme pasa el tiempo de maceración, sin diferenciar los tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM).

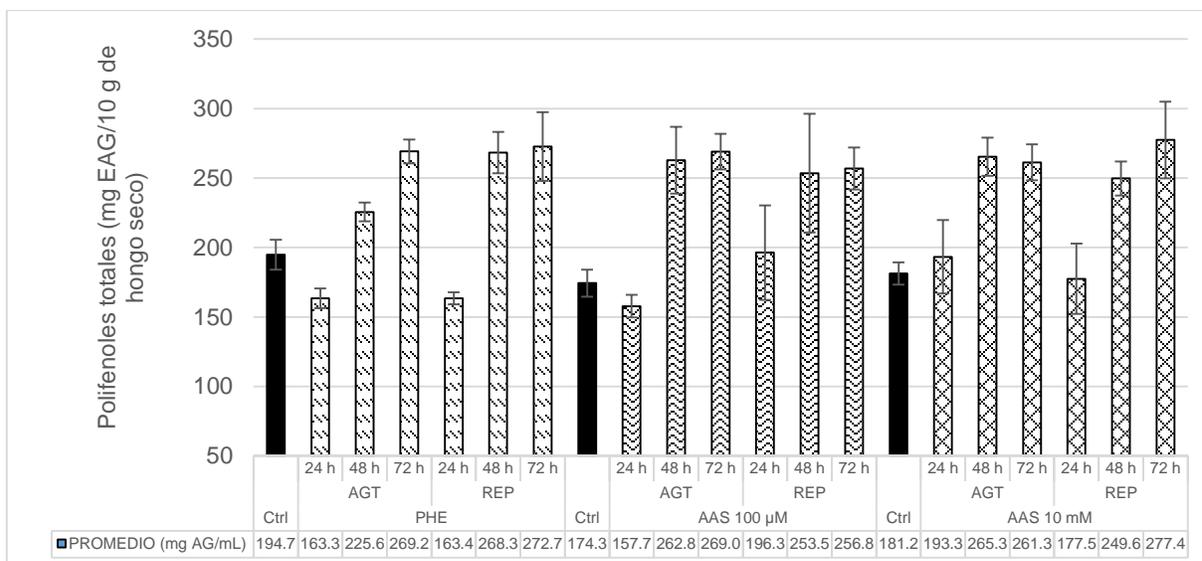


Figura 88. Polifenoles totales de los macerados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM a las 24, 48 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. AGT= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. REP= Reposo.

Polifenoles totales de los extractos de la CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) y suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM

Se muestran los resultados de los polifenoles totales de los extractos a las 72 h, en donde la mayor concentración de polifenoles totales se obtuvo en PHE en condición en reposo con 3467.37 mg EAG/10 g de hongo seco, seguido de PHE+ AAS 10 mM con 3202.46 mg EAG/10 g de hongo seco en agitación, y PHE+ AAS 100 µM en agitación con 2985.79 mg EAG/10 g de hongo seco (Fig. 89).

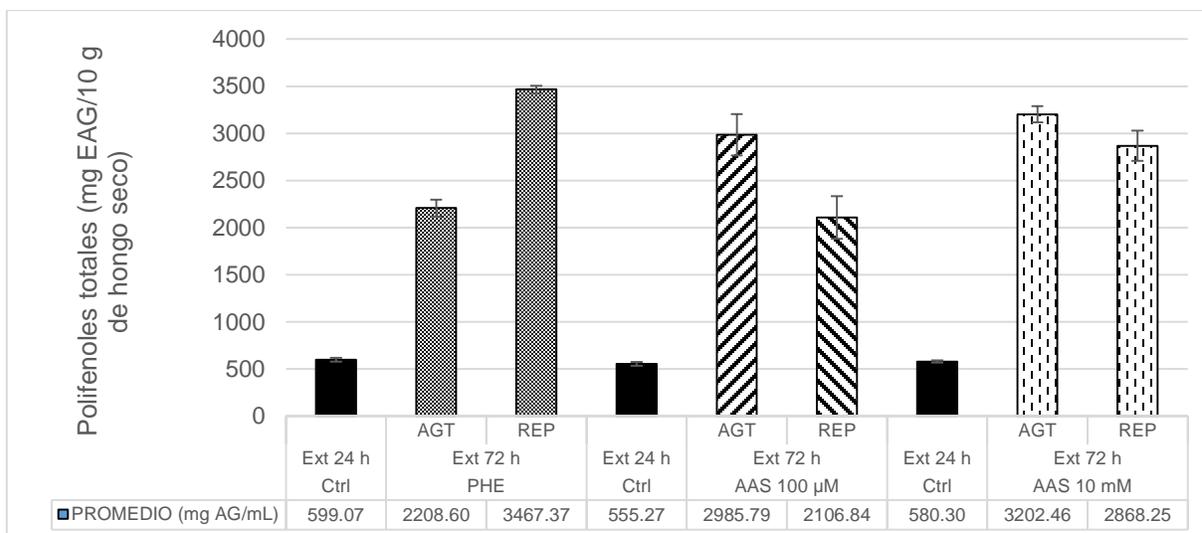


Figura 89. Polifenoles totales de los extractos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM a las 24 y 72 h en condiciones de agitación y reposo (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. AGT= Agitación. Ctrl (Control)= CP-675/10 g de hongo seco/150 mL solución hidroalcohólica al 32%/24 h/oscuridad. Ext= Extracto. REP= Reposo.

Polifenoles totales de macerados y extractos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10mM

Para la determinación de polifenoles totales de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* como equivalentes de ácido gálico, se tomó lectura de la curva de calibración de ácido gálico (Fig. 90), con concentraciones de 0 a 200 mg/mL.

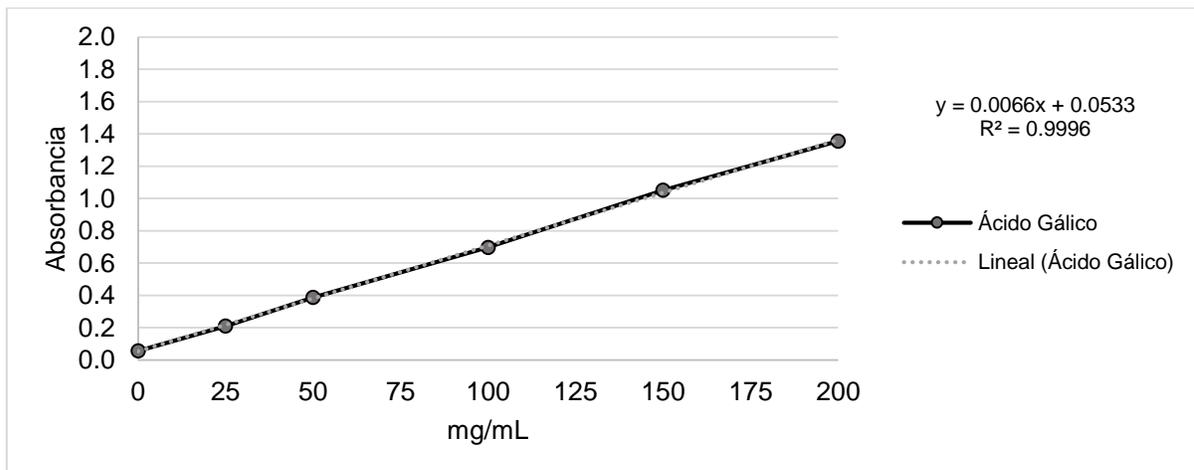


Figura 90. Curva de calibración del ácido gálico para las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina*.

El contenido de polifenoles totales de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* a las 24 h se muestran en la figura 91, en el caso de la CP-675 los tratamientos que presentaron mayor cantidad de polifenoles totales fueron los siguientes: en paja hidratada estéril en testigo (PHE) se obtuvo 264.53 mg EAG/5 g de hongo seco, para el tratamiento PHE+ AAS 10 Mm se obtuvieron 257.71 mg EAG/5 g de hongo seco y finalmente para el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M se registraron 257.11 mg EAG/5 g de hongo seco en polifenoles totales.

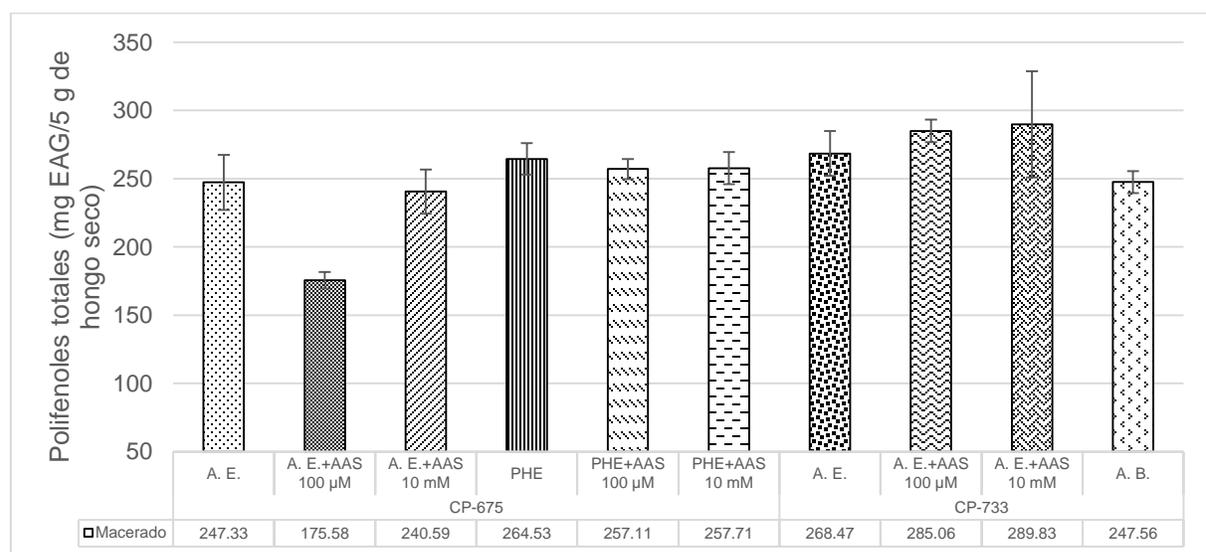


Figura 91. Cuantificación de polifenoles totales de los macerados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

La cepa CP-675 presentó la mayor cantidad de polifenoles totales en paja hidratada estéril, en el tratamiento PHE+ AAS 100 μ M con 3772.35 mg EAG/5 g de hongo seco, para el tratamiento PHE+ AAS 100 mM se obtuvo 3368.94 mg EAG/5 g de hongo seco y en paja hidratada estéril en testigo (PHE) se registraron 3302.65 mg EAG/5 g de hongo seco, en el caso de la cepa CP-733 se obtuvieron el aserrín de encino testigo (A.E.) 3836.74 mg EAG/5 g de hongo seco y aserrín de *Bursera* en testigo (A.B.) con un total de 3795.08 mg EAG/5 g de hongo seco (Fig. 92).

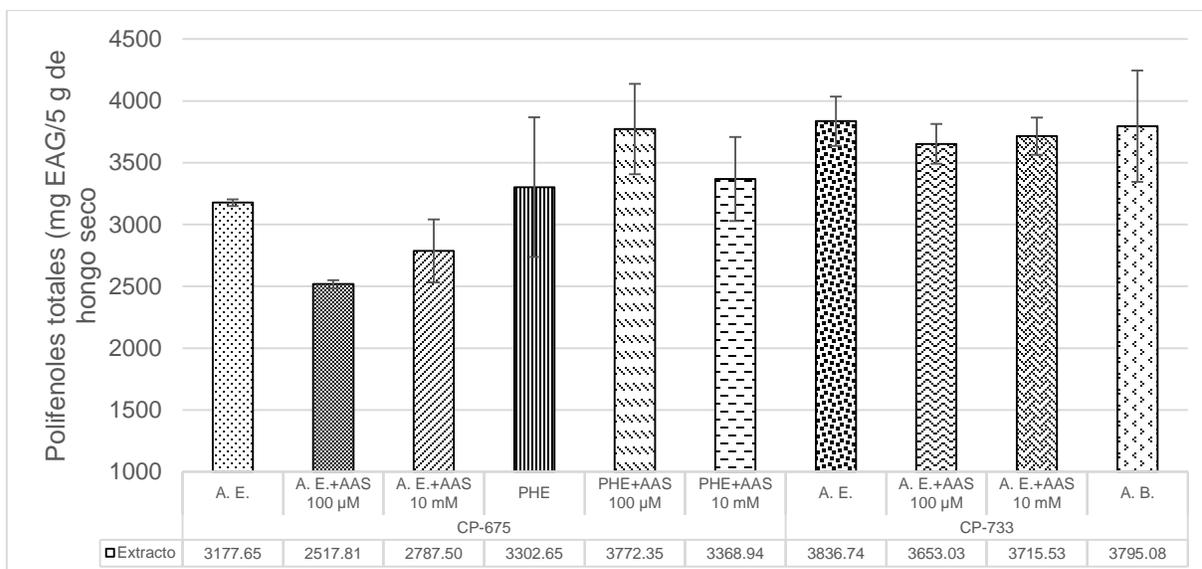


Figura 92. Cuantificación de polifenoles totales de los extractos de las Cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

Los polifenoles totales, tanto de macerados como extractos de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en diferentes sustratos sólidos suplementados con AAS se pueden observar en la figura 93, donde se evidencia que los extractos muestran mayor cantidad de polifenoles totales que sus macerados, el tratamiento que obtuvo más polifenoles totales fue en el extracto de PHE+ AAS 100 µM con 3772.35 mg EAG/5 g de hongo seco, siguiendo del extracto del tratamiento PHE+ AAS 10 mM con un total de 3368.94 mg EAG/5 g de hongo seco, por lo tanto, existen mayor cantidad de polifenoles totales en los extractos principalmente en PHE suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS).

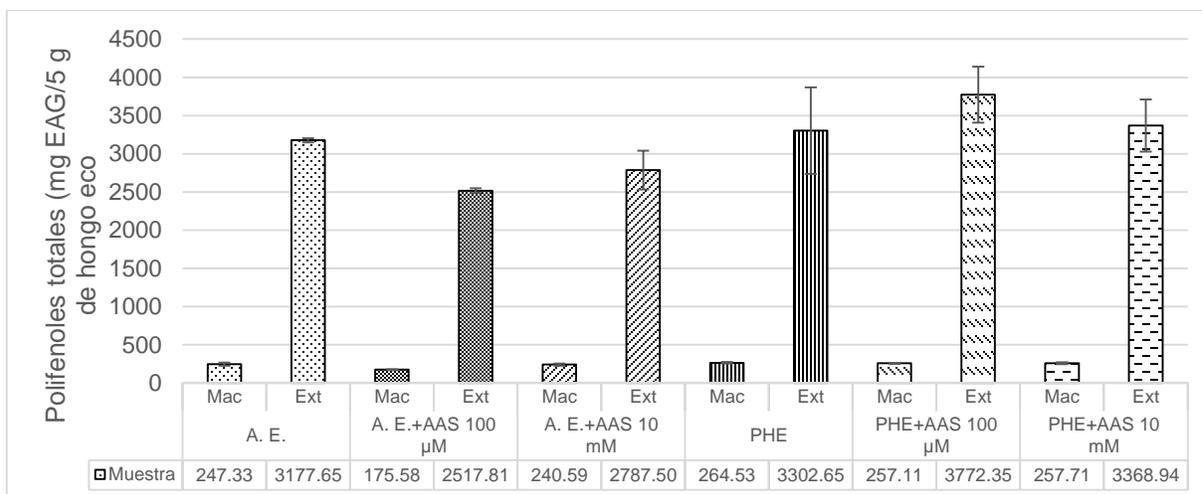


Figura 93. Cuantificación de polifenoles totales de los macerados y extractos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. Ext= Extracto. Mac= Macerado. PHE= Paja hidratada estéril.

El contenido de los polifenoles totales, tanto de los macerados como extractos de la cepa CP-733 se muestran en la figura 94, la mayor cantidad de polifenoles totales se obtuvieron en los extractos de los tratamientos AE con 268.47 mg EAG/5 g de hongo seco para el caso de macerados, en el extracto se obtuvieron 3836.74 mg EAG/5 g de hongo seco, siguiendo del tratamiento AB con 247.56 mg EAG/5 g de hongo seco para el macerado y 3795.08 mg EAG/5 g de hongo seco en el caso del extracto.

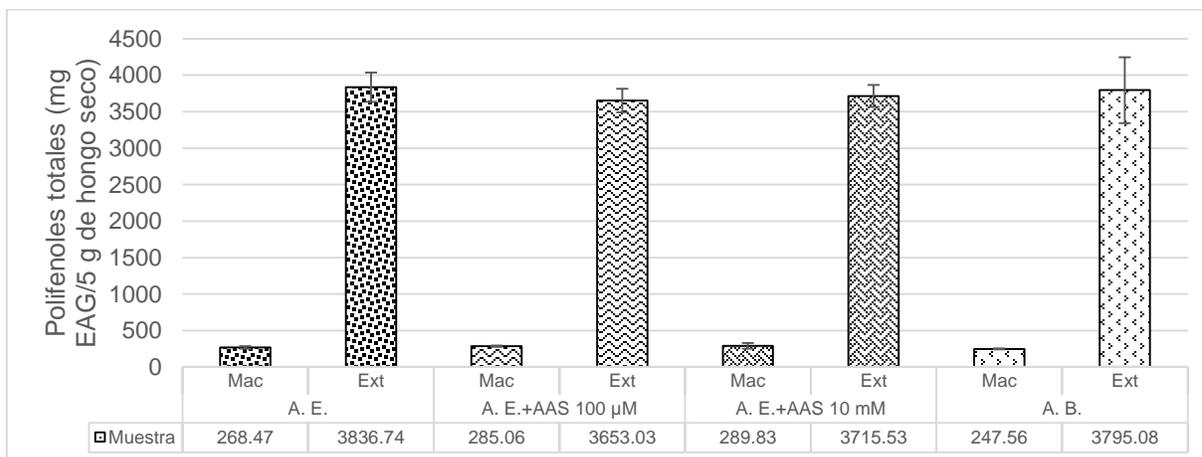


Figura 94. Cuantificación de polifenoles totales de los macerados y extractos de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=4). AAS= Ácido acetilsalicílico. A.B.= Aserrín de *Bursera*. A.E.= Aserrín de encino. Ext= Extracto. Mac= Macerado. PHE= Paja hidratada estéril.

8.8 Actividad antioxidante por DPPH

Las muestras (tanto la de los extractos preliminares y estandarizados) se leyeron junto con la solución estándar (BHT) en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm. En la lectura de la solución estándar, se observó un comportamiento exponencial de la muestra, la concentración de inhibición al 50% (IC 50%) corresponde entre 18-20 mg/mL de la concentración del extracto, como se muestra en la figura 95. En el anexo se muestran las figuras de las gráficas de la actividad antioxidante por DPPH de los extractos preliminares de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) suplementada con AAS 100 μ M y 10 mM (Figs. 147-155).

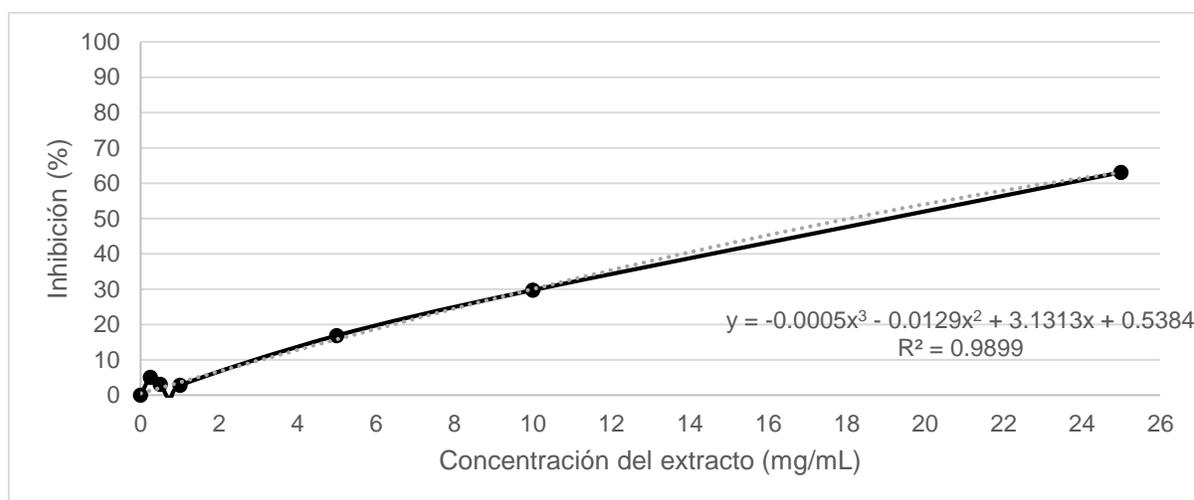


Figura 95. Determinación de DPPH para la solución estándar (BHT).

Las concentraciones de las muestras, las condiciones la actividad antioxidante (AA) y el IC 50%, se presentan en el cuadro 8. Se obtuvieron mayores porcentajes en los tratamientos con AAS, en el caso del testigo en agitación se obtuvo una actividad antioxidante de $79.75 \pm 1.38\%$, porcentaje mayor comparado con testigo en reposo, para el tratamiento suplementado con AAS 100 μ M en condición de agitación se obtuvo un $80.64 \pm 0.66\%$, mientras que el mismo tratamiento en condición de reposo se registró una AA de $78.47 \pm 0.54\%$, 2.17% menos en comparación en condición de agitación, para el tratamiento en AAS 10 mM, la mayor AA se obtuvo en la condición de reposo con $81.09 \pm 0.58\%$, pero en condición en agitación tuvo una AA de $80.93 \pm 0.33\%$, una diferencia de 0.16% en comparación en condición de reposo. En el IC 50% para el tratamiento testigo fue en reposo de 56.83 ± 1.64 mM, en el tratamiento con AAS 100

μM el mejor IC 50% se obtuvo en la condición en agitación con 52.25 ± 1.37 mM y para el tratamiento con AAS 10 mM el mejor valor fue en reposo con 39.77 ± 1.08 mM.

Cuadro 8. Actividad antioxidante y concentración de inhibición al 50% de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM.

Muestra	Horas	Condición	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	AA (%)	IC 50% (mM)
ESTANDAR (BHT)	---	R	25	63.09 ± 3.59	18.09 ± 0.46
CONTROL 1 (TESTIGO)	24	R	100	56.24 ± 1.29	229.47 ± 0.15
TESTIGO 1	72	A	400	79.75 ± 1.38	79.67 ± 2.41
TESTIGO 2	72	R	200	75.99 ± 0.29	56.83 ± 1.64
CONTROL 2 (AAS 100 μM)	24	R	800	68.47 ± 0.61	313.5 ± 9.63
AAS (100 μM) 1	72	A	200	80.64 ± 0.66	52.25 ± 1.37
AAS (100 μM) 2	72	R	400	78.47 ± 0.54	79.68 ± 3.79
CONTROL 3 (AAS 10 mM)	24	R	400	67.64 ± 2.98	193.62 ± 13.71
AAS (10 mM) 1	72	A	200	80.93 ± 0.33	47.04 ± 1.28
AAS (10 mM) 2	72	R	200	81.09 ± 0.58	39.77 ± 1.08

AA=Actividad antioxidante. AAS= Ácido acetilsalicílico. A= Agitación. BHT= Butil hidroxitolueno. IC 50%=Concentración de inhibición al 50%. R= Reposo. CONTROL 1 (TESTIGO)= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra testigo/24 hrs /oscuridad/reposo. TESTIGO 1= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo testigo/72 hrs/oscuridad/agitación. TESTIGO 2= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo testigo/72 hrs/oscuridad/reposo. CONTROL 2 (AAS 100 μM) =150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo AAS (100 μM) /24 hrs/oscuridad/reposo. AAS (100 μM) 1= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo AAS (100 μM) /72 hrs / oscuridad / agitación. AAS (100 μM) 2= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo AAS (100 μM) /72 hrs/oscuridad/reposo. CONTROL 3 (AAS 10 Mm) = 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo AAS (10 mM) /24 hrs/oscuridad/reposo. AAS (10 mM) 1= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo AAS/ (10 mM) /72 hrs/oscuridad/agitación. AAS (10 Mm) 2= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/10 g de muestra de basidiocarpo AAS (10 mM) /72 hrs/oscuridad/ reposo.

Determinación de la actividad antioxidante por DPPH de los extractos estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM

En el caso de los extractos estandarizados, en la lectura de la solución estándar se observó un comportamiento exponencial de la muestra, el 50% de inhibición correspondió entre 18-20 mg/mL de la concentración del extracto, como se muestra en la figura 96. En anexo se encuentran las figuras de las gráficas pertenecientes a los extractos estandarizados (Figs. 156-165).

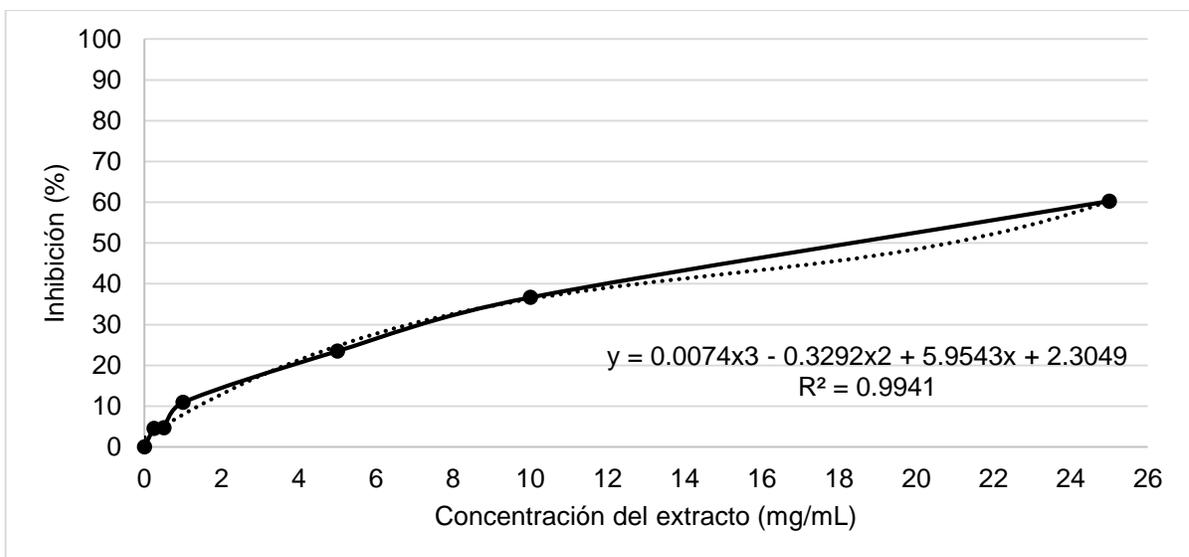


Figura 96. Actividad antioxidante del BHT usando la solución estándar.

En el cuadro 9 se muestran las concentraciones de las muestras, así como la AA y el IC 50%; en el caso de la cepa CP-675 la mejor actividad antioxidante se obtuvo en AAS 10 mM con un $76.10 \pm 1.41\%$ utilizando como sustrato paja hidratada estéril (PHE), siguiendo con $69.76 \pm 0.87\%$ en el sustrato de aserrín de encino (AE) y un $67.21 \pm 7.29\%$ en el sustrato de aserrín de encino suplementado AAS 100 μM ; en la concentración de inhibición (IC 50%) para la cepa CP-675 el mejor tratamiento fue AE+ AAS 100 μM con 315.04 ± 10.88 mM, siguiendo el tratamiento PHE+AAS 100 μM con 373.43 ± 11.55 mM, AE en testigo de 379.22 ± 9.42 mM. La actividad antioxidante de la cepa CP-733 la obtuvo en el tratamiento AE+ AAS 10 mM con $66.79 \pm 1.62\%$, en AE+ AAS 100 μM obtuvo $59.72 \pm 10.18\%$ seguido de AB con $52.41 \pm 2.87\%$; con respecto al IC 50%, el tratamiento AE fue de 236.82 ± 4.54 mM y en el tratamiento AE+ AAS 10 mM con 435.68 ± 12.24 mM.

Cuadro 9. Actividad antioxidante y concentración de inhibición al 50% de los extractos de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM.

Muestra	Condición	Concentración (μ g/mL)	AA (%)	IC 50% (mM)
BHT	Estándar	25	60.26 \pm 2.90	20.63 \pm 0.55
CP-675	Aserrín de encino	800	69.76 \pm 0.87	379.22 \pm 9.42
	Aserrín de encino+AAS 100 μ M	800	67.21 \pm 7.29	315.04 \pm 10.88
	Aserrín de encino+AAS 10 mM	800	58.24 \pm 1.49	484.18 \pm 14.40
	PHE	800	66.30 \pm 1.22	398.42 \pm 13.03
	PHE+AAS 100 μ M	800	66.64 \pm 3.76	373.43 \pm 11.55
	PHE+AAS 10 mM	800	76.10 \pm 1.41	382.96 \pm 14.40
CP-733	Aserrín de encino	800	49.44 \pm 1.35	236.82 \pm 4.54
	Aserrín de encino+AAS 100 μ M	800	59.72 \pm 10.18	561.70 \pm 9.76
	Aserrín de encino+AAS 10 mM	800	66.79 \pm 1.62	435.68 \pm 12.24
	Aserrín de <i>Bursera</i>	700	52.41 \pm 2.87	512.77 \pm 12.55

AA= Actividad antioxidante. AAS= Ácido acetilsalicílico. BHT= Butil hidroxitolueno. IC 50%=Concentración de inhibición al 50%. PHE= Paja hidratada estéril.

8.9 Diseño experimental

Eficiencia biológica (EB)

El análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre las condiciones de las dos cepas en estudio con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.95$, encontrando que la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) presentó el valor más alto y significativamente diferente con 19.46% de eficiencia biológica, por el contrario, la cepa CP-733 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) presentó 0.48% siendo de baja significancia (Cuadro 10).

Cuadro 10. Eficiencia biológica (EB) del cultivo de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM.

Cepa	Condición	EB (%)
CP-675	Aserrín de encino	8.32 \pm 1.16 ^{bc*}
	Aserrín de encino + AAS 100 μ M	11.23 \pm 0.57 ^b
	Aserrín de encino + AAS 10 mM	6.31 \pm 0.28 ^{cd}
	Paja hidratada estéril	19.46 \pm 0.00 ^a
CP-733	Aserrín de <i>Bursera</i>	4.78 \pm 3.13 ^d
	Aserrín de encino	8.85 \pm 1.36 ^{bc}
	Aserrín de encino + AAS 100 μ M	4.07 \pm 0.55 ^d
	Aserrín de encino + AAS 10 mM	6.51 \pm 0.53 ^{cd}
	Paja hidratada estéril	0.48 \pm 0.00 ^e

AAS= Ácido acetilsalicílico. S/D=Sin datos. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. EGL=12. DSM=0.7336.

Índice de Degradación (ID)

En el cuadro 11 se presenta el índice de degradación (ID) de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina*, analizando la varianza mostró una diferencia significativa entre condiciones con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.99$, sin embargo, no se presentaron diferencias significativas, siendo que la cepa CP-733 en la condición Aserrín de encino+ AAS 10 mM mostró baja significancia con 2.24%, y diferente a las demás condiciones.

Cuadro 11. Índice de Degradación (ID) del cultivo de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM.

Cepa	Condición	ID (%)
CP-675	Aserrín de encino	9.77 \pm 0.28 ^{a*}
	Aserrín de encino + AAS 100 μ M	11.14 \pm 0.17 ^a
	Aserrín de encino + AAS 10 mM	10.17 \pm 0.00 ^a
	Paja hidratada estéril	7.81 \pm 0.00 ^b
CP-733	Aserrín de <i>Bursera</i>	S/D
	Aserrín de encino	10.37 \pm 1.47 ^a
	Aserrín de encino + AAS 100 μ M	S/D
	Aserrín de encino + AAS 10 mM	2.24 \pm 0.59 ^c
	Paja hidratada estéril	S/D

AAS= Ácido acetilsalicílico. S/D=Sin datos. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. EGL=10.

Cuadro 12. Resultados de los rendimientos de los macerados preliminares de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE).

Claves	Rendimiento (mg/mL)
M675CR24	16.27±0.35 ^{ijkl}
M675TA24	13.10±1.01 ^m
M675TR24	16.80±0.28 ^{ijkl}
M6754A24	15.45±0.89 ^{lm}
M6754R24	20.16±0.54 ^{hi}
M6752A24	18.15±0.18 ^{ijk}
M6752R24	18.88±1.06 ^{hij}
M675TA48	22.48±0.26 ^{gh}
M675TR48	24.98±0.12 ^{fg}
M6754A48	26.25±0.13 ^{def}
M6754R48	25.94±0.86 ^{efg}
M6752A48	27.11±0.13 ^{cdef}
M6752R48	34.00±0.24 ^{ab}
M675TA72	25.10±0.95 ^{fg}
M675TR72	29.91±1.64 ^{cd}
M6754A72	30.51±0.99 ^{bc}
M6754R72	29.49±1.26 ^{cde}
M6752A72	34.63±0.25 ^a
M6752R72	28.55±0.26 ^{cdef}

M675CR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M675TA24= Macerado cepa CP-675/control/agitación/24 h. M675TR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M6752A24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/24 h. M6752R24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/24 h. M6754A24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 µM/agitación/24 h. M6754R24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 µM/reposo/24 h. M675TA48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/48 h. M675TR48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/48 h. M6752A48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/48 h. M6754A48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 µM/agitación/48 h. M6754R48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 µM/reposo/48 h. M6752R48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/48 h. M675TA72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. M675TR72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/72 h. M6754A72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 µM/agitación/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/72 h. M6752R72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/72 h. M6754R72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 µM /reposo/72 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Tukey a una P≤0.05. EGL=38. DSM=3.71.

Rendimiento de macerados preliminares

Los rendimientos de los macerados correspondientes a la fase preliminar se pueden observar en el cuadro 12, el análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.96$, fue el valor más alto y significativamente diferente obtenido por el macerado de la CP-675 cultivada en paja hidratada estéril (PHE) y adicionada con AAS 10 mM, con 34.63 ± 0.25 mg/mL. En cuanto a los macerados adicionados con AAS en las concentraciones de 10 mM a las

48 h en condición de reposo (34 ± 0.2 mg/mL) y AAS 100 μ M a las 72 h en condición de agitación (30.51 ± 0.99 mg/mL), también presentaron mayores rendimientos que los demás tratamientos, ubicándose en el primer nivel de significancia. En el anexo se encuentra la gráfica perteneciente al rendimiento de los macerados preliminares (Fig. 166).

Rendimiento de extractos preliminares

El rendimiento de los extractos preliminares a las 72 h se muestra en el cuadro 13. El análisis de varianza indicó una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.94$, no se presentaron diferencias significativas entre el rendimiento de los extractos, sin embargo, se observó diferencias entre las condiciones de agitación y reposo y del control, en donde los tratamientos que fueron adicionados con ácido acetilsalicílico (AAS) en sus dos concentraciones (100 μ M y 10 mM), presentaron mayor rendimiento en condición de agitación que en reposo.

Cuadro 13. Rendimiento de los extractos preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina*.

Tratamiento	Rendimiento (mg/mL)
E675CR	168.50 ± 0.28^b
E675TA	144.99 ± 15.73^b
E675TR	247.33 ± 1.09^a
E675100A	238.54 ± 8.74^a
E675100R	154.85 ± 1.87^b
E67510A	242.69 ± 5.88^a
E67510R	217.90 ± 1.95^a

E675CR= Extracto cepa CP-675/control/reposo/72 h. E675TA= Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. E675TR=Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. E67510A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. E67510R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. E675100A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. E675100R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. EGL=14. DSM=34.95.

En el anexo se encuentra la gráfica perteneciente al rendimiento de los extractos preliminares (Fig. 167).

Polifenoles totales de los macerados preliminares

Se muestran los resultados de polifenoles totales de los macerados preliminares en el cuadro 14, el análisis de varianza indicó una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.87$, no se presentó diferencia significativa entre los rendimiento de los macerados, aunque se observó diferencias en los tiempos de maceración a las 24, 48 y 72 h, presentándose los mayores rendimientos a las 72 h de maceración en los tres tratamientos: Testigo (PHE), AAS 100 μM (PHE+AAS 100 μM) y AAS 10 mM (PHE+ AAS 10 mM). En el anexo se encuentra la gráfica de polifenoles totales de los macerados preliminares (Fig. 168).

Cuadro 14. Polifenoles totales de los macerados preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina*.

Claves	Rendimiento (mg/mL)
M675CR24	194.78±1.26 ^{cde*}
M675TA24	163.37±7.11 ^e
M675TR24	163.41±2.48 ^e
M6754A24	157.75±8.13 ^{ef}
M6754R24	196.35±19.68 ^{bcd}
M6752A24	193.32±15.25 ^{cde}
M6752R24	177.53±14.66 ^{de}
M675TA48	225.6±3.92 ^{abcd}
M675TR48	268.32±8.55 ^a
M6754A48	262.8±13.86 ^a
M6754R48	253.5±24.68 ^{abc}
M6752A48	265.38±7.92 ^a
M6752R48	249.68±7.01 ^{abc}
M675TA72	269.2±4.92 ^a
M675TR72	272.75±14.25 ^a
M6754A72	269.03±7.43 ^a
M6754R72	256.83±8.72 ^{ab}
M6752A72	261.35±7.48 ^a
M6752R72	277.41±15.96 ^a

M675CR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M675TA24= Macerado cepa CP-675/control/agitación/24 h. M675TR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M6752A24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/24 h. M6752R24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/24 h. M6754A24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 μM /agitación/24 h. M6754R24= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 μM /reposo/24 h. M675TA48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/48 h. M675TR48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/48 h. M6752A48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/48 h. M6754A48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 μM /agitación/48 h. M6754R48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 μM /reposo/48 h. M6752R48= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/48 h. M675TA72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. M675TR72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/72 h. M6754A72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 μM /agitación/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/72 h. M6752R72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/72 h. M6754R72= Macerado cepa CP-675/PHE+AAS 100 μM /reposo/72 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. EGL=38. DSM=61.78.

Polifenoles totales de los extractos preliminares

En el cuadro 15 se muestran los resultados de la cuantificación de polifenoles totales en los extractos preliminares, el análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.98$, no se presentaron diferencias significativas en la cuantificación de los polifenoles totales, sin embargo, se observaron diferencias entre los tratamientos y el control (264.9 ± 25.84 mg EAG/10 g de hongo seco), ya que este presentó menor valor comparado con la cuantificación de los polifenoles totales de los tratamientos. En el anexo se encuentra la gráfica perteneciente a los polifenoles totales de los extractos preliminares (Fig.169).

Cuadro 15. Cuantificación de los polifenoles totales de los extractos preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina*.

Clave	Polifenoles totales (mg EAG/10 g de hongo seco)
E675CR	$264.9 \pm 25.84^{b^*}$
E675TA	604.56 ± 0.20^a
E675TR	595.67 ± 5.15^a
E675100A	620.06 ± 4.64^a
E675100R	607.11 ± 12.4^a
E67510A	586.61 ± 0.34^a
E67510R	586.61 ± 4.77^a

E675CR= Extracto cepa CP-675/control/reposo/72 h. E675TA= Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. E675TR=Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. E67510A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. E67510R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. E675100A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. E675100R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$. EGL=14. DSM=54.53.

Análisis estadísticos de los macerados y extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivadas en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM

A continuación, se muestran el contenido de grados Brix de los macerados preliminares y estandarizados de las dos cepas en estudio. El análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.97$, no se presentaron diferencias significativas entre los macerados, sin embargo, los macerados con clave 32 y 39 obtuvieron los valores más altos, por lo tanto, se ubican en el primer nivel de significancia; por el contrario, los valores bajos y significativos se obtuvieron en los macerados con clave 9, 22, 42, 44 y 48 (Fig. 97).

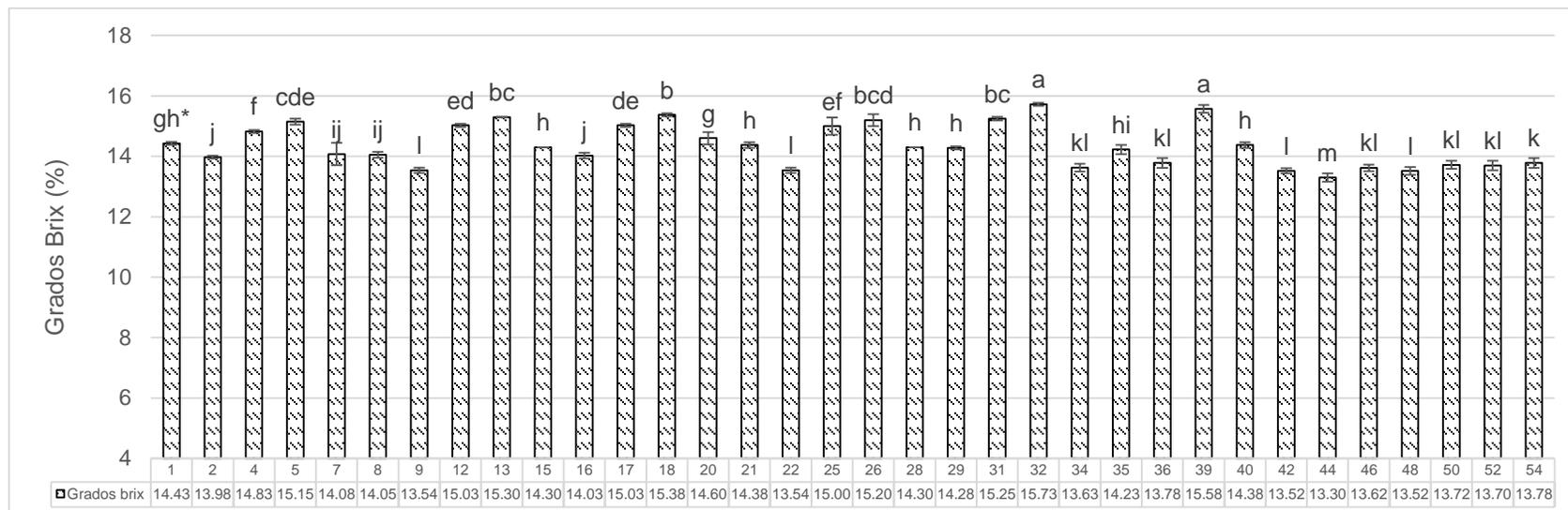


Figura 97. Grados Brix (%) de los macerados preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 1=CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/24 h/control. 2= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/24 h. 4= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/48 h. 5= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/72 h.7= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 8= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h.9= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 12= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/48 h.13= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/48 h.15= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/24 h/control. 16= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/24 h. 17= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/48 h. 18= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 20= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 21= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h. 22= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 25= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/48 h. 26= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 28= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/24 h/control. 29= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/24 h. 31= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/48 h. 32= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/72 h.34= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h/control.35= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h. 36= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h/estandarizado. 39= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/48 h. 40= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/72 h.42= CP-675/ Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h.44= CP-675/ Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24h. 46= CP-675/ Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h.48= CP-733/ Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h.50= CP-733/ Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h.52= CP-733/ Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 54= CP-733/ Aserrín *Bursera*+Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=112.

El rendimiento de los macerados preliminares y estandarizados se pueden observar en la figura 98, el análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.94$, no se presentaron diferencias significativas entre los rendimientos de los macerados, sin embargo, los valores altos y diferentes del resto de los macerados fueron los de la clave 32 y 39 correspondientes a la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril y (PHE) suplementada con AAS a una concentración de 10 mM (PHE+ AAS 10 mM), colocándolos en el primer nivel de significancia.

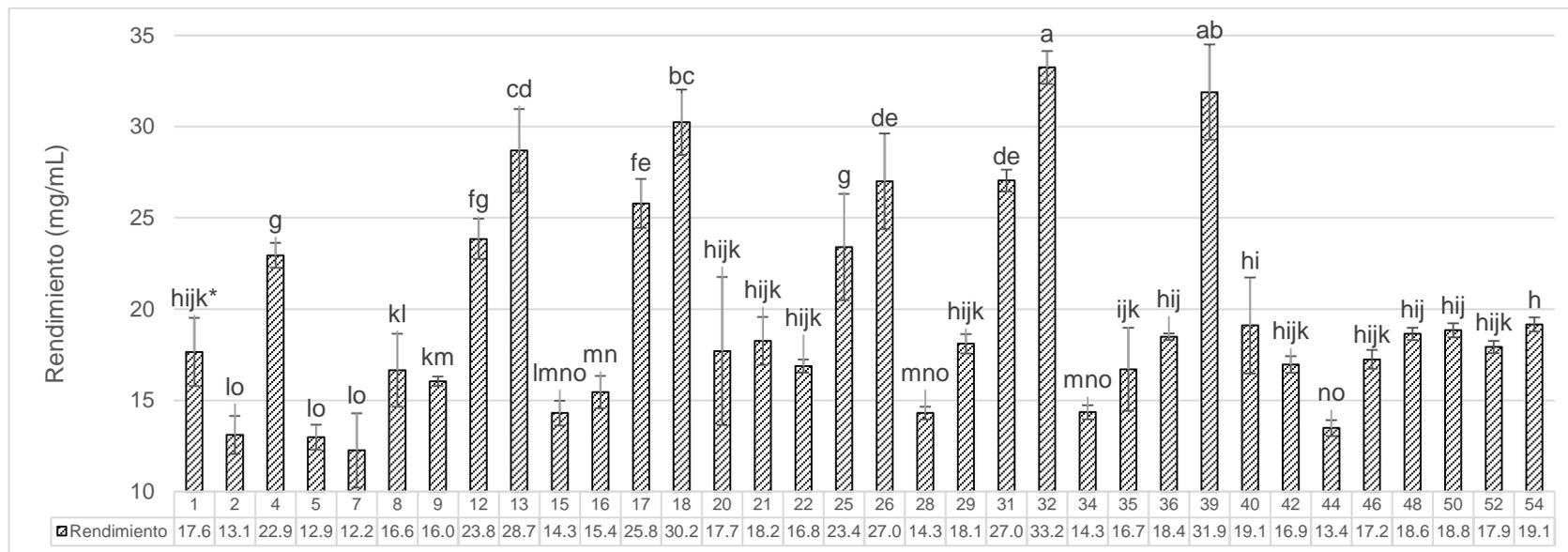


Figura 98. Rendimiento de los macerados preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 1=CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/24 h/control. 2= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/24 h. 4= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/48 h. 5= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/72 h.7= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 8= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h.9= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 12= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/48 h.13= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/48 h.15= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/24 h/control. 16= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/24 h. 17= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/48 h. 18= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 20= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 21= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h. 22= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 25= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/48 h. 26= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 28= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/24 h/control. 29= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/24 h. 31= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/48 h. 32= CP-675/ PHE+ AAS 10mM/agitación/72 h.34= CP-675/ PHE+ AAS 10mM/reposo/24 h/control.35= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h. 36= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h/estandarizado. 39= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/48 h. 40= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/72 h.42= CP-675/ Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h.44= CP-675/ Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 46= CP-675/ Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h.48= CP-733/ Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h.50= CP-733/ Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h.52= CP-733/ Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 54= CP-733/ Aserrín *Bursera*+ Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=112.

El contenido de polifenoles totales de los macerados preliminares y estandarizados se muestran en la figura 99. El análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.83$, no se presentaron diferencias significativas entre la cuantificación de polifenoles totales de los macerados, sin embargo, los valores altos del resto de los macerados fueron: clave 40, que corresponde a la cepa CP-675 en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM en condición de reposo a las 72 h de maceración; clave 50: perteneciente a la cepa CP-733 cultivada en el tratamiento AE+ AAS 100 μ M en condición de reposo a las 24 h de maceración y el macerado con clave 52 perteneciente a la cepa CP-733 cultivada en el tratamiento AE+ AAS 10 mM en condición de reposo a las 24 h de maceración, colocándolos en el primer nivel de significancia.

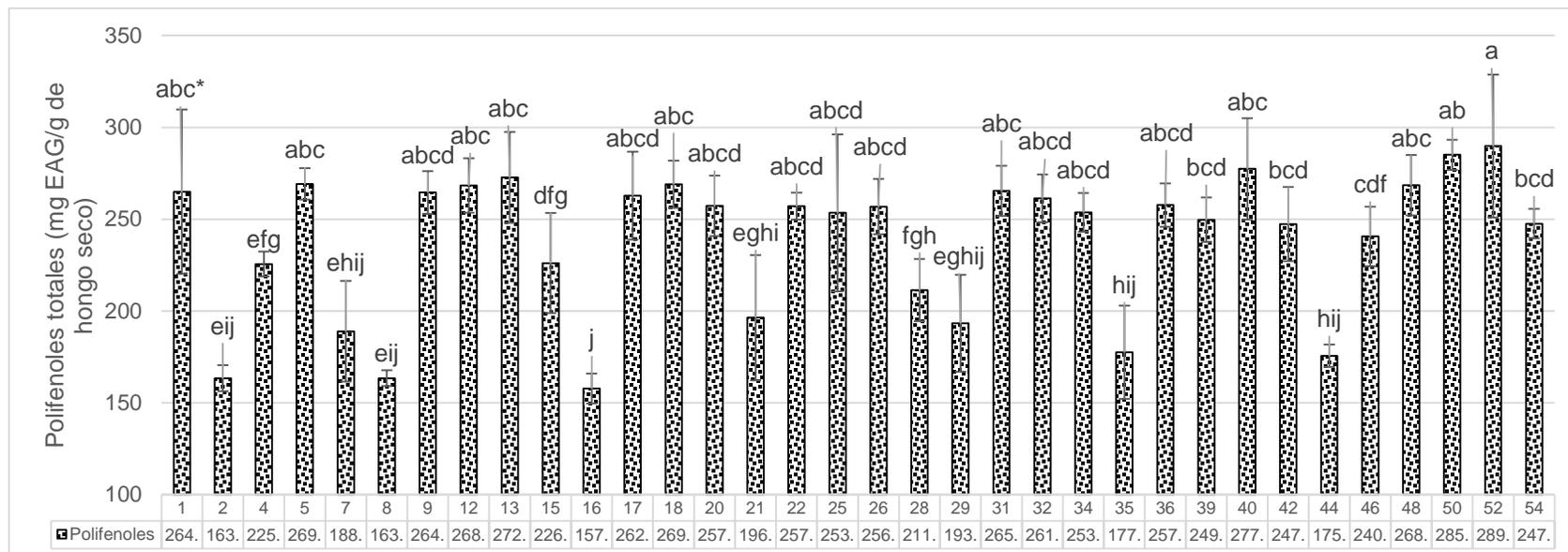


Figura 99. Polifenoles totales de los macerados preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 1=CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/24 h/control. 2= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/24 h. 4= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/48 h. 5= CP-675/ PHE+ Testigo/agitación/72 h.7= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 8= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h.9= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 12= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/48 h.13= CP-675/ PHE+ Testigo/reposo/48 h.15= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/24 h/control. 16= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/24 h. 17= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/48 h. 18= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 20= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 21= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h. 22= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 25= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/48 h. 26= CP-675/ PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 28= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/24 h/control. 29= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/24 h. 31= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/48 h. 32= CP-675/ PHE+AAS 10mM/agitación/72 h.34= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h/control.35= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h. 36= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/24 h/estandarizado. 39= CP-675/ PHE+AAS 10mM/reposo/48 h. 40= CP-675/ PHE+AAS 10 mM/reposo/72 h.42= CP-675/ Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h.44= CP-675/ Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 46= CP-675/ Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h.48= CP-733/ Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h.50= CP-733/ Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h.52= CP-733/ Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 54= CP-733/ Aserrín *Bursera*+Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=78.

En la figura 100 se muestran los resultados de los grados Brix en los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina*, el análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.99$, la lectura de los grados Brix del extracto de la cepa CP-675 del tratamiento PHE en condición de reposo a las 72h resultó ser el más alto y significativamente diferente al resto de los tratamientos con un valor de 31.50% en grados Brix, por el contrario, los últimos niveles de significancia se encontraron en los extractos de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril testigo (PHE) en condición de reposo a las 24 h, el extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μM en reposo por 24 h y el extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM en condición de reposo a las 24 h en donde los tres tratamientos presentaron 14.08% de grados Brix, en conclusión, los extractos tanto preliminares como estandarizados en condición de reposo presentaron valores inferiores de grados Brix comparados en condición de agitación.

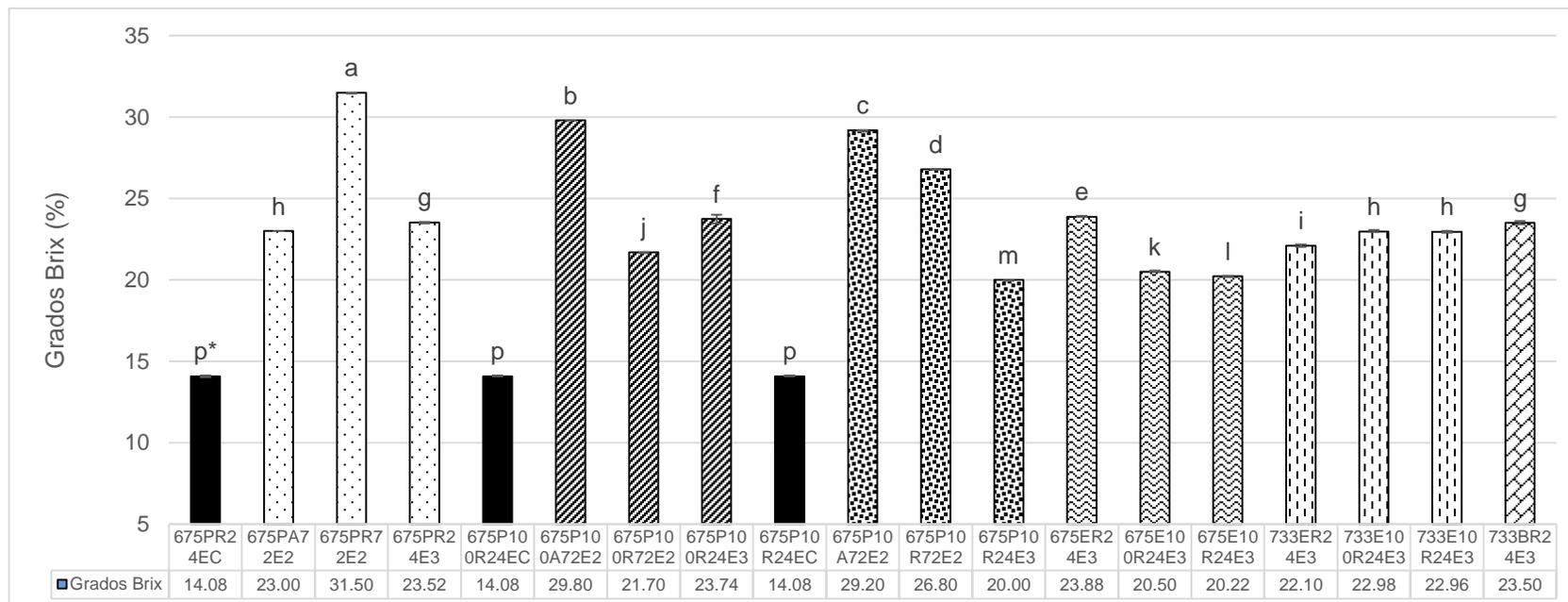


Figura 100. Grados Brix (%) de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvarelliella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 675PR24EC= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 675PA72E2= CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. 675PR72E2= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. 675PR24E3= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 675P100R24EC= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 675P100A72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 675P100R72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 675P100R24E3= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 675P10R24EC= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/control. 675P10A72E2= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. 675P10R72E2= CP-675/PHE+ AAS 10mM/reposo/72 h. 675P10R24E3= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/estandarizado. 675ER24E3= CP-675/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 675E100R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 675E10R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733ER24E3= CP-733/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 733E100R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 733E10R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733BR24E3= CP-733/Aserrín *Bursera*+ Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=66.

Los rendimientos de los extractos preliminares y estandarizados se pueden observar en la figura 101, el análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.99$. No se presentaron diferencias significativas entre los rendimientos de los extractos preliminares y estandarizados, sin embargo, los valores altos fueron para la cepa CP-675 cultivada en PHE+ Testigo en condición de reposo a las 72 h presentando 263.33 mg/mL, la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M en condición de agitación a las 72 h obtuvo 260.93 mg/mL, la cepa CP-675 cultivada en PHE+AAS 10 mM en condición de agitación a las 72 h registró 265.47 mg/mL y por último la cepa CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera*+ Testigo en condición de reposo a las 24 h presentó 262.30 mg/mL, colocándolos en el primer nivel de significancia. Por el contrario, los últimos niveles de significancia lo tuvieron los extractos de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) en condición de reposo a las 24 h con 168.69 mg/mL, la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M en condición de reposo a las 24 h con un rendimiento de 136.90 mg/mL y el extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM en condición de reposo a las 24 h registrando 125.20 mg/mL.

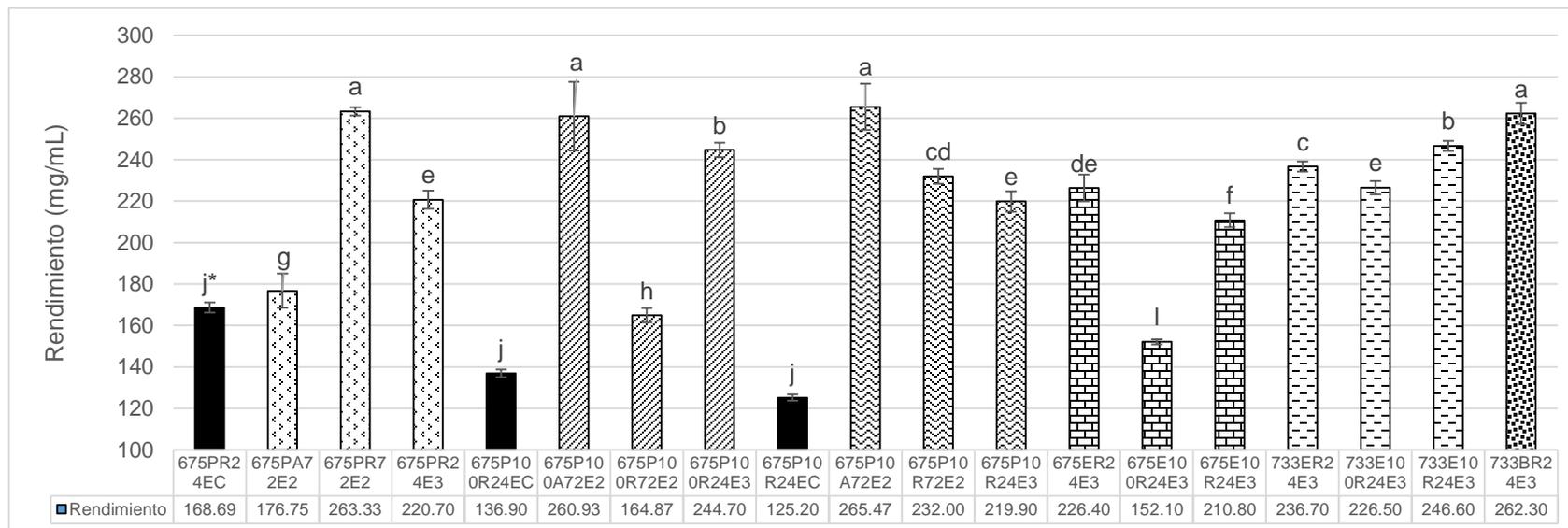


Figura 101. Rendimiento de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 675PR24EC= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 675PA72E2= CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. 675PR72E2= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. 675PR24E3= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 675P100R24EC= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 675P100A72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 675P100R72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 675P100R24E3= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 675P10R24EC= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/control. 675P10A72E2= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. 675P10R72E2= CP-675/PHE+ AAS 10mM/reposo/72 h. 675P10R24E3= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/estandarizado. 675ER24E3= CP-675/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 675E100R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 675E10R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733ER24E3= CP-733/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 733E100R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 733E10R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733BR24E3= CP-733/Aserrín *Bursera*+ Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=66.

El análisis de varianza de los resultados de la cuantificación de polifenoles totales de los extractos preliminares y estandarizados se muestra en la figura 102. Se obtuvo una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.94$, no se presentaron diferencias significativas entre los rendimientos de los extractos preliminares y estandarizados, sin embargo, los valores altos representativos se registraron para la cepa CP-733 cultivada en aserrín de encino + Testigo en condición de reposo a 24 h con 3836.70 mg EAG/5 g de hongo seco, la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μM en condición de reposo a las 24 h registró 3772.40 mg EAG/5 g de hongo seco y la cepa CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera*+ Testigo en condición de reposo a las 24 h se presentó 3795.10 mg EAG/g de hongo seco, colocándolos en el primer nivel de significancia, por el contrario, los últimos niveles de significancia se obtuvieron con los extractos de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) en condición de reposo a las 24 h con 1199.80 mg EAG/5 g de hongo seco. El extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μM en condición de reposo a las 24 h tuvo 1278.80 mg EAG/5 g de hongo seco y el extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM en condición de reposo a las 24 h registrando de 1268.20 mg EAG/5 g de hongo seco.

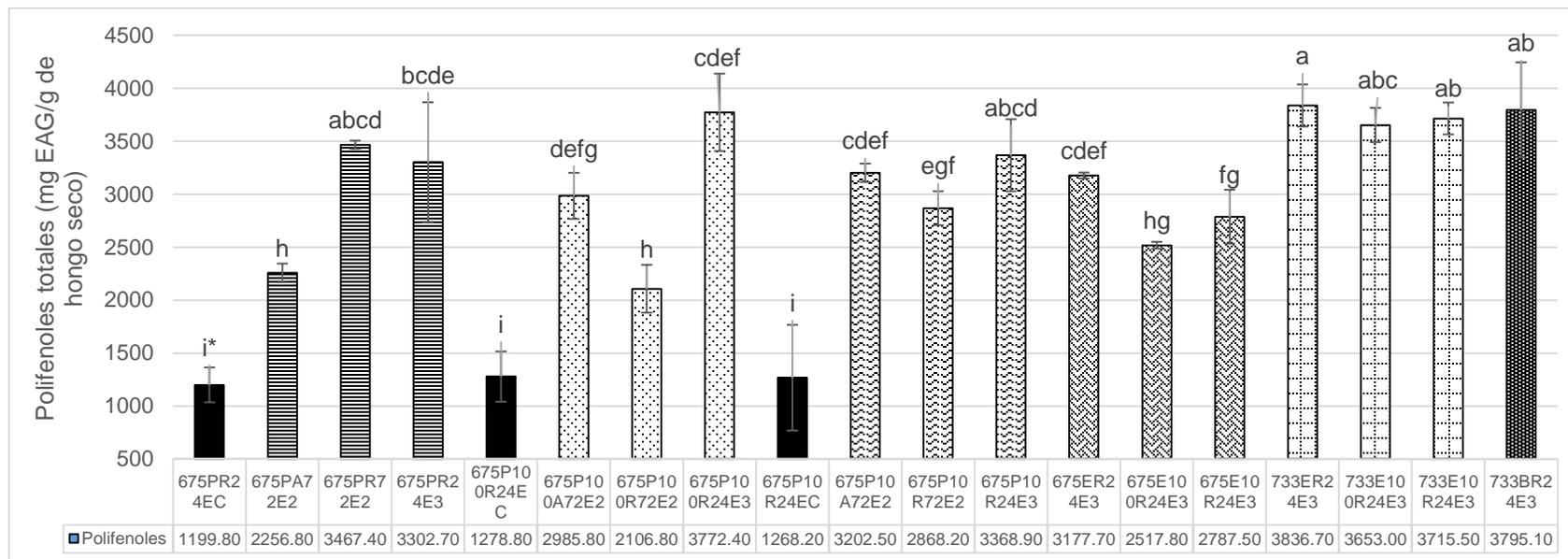


Figura 102. Polifenoles totales de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 675PR24EC= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 675PA72E2= CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. 675PR72E2= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. 675PR24E3= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 675P100R24EC= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 675P100A72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 675P100R72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 675P100R24E3= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 675P10R24EC= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/control. 675P10A72E2= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. 675P10R72E2= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. 675P10R24E3= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/estandarizado. 675ER24E3= CP-675/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 675E100R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 675E10R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733ER24E3= CP-733/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 733E100R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 733E10R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733BR24E3= CP-733/Aserrín *Bursera*+ Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=51.

En figura 103 se muestran los resultados de la actividad antioxidante de los extractos preliminares y estandarizados, el análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre tratamientos con una $F < 0.0001$ y $R^2 = 0.95$. No se presentaron diferencias significativas entre la actividad antioxidantes de los extractos preliminares y estandarizados, sin embargo, los valores altos representativos se obtuvieron con la cepa CP-675 cultivada en PHE+ Testigo en condición de agitación a las 72 h con 79.47%, la cepa CP-675 cultivada en PHE+ Testigo en condición de reposo a las 72 h obtuvo 75.99%, la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M en condición de agitación a las 72 h tuvo 80.64%, la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M en condición de reposo a las 72 h registró 78.47%, CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM en condición de agitación a las 72 h con 80.94%, y cultivada en PHE+ AAS 10 mM en condición de reposo a las 72 h registró 81.09%, colocándolos en el primer nivel de significancia, por el contrario, los últimos niveles de significancia se encontraron en los extractos de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) en condición de reposo a las 24 h con 57.52%, el extracto de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de encino+ Testigo en condición de reposo a las 24 h registró 49.44% y en aserrín de *Bursera*+ Testigo en condición de reposo a las 24 h con 52.41%.

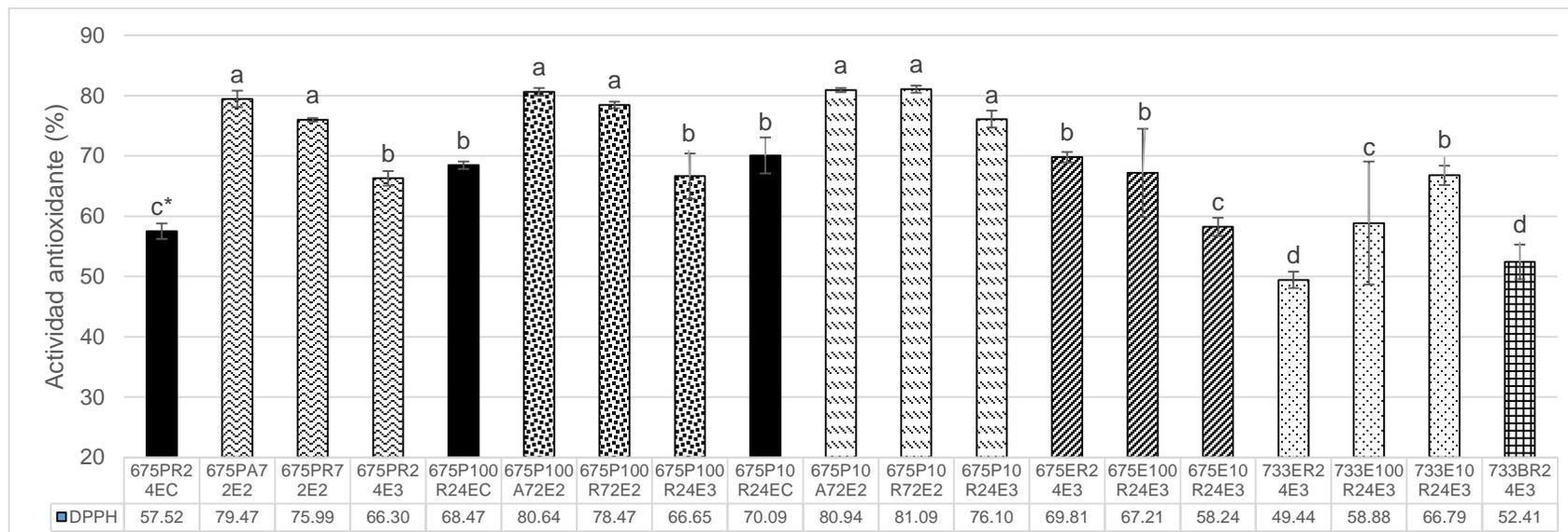


Figura 103. Actividad antioxidante (%) de los extractos preliminares y estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM (n=5). 675PR24EC= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/control. 675PA72E2= CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. 675PR72E2= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. 675PR24E3= CP-675/PHE+ Testigo/reposo/24 h/estandarizado. 675P100R24EC= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/control. 675P100A72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. 675P100R72E2= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h. 675P100R24E3= CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/24 h/estandarizado. 675P10R24EC= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/control. 675P10A72E2= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. 675P10R72E2= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. 675P10R24E3= CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h/estandarizado. 675ER24E3= CP-675/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 675E100R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 675E10R24E3= CP-675/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733ER24E3= CP-733/Aserrín encino+ Testigo/reposo/24 h. 733E100R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 100 μ M /reposo/24 h. 733E10R24E3= CP-733/Aserrín encino+ AAS 10 mM /reposo/24 h. 733BR24E3= CP-733/Aserrín *Bursera*+ Testigo/reposo/24 h. *Medias con la misma letra son similares de acuerdo con la prueba de Duncan a una $P \leq 0.05$. EGL=56.

8.10 Efecto bacteriostático en los extractos de la cepa CP-675 de *V. bombycina*

En el cuadro 16 se observan los niveles de microdilución de los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) y en paja hidratada estéril (PHE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM), en donde se evidencia el efecto bacteriostático sobre las bacterias *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13).

Cuadro 16. Nivel de microdilución que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			PAJA HIDRATADA ESTÉRIL		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D5	D5	D4	D2	D5	D5
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	D1	D1	D1	SE	D1	SE
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	D3	SE	SE	SE

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

En el cuadro 17 se presentan las concentraciones de los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) y en paja hidratada estéril (PHE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM), demostrando el efecto bacteriostático sobre las bacterias *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13). Se observó que en los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) tienen mayor efecto bacteriostático sobre la CPB-8 que los extractos de los hongos cultivados en PHE, también tuvieron poco efecto sobre la CPB-4 y casi nulo efecto bacteriostático sobre la CPB-13.

Cuadro 17. Concentración del extracto (mg/mL) que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			PAJA HIDRATADA ESTÉRIL		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	7.08	4.75	13.18	55.18	7.65	3.44
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	113.20	76.05	105.40	SE	122.35	SE
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	26.35	SE	SE	SE

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

En el cuadro 18 se observan los niveles de microdilución de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cosechados en aserrín de encino (AE) y en paja hidratada estéril (PHE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM), en donde se demuestra el efecto bactericida sobre las bacterias *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13).

Cuadro 18. Nivel de microdilución en la que se confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			PAJA HIDRATADA ESTÉRIL		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D5	D7	D4	D2	D5	D5
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	SE	SE	SE	SE
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	SE	SE	SE	SE

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

Las concentraciones de los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) y en paja hidratada estéril (PHE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) se muestran en el cuadro 19. Se puede observar que los extractos de los basidiocarpos cultivados en paja hidratada estéril (PHE) y en aserrín de encino (AE) presentan mayor efecto bactericida sobre CPB-4, por el contrario, no presentan efecto bactericida sobre la CPB-8 y CPB-13.

Cuadro 19. Concentración del extracto (mg/mL) que confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			PAJA HIDRATADA ESTÉRIL		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	7.08	2.38	13.18	55.18	7.65	6.87
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	SE	SE	SE	SE
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	SE	SE	SE	SE

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) fue de 226.40 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución cinco, la cual corresponde a una concentración de 7.08 mg/mL (Fig. 104).

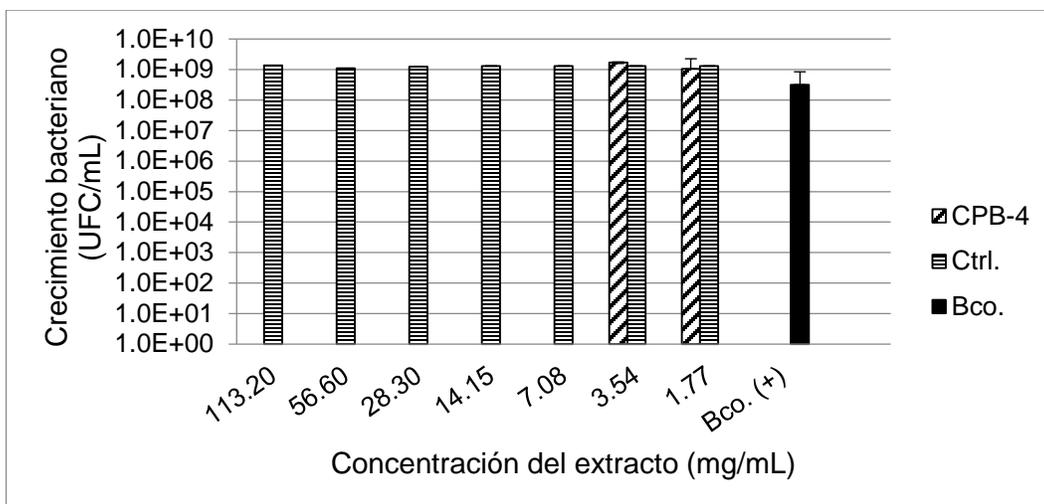


Figura 104. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 226.40 mg/mL, y tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual corresponde a una concentración de 113.20 mg/mL (Fig. 105).

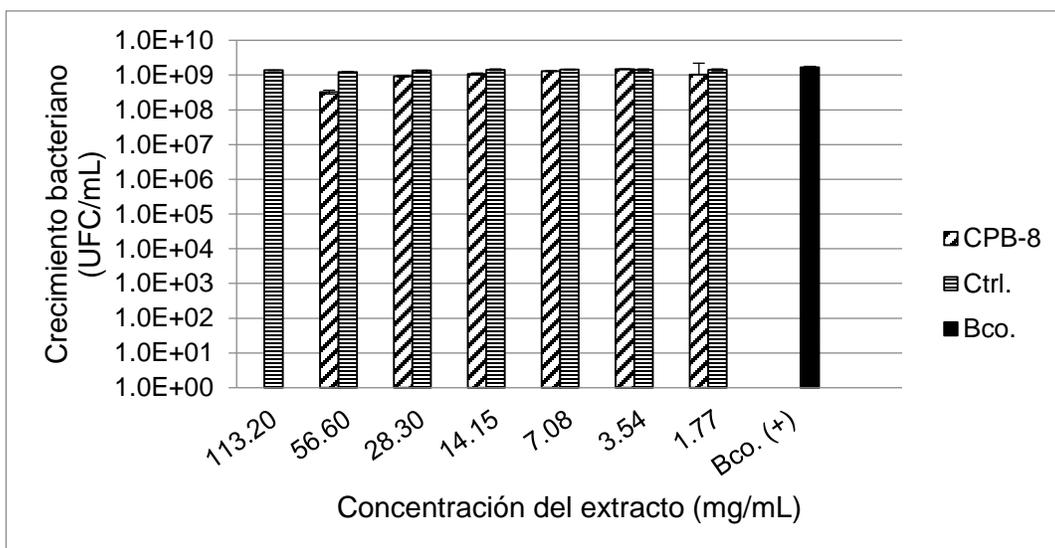


Figura 105. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 226.40 mg/mL, no se tuvo un efecto bacteriostático en ninguna microdilución (Fig. 106).

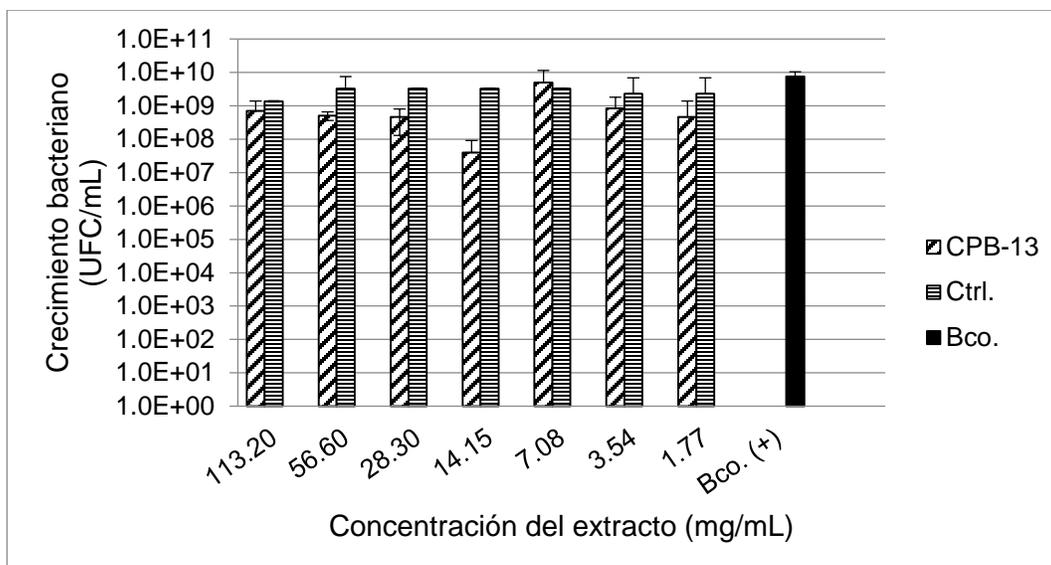


Figura 106. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

El efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 cultivada en AE+ AAS 100 μ M sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) se presentó a una concentración de 152.10 mg/mL, se encontró que hubo un efecto bacteriostático en todas las diluciones (Fig. 107).

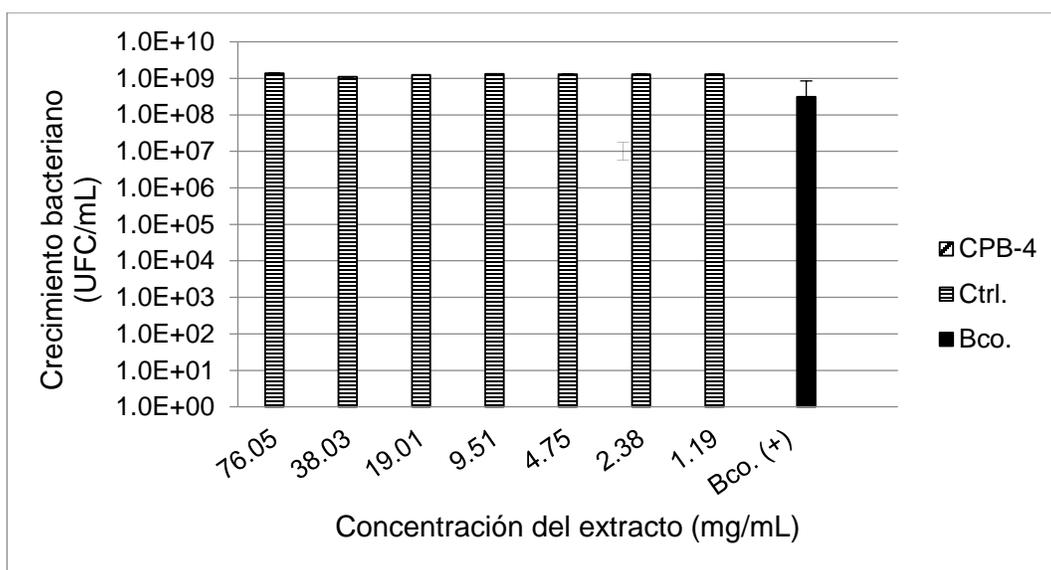


Figura 107. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en AE+ AAS 100 μ M sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 152.10 mg/mL, y tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual correspondió a una concentración de 76.05 mg/mL (Fig. 108).

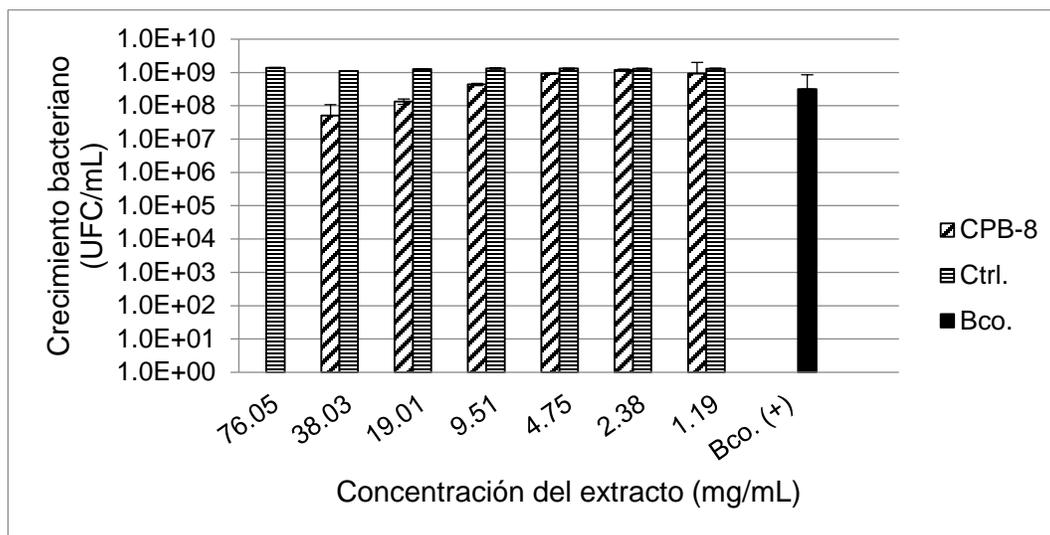


Figura 108. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en AE+ AAS 100 μ M sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 152.10 mg/mL, con efecto bacteriostático en la microdilución cuatro, la cual corresponde a una concentración de 9.51 mg/mL (Fig. 109).

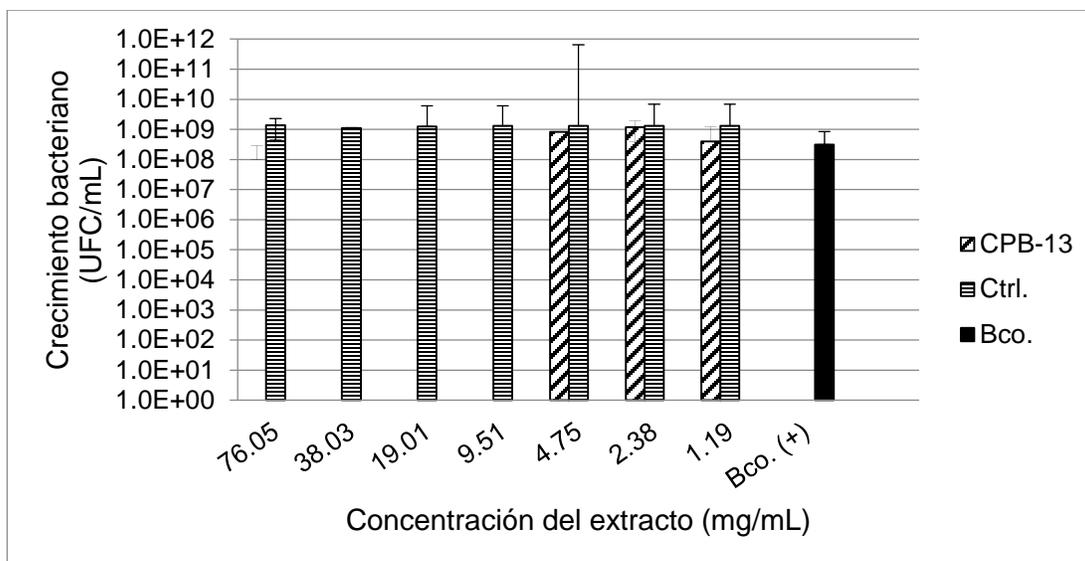


Figura 109. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

Con respecto al extracto de la cepa CP-675 cultivada en AE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) se presentó a una concentración de 210.80 mg/mL, con un efecto bacteriostático hasta la microdilución cuatro, la cual correspondió a una concentración de 13.18 mg/mL (Fig. 110).

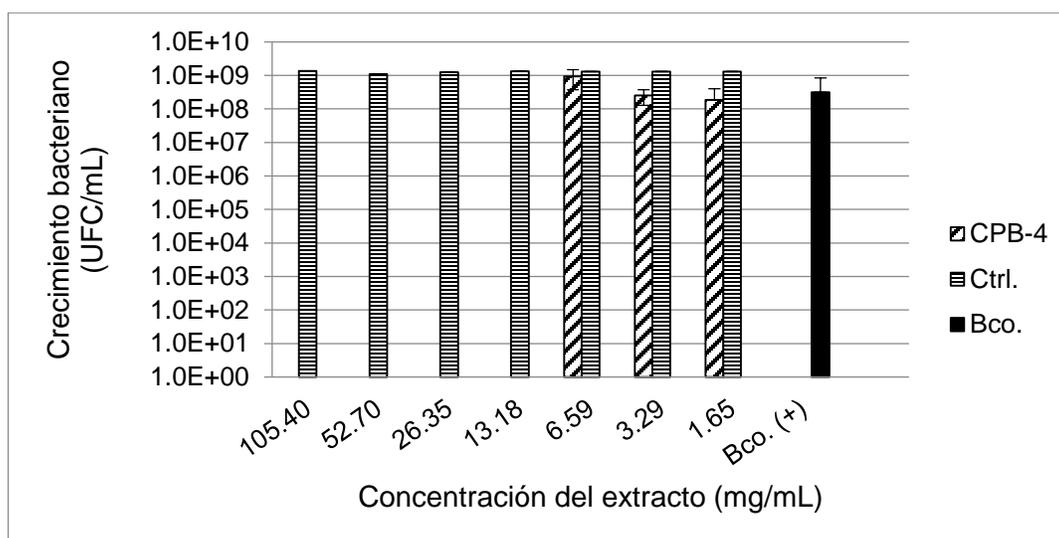


Figura 110. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en AE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 210.80 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual corresponde a una concentración de 105.40 mg/mL (Fig. 111).

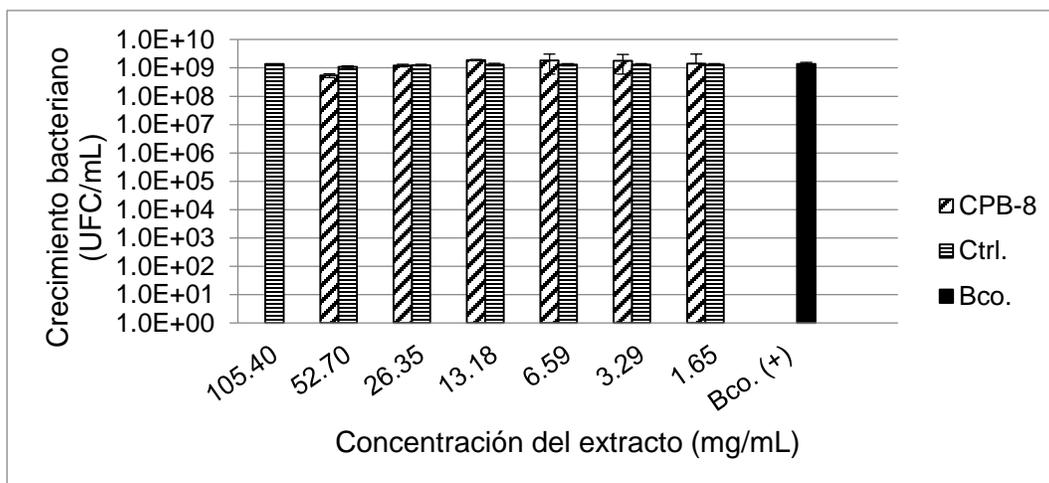


Figura 111. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La propiedad del extracto de la cepa CP-675 cultivada en AE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 210.80 mg/mL, con un efecto bacteriostático en la microdilución tres, la cual corresponde a una concentración de 26.35 mg/mL (Fig. 112).

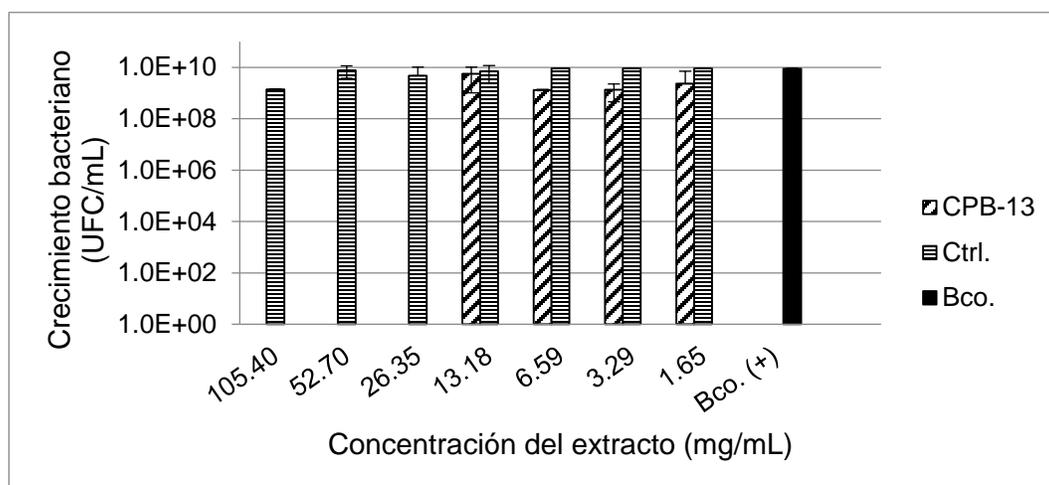


Figura 112. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

Con respecto al extracto de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4), con concentración inicial de 220.70 mg/mL, y efecto bacteriostático en la microdilución dos, con una concentración de 55.18 mg/mL (Fig. 113).

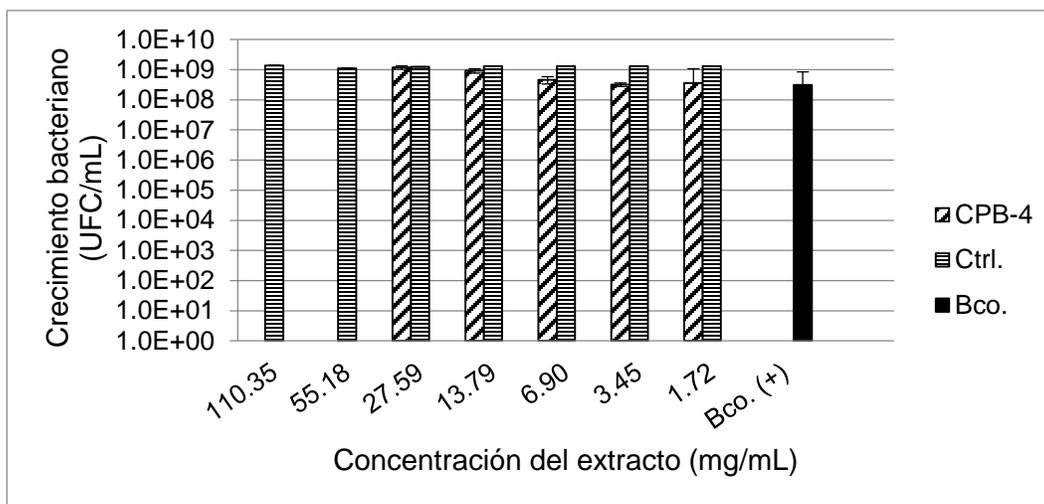


Figura 113. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 220.70 mg/mL, no se tuvo un efecto bacteriostático en ninguna dilución (Fig. 114).

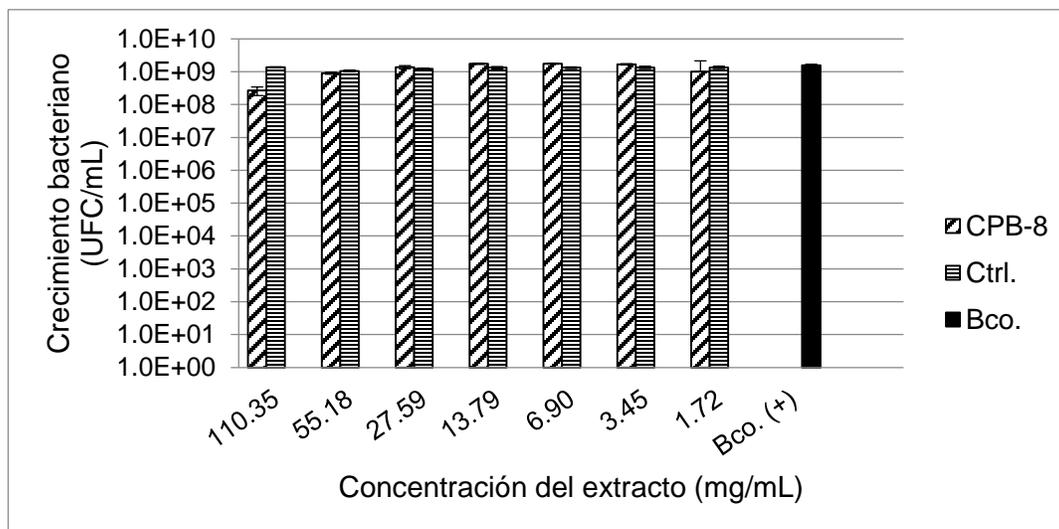


Figura 114. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

El extracto de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) inicialmente tuvo una concentración de 220.70 mg/mL, no tuvo ningún efecto en dicha bacteria (Fig. 115).

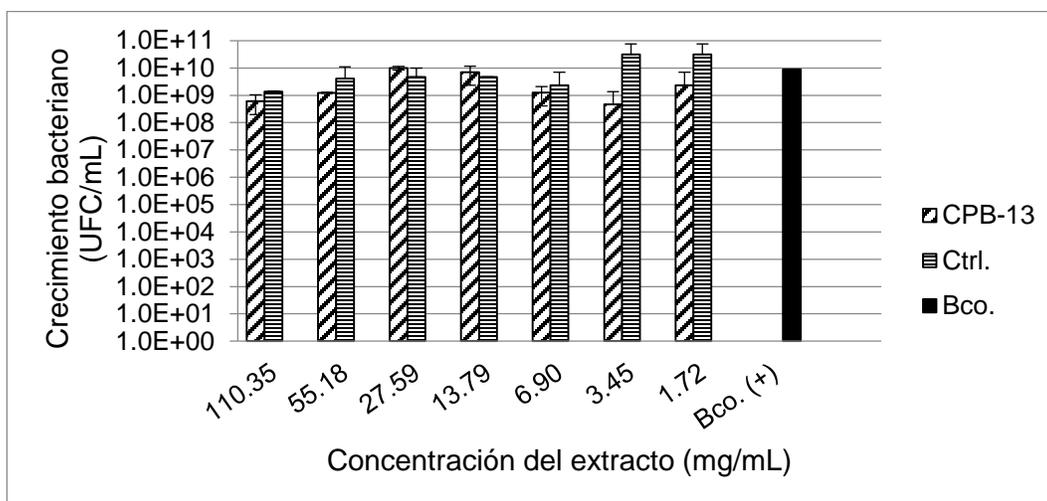


Figura 115. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M fue de 244.70 mg/mL. El efecto bacteriostático sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4), se presentó hasta la microdilución cinco, la cual correspondió a una concentración de 7.65 mg/mL (Fig. 116).

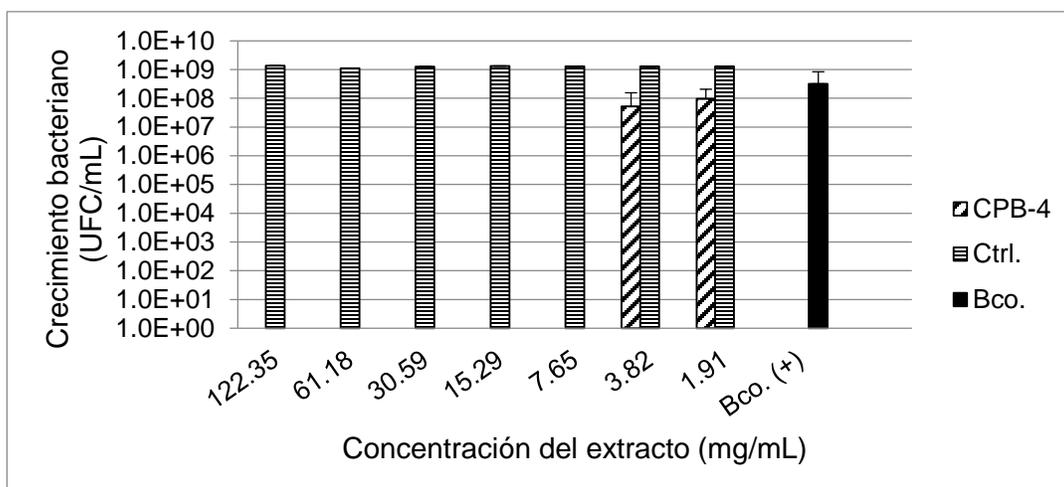


Figura 116. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

Inicialmente la concentración del extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M fue de 244.70 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) en la microdilución uno, la cual correspondió a una concentración de 122.35 mg/mL (Fig. 117).

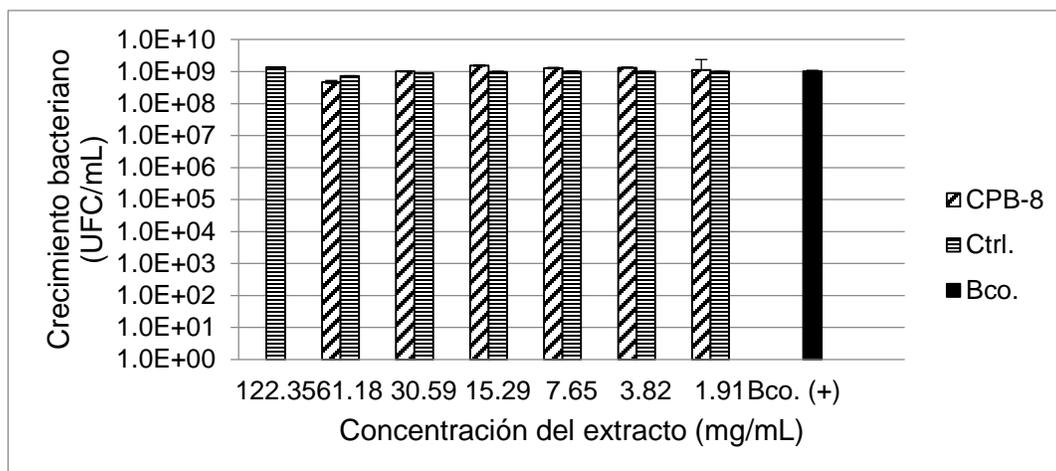


Figura 117. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

Con una concentración inicial del extracto de 244.70 mg/mL de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 100 μ M se probó la efectividad sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue, sin embargo, no se tuvo un efecto bacteriostático en ninguna microdilución (Fig. 118).

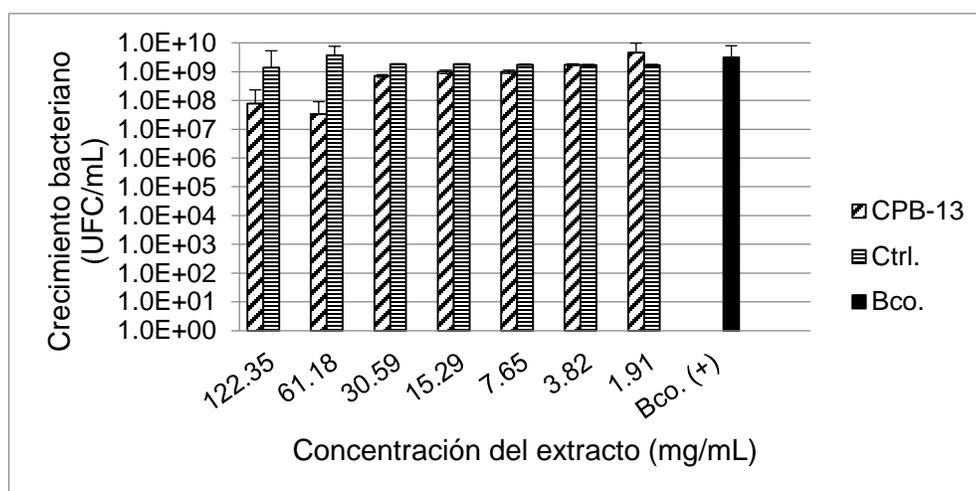


Figura 118. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

El extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) tuvo una concentración inicial de 219.90 mg/mL, se encontró que hubo un efecto bacteriostático en todas las microdiluciones (Fig. 119).

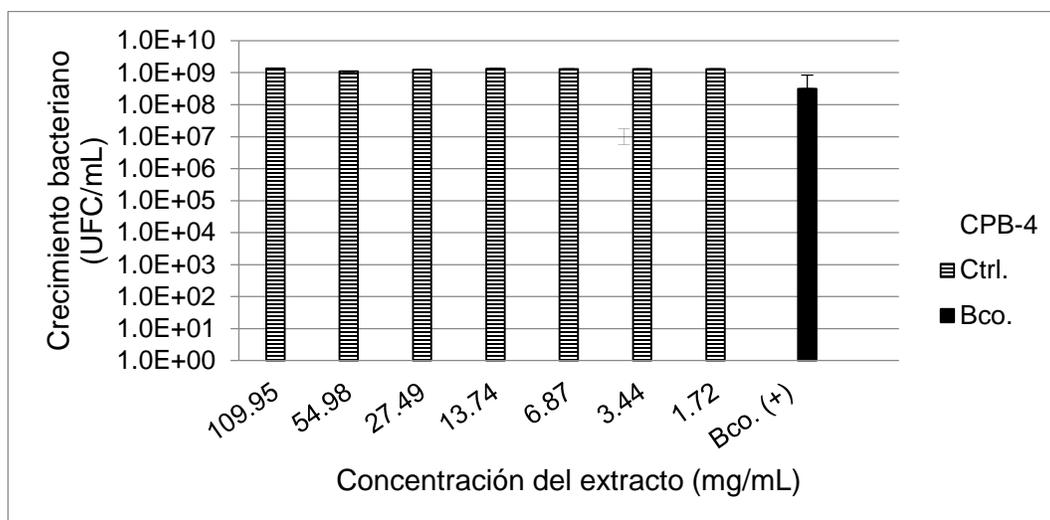


Figura 119. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

No se tuvo un efecto bacteriostático en ninguna microdilución sobre la bacteria *E. coli*. La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM (CPB-8) fue de 219.90 mg/mL (Fig. 120).

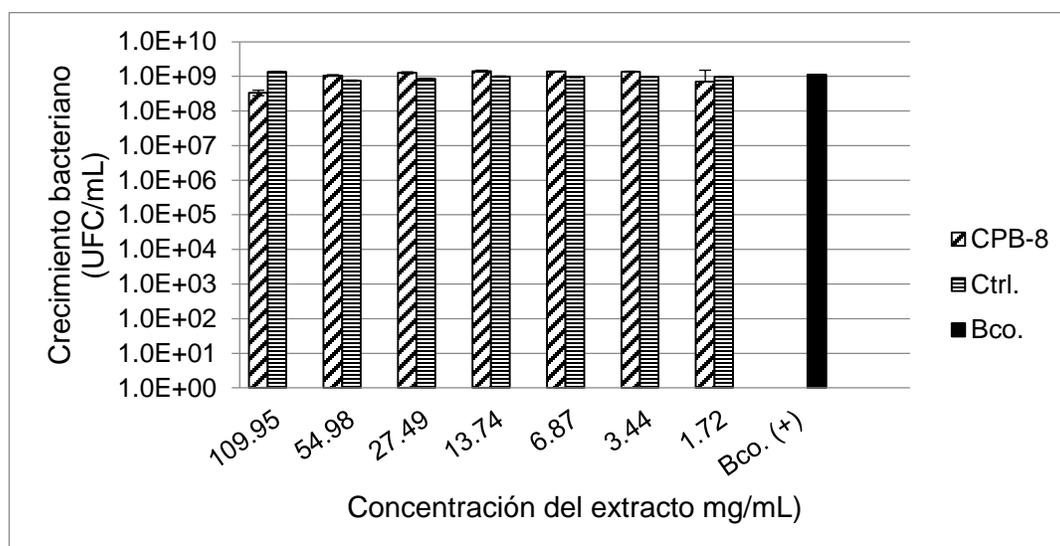


Figura 120. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-675 cultivada en PHE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 219.90 mg/mL, tampoco tuvo un efecto bacteriostático en ninguna microdilución (Fig. 121).

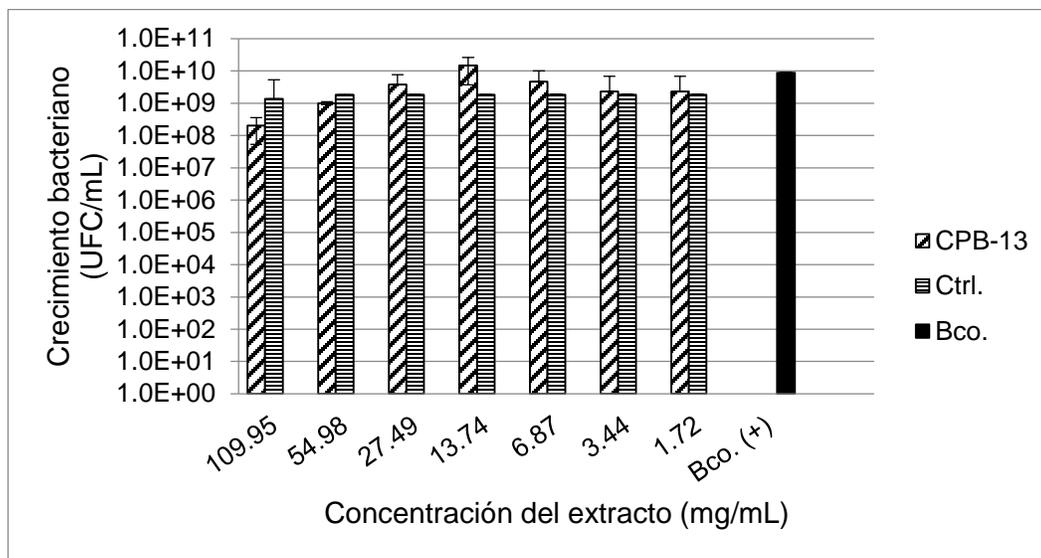


Figura 121. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

8.11 Efecto bacteriostático en los extractos de la cepa CP-733 de *V. bombycina*

En el cuadro 20 se observan los niveles de microdilución de los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) y aserrín de *Bursera* (AB) en testigo, en donde se evidencia el efecto bacteriostático sobre las bacterias *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13).

Cuadro 20. Nivel de microdilución que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y aserrín de *Bursera*.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			ASERRÍN <i>BURSER</i> A		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D6	D6	D6	D5	SM	SM
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	D1	D1	D1	D1	SM	SM
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	D3	D2	SE	D3	SM	SM

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SM=Sin Muestra.

En el cuadro 21 se presentan las concentraciones de los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) y aserrín de *Bursera* (AB) en testigo, demostrando el efecto bacteriostático sobre las bacterias *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13), se observó que en los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) tuvieron mayor efecto sobre la CPB-8 y poco efecto sobre la CPB-4 y la CPB-13; en AB presentó mayor efecto sobre la CPB-8 que en las dos cepas bacterianas restantes (CPB-4 y CPB-13).

Cuadro 21. Concentración del extracto (mg/mL) que demuestra el efecto bacteriostático de los extractos de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y aserrín de *Bursera*.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			ASERRÍN <i>BURSER</i> A		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	3.70	3.54	3.85	8.20	SM	SM
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	118.35	113.25	123.30	131.15	SM	SM
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29.59	56.63	SE	32.79	SM	SM

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto. SM=Sin muestra.

En el cuadro 22 se observan los niveles de microdilución de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-733 de *V. bombycina* cosechados en aserrín de encino (AE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) y aserrín de *Bursera* (AB) en testigo, en donde se demuestra el efecto bactericida sobre tres tipos de bacterias: *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13).

Cuadro 22. Nivel de microdilución en la que se confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y aserrín de *Bursera*.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			ASERRÍN <i>BURSER</i> A		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D6	D6	D5	D6	SM	SM
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	SE	SE	SM	SM
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	SE	SE	SM	SM

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto. SM=Sin muestra

Las concentraciones de los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) y aserrín de *Bursera* (AB) en testigo se muestran en el cuadro 23. Se puede observar el efecto bactericida sobre tres tipos de bacterias: *S. agalactiae* (CPB-4), *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13), se pudo demostrar que en los extractos de los basidiocarpos cultivados en aserrín de encino (AE) presentan mayor efecto bactericida sobre CPB-4, por el contrario, no presentan efecto bactericida sobre la CPB-8 y CPB-13; en el caso del AB en testigo tuvo efecto bactericida sobre la CPB-4 y ningún efecto sobre la CPB-8 y CPB-13.

Cuadro 23. Concentración del extracto (mg/mL) que confirma el efecto bactericida de los extractos de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y aserrín de *Bursera*.

Registro	Especie	ASERRÍN ENCINO			ASERRÍN <i>BURSER</i> A		
		Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM	Testigo	AAS 100 μ M	AAS 10 mM
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	3.70	3.54	7.71	4.10	SM	SM
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	SE	SE	SM	SM
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	SE	SE	SM	SM

AAS= Ácido acetilsalicílico. D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto. SM=Sin muestra.

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) fue de 236.70 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución seis, la cual corresponde a una concentración de 3.70 mg/mL (Fig. 122).

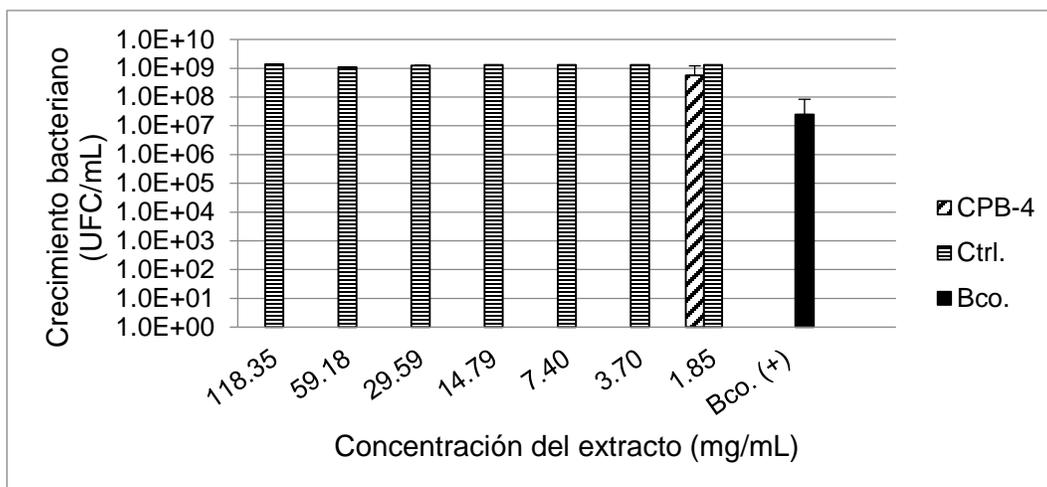


Figura 122. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 236.70 mg/mL, y tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual corresponde a una concentración de 118.35 mg/mL (Fig. 123).

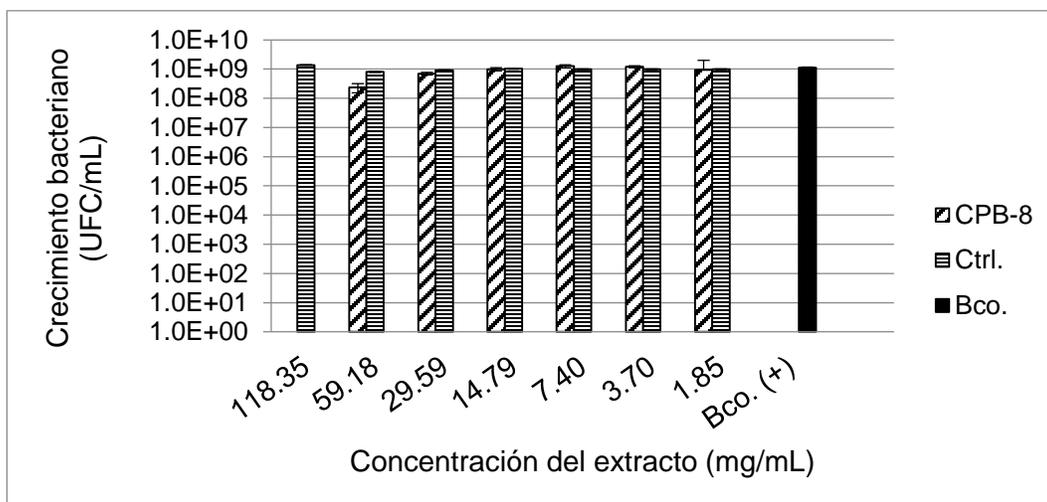


Figura 123. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 236.70 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución tres, la cual corresponde a una concentración de 29.59 mg/mL (Fig. 124).

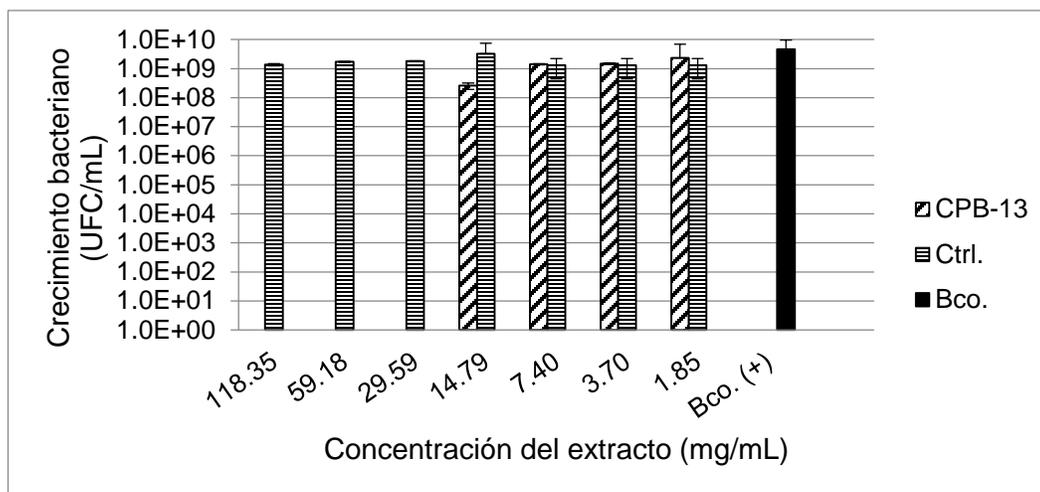


Figura 124. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 100 μ M sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) fue de 226.50 mg/mL, y tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución seis, la cual corresponde a una concentración de 3.54 mg/mL (Fig. 125).

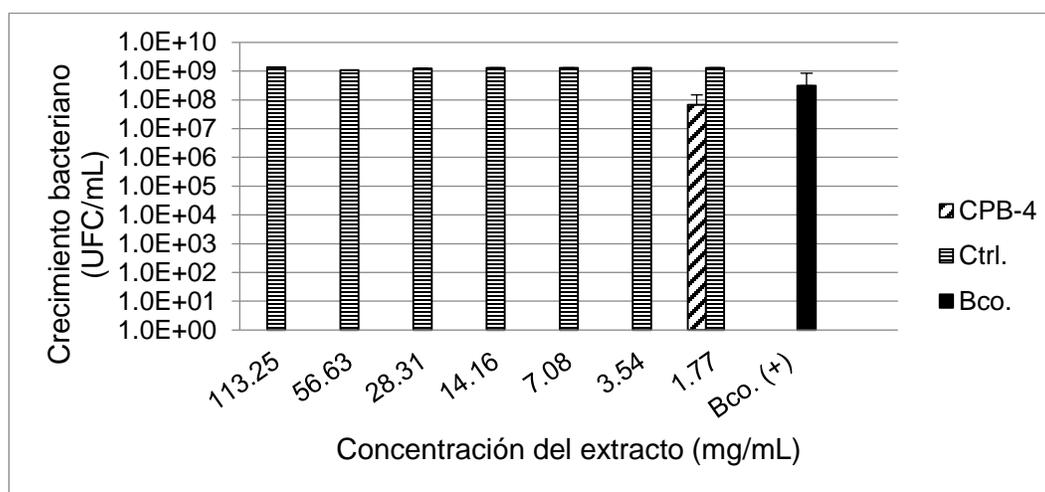


Figura 125. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

El efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 100 μ M sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) se presentó a una concentración de 226.50 mg/mL, se encontró que tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual corresponde a una concentración de 113.25 mg/mL (Fig. 126).

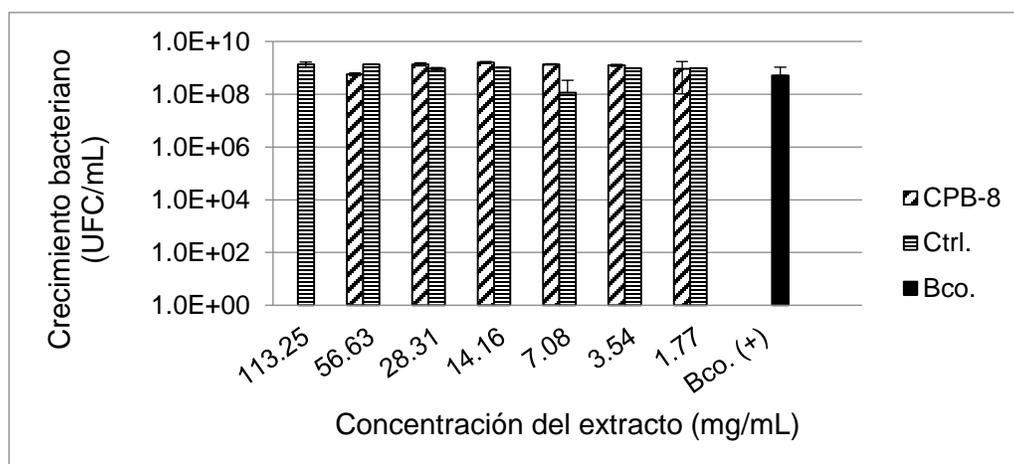


Figura 126. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La concentración inicial del extracto de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 100 μ M sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 226.50 mg/mL, y tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución dos, la cual correspondió a una concentración de 56.63 mg/mL (Fig. 127).

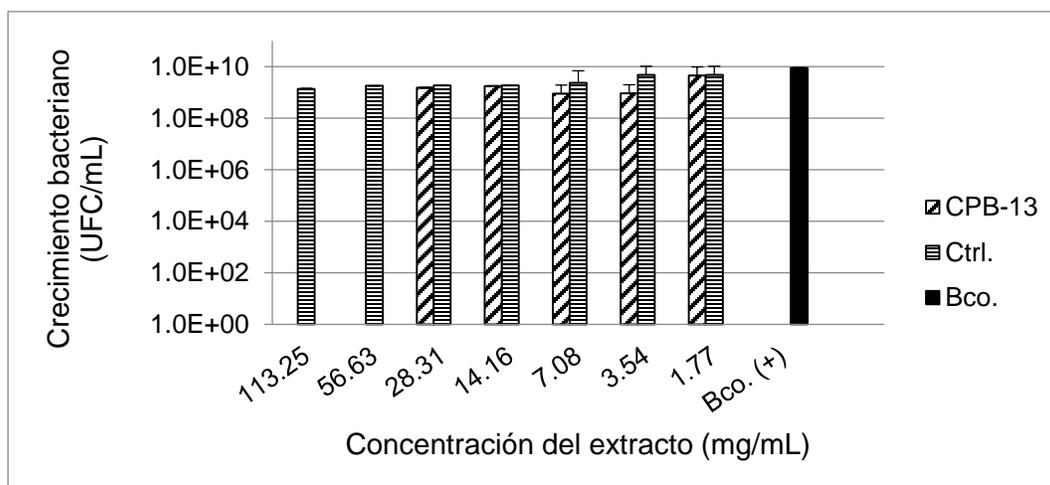


Figura 127. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 100 μ M sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

Con respecto al extracto de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) se presentó a una concentración de 246.60 mg/mL, con un efecto bacteriostático hasta la microdilución seis, la cual correspondió a una concentración de 3.85 mg/mL (Fig. 128).

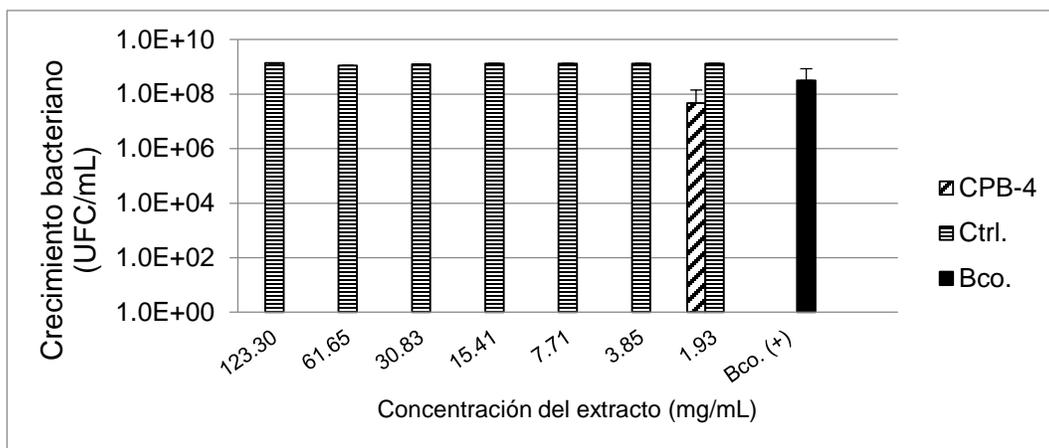


Figura 128. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

Inicialmente la concentración del extracto de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 246.60 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual corresponde a una concentración de 123.30 mg/mL (Fig. 129).

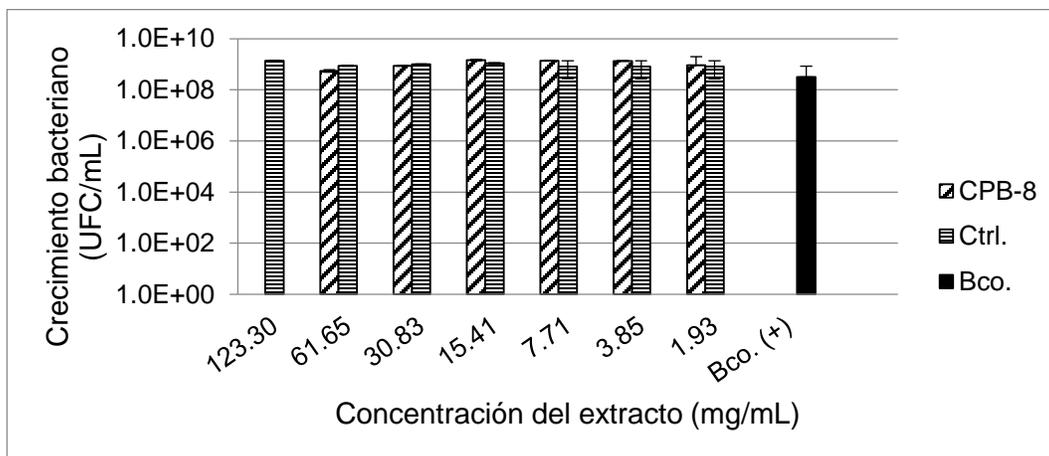


Figura 129. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

La propiedad del extracto de la cepa CP-733 cultivada en AE+ AAS 10 mM sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) fue de 246.60 mg/mL, con un efecto bacteriostático en la microdilución dos, la cual corresponde a una concentración de 61.65 mg/mL (Fig. 130).

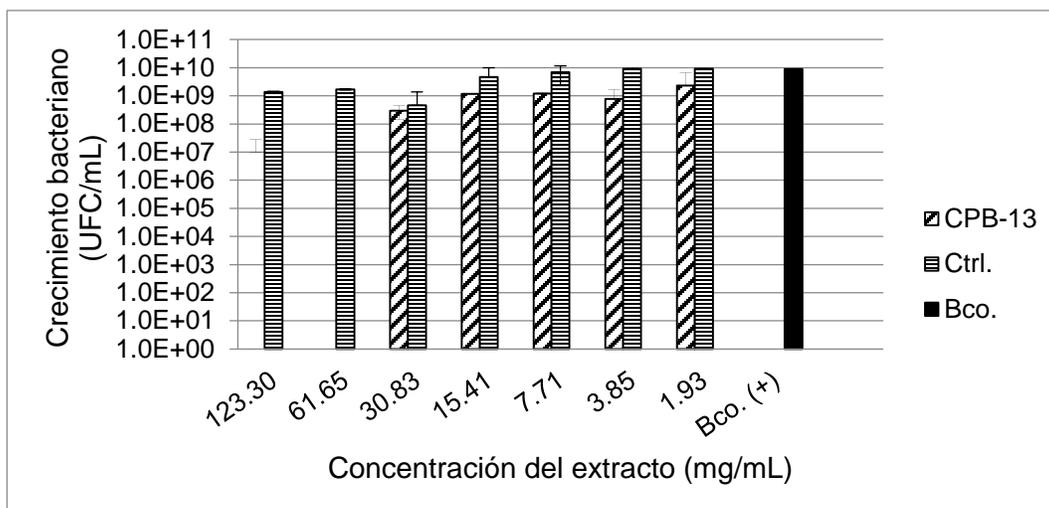


Figura 130. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementado con AAS 10 mM sobre la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

Con respecto al extracto de la CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4), con una concentración inicial de 262.30 mg/mL, y efecto bacteriostático en la microdilución cinco, con una concentración de 8.20 mg/mL (Fig. 131).

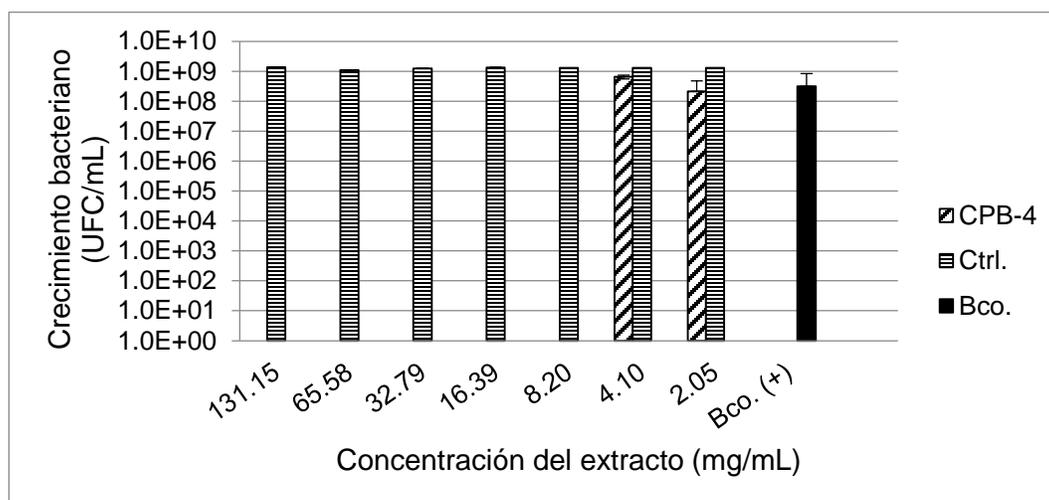


Figura 131. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de *Bursera* sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4).

Con una concentración inicial del extracto de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) fue de 262.30 mg/mL, se tuvo un efecto bacteriostático en la microdilución uno, la cual corresponde a una concentración de 131.15 mg/mL (Fig. 132).

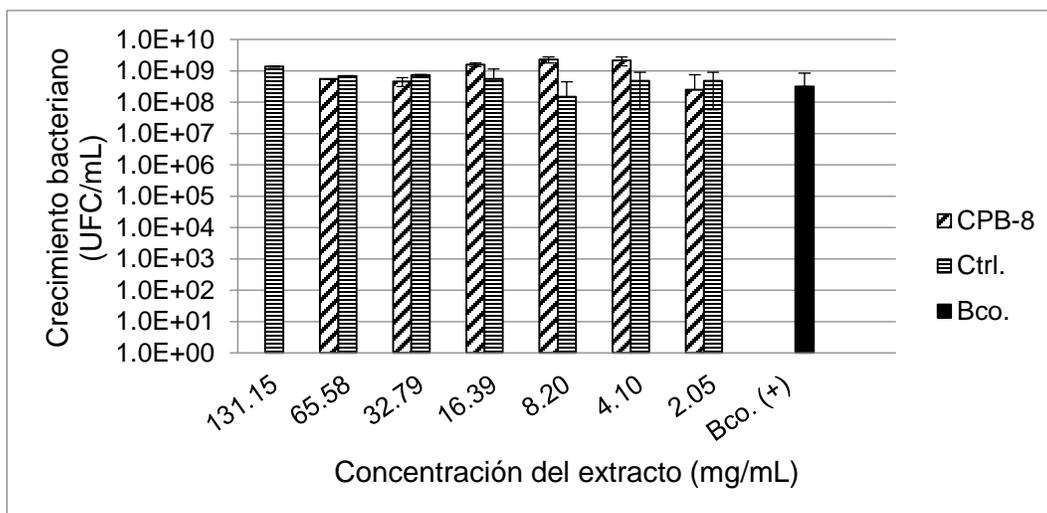


Figura 132. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de *Bursera* sobre la bacteria *Escherichia coli* (CPB-8).

El extracto de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) sobre la bacteria *P. aeruginosa* (CPB-13) inicialmente tuvo una concentración de 262.30 mg/mL, y efecto bacteriostático en la microdilución tres, la cual correspondió a una concentración de 32.79 mg/mL (Fig. 133).

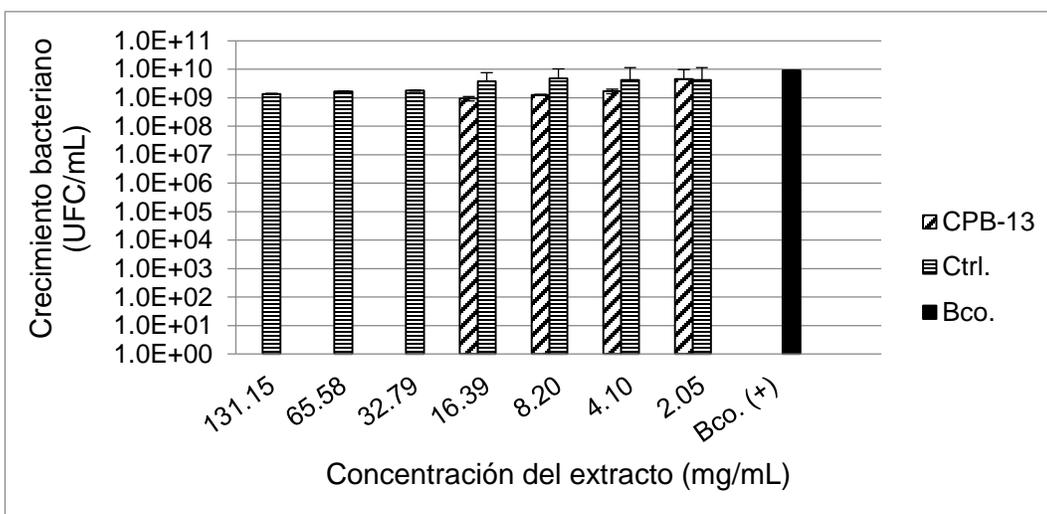
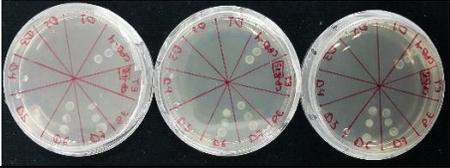
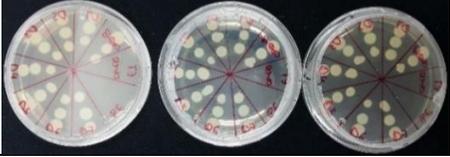


Figura 133. Efecto bacteriostático del extracto de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de *Bursera* sobre *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-13).

8.12 Efecto bactericida en los extractos de la cepa CP-675 de *V. bombycina*

Las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) se muestran en el cuadro 24. Se tuvo un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución cinco a las 24 h de incubación, la cual corresponde a una concentración de 7.08 mg/mL, iniciando con una concentración de 226.40 mg/mL, sin embargo, no se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13) de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri por cepa bacteriana con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel”.

Cuadro 24. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino en testigo (AE) en tres cepas de bacterias.

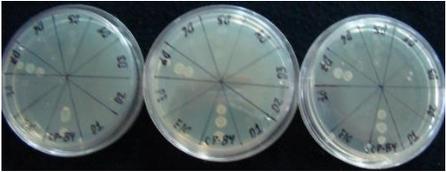
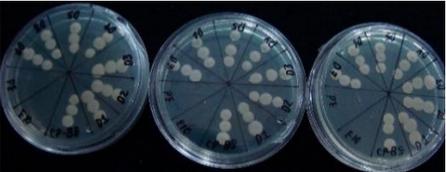
Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D5	7.08	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

En el cuadro 25 se muestran las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en AE+ AAS 100 μ M. Se presentó un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución seis a las 24 h de incubación, la cual correspondió a una concentración de 2.38 mg/mL partiendo de una concentración inicial de 152.10 mg/mL, por el contrario, no se presentaron efectos bactericidas sobre *E. coli* (CPB-8) y *P.*

aeruginosa (CPB-13) en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba de “pastel” con medio Mueller Hinton.

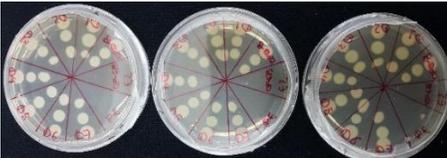
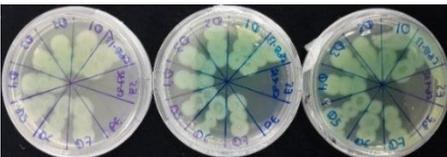
Cuadro 25. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D6	2.38	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

El cuadro 26 muestra las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en AE+ AAS 10 mM. Se tuvo un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución cuatro a las 24 h de incubación, la cual correspondió a una concentración de 13.18 mg/mL (concentración inicial de 210.80 mg/mL). No se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13), en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba “pastel” con medio Mueller Hinton.

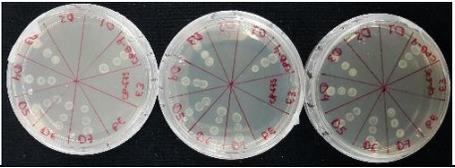
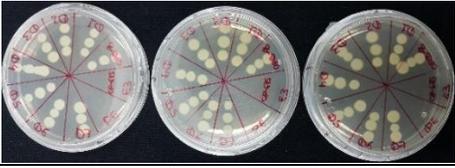
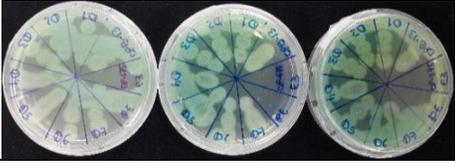
Cuadro 26. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D4	13.18	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

Las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja hidratada estéril en testigo (PHE) se observan en el cuadro 27. El efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) se observó en la microdilución dos a las 24 h de incubación, la cual correspondió a una concentración de 55.18 mg/mL con concentración inicial de 220.70 mg/mL, desafortunadamente, no se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13) en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba de “pastel” con medio Mueller Hinton.

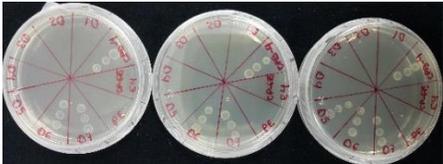
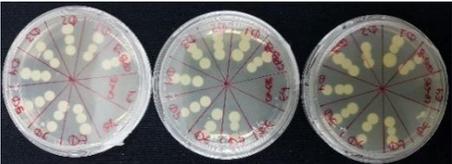
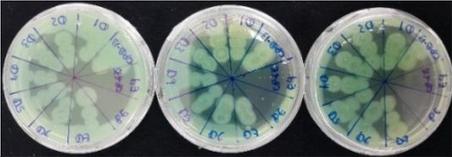
Cuadro 27. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de *Volvariella bombycina* en paja hidratada estéril en testigo (PHE) en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D2	55.18	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

En el cuadro 28 se muestran las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en PHE+ AAS 100 μ M, en donde se tuvo un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución cinco a las 24 h de incubación, la cual corresponde a una concentración de 7.65 mg/mL de la concentración inicial de 244.70 mg/mL, por el contrario, no se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13) de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri por cepa bacteriana con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel”.

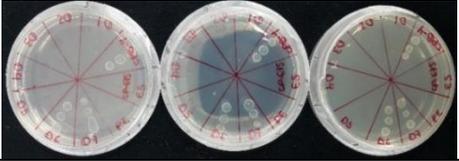
Cuadro 28. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de *Volvariella bombycina* en paja hidratada estéril adicionada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D5	7.65	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

Las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en PHE+ AAS 10 mM se pueden observar en el cuadro 29. El efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) fue en la microdilución cinco a las 24 h de incubación, la cual corresponde a una concentración de 6.87 mg/mL. Sin efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13), en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba de “pastel” con medio Mueller Hinton.

Cuadro 29. Efecto bactericida del extracto de la CP-675 de *Volvariella bombycina* en paja hidratada estéril adicionada con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en tres cepas de bacterias.

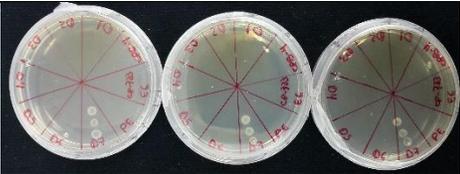
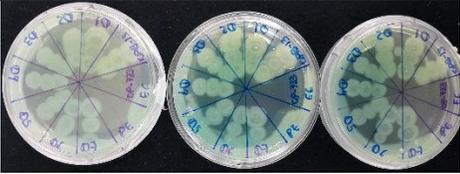
Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D5	6.87	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

8.13 Efecto bactericida en los extractos de la cepa CP-733 de *V. bombycina*

Las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-733 de *V. bombycina* cultivada en aserrín de encino en testigo (AE) se muestran en el cuadro 30. Se tuvo un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución siete a las 24 h de incubación, la cual corresponde a una concentración de 3.70 mg/mL, iniciando con una concentración de 236.70 mg/mL, sin embargo, no se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13) de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas de cajas Petri por cepa bacteriana con medio Mueller Hinton en la prueba de “pastel”.

Cuadro 30. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino en testigo (AE) en tres cepas de bacterias.

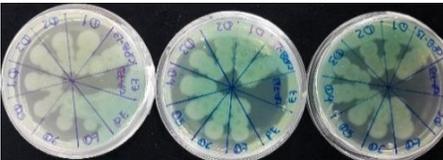
Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D7	3.70	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

En el cuadro 31 se muestran las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-733 de *V. bombycina* cultivada en AE+ AAS 100 μ M. Se presentó un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución seis a las 24 h de incubación, la cual correspondió a una concentración de 3.54 mg/mL partiendo de la concentración inicial de 226.50 mg/mL, por el contrario, no se presentaron efectos bactericidas sobre *E. coli* (CPB-8) y *P.*

aeruginosa (CPB-13) en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba de “pastel” con medio Mueller Hinton.

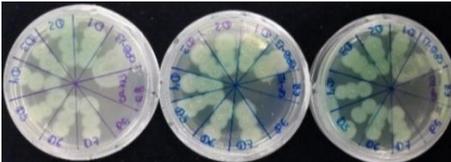
Cuadro 31. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D6	3.54	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

El cuadro 32 muestra las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-733 de *V. bombycina* cultivada en AE+ AAS 10 mM. Se tuvo un efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) en la microdilución cinco a las 24 h de incubación, la cual correspondió a una concentración de 7.71 mg/mL (concentración inicial de 246.60 mg/mL). No se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13), en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba de “pastel” con medio Mueller Hinton.

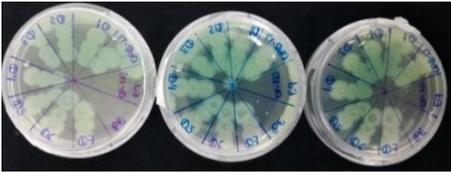
Cuadro 32. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D5	7.71	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución. SE=Sin efecto.

Las cepas bacterianas utilizadas para determinar el efecto bactericida del extracto de la cepa CP-733 de *V. bombycina* cultivada en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) se observan en el cuadro 33. El efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) se observó en la microdilución seis a las 24 h de incubación, la cual correspondió a una concentración de 4.10 mg/mL con concentración inicial de 262.30 mg/mL, desafortunadamente, no se presentó efecto bactericida sobre *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13) en las tres réplicas de cajas Petri realizada a cada cepa bacteriana en la prueba de “pastel” con medio Mueller Hinton.

Cuadro 33. Efecto bactericida del extracto de la CP-733 de *Volvariella bombycina* en aserrín de *Bursera* en testigo (AB) en tres cepas de bacterias.

Registro	Especie	Nivel de microdilución bactericida	Concentración del extracto (mg/mL)	Microdiluciones (24 h de incubación)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	D6	4.10	
CPB-8	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE	
CPB-13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SE	SE	

D=Nivel de dilución SE=Sin efecto.

IX. DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como propósito el cultivo, desarrollo y fructificación de dos cepas de la especie de *V. bombycina* en paja de trigo, aserrín de encino y aserrín de palo mulato (*Bursera*), en los últimos dos sustratos no existen registros que hayan sido utilizados para la fructificación de esta especie. Se identificaron los factores físicos, químicos y biológicos que intervienen en el método de extracción hidroalcohólica de compuestos bioactivos de hongos comestibles y funcionales, utilizado en esta investigación.

Se registró la biomasa fresca producida para las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina*, en donde la mayor producción se obtuvo en la cepa CP-733 en aserrín de *Bursera* testigo (AB) con 110 g, y en aserrín de encino testigo (AE) con 88.42 g para la misma cepa. Rendón-Hernández (2015), reportó 81.27 g a 95.97 g en la cepa CP-675 de *V. bombycina* en paja hidratada estéril (PHE) en tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM), valores inferiores a los obtenidos en esta investigación.

La cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril (PHE) y aserrín de encino (AE) en tres diferentes tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) obtuvo la mayor eficiencia biológica con 19.46% en el sustrato PHE, mientras que en AE presentó eficiencias bajas en un rango de 6.31% a 11.23%, por otro lado, la cepa CP-733 cultivada en AE y aserrín de *Bursera* (AB); presentó la mayor eficiencia biológica en AE con 8.84%. En el caso del índice de degradación (ID) los valores mayores se obtuvieron en la cepa CP-675 en el tratamiento AE+ AAS 100 μ M con 11.14 \pm 0.17% y para la cepa CP-733 un 10.37 \pm 1.47% en aserrín de encino en testigo (AE), por lo tanto, la cepa CP-675 fue la que mejor degrada los desechos agroindustriales, principalmente el aserrín de encino. Rendón-Hernández (2015), reportó eficiencias biológicas entre 28%-33.5% en PHE en tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) e ID de los 11.20 a 19.80% estos datos tienen similitud con los datos obtenidos en este proyecto. Julián-Carlos (2006), cultivó *V. volvacea* en residuos de la cosecha de plátano y paja de cebada, obteniendo 25.6% en paja de cebada y 19.5% de los pseudotallos del plátano, Salmones *et al.* (1996), obtuvo eficiencias biológicas de 33.8% en paja de arroz, 15% en pulpa de café, 7.8% en bagazo de henequén y 6.2% en brácteas de la corona de la

piña al cultivar dos cepas mexicanas de *V. volvacea*, por lo tanto, las eficiencias biológicas obtenidas en esta investigación fueron menores a los trabajos ya existentes, ya que no se obtuvieron cosechas abundantes y regulares debido al manejo de los sustratos.

De acuerdo con los resultados de esta investigación, los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 cultivada en paja hidratada estéril (PHE) en condiciones de agitación y reposo y sus tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) obtuvieron los mejores rendimientos en la condición en agitación a las 72 h con 33.25 mg/mL en PHE+ AAS 10 mM, seguido de la condición en reposo a las 48 h con 31.90 mg/mL del mismo tratamiento. Para los macerados de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivadas en sustratos sólidos suplementados con AAS en dos concentraciones (100 μ M y 10 mM) tuvieron un rango de 15.12 a 19.16 mg/mL rendimiento. En los macerados de la cepa CP-675 los mejores rendimientos se registraron en el sustrato PHE (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) con un rango de 16.04 a 18.48 mg/mL, rendimientos mayores que los obtenidos en el sustrato AE donde se obtuvo un rendimiento de 13.48 a 17.24 mg/mL.

El rendimiento de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cosechados en PHE tanto en testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM fue de 263.33 mg/mL condición en reposo a las 72 h , sin embargo, se obtuvieron valores por encima de los 260 mg/mL en condición de agitación en los tratamientos con AAS en las dos concentraciones a las 72 h, observando que a mayor concentración de AAS en los sustratos sólidos, mayor fue el rendimiento de los extractos de los basidiocarpos de la CP-675 en condición de agitación. En el caso de los extractos de los basidiocarpos cosechados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* en paja, aserrín de encino y aserrín de *Bursera* se obtuvieron los siguientes rendimientos. Para la cepa CP-675 cultivada en AE y PHE tanto en testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM, se observó que los mejores rendimientos se obtuvieron en los extractos de los basidiocarpos cosechados en PHE, tanto en testigo, como en las dos concentraciones de AAS, con un rango de 219.90 a 244.70 mg/mL, mientras que en AE se registraron rendimientos entre 152.10 a 226.40 mg/mL. Para la cepa CP-733 el mayor rendimiento se registró en el tratamiento

AB testigo con 262.30 mg/mL, seguido del tratamiento AE+ AAS 10 mM con 246.60 mg/mL y 236.70 mg/mL para AE en testigo.

En la cuantificación de polifenoles totales para los macerados de los basidiocarpos de la cepa CP-675 cosechados en PHE tanto en testigo como en PHE+ AAS 100 μ M se registraron los valores más altos en la condición en reposo en un rango de 163.4 a 272.7 mg EAG/10 g de hongo seco y de 196.3 a 256.8 mg EAG/10 g de hongo seco, respectivamente. Sin embargo, en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM registró el valor mayor en la condición en agitación, en un rango de 193.3 a 265.3 mg EAG/10 g de hongo seco, observando que la adición del AAS en el sustrato de cultivo influye en el contenido de polifenoles totales. Los valores de los polifenoles totales de los macerados de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* fueron mayores a los de la cepa CP-675 cultivada en PHE (fase preliminar). Para la cepa CP-675 la mayor cantidad de polifenoles totales se registraron en los macerados de los basidiocarpos cosechados en PHE en los tres tratamientos, ya que se tuvo un rango de 257.11 a 264.53 mg EAG/5 g de hongo seco, en comparación con AE en el cual se registró un rango que va de 175.58 a 247.33 mg EAG/5 g de hongo seco, mientras que en la cepa CP-733 registró un rango de 268.47 a 289.83 mg EAG/5g de hongo seco en AE, fue el valor más alto registrado al comparar las dos cepas, seguido de AB testigo, obteniendo 247.56 mg EAG/5 g de hongo seco para la misma cepa.

Los polifenoles totales de los extractos de los basidiocarpos cosechados en PHE de la cepa CP-675 resultaron ser los más altos, principalmente en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM con 3202.46 mg EAG/10 g de hongo seco en condición de agitación y 2868.25 mg EAG/10 g de hongo seco. En cuanto a la cuantificación de los polifenoles totales que comprende la fase estandarizada de este trabajo de investigación, los valores mayores se obtuvieron principalmente de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-733 cultivada en AE en las tres condiciones (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) con un rango de 3653.03 a 3836.74 mg EAG/5 g de hongo seco y en AB testigo con 3795.08 mg EAG/5 g de hongo seco, mientras que los extractos de los basidiocarpos de la CP-675 cultivada en PHE tuvieron un rango de 3302.65 a 3772.35 mg EAG/5 g de hongo seco. En el sustrato AE en donde se cultivó la misma cepa (CP-

675) se tuvo un rango de polifenoles totales de 2517.81 a 3177.65 mg EAG/5 g de hongo seco en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM).

La actividad antioxidante correspondiente a los extractos de la cepa CP-675 cultivada en PHE (fase preliminar); en PHE+ AAS 10 mM resultó tener los valores más altos, ya que el extracto de los basidiocarpos cosechados en este tratamiento presentó $81.09\pm 0.58\%$ en condición de reposo, mientras que en agitación se obtuvo $80.93\pm 0.33\%$. El extracto del tratamiento PHE+ AAS 100 μ M registró $80.64\pm 0.66\%$ en agitación y en reposo $78.47\pm 0.54\%$. Los extractos de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 cosechados en diferentes sustratos sólidos suplementados con AAS (100 μ M y 10 mM) [fase estandarizada] presentaron la mejor actividad antioxidante en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM con $76.10\pm 1.41\%$ para la cepa CP-675, mientras que para la cepa CP-733 se obtuvo en el tratamiento AE+ AAS 10 mM con $66.79\pm 1.62\%$, por lo tanto, se obtuvieron mejores valores referentes en actividad antioxidante en la fase preliminar que en la fase estandarizada.

Existen pocos o nulos trabajos sobre *V. bombycina* referentes a sus propiedades funcionales y medicinales, sin embargo, podemos compararlo con otros hongos funcionales y medicinales como en el caso de *Ganoderma lucidum* y *Lentinula* spp., investigaciones recientes realizadas por Petlacalco (2016), quien realizó extracciones hidroalcohólicas con el hongo *G. lucidum* cultivado en aserrín de encino en dos tratamientos testigo y AAS 10 mM, reporta las condiciones ideales para la extracción de compuestos bioactivos de la cepa CP-145 de *G. lucidum*. El mayor rendimiento en AE+ AAS 10 mM fue de 136.76 ± 0.80 mg/mL, en la cuantificación de polifenoles totales obtuvo $2,399\pm 33.91$ mg EAG/10 g de hongo y en la actividad antioxidante $84.51\pm 0.11\%$, estos valores fueron inferiores a los presentados en este trabajo, ya que el mayor rendimiento registrado en la fase preliminar fue de 265.47 ± 11.14 mg/mL, PHE+ AAS 10 mM, en polifenoles totales obtuvo 3836.74 ± 199.71 mg EAG/5 g de hongo, correspondiente al tratamiento en aserrín de encino testigo (AE) y una actividad antioxidante de $81.09\pm 0.58\%$, en el tratamiento PHE+ AAS 10 mM.

Otros trabajos donde se analizan compuestos bioactivos son los de Quiriz (2012), donde obtuvo 92.95 ± 3.73 mg EAG/g de hongo seco en extractos de *G. lucidum*. Zuluaga

et al. (2007), obtuvo extractos de *Pleurotus* con etanol los cuales presentaron 86.37 mg EAG/100 g de base seca. El contenido de polifenoles totales en *L. boryana* con solvente hidroalcohólico al 32% obtenido por Escudero (2015), fue de 1.39 ± 0.12 mg EAG/g de hongo seco. Mau *et al.* (2004), obtuvo 40.86 ± 0.04 mg EAG/g de hongo seco del cuerpo fructífero maduro de *G. tsuage* y 42.34 ± 0.03 mg EAG/g de hongo seco del cuerpo fructífero inmaduro de *G. tsuage* en extractos con agua caliente. Mau *et al.* (2002), en extractos metanólicos de cuerpos fructíferos de *G. lucidum* obtuvo una actividad antioxidante de 96.8% y 93.6% en cuerpos fructíferos inmaduros. Aunque el valor de los extractos es menor que el obtenido por Mau *et al.* (2002), el extracto elaborado puede ser ingerido sin los efectos adversos que ocasionaría la ingestión de un extracto con metanol. La actividad antioxidante de los extractos de *V. bombycina* no es tan baja al compararlos con frutas. Velioglu *et al.* (1998), obtuvo de las cerezas una actividad antioxidante de 88.5%, en manzanas 92.3% y en arándanos 92.1%.

Los estudios de susceptibilidad bacteriana muestran que los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-675 cultivada en aserrín de encino (AE) y paja hidratada estéril (PHE) en sus tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) tuvieron mejor efecto bacteriostático contra la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4), sin embargo, presentaron poco efecto sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) y nulo efecto en *P. aeruginosa* (CPB-13). En el caso de los extractos de los basidiocarpos de la cepa CP-733 cultivada en aserrín de encino (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) y en aserrín de *Bursera* testigo (AB) presentó mayor efecto bacteriostático contra la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4), presentó poco efecto sobre la bacteria *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13), aunque presenta mayor efecto bacteriostático que los extractos de la cepa CP-675.

Referente a la actividad bactericida, los extractos tanto de la CP-675 y CP-733 en los tres sustratos utilizados y en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) mostraron efecto bactericida sobre la bacteria *S. agalactiae* (CPB-4) y nulo efecto en *E. coli* (CPB-8) y *P. aeruginosa* (CPB-13). Se han observado que las bacterias Gram negativas como en el caso de *E. coli* y *P. aeruginosa* presentan resistencia más alta hacia los agentes antimicrobianos, esto es debido a que poseen doble membrana celular (una externa y la otra citoplasmática) haciendo su exterminio más difícil en

comparación con las bacterias Gram positivas (*S. agalactiae* [CPB-4]). Jegadeesh et al. (2010), quien realizó un estudio sobre la actividad antibacteriana en extractos de *V. bombycina* utilizando diferentes solventes tales como hexano, cloroformo, metanol y acetato de etilo contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* y *Pseudomonas aeruginosa*, concluyó que la mejor actividad inhibitoria se presentó en el extracto con el solvente de acetato de etilo inhibiendo a todas las bacterias antes mencionadas, seguidos del metanol, cloroformo y hexano. La bacteria *P. aeruginosa* fue la bacteria más resistente a la mayoría de los extractos estudiados, seguidas de *K. pneumonia* y *E. coli*. Rendón-Hernández (2015), realizó pruebas de sensibilidad antibacteriana con extractos de *Hericium erinaceus* (hongo comestible y medicinal) contra nueve bacterias de interés clínico (*Salmonella typhi*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*) concluyendo que los extractos de los basidiocarpos cultivados en testigo y en las dos concentraciones de AAS tuvieron un efecto bactericida en todas las bacterias, excepto en *E. coli*.

X. CONCLUSIONES

1. Las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* utilizadas en este proyecto son cultivables y fructifican en los sustratos de paja, aserrín de encino y aserrín de *Bursera* en diferentes tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM).
2. La mejor eficiencia biológica se obtuvo en la cepa CP-675 (19.46%) en paja hidratada estéril (PHE).
3. El mayor índice de degradación (ID) se registró en la CP-675 en el tratamiento A.E.+ AAS 100 μ M (11.14 \pm 0.17%), mientras que para la CP-733 fue de 10.37 \pm 1.47% en aserrín de encino testigo (A.E.), por lo tanto, las dos cepas son capaces de degradar residuos agroindustriales, principalmente aserrín de encino.
4. Los rendimientos óptimos, tanto de macerados como extractos, se registraron en la fase preliminar, ya que el tamaño de muestra fue mayor, los tiempos de maceración fueron más extensos y las condiciones de agitación y reposo pudieron ser factores favorables. Los rendimientos de los extractos de la fase preliminar y estandarizada se comprobaron por densidad óptica (D.O).
5. Las condiciones de agitación y reposo no influyen en la producción y cuantificación de polifenoles totales, aunque el tamaño de la muestra sí influye en la producción y cuantificación de polifenoles totales y en la actividad antioxidante,
6. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para los extractos de los basidiocarpos cultivados en AE de las cepas CP-675 y CP-733 se presentaron en la dilución uno en los tres tratamientos (testigo, AAS 100 μ M y AAS 10 mM) sobre *Escherichia coli* (CPB-8) con concentraciones de extracto de 113.20, 76.05 y 105.40 mg/mL. respectivamente para la cepa CP-675. Mientras que la cepa CP-733 presentó efecto a concentraciones de extracto de 118.35, 113.25 y 123.30 mg/mL en los tres tratamientos.
7. La Concentración Mínima Bactericida (CMB) para los extractos de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 sobre la bacteria *Streptococcus agalactiae* (CPB-4) se presentaron a concentraciones de extracto de 1.72 a 55.18 mg/mL.

8. Los extractos de los basidiocarpos de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* poseen propiedades antibacterianas (efectos bacteriostáticos y bactericidas) que pueden ser usadas como agentes antimicrobianos en la producción nuevos medicamentos para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por patógenos.

XI. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Con los resultados obtenidos se acepta la hipótesis planteada en este trabajo, en el hongo comestible *Volvariella bombycina*, las propiedades funcionales (antioxidantes y antimicrobianas) de los basidiocarpos cosechados varían de acuerdo a los sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS). El efecto de los principales factores físicos, químicos y biológicos que intervienen en el método estandarizado de extracción hidroalcohólica de compuestos bioactivos de *V. bombycina*, permiten obtener mayores rendimientos y propiedades funcionales (antioxidantes, antimicrobianas).

XII. PERSPECTIVAS

- Cultivar las cepas de *V. bombycina* en otros sustratos tales como pulpa de café, aserrín de cacahuate (*Hipomea*), cáscaras de cítricos principalmente naranja, tamo de la palma de aceite, fibra de coco, olote de maíz, cascarilla de arroz, bagazos de caña de azúcar y de henequén y residuos de la planta del plátano (principalmente hojas y tallo) así como la combinación de éstos y suplementarlos con diferentes concentraciones de ácido acetilsalicílico (AAS).
- Realizar extracciones de los macerados en condiciones de agitación y reposo a las 24 ,48 y 72 h, así como probar diferentes volúmenes de solvente hidroalcohólico al 32%.
- Buscar una alternativa contra *Trichoderma* spp., ya que fue el principal contaminante encontrado en las unidades de producción.
- Calcular costos de producción para la obtención de extractos de *V. bombycina* los cuales sean rentables y pueda desarrollarse una estrategia para su aprovechamiento y de agregación de valor.

XIII. ESTRATEGIA PARA EL CULTIVO DE *V. bombycina*, ESPECIE COMESTIBLE CON POTENCIAL DE PRODUCCIÓN EN LAS COMUNIDADES DEL CENTRO DE MÉXICO

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 (*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. Los principales actores se citan a continuación (Fig. 134):

- 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 hongos comestibles.
- 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.
- Empresas tequileras o microempresas que cuentan con los equipos de elaboración del producto.
- 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 asociaciones privadas.
- El sector gubernamental, a través de la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), SEDESOL, y la COFERPIS estableciendo Normas para la regulación y control de calidad de extractos a base de hongos comestibles y medicinales.
- Los consumidores que finalmente son los segundos beneficiados más importantes del producto.
- Industrias farmacéuticas, procesadoras de alimentos, centros comerciales, centrales de abasto, así como mercados regionales de diversas regiones del país.

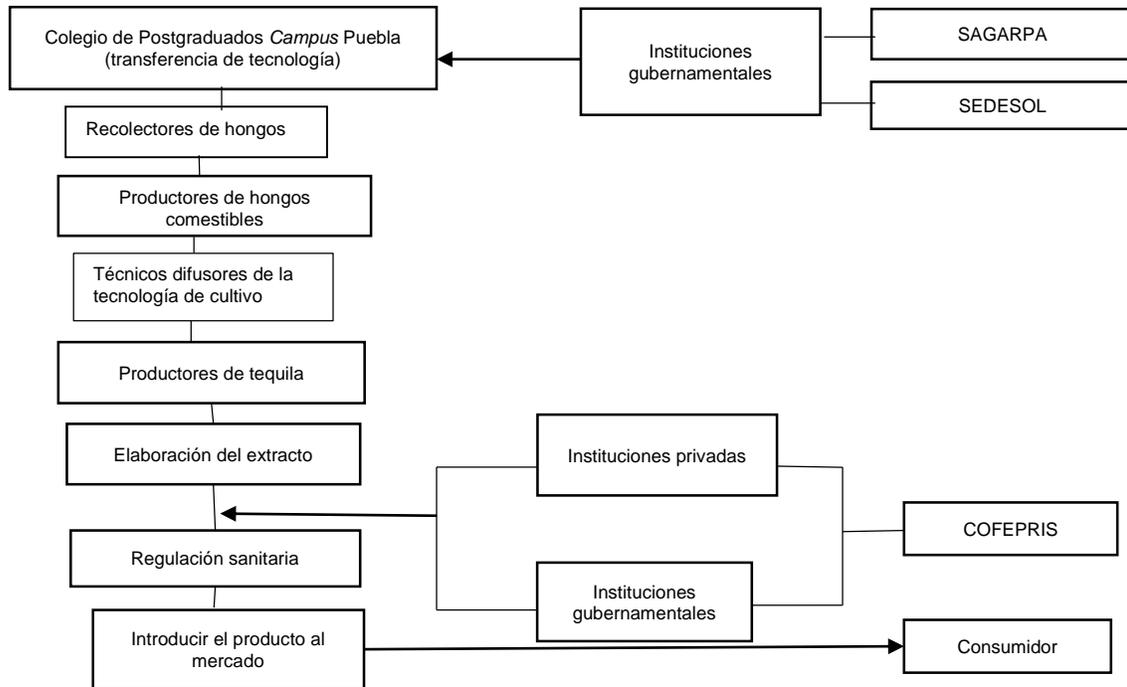


Figura 134. Actores de la estrategia para la producción de *Volvariella bombycina*.

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 los beneficios que con ellos conllevan, 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 de *V. bombycina* (cepas CP-675 y CP733) con fines de explotación comercial. Cabe resaltar la importancia de usar sustratos a base de residuos agrícolas, forestales y agroindustriales, ya que el reciclado de estos ayuda a reducir el detrimento del ambiente e inclusive los sustratos de la post-cosecha pueden ser utilizados como composta en suelos para cultivos, ayudar a restaurar micro y macro nutrientes que son absorbidos por cosechas excesivas y/o por problemas de cultivo. Hoy en día 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 *V. bombycina* se puede obtener en el Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla en el laboratorio de hongos comestibles medicinales y funcionales en presentaciones de 3 kg y 5 kg, la sugerencia para el cultivo de este hongo puede variar dependiendo del sustrato por unidad de producción (UP) de 1 kg: 250 g de paja de trigo + 500 mL de agua potable, 1000 g de aserrín de encino + 1000 mL de agua potable y 1000 g de aserrín de *Bursera* + 1200 mL de agua potable.

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 sustratos

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 sustratos.
- Báscula granataria con capacidad mínima de 1 g y máxima de 20 kg

- Tinas de plástico con tapa con capacidad de 200 litros
- Pala de metal para mezclar los diversos ingredientes

Área de preparación del sustrato

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.

El sustrato: es mezclado dentro de la tina de plástico hasta homogenizarlo, posterior a esto se pesan individualmente en la vasija 1 kg de sustrato en peso seco y posteriormente se hidrata con 1 litro de agua para encino o 1.2 litros de agua para *Bursera*, esto se mezcla hasta homogenizar la humedad con el aserrín, 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 dos horas a 121 °C. Una vez transcurrido el tiempo las bolsas con sustrato estéril son enfriadas a temperatura ambiente durante 24 horas antes de ser inoculadas con las cepas de *V. bombycina*. En el caso de la paja de trigo, la cantidad pesada de paja molida en la vasija de plástico en sustrato seco fue de 500 g hidratándose con 500 mL 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 granataria con capacidad mínima de 1 g y máxima de 10 kg.

Inoculación del sustrato 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 sustrato se abren totalmente retirando las pinzas de presión metálicas. Posteriormente, el sustrato es inoculado con aproximadamente 250 gramos de “semilla” de *V. bombycina*, distribuyendo el inóculo por todo el sustrato, una vez homogenizadas las bolsas (unidades de producción) son selladas mediante un termo-sellador eléctrico y rotuladas con el masking tape, las bolsas son pesadas y registradas en una libreta para tener un parámetro del peso inicial y final al término 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 sustrato y los primordios sean visibles. Las unidades de producción no deben tener contacto directo con el sol, la iluminación debe ser del 50 al 80%. El área debe permanecer limpia libre de polvo y humedad por encima del 75%, a temperatura ambiente de entre 19 °C a 27 °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 alcanzarse 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 debe ser los necesarios siempre y cuando se mantenga la humedad.

A las unidades de producción se les retira la parte superior de la bolsa exponiendo un 10% del sustrato (para el caso de *V. bombycina*) y/o realizándoles pequeños cortes en los costados para ayudar al crecimiento de los primordios 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 19 °C y una máxima de 27 °C y una humedad relativa que fue del 75 al 90%.

Área para la obtención de extractos

Las dimensiones pueden ser de 5 m de ancho por 4 m de largo y la altura de 3 m, el área debe ser cerrada y contener estructuras de metal. Se debe tener un área de esterilidad.

Obtención de la muestra

A partir del cultivo de *V. bombycina* se obtienen los basidiocarpos, los cuales son secados en incubadora a 40 °C por 120 horas. Posteriormente son molidos, y acondicionados en un sobre de papel filtro con 10 g de muestra, usando frascos de vidrio con tapón de rosca de 200 mL, adicionando 150 mL de solvente hidroalcohólico de acuerdo a la patente de Martínez-Carrera *et al.*, (2014).

Equipos requeridos para la obtención del extracto

- Báscula granataria
- Matraz Erlenmeyer o frasco de 200 mL (por muestra o solvente)
- Matraz balón 250 mL boca 24/40 (por muestra o solvente)
- Matraz aforado 200 mL
- Probeta de 200 mL
- Embudo filtración rápida
- Papel filtro poro medio para el embudo de filtración
- Bomba de vacío
- Trampa de vacío (para proteger la bomba de vacío)
- Sistema de enfriamiento de agua para el serpentín del rotavapor o destilador
- Campana de flujo
- Filtro Sterifil

Obtención de extracto

El tiempo de maceración es de 24 horas en oscuridad y a temperatura ambiente. Al término de la maceración los macerados se decantan y filtran por papel poro convencional, el sobre de papel filtro se exprime con ayuda de una prensa hidráulica hasta obtener un peso de 8-10 g, posteriormente se concentra el macerado en un rotavapor a 38 °C y 90 rpm, hasta la obtención del extracto con un volumen final de 7 mL, el cual se afora a 10 mL para después esterilizar por sistema Sterifil, el extracto es conservado a 4 °C para su caracterización, control de esterilidad y evaluación de sus propiedades funcionales (Fig. 135). El envasado del extracto debe ser en un frasco de vidrio color ámbar y tapa con sello que evite la evaporación del solvente. Es necesario cumplir con todas las reglamentaciones establecidas por COFEPRIS para poder iniciar la comercialización y promoción de un producto alimenticio. Dependiendo el caso, es necesario solicitar una clasificación de un producto ante COFEPRIS para poder determinar si se encuentra bajo el espectro de suplemento alimenticio, remedio herbolario, medicamento herbolario, alimento o medicamento. Así mismo y una vez realizado esta clasificación, es necesario proceder con el aviso o registró según sea el caso ante COFEPRIS para cumplir con el reglamento de norma que corresponda.

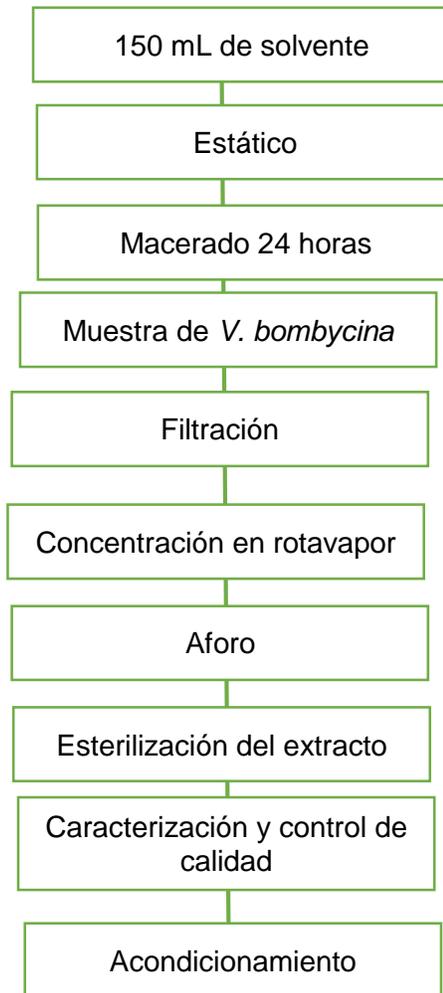


Figura 135. Metodología para la obtención de compuestos bioactivos.

XIV. LITERATURA CITADA

- Alicbusan, R. V. 1982. Cultivation of *Volvariella volvacea* in the Philippines. Pp.253-265. In: Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods. Eds. Chang S. T., T. H. Quimio. The Chinese University Press. Hong Kong.
- Álvarez-Parrilla, E., L. A. de la Rosa, N. R. Martínez y G. A. González-Aguilar. 2007. Total phenols and antioxidant activity of commercial and wild mushrooms from Chihuahua, México. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5: 329-334.
- Ancona, L. y D. Salmones. 1996. Uso del bagazo de henequén fermentado en el cultivo de *Volvariella volvacea*. *Revista Mexicana de Micología* 12: 115-117.
- Arai, S. 2002. Global view on functional foods: Asian perspectives. *British Journal of Nutrition* 88: 139-143.
- Badalyan, S. M. 2003. Edible and medicinal higher basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 5: 153-162.
- Bautista, R., G. Bautista, V. Mora, E. López y D. Portugal. 2007. Uso de la paja de arroz como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* en Morelos. Memorias en extenso VI Congreso Internacional y XII Nacional de Ciencias Ambientales. Pp.867-869.
- Bennati, E., L. Ferlit, M. Motta, S. U. Magnolfi, F. Malentacchi, M. Malaguamera, E. Petruzzi, I. Petruzzi y P. Pinzani. 2008. Cognitive and functional status in the extreme longevity. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 46: 245-252.
- Beristain, A. S., R. M. A. Sánchez, M. Ruiz y V. M. Mendoza. 2003. ¿Cómo evaluar la eficiencia del sistema antioxidante en el estrés oxidativo? Propuesta de un constructo. *Archivo Geriátrico* 6: 100-104.
- Bernabé-González, T. 1994. Cultivo de *Volvariella bombycina* var. *flaviceps* sobre paja de sorgo sola o mezclada con cáscara de cacahuate, a nivel de laboraorio en el etado de Guerrero. V Congreso Nacional de Micología (Resúmenes). Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.
- Bisang, R., M. Campi y V. Cesa. 2009. Biotecnología y desarrollo. Colección documentos de proyectos. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) Santiago de Chile.
- Blanch, A. R. 2010. Biotecnología ambiental. Aplicaciones biotecnológicas en la mejora del medio ambiente. *Nota d'economía* 97: 183-198.
- Bolívar-Zapata, F. G. 2003. Recomendaciones para el desarrollo y consolidación de la Biotecnología en México. CONACYT, AMC y UNAM, México D. F. Pp.154.
- Castaño, D., P. Valencia, E. Murillo, J. Eras y J. Méndez. 2007. Ácidos grasos sustituidos en especies vegetales tropicales y su relación con la actividad antioxidante. *Scientia et Técnica* 33: 343-344.
- Chang, S. T. y C. K. Yau. 1971. *Volvariella volvacea* and its life history. *American Journal Botanical* 58: 552-56.

- Chang, S. T. y P. G. Miles. 1989. Edible mushrooms and their cultivation. CRC Press. Boca Raton. Pp. 225-253.
- 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 P. G. Miles. 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact. CRC Press. Boca Raton. Pp. 451.
- Chang, S. T. 2007. "Mushroom cultivation using the "ZERI" principle: potential for application in Brazil. Micología Aplicada Internacional 19: 33-34.
- Cheung, P. C. K. 2008. Mushrooms as Functional Foods. (Eds.). John Wiley y Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. Pp. 259.
- Chiu, S. W. y D. Moore. 1989. Basidiome polymorphism in *Volvariella bombycina*. Mycological Research 92: 69-77.
- Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas (COLPOS) y Fundación Produce Tlaxcala, A.C. 2003. Programa estratégico para el desarrollo de la producción, transformación y comercialización de hongos comestibles en el Estado de Tlaxcala. Tlaxcala, México. Pp.44.
- Delaney, T. P. 2010. Salicylic acid. En: Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction and action! 3ra edición; Pp. 681–699. Ed. P. J. Davies. Springer. Dordrecht, Heidelberg.
- Deng, J., W. Cheng y G. Yang. 2011. A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. Food Chemistry 125: 1430–1435.
- Dubost, N. J., B. Ou y R. B. Beelman. 2007. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. Food Chemistry 105: 727-735.
- Ellis, W., M. Wylie y J. Matis. 1988. Dietary-digestive interactions determining the feeding value of forages and roughages. World Animal Science 4: 17-179.
- Escudero, H. 2015. Análisis de las propiedades antioxidantes y antibacterianas del "hongo de encino" (*Lentinula boryana*) y desarrollo de una estrategia para su aprovechamiento. Tesis de Doctorado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Pp. 160.
- FAO. 2004. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Colección FAO Agricultura. Número 35. Roma Italia. Pp. 163.
- Felstehausen, H. 1992. Case methods for environmental and natural resources research. Working Draft. University of Wisconsin. Madison, Wis., U.S.A. p. 10.
- Franzoni, F., R. Colognato, F. Galetta, I. Laurenza, M. Barsotti, R. Di Stefano, R. Bocchetti, F. Regoli, A. Carpi, A. Balbarini, L. Migliore y G. Santoro. 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.

- Galván, E., L. Pérez–Ramírez y J. Cifuentes. 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., B. Peña-Olvera, N. Estrella-Chulim, F. Manzo-Ramos y R. Delgado-Wise. 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: 83-102.
- Guillen-Navarro, K. G., F. J. Márquez-Rocha y J. E. Sánchez-Vázquez. 1998. Producción de biomasa y enzimas lignolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. *Revista Iberoamericana de Micología* 15: 302-306.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmenes, C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos. 1993. El cultivo de los hongos comestibles, con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales. IPN México D.F. Pp. 245.
- Guzmán, G. 1997. Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina. Instituto de Ecología y CONABIO, Xalapa.
- Herrera, T. y M. Ulloa. 1998. El reino de los hongos. Fondo de Cultura Económica, Segunda Edición, México. Pp. 63, 283-310.
- Jegadeesh, R., N. Raaman, K. Periyasamy, R. Hariprasath, R. Thangaraj, R. Srikumar y S. R. Ayyappan. 2010. Proximate Analysis and Antibacterial Activity of an Edible Mushroom *Volvariella bombycina*. *Internacional Journal of Microbiological Research* 1: 110-113.
- Julián-Carlos, A. 2006. Cultivo del hongo comestible *Volvariella volvacea* (Bull.: Fr.) Sing. sobre residuos de plátano y paja de cebada, bajo condiciones rústicas. Tesis de Licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Pp. 91.
- Kobori, M., M. Yoshida, M. Ohnishi-Kameyama 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.
- Li, G. S. F. 1982. Morphology of *Volvariella volvacea*. In: Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods. Chang, S. T. and T. H. Quimio (Eds). The Chinese University Press, Hong Kong. Pp. 119-137.
- Liu, F., V. E. C. Ooi y S. T. Chang. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Science* 60: 763-771.
- López, R. A. 1995. Cultivo de setas: alternativa alimenticia de la economía familiar (en línea). Veracruz, México, Universidad Veracruzana, Centro de Genética Forestal. Consultado 20 jul. 2016. Disponible: <http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/setas.html>
- Mallavadhani, U. V., K. V. S. Sudhakar, A. Satyanarayana, W. Mahapatra y R. B. Van-Breeman. 2006. Chemical and analytical screening of some edible mushrooms. *Food Chemistry* 95: 58-64.

- 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, España. Pp. 277.
- Martínez-Carrera, D., R. Leben, P. Morales, M. Sobal y A. Larqué-Saavedra. 1991. Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo* 96: 33-43.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, M. Aliphath, A. Aguilar, M. Bonilla y W. Martínez. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. Conacyt, Academia Mexicana de Ciencias: 193-207.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal, P. Morales, W. Martínez e Y. Mayett. 2004. Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana. Colegio de Posgraduados México. Pp. 7, 17 y 18.
- Martínez-Carrera, P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla y W. Martínez. 2007. México ante la globalización en el siglo XXI: El sistema de producción-consumo de los hongos comestibles. El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. en México. Capítulo 6.1 Pp. 20.
- Martínez-Carrera, D., B. Pérez-Armendáriz, Y. Mayett, F. R. Jiménez, M. Sobal, P. Morales, M. Bonilla, P. Ramírez-Carrasco, I. Tello, A. Trigos, G. Mendoza, J. Soriano-Santos y N. González. 2010. Desarrollo de bebidas y alimentos funcionales a partir de los recursos genéticos de hongos comestibles en México. Capítulo 15. Pp. 225. En *Hacia un Desarrollo Sostenible de Producción- Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica. Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., N. Curvetto, M, Sobal, P. Morales y V. M. Mora. RLHCM, COLPOS, UNS, CONACYT, AMC, UEM, UPAEP, IMINAP, Puebla.
- Martínez-Carrera, D., B. Pérez, Y. M. Moreno, M. Sobal, P. Morales, A. P. Ramírez e I. Tello. 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.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, A. Tovar, N. Torres, M. E. Meneses, M. Sobal, P. Morales, M. Bonilla, H. Escudero, I. Tello-Salgado, T. Bernabé-González, W. Martínez e Y. Mayett. 2016. Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. Capítulo 30. Pp 581-640. En: *Ciencia, Tecnología e Innovación en el Sistema Agroalimentario de México Hacia un enfoque integral de la producción, la dieta, la salud y la cultura en beneficio de la sociedad*. Eds. Daniel Martínez-Carrera y Javier Ramírez Juárez. Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP. México.
- Mau, J. L., S. Y. Tsai, Y. H. Tseng y S. J. Huang. 2002. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry* 934: 641-649.
- Mau, J L., S. Y. Tsai, Y. H. Tseng y S. J. Huang. 2004. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. *Food Science and Technology* 38: 589–597.

- Miles, P. G. y S. T. Chang. 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 Q. Brian (Editores). Prentice Hall, México. Pp: 2130.
- Monroy, H. y G. Viniegra. 1990. Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. ISBN-10-968463000X. México.
- Müller, L., S. Gnoyke, A. M. Popken y V. Böhm. 2010. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT-Food Sciences and Technology 43: 992-999.
- Murillo, E., O. Lombo, M. Tique y J. J. Méndez. 2007. Potencial Antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri* harms (FABACEAE). Información Tecnológica 18: 65-74.
- Naranjo, J. y C. Herrera. 2000. El aprovechamiento de hongos silvestres en la Zona Boscosa del Salto Pueblo Nuevo, Durango. Interciencia CIIDIR-IPN Durango. (1): Pp. 4-6.
- Naranjo, N., A. Colmenero, I. Rosas, y M. Ortega. 2012. El cultivo de hongos comestibles para el desarrollo comunitario. Vidsupra 4: 32-34.
- Navarro, P., H. Moral, L. Gómez, y B. Mataix. 1995. Residuos orgánicos y agricultura. Universidad de Alicante. I.S.B.N. 84-7908-194-5. Pp.155.
- Nyochembeng, L. M., C. A. Beyl y R. P. Pacumbaba. 2008. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. Bioresource Technology 99: 5645-5649.
- Öztürk, M., Duru, M. E., Kivrak, Ş., Mercan-Doğan, N., Türkoglu, A., & Özler, M. A. 2011. *In vitro* antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. Food and Chemical Toxicology 49(6): 1353-1360.
- Petlcalco, B. 2016. Caracterización y viabilidad financiera de extractos hidroalcohólicos de *Ganoderma lucidum* por maceración, como estrategia de aprovechamiento de los recursos genéticos nativos. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla. Pp. 140.
- Quimio, T. H. 1993. Indoor cultivation of the straw mushroom *Volvariella volvacea*. Mushroom Research 2: 97-90
- Quimio, T. H. 2002. Updates on spawn production of *Volvariella volvacea*, the tropical straw mushroom. In: Mushroom biology and mushroom products. Eds Sánchez, J. E., E. Huerta y E. Montiel. Proc. 4th Intern. Conf. UAEM Cuenavaca, Pp. 337-343.
- Quiriz, F. 2012. Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de dos especies del hongo medicinal *Ganoderma* nativo de México y su contribución al desarrollo regional. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla. Pp. 98.

- Ramos, A., A. Visozo, J. Piloto, A. García, C. A. Rodríguez y R. Rivero. 2003. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 87: 241-246.
- Ravera, C., C. Bettera, M. Fernández, E. Estive y H. Pineda. 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.
- Rendón-Hernández, G. A. 2015. Caracterización y cultivo de recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo regional de la zona central de México. Tesis de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*. Puebla. Pp 158.
- Reyes, G. R., A. E. Abella, F. Eguchi, T. Iijima, M. Higaki y T. H. Quimio. 2004. Growing paddy straw mushroom. In: *Mushroom grower's handbook 1; Oyster mushroom cultivation*. Mushroom World. Seul. Pp. 262-269.
- Roberfroid, M. B. 1999. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition* 129: 1398-1401.
- Salmones, D. 1993. Cultivo del hongo comestible *Volvariella volvacea* sobre residuos industriales. Tesis de Maestría. Depto. de Ing. Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Veracruz, Ver. México.
- Salmones, D. y G. Guzmán. 1994. Cámara para la obtención de fructificaciones del hongo comestible *Volvariella volvacea* en el laboratorio. *Revista Mexicana de Micología* 10: 193-198.
- Salmones, D., K. N. Waliszewski y G. Guzmán. 1996. Use of some agro-industrial lignocellulose by products for edible mushroom *Volvariella volvacea* cultivation. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 12: 69-74.
- Sánchez, J. E., G. Huerta y L. Calvo-Bado. 1997. The cultivation of edible fungi as a sustainable alternative in tropical regions. Pp. 227-237. In: *Cultivation of edible fungi*. Parkway Pub. Boone. Eds. Palm, E.M., H.I. Chapela.
- Sánchez, J. y D. Royse. 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Chiapas, México, D. F., MX, Editorial Limusa, S.A. P. 290.
- SAS Institute Inc. 2013. *Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures*, Second Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- 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.
- Schiess, M. 2006. Hongos comestibles. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. La Pintana, Santiago de Chile. Consultado 25 de julio 2016. Disponible: <http://agronomia.uchile.cl/webcursos/cmd/12003/Macarena%20Schliess/DHCEExport/default.htm>

- Soares, A. A., C. Giatti-Marques, D. Francielle, G. Pezente-Ferrari, S. M. Gomes, y R. Peralta. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry* 112: 775–781.
- Stamets, P. 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. Ten Speed Press. Hong Kong. Pp. 343-350.
- Stamets, P. 2000. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Third Ed. 10 Speed Press: CA, USA.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2006. Secondary metabolites and plant defense; Capítulo 13. Pp. 369-396. En: *Plant Physiology*. Eds. L. Taiz y E. Zeiger Sinauer Associates Sanderland. Inc. Massachusetts.
- Tschierpe, H. J. y K. Hartmann. 1977. A comparison of different growing methods. *Mushroom Journal* 60: 404-416.
- Trigos, Á. y D. Martínez-Carrera. 1999. Hongos comestibles cultivados como fuentes potenciales de ergosterol. En: *Producción de vitamina D2 a partir de Hongos Macromicetos: Aspectos Científicos, Técnicos y Económicos*. Ed. Rivera, A. CYTEDCOLCIENCIAS, Bogotá. Pp. 62-85.
- Trigos, Á. y J. Suárez-Medellín. 2010. Los hongos como alimentos funcionales y complementos alimenticios. Capítulo 5. Pp. 59-76. En: *Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. Eds. Martínez-Carrera, D., N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. M. Mora.
- Vela, R. y D. Martínez-Carrera. 1989. Cultivation of *Volvariella bakeri* and *Volvariella volvacea* in Mexico: a comparative study. *Mushroom Journal for the Tropics* 9: 99-108.
- Velioglu, S., G. Mazza, L. Gao y B. Oomah. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- Wasser, S. P. 1997. Medicinal Mushroom. *Lentinula edodes* (Berk.) Sing. (*Shiitake* Mushroom). Peledfus Publ.Co., Haifa.
- Wong, J. Y. y F. Y. Chye. 2009. Antioxidant properties of selected tropical wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 269–277.
- Wood, D. A. y T. R. Fermor. 1982. Nutrition of *Agaricus bisporus* in compost. *The Mushroom Journal* 114: 194-197.
- Yilmaz, N., M. Solmaz, I. Turkecul y M. Elmastag. 2006. Fatty acids composition in some wild mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry* 99: 168-174.
- Yu, Z. H., L. H. Yin, Q. Yang e Y. Liu. 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., J. H. Wang, X. Liu, H. C. Kuang y X. N. Huang. 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).
- Zuluaga, J., C. Pérez, A. Angulo, O. Torres y G. Santafé. 2007. Química y actividad antioxidante y bactericida del extracto etanólico del hongo *Ganoderma lucidum*. *Scientia et Technica* 33: 329-332.

XV. ANEXO

Conductividad y resistividad de los basidiocarpos de los géneros de *Volvariella*, *Ganoderma* y *Lentinula*

A continuación, se muestran las figuras de conductividad y resistividad de los basidiocarpos de los géneros de *Volvariella*, *Ganoderma* y *Lentinula*, cultivados en aserrín de encino y suplementados con ácido acetilsalicílico en dos concentraciones: 100 μM y 10 mM.

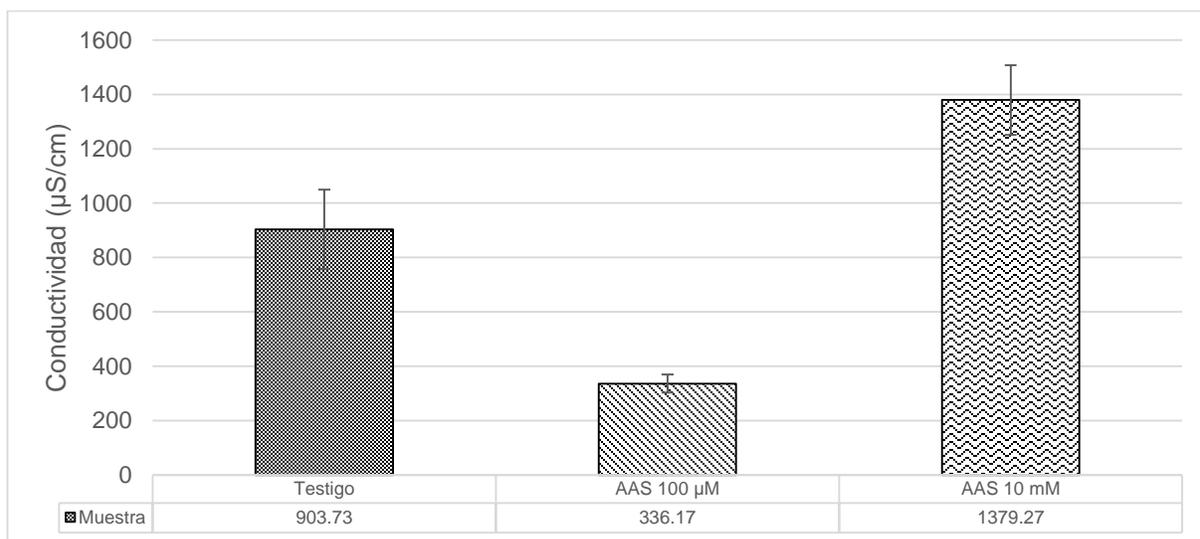


Figura 136. Conductividad de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM (n=5). AAS=Ácido acetilsalicílico.

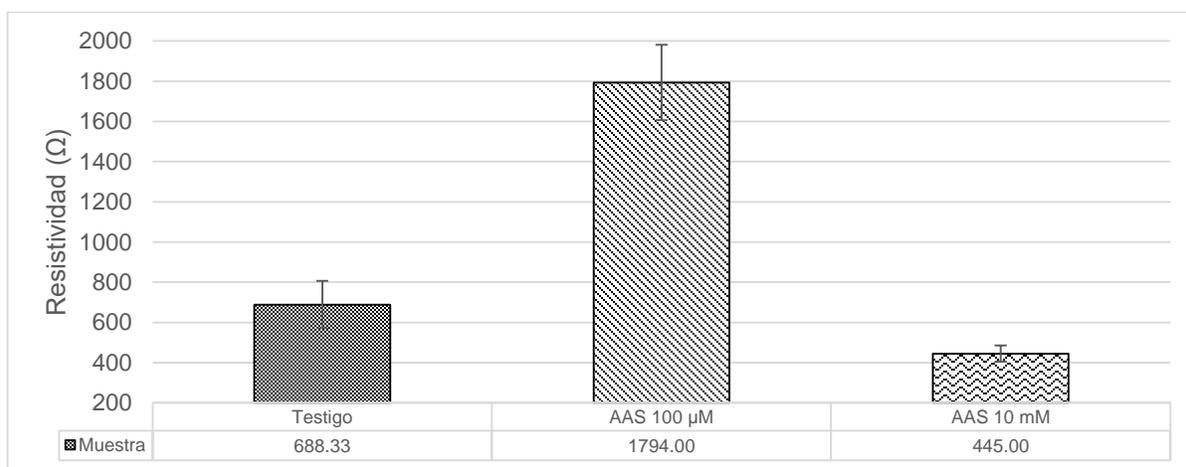


Figura 137. Resistividad de los basidiocarpos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μM y 10 mM (n=5). AAS=Ácido acetilsalicílico.

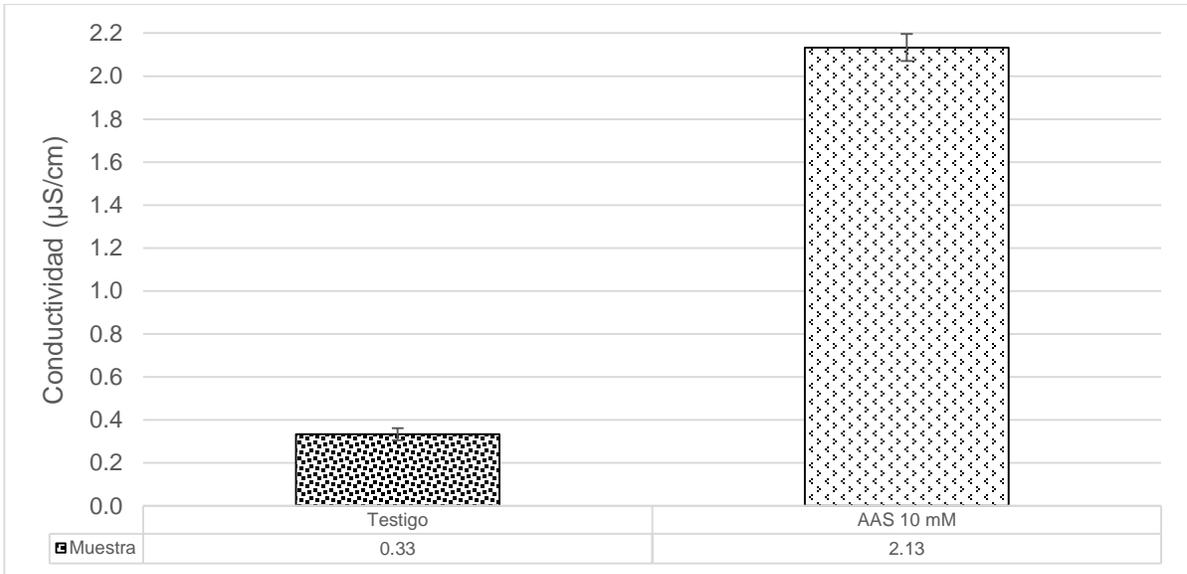


Figura 138. Conductividad de los basidiocarpos de la cepa CP-145 de *Ganoderma lucidum* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM (n=5). AAS=Ácido acetilsalicílico.

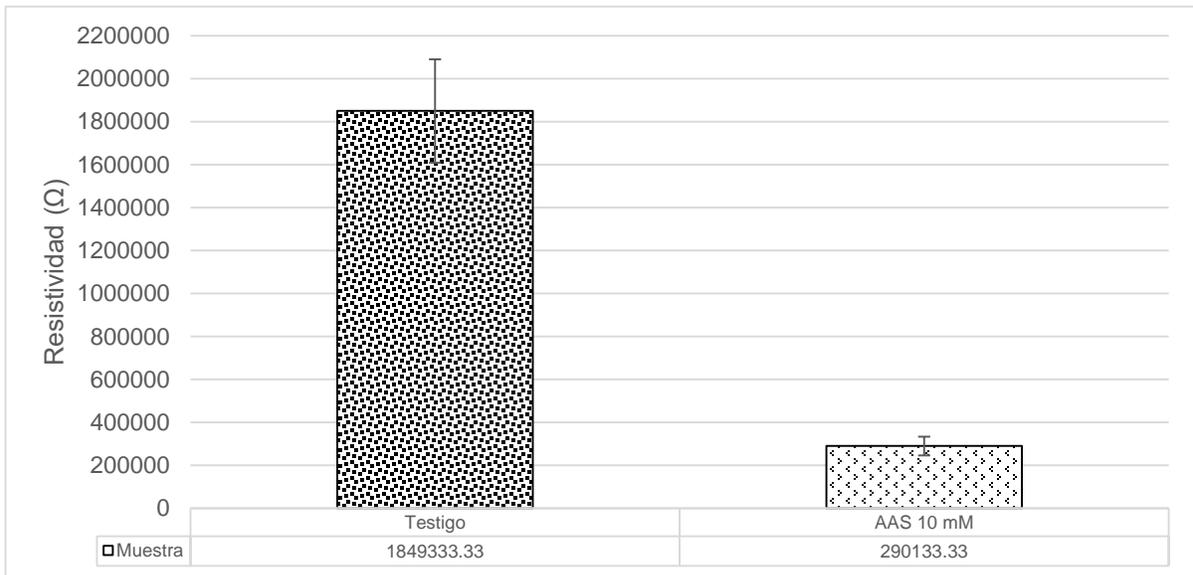


Figura 139. Resistividad de los basidiocarpos de la cepa CP-145 de *Ganoderma lucidum* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM (n=5). AAS=Ácido acetilsalicílico.

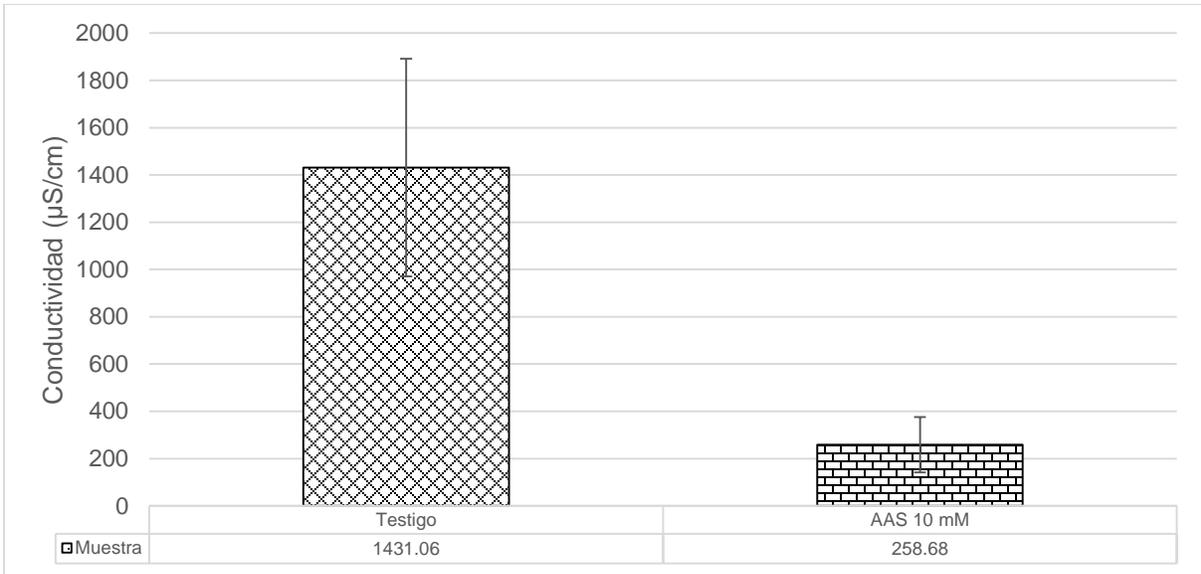


Figura 140. Conductividad de los basidiocarpos de la cepa CP-580 de *Lentinula edodes* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM (n=5). AAS=Ácido acetilsalicílico.

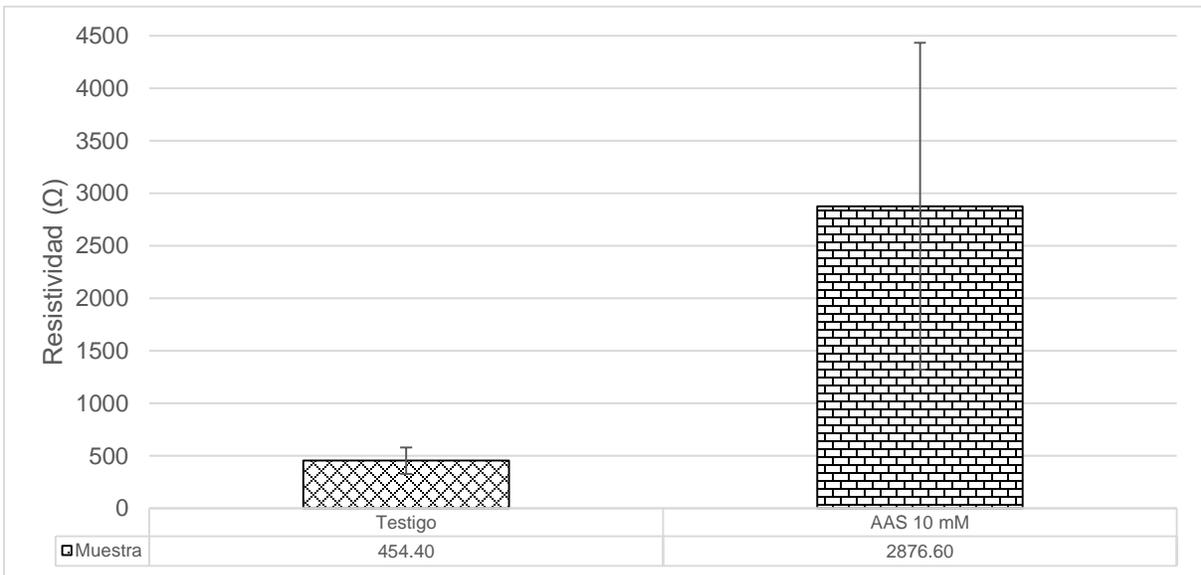


Figura 141. Resistividad de los basidiocarpos de la cepa CP-580 de *Lentinula edodes* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM (n=5). AAS=Ácido acetilsalicílico.

Índice de degradación (ID)

Enseguida se muestran las figuras del índice de degradación (ID) obtenido después de cultivar las dos cepas en estudio en diferentes sustratos sólidos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS).

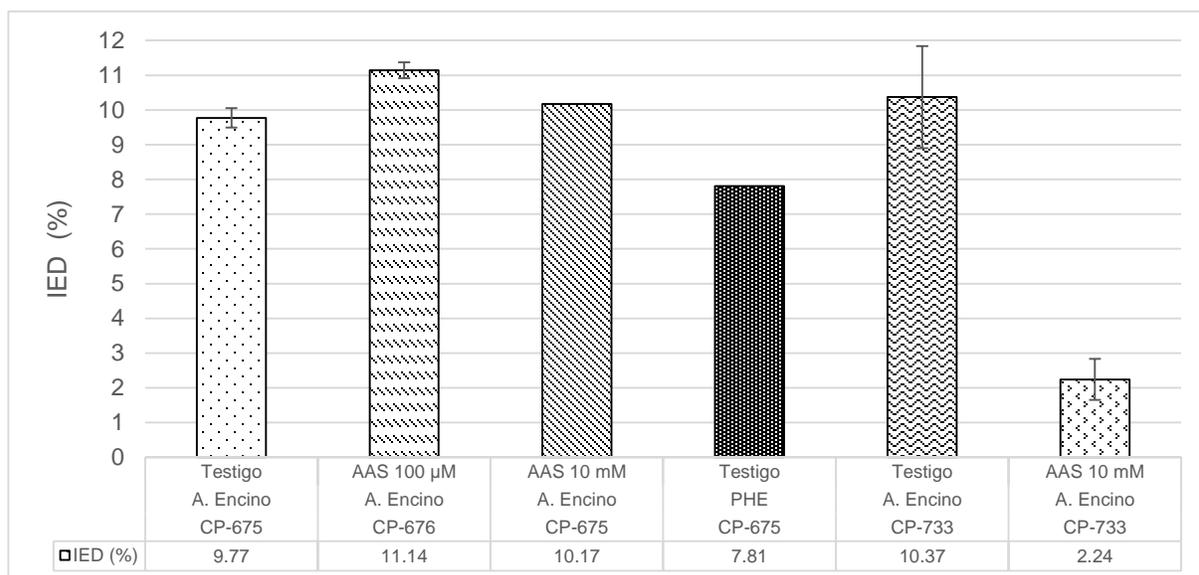


Figura 142. Índice de degradación (ID) de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivadas en aserrín de encino y paja hidratada estéril (PHE), suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=3). AAS=Ácido acetilsalicílico. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

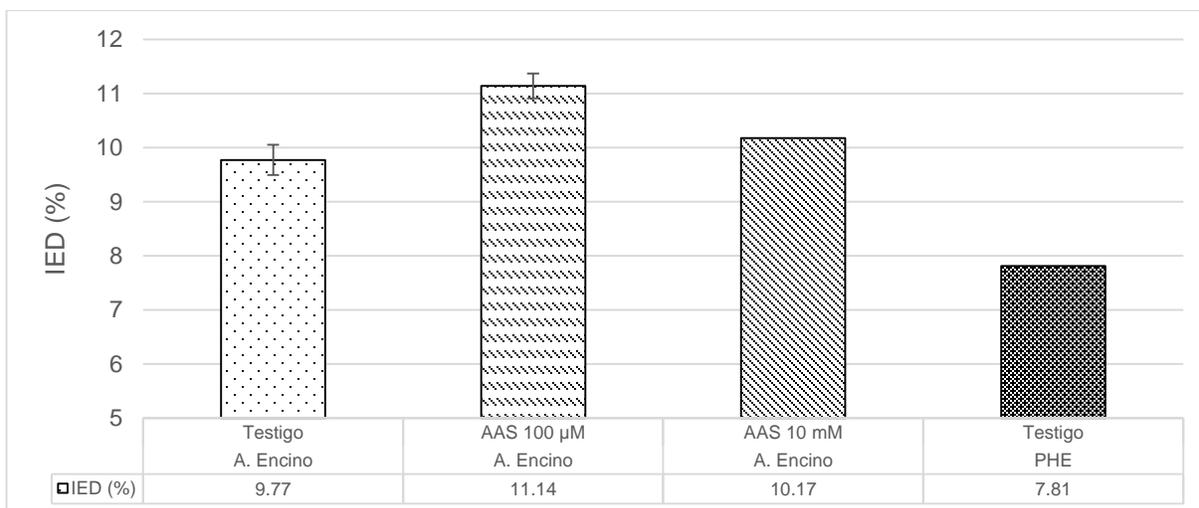


Figura 143. Índice de degradación (ID) de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino y paja hidratada estéril (PHE), suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 µM y 10 mM (n=3). AAS=Ácido acetilsalicílico. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

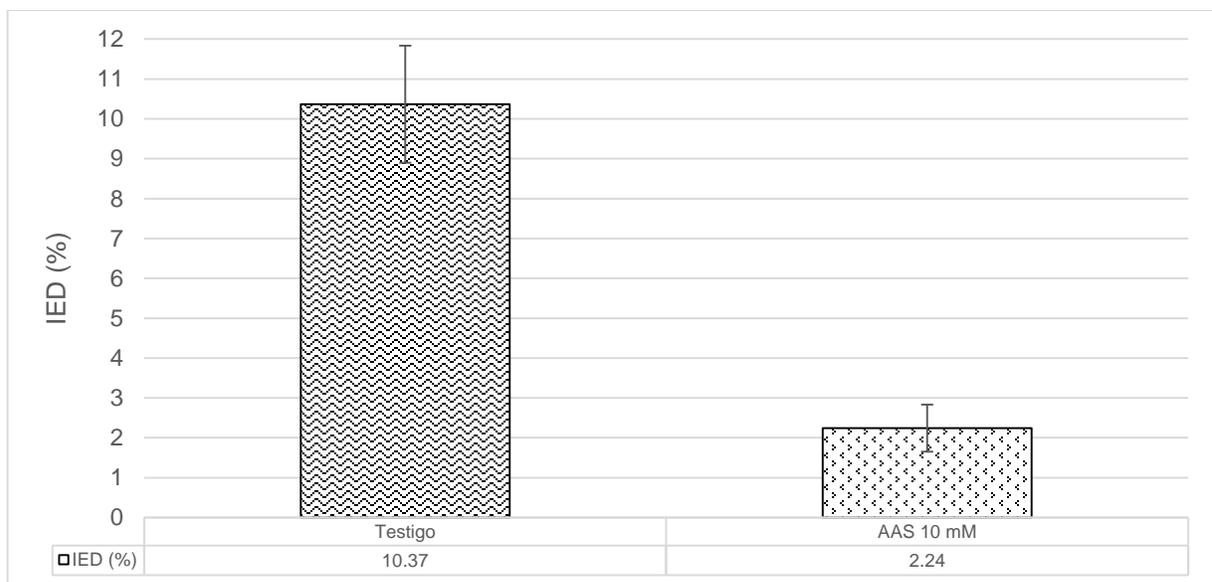


Figura 144. Índice de degradación (ID) de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM (n=3). AAS=Ácido acetilsalicílico.

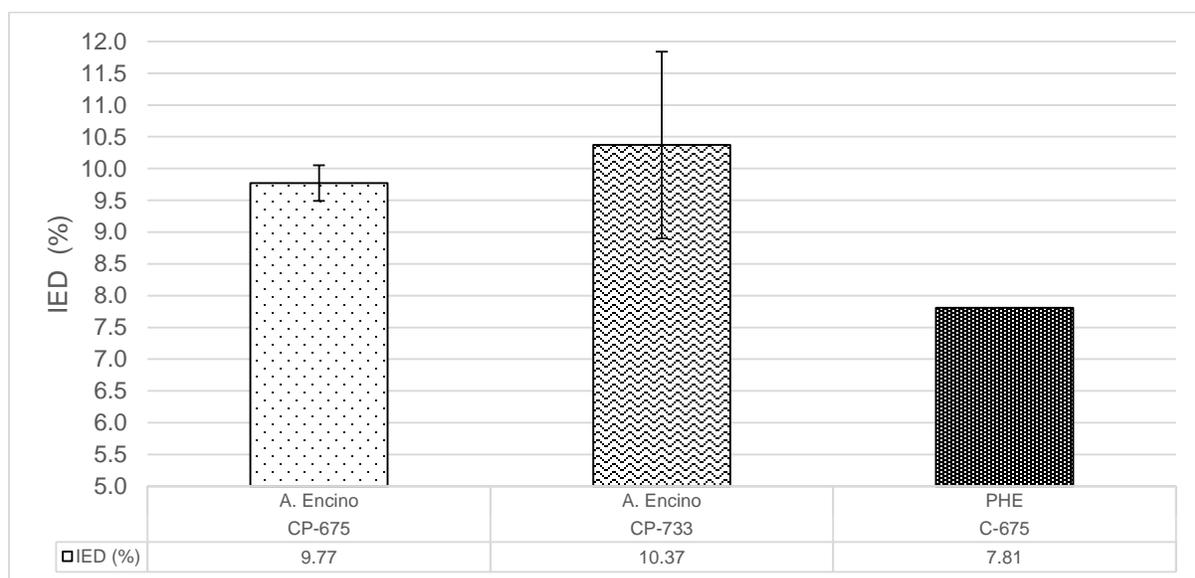


Figura 145. Índice de degradación (ID) de las cepas CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* en aserrín de encino y paja hidratada estéril (PHE) [n=3]. AAS=Ácido acetilsalicílico. A. Encino= Aserrín de encino. PHE= Paja hidratada estéril.

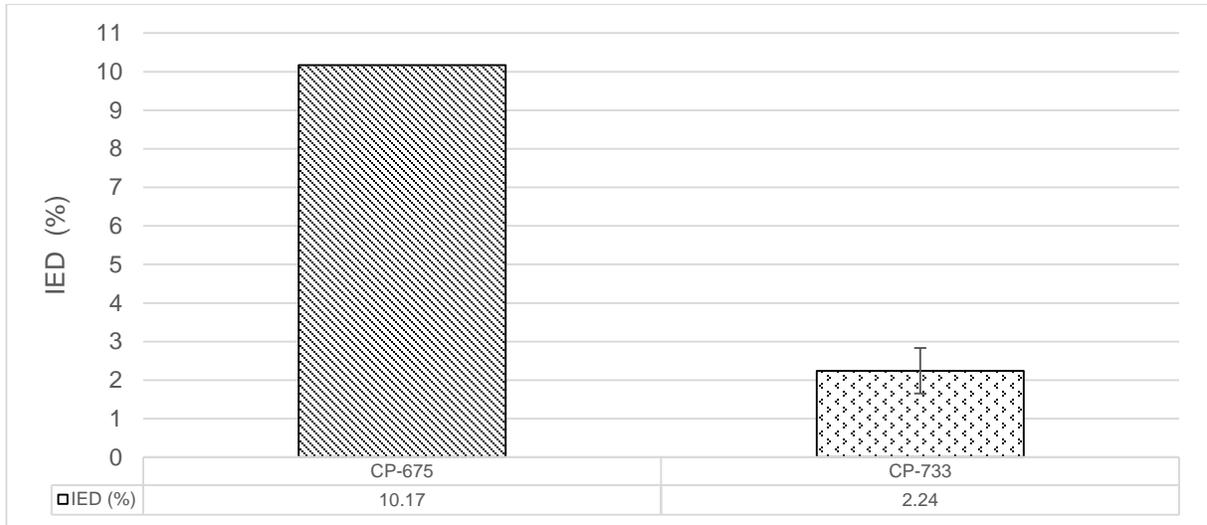


Figura 146. Índice de degradación (ID) de la cepa CP-675 y CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (AAS) 10 mM (n=3).

Actividad antioxidante por DPPH

Se muestran las figuras de las gráficas de la actividad antioxidante por DPPH de los extractos preliminares de la cepa CP-675 de *V. bombycina* cultivada en paja hidratada estéril (PHE) y suplementada con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM.

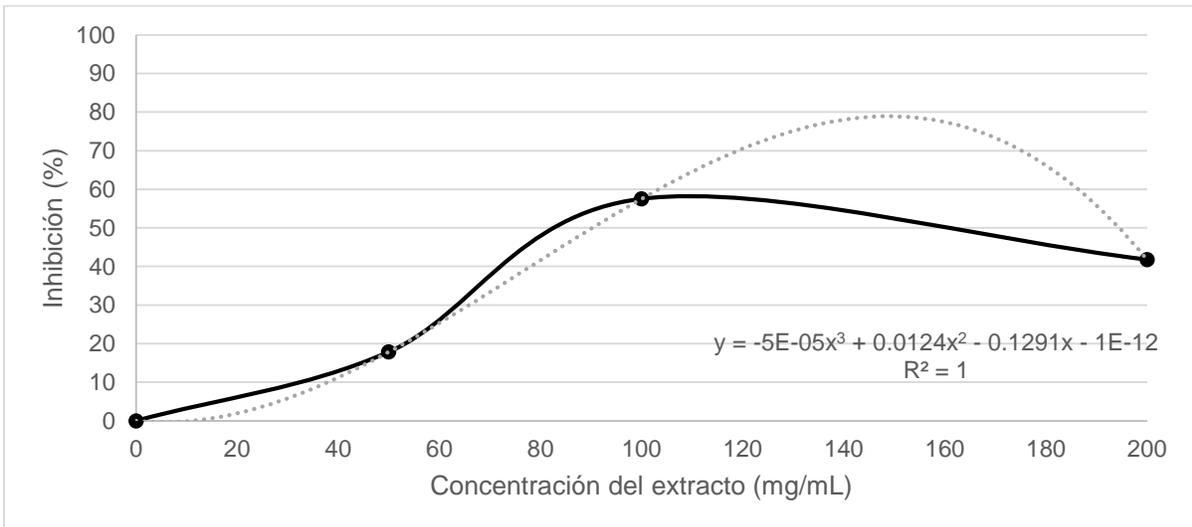


Figura 147. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril en testigo control.

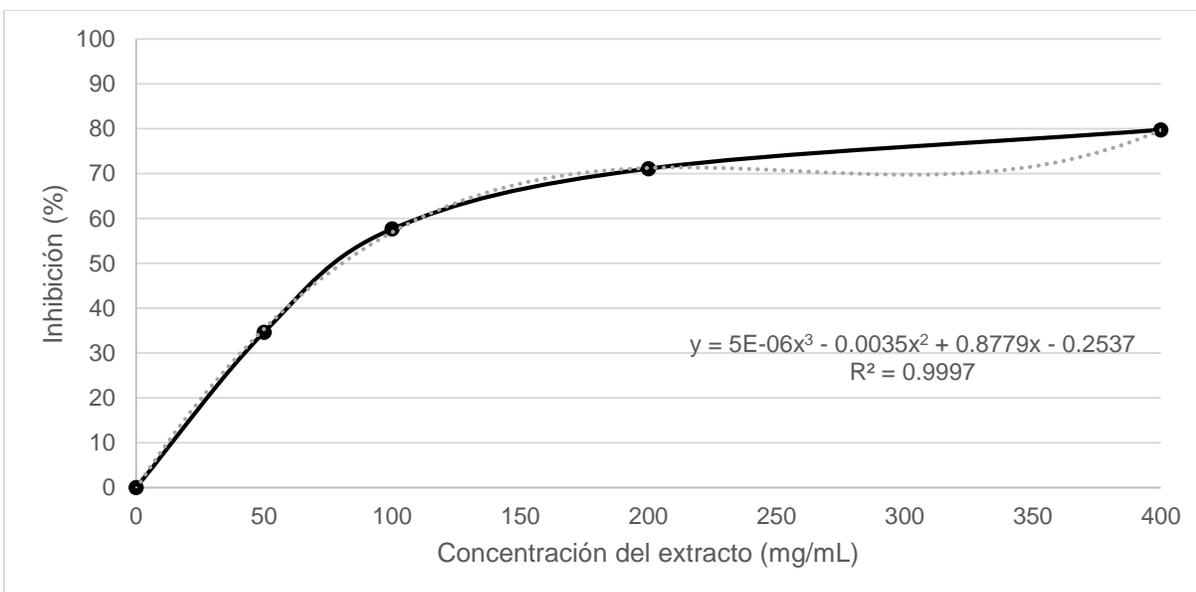


Figura 148. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril testigo, bajo condición de agitación.

En paja hidratada estéril en testigo (PHE) en condición de reposo se registró una máxima concentración de extracto de 400 mg/mL, con un 75% de inhibición, obteniendo una R^2 de 0.9938.

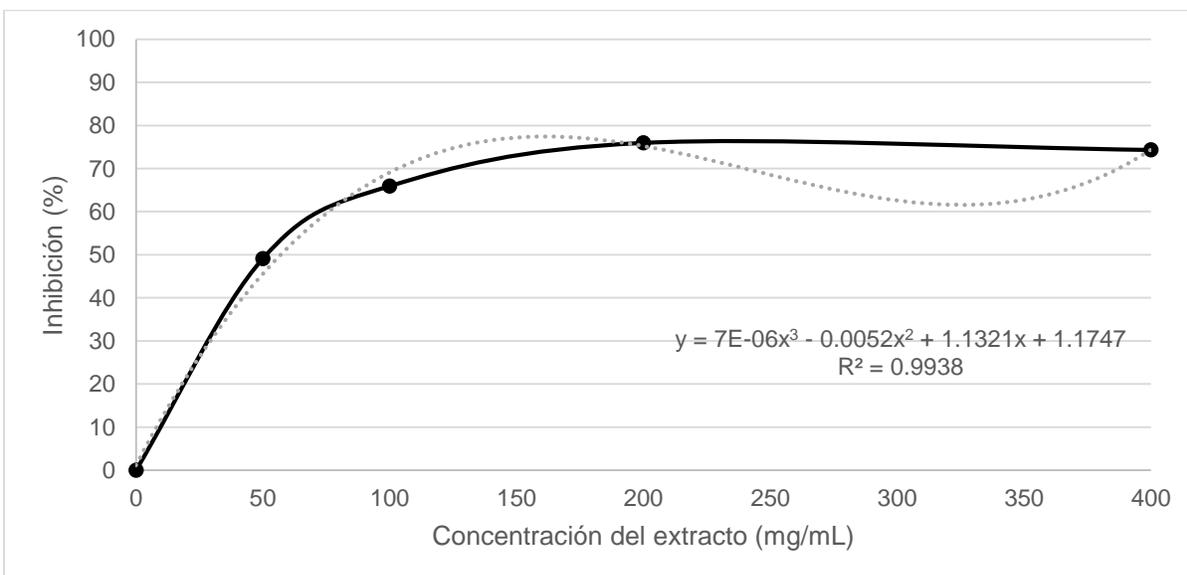


Figura 149. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril testigo, bajo condición de reposo.

El tratamiento de PHE+ AAS 100 μ M (Control) registró una máxima concentración del extracto de 800 mg/mL con un 69% de inhibición, obteniendo una R^2 de 0.9947.

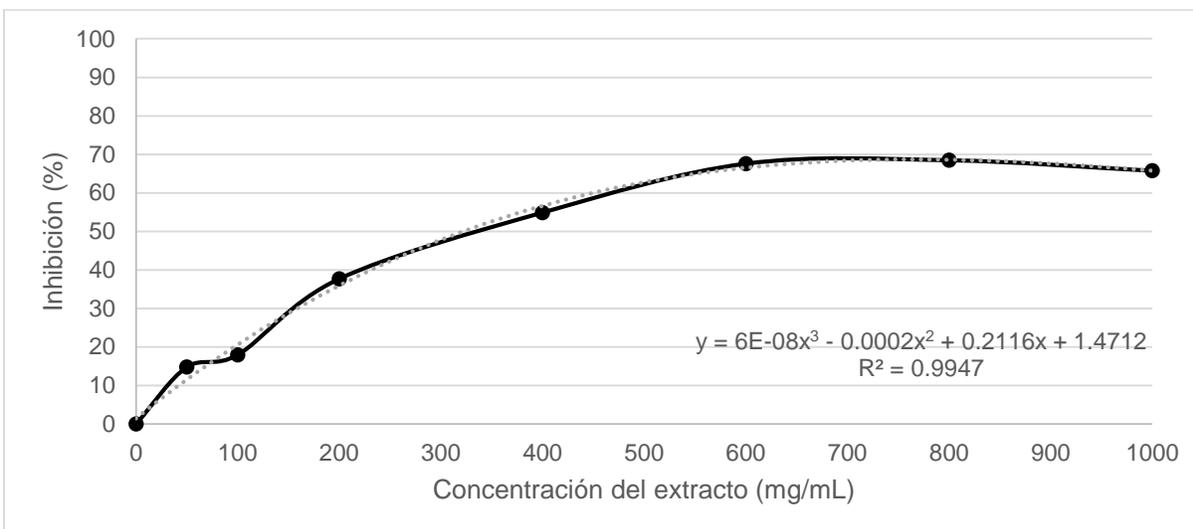


Figura 150. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 100 μ M (Control).

El tratamiento de PHE+ AAS 100 μ M en agitación registró una máxima concentración del extracto entre 100-200 mg/mL, con un 80% de inhibición, obteniendo una R^2 de 0.9888.

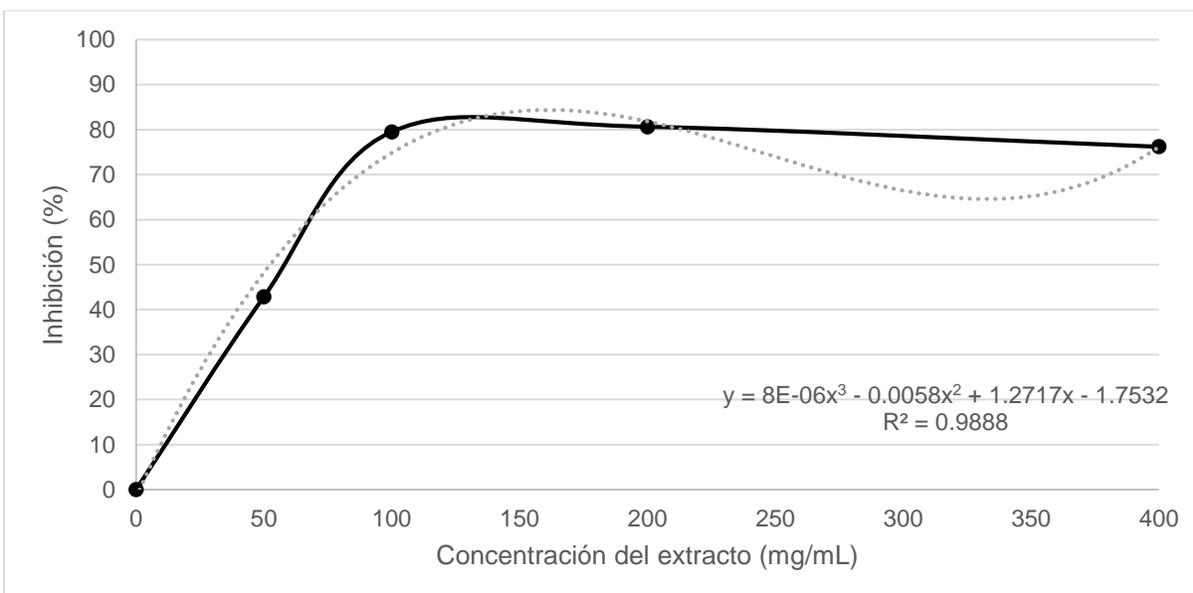


Figura 151. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 100 μ M en condición de agitación.

El tratamiento de PHE+ AAS 100 μ M en reposo registró una máxima concentración del extracto de 400 mg/mL con un 79 % de inhibición, obteniendo una R^2 de 0.9664.

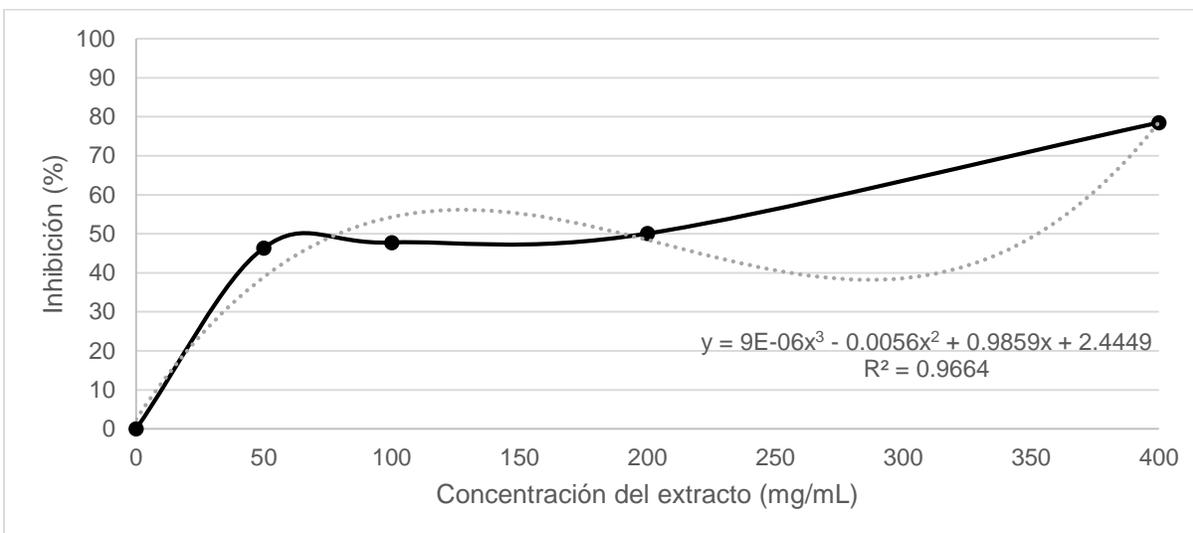


Figura 152. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 100 μ M en condición de reposo.

El tratamiento de PHE+ AAS 10 mM (Control) registró una máxima concentración del extracto de 400 mg/mL con un 70 % de inhibición, obteniendo una R^2 de 0.9969.

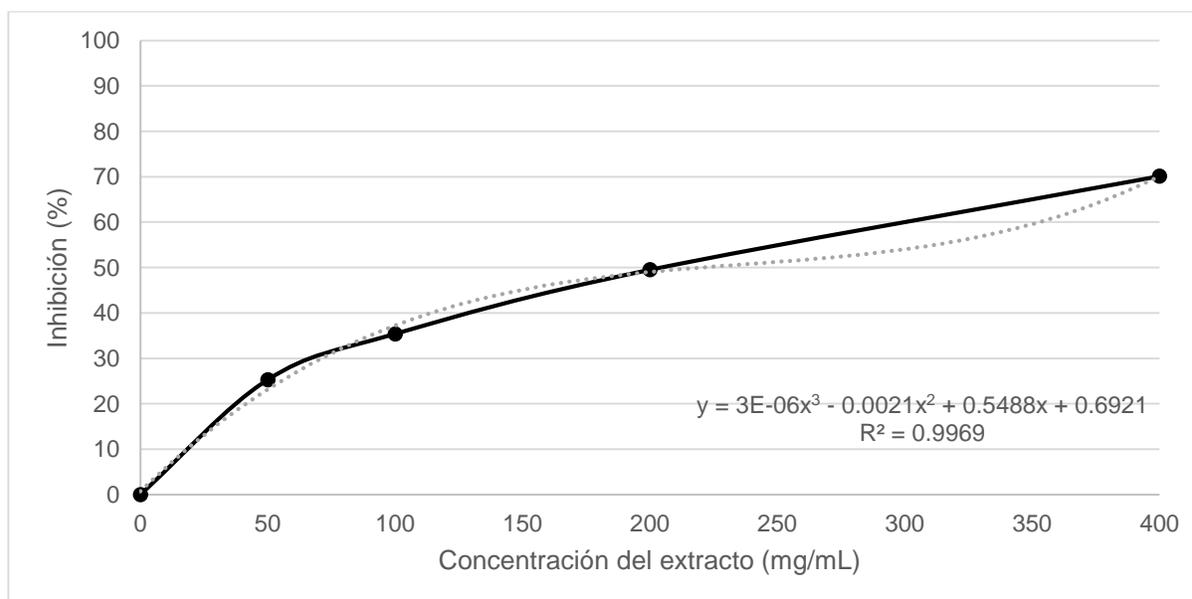


Figura 153. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 10 mM (Control).

El tratamiento de PHE+ AAS 10 mM en agitación registró una máxima concentración del extracto de 200 mg/mL con un 81 % de inhibición, obteniendo una R² de 0.9973.

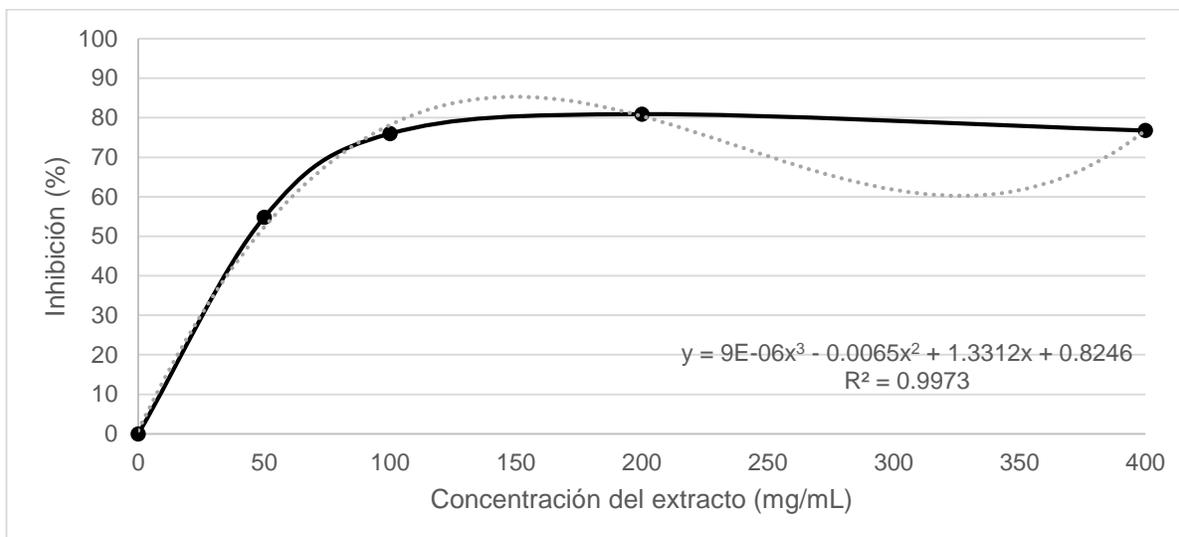


Figura 154. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 10 mM en condición de agitación.

El tratamiento PHE+ AAS 10 mM en condición de reposo registró una máxima concentración del extracto de 200 mg/mL con un 80 % de inhibición, obteniendo una R² de 0.9849.

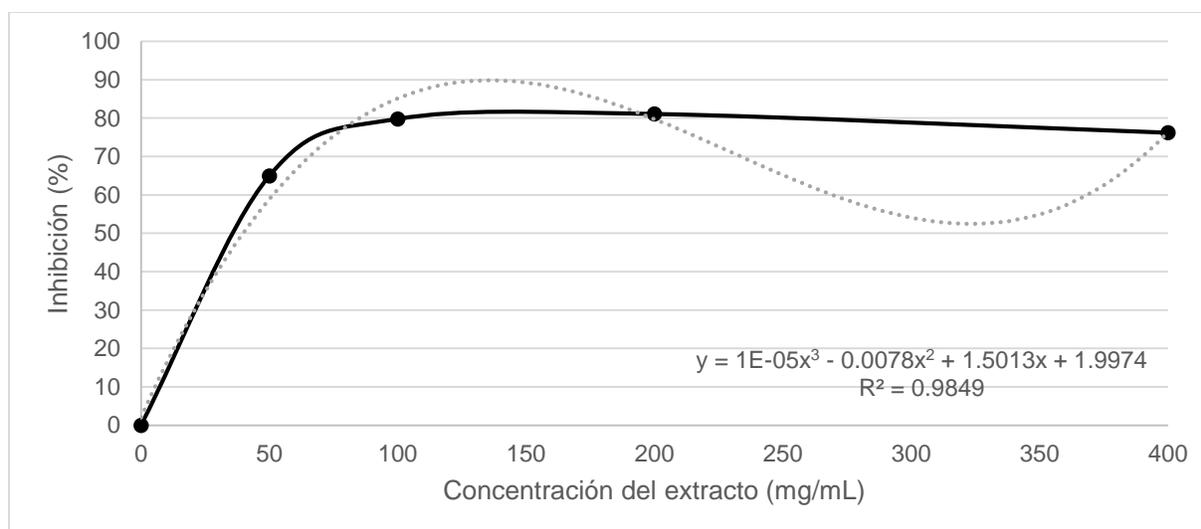


Figura 155. Determinación de DPPH del extracto de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 10 mM en condición de reposo.

Actividad antioxidante por DPPH de los extractos estandarizados de las cepas CP-675 y CP-733 de *V. bombycina* cultivada en diferentes sustratos suplementados con ácido acetilsalicílico (AAS) 100 μ M y 10 mM

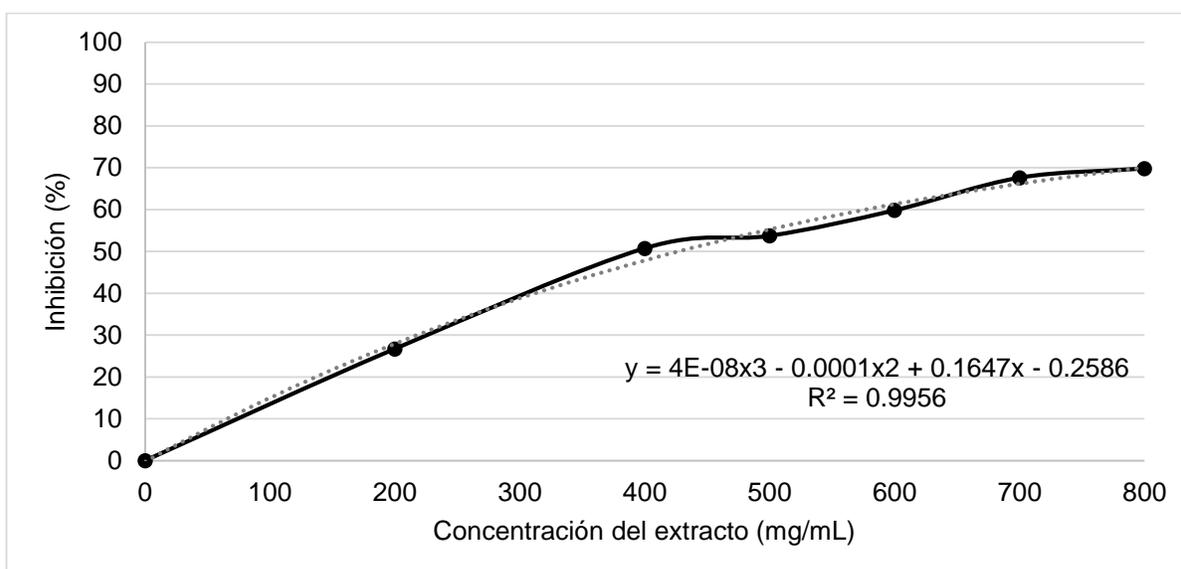


Figura 156. Actividad antioxidante del extracto I-1A de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino testigo. I-1A= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-675+A. encino+ Testigo) /24 h/oscuridad/reposo.

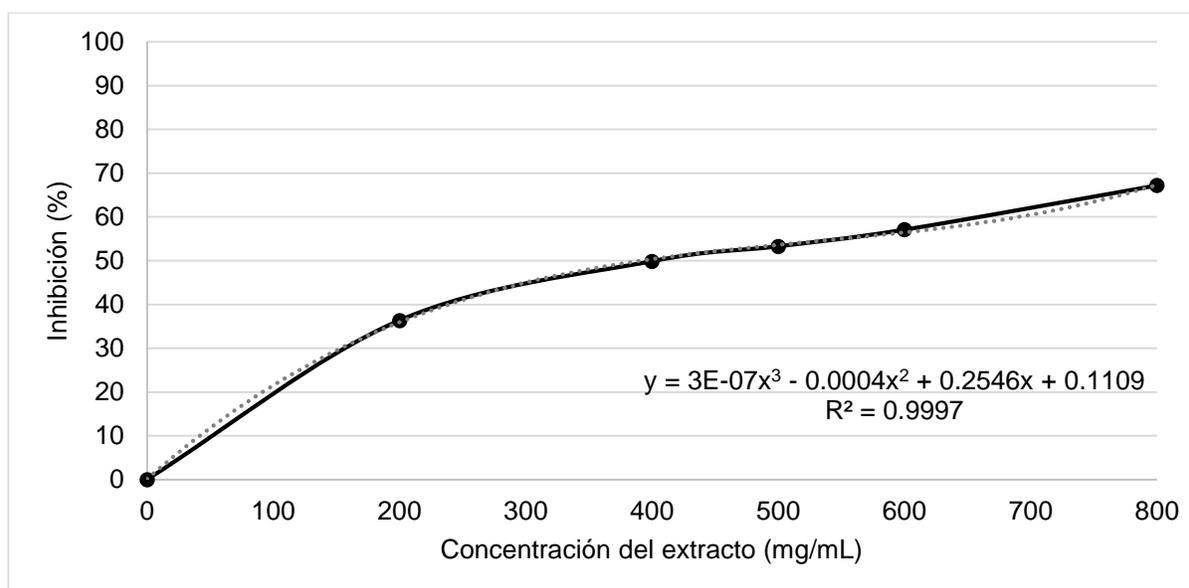


Figura 157. Actividad antioxidante del extracto I-1B de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico (100 μ M). I-1B= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-675+A. encino+ AAS 100 μ M) /24 h/oscuridad/reposo.

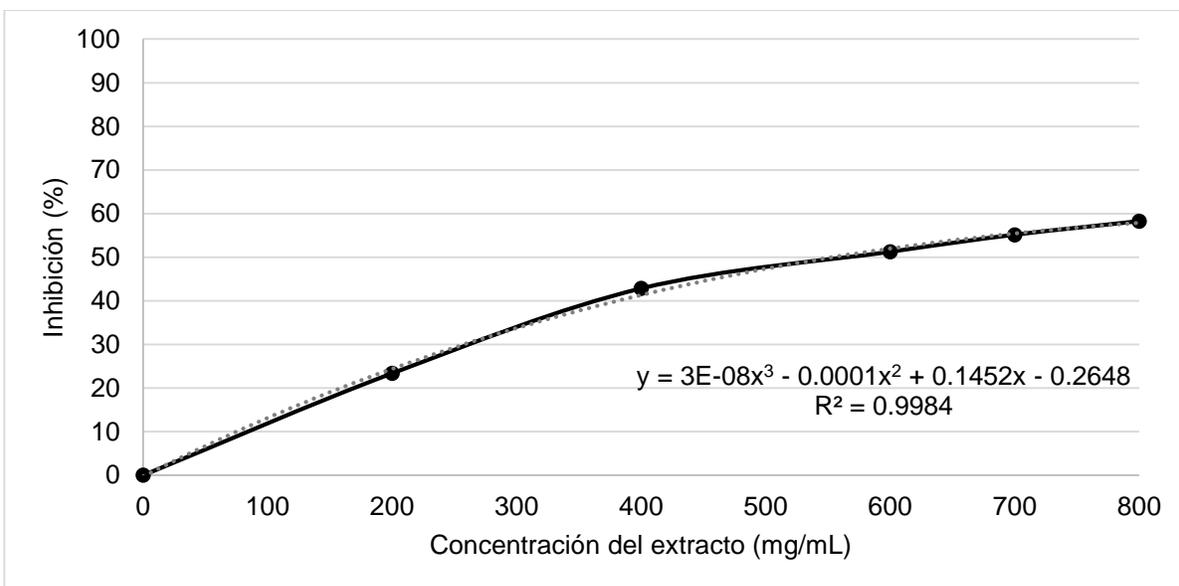


Figura 158. Actividad antioxidante del extracto I-1C de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino suplementada con ácido acetilsalicílico 10 mM. I-1C= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-675+A. encino+ AAS [10 mM] /24 h /oscuridad/reposo.

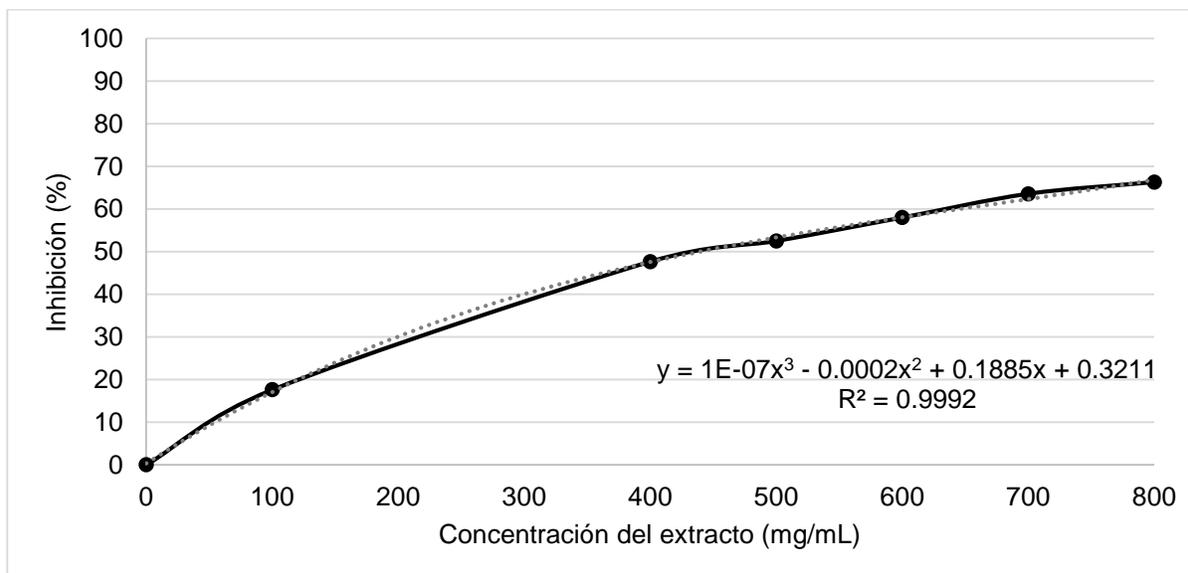


Figura 159. Actividad antioxidante del extracto I-2A de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril testigo. I-2A= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5g de muestra (CP-675+PHE+Testigo) /24 h/oscuridad/reposo.

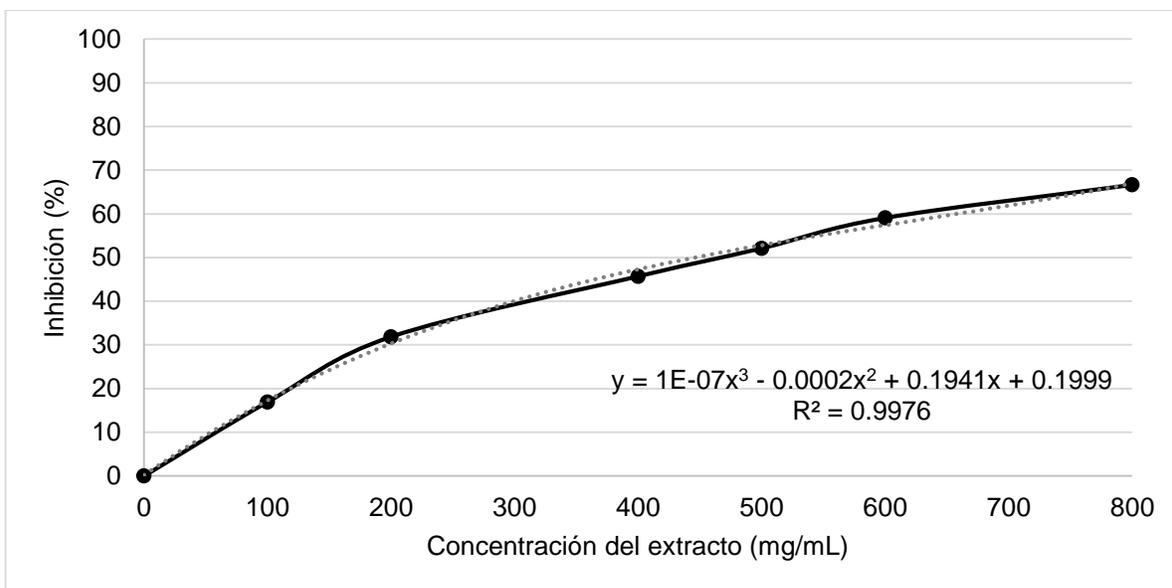


Figura 160. Actividad antioxidante del extracto I-2B de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 100 μ M. I-2B= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-675+PHE+AAS [100 μ M]) /24 h /oscuridad/reposo.

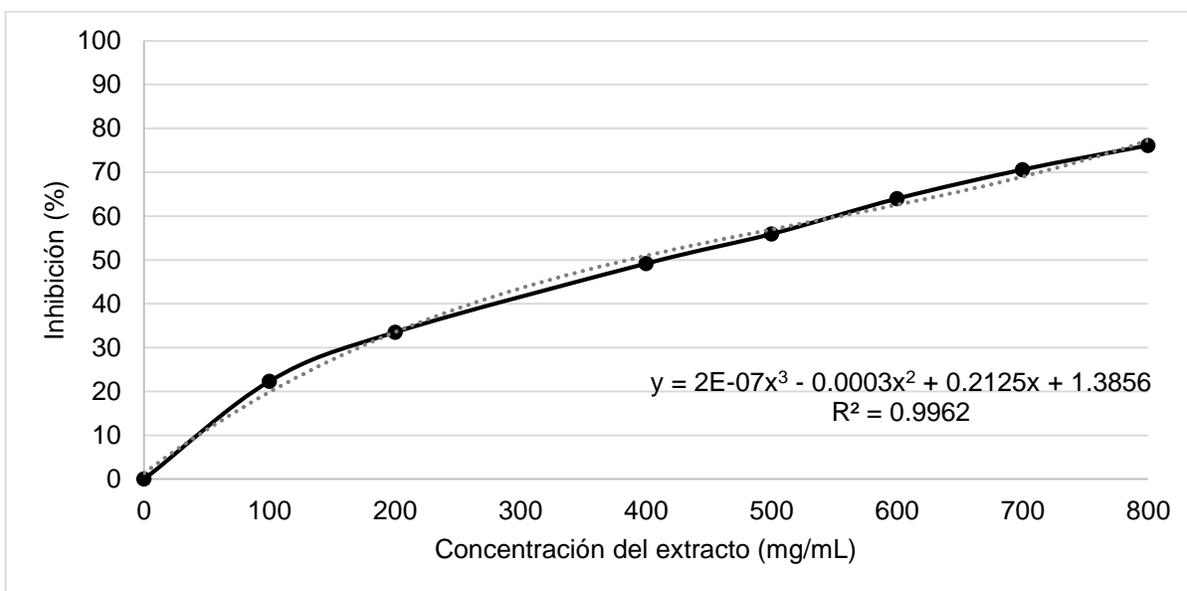


Figura 161. Actividad antioxidante del extracto I-2C de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* cultivada en paja hidratada estéril, suplementada con ácido acetilsalicílico 10 mM. I-2C= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-675+PHE+AAS [10 mM]) /24 h/oscuridad/reposo.

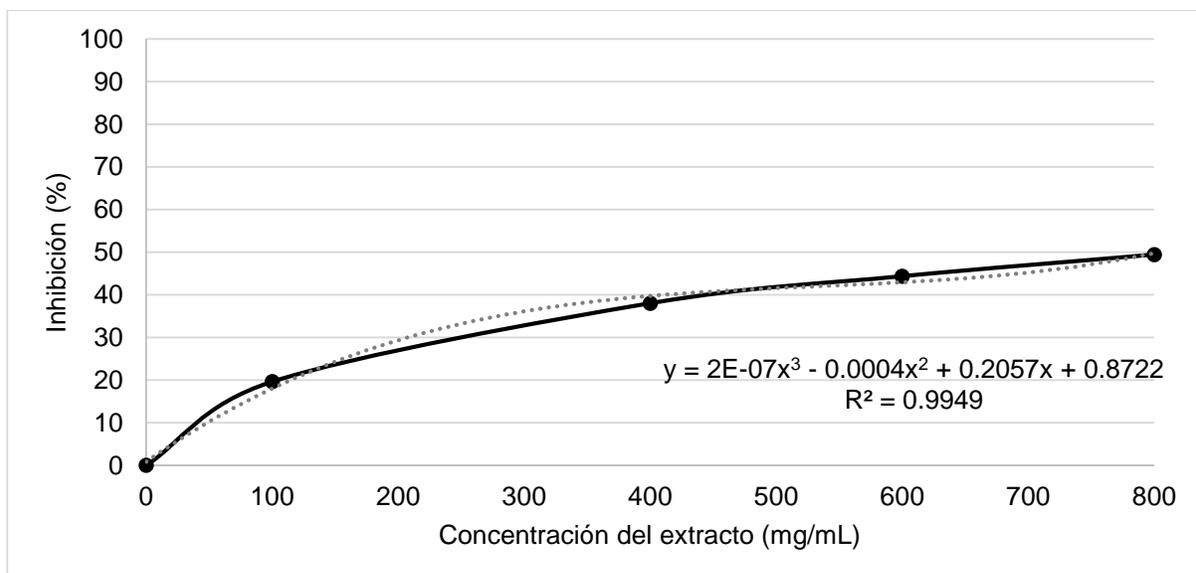


Figura 162. Actividad antioxidante del extracto II-1A de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino testigo. II-1A= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-733+A. encino+ Testigo) /24 h/oscuridad/reposo.

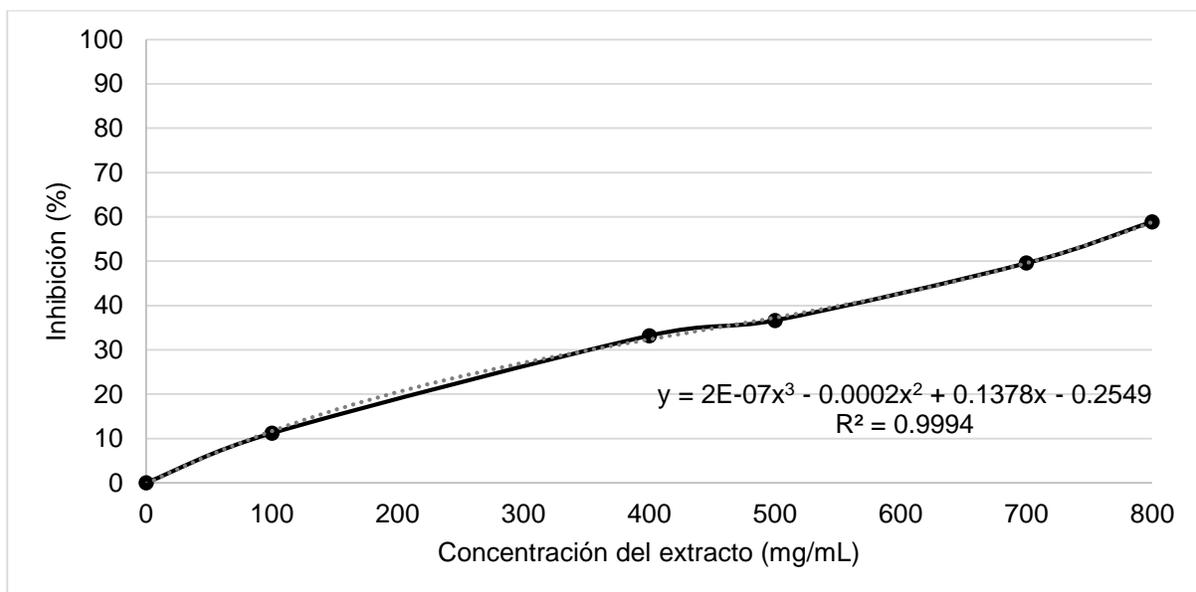


Figura 163. Actividad antioxidante del extracto II-1B de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico 100 μ M. II-1B= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-733+A. encino+ AAS [100 μ M] /24 h/oscuridad/reposo.

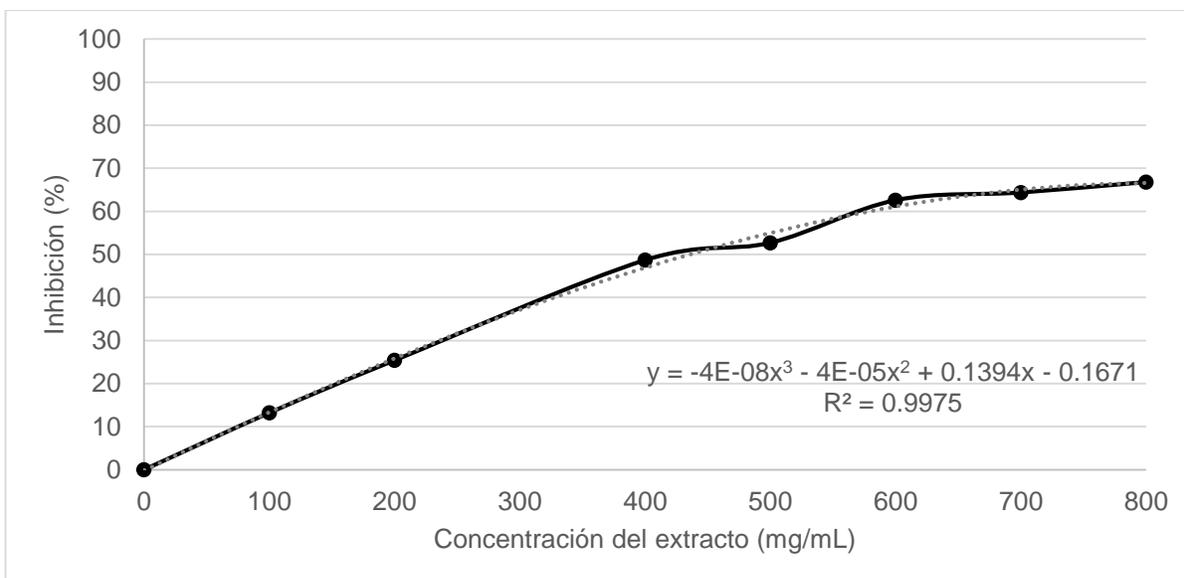


Figura 164. Actividad antioxidante del extracto II-1C de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de encino, suplementado con ácido acetilsalicílico 10 mM. II-1C= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-733+A. encino+ AAS 10 mM) /24 h/ oscuridad/reposo.

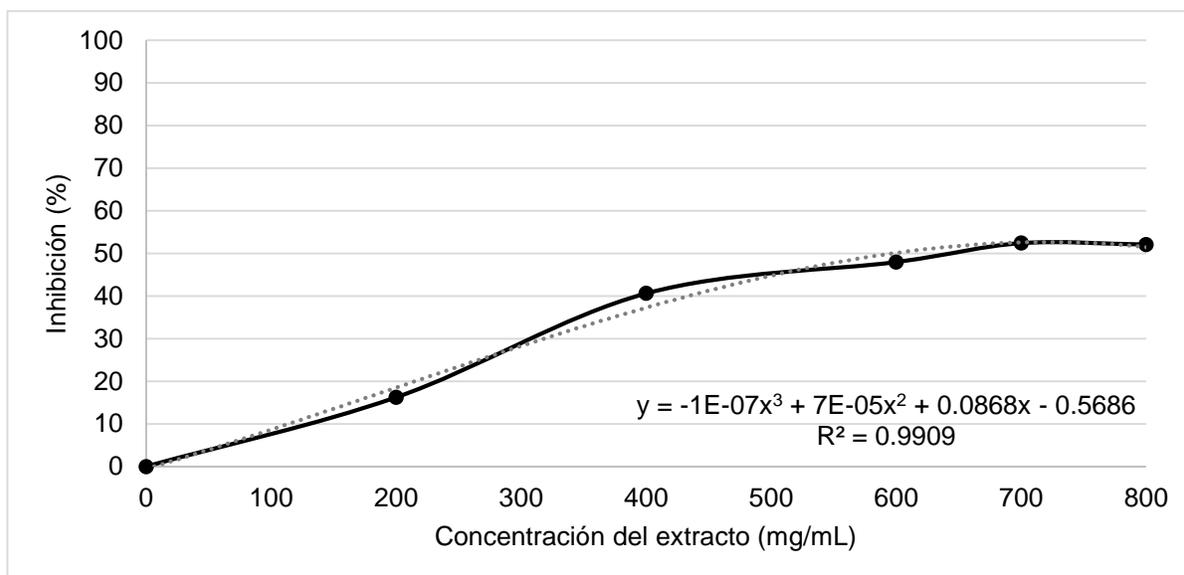


Figura 165. Actividad antioxidante del extracto II-3A de la cepa CP-733 de *Volvariella bombycina* cultivada en aserrín de *Bursera* (testigo). II-3A= 150 mL de solvente hidroalcohólico al 32%/5 g de muestra (CP-733+A. *Bursera*+Testigo) /24 h/oscuridad/reposo.

Análisis estadístico de los macerados y extractos preliminares de la CP-675 de *V. bombycina*

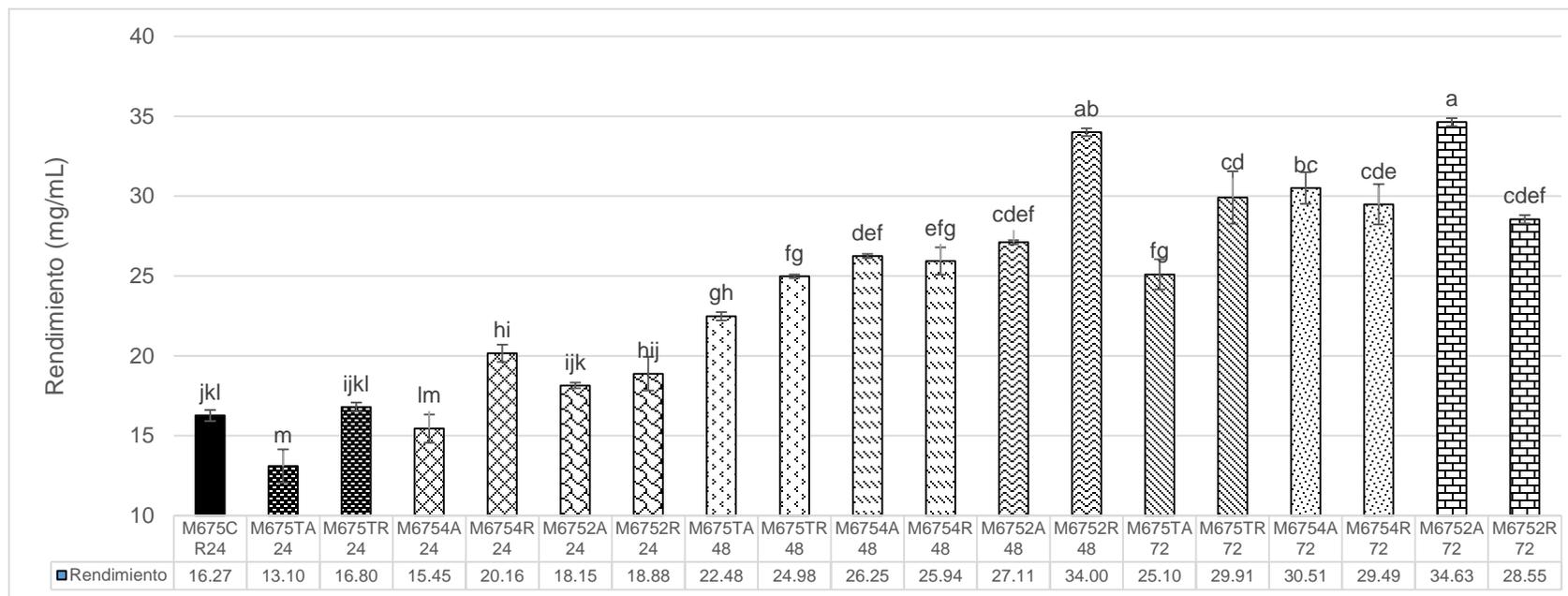


Figura 166. Rendimiento de los macerados de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* en los diferentes tratamientos y condiciones (n=5). M675CR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M675TA24= Macerado cepa CP-675/control/agitación/24 h. M675TR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M675A24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/24 h. M6752R24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h. M6754A24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/agitación/24 h. M6754R24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/reposo/24 h. M675TA48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/48 h. M675TR48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/48 h. M6752A48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/48 h. M6754A48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/agitación/48 h. M6754R48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/reposo/48 h. M6752R48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/48 h. M675TA72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. M675TR72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. M6754A72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/agitación/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. M6752R72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. M6754R72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM /reposo/72 h.

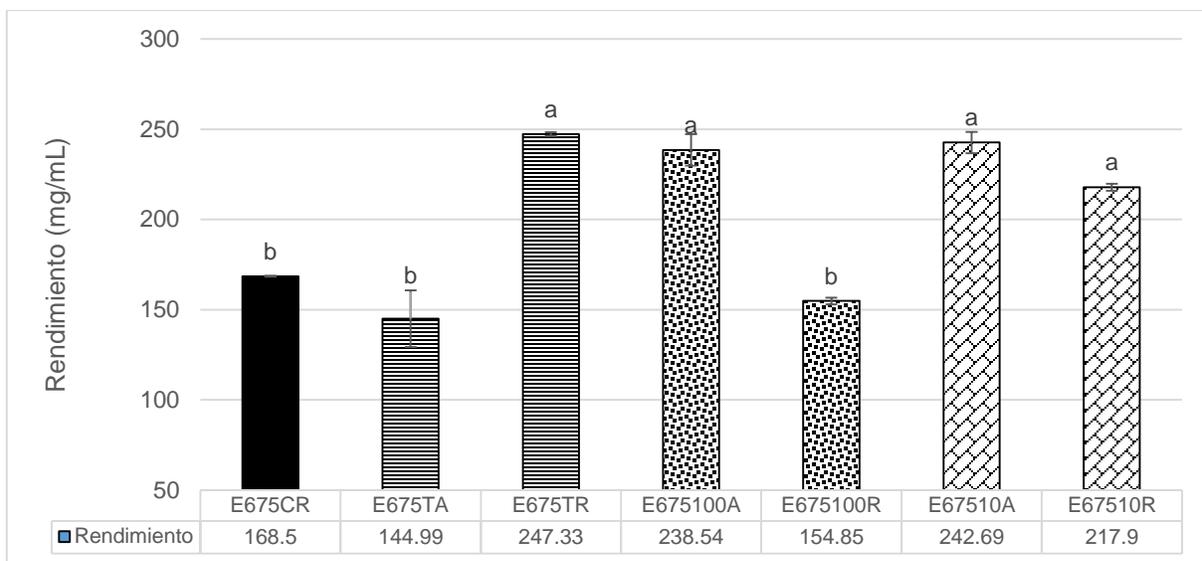


Figura 167. Rendimiento de los extractos preliminares en los diferentes tratamientos de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* (n=5). E675CR= Extracto cepa CP-675/control/reposo/72 h. E675TA= Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. E675TR=Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. E67510A= Extracto cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/agitación/72 h. E67510R= Extracto cepa CP-675/PHE+AAS 10 mM/reposo/72 h. E675100A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. E675100R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h.

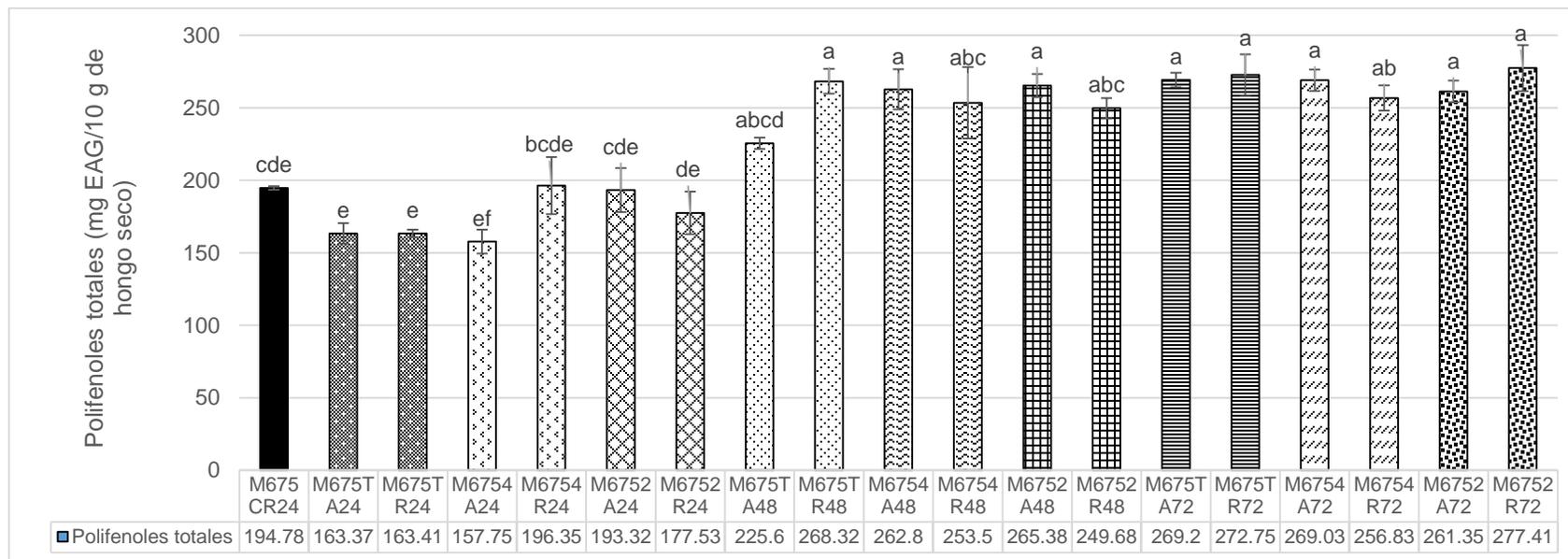


Figura 168. Polifenoles totales de los macerados preliminares de la cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* en los diferentes tratamientos y condiciones (n=4). M675CR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M675TA24= Macerado cepa CP-675/control/agitación/24 h. M675TR24= Macerado cepa CP-675/control/reposo/24 h. M6752A24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/24 h. M6752R24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/24 h. M6754A24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/agitación/24 h. M6754R24= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/reposo/24 h. M675TA48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/48 h. M675TR48= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/48 h. M6752A48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/48 h. M6754A48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/agitación/48 h. M6754R48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/reposo/48 h. M6752R48= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/48 h. M675TA72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. M675TR72= Macerado cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. M6754A72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/agitación/72 h. M6752A72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. M6752R72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. M6754R72= Macerado cepa CP-675/PHE+ AAS 100 µM/reposo/72 h.

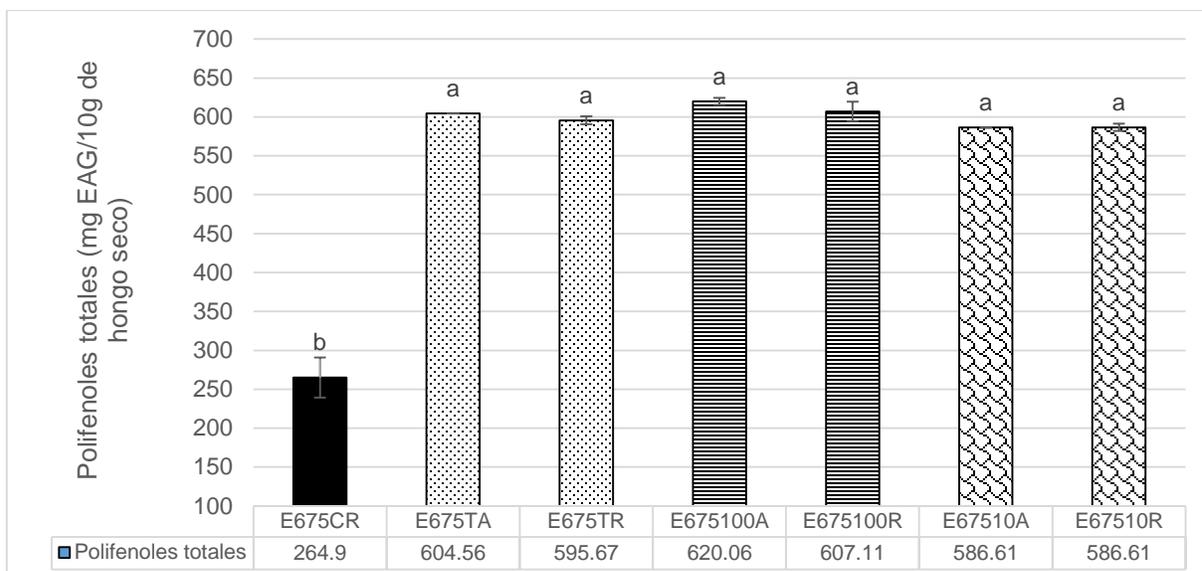


Figura 169. Polifenoles totales de los extractos preliminares de la Cepa CP-675 de *Volvariella bombycina* en los diferentes tratamientos y condiciones (n=4). E675CR= Extracto cepa CP-675/control/reposo/72 h. E675TA= Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/agitación/72 h. E675TR=Extracto cepa CP-675/PHE+ Testigo/reposo/72 h. E67510A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/agitación/72 h. E67510R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 10 mM/reposo/72 h. E675100A= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/agitación/72 h. E675100R= Extracto cepa CP-675/PHE+ AAS 100 μ M/reposo/72 h.