



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

EFECTO DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO SOBRE  
LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL  
MELENA DE LEÓN (*Hericium erinaceus*): HONGO  
COMESTIBLE CON AMPLIO POTENCIAL DE  
CULTIVO EN LAS COMUNIDADES RURALES DE  
MÉXICO

ZABDI MENESES GARCÍA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2022



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis, titulada: **Efecto del ácido acetilsalicílico sobre las propiedades funcionales del melena de león (*Hericium erinaceus*): hongo comestible con amplio potencial de cultivo en las comunidades rurales de México**, realizada por la alumna: **Zabdi Meneses García**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. DANIEL CLAUDIO MARTÍNEZ CARRERA

ASESOR:

DRA. MARÍA EUGENIA MENESES ÁLVAREZ

ASESOR:

DR. MIGUEL SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

ASESOR:

DR. ISAAC TELLO SALGADO

Puebla, Puebla, México, agosto del 2022.

# EFFECTO DEL ÁCIDO ACETILSALICÍLICO SOBRE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL MELENA DE LEÓN (*Hericium erinaceus*): HONGO COMESTIBLE CON AMPLIO POTENCIAL DE CULTIVO EN LAS COMUNIDADES RURALES DE MÉXICO

Zabdi Meneses García M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2022

## RESUMEN

*Hericium erinaceus* es considerado un hongo comestible interesante debido a sus propiedades funcionales y medicinales. Se estudió el efecto del ácido acetilsalicílico (AAS) en el crecimiento de diferentes cepas de *Hericium* (CP-663, CP-826, CP-1037, CP-1066), así como sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. La cepa CP-663 registró una cinética de crecimiento de 3.35 cm, en presencia de AAS 100  $\mu$ M, a los 21 días. Se seleccionó la CP-663 de *H. erinaceus*, para su cultivo en sustratos. Esta cepa se cultivó en el sustrato aserrín de encino solo (testigo) y aserrín de encino adicionado con AAS (10 mM). Se obtuvo una mejor eficiencia biológica en AAS 10 mM (12.29%), en comparación con el testigo (10.74%). Para determinar las propiedades antioxidantes y antimicrobianas se prepararon extractos hidroalcohólicos a partir de los basidiocarpos deshidratados. La cantidad de proteína de *H. erinaceus* cultivado en aserrín de encino+AAS 10 mM fue de  $634.62 \pm 11.25$   $\mu$ g/mL, mientras que en el testigo fue de  $547.98 \pm 10.31$   $\mu$ g/mL. El contenido de polifenoles fue de  $2,800.22 \pm 7.52$  EAG  $\mu$ g/mL en el testigo, mientras que en el tratamiento con AAS (10 mM) fue de  $3,091.72 \pm 85.62$  EAG  $\mu$ g/mL. El extracto obtenido del tratamiento con AAS 10 Mm mostró efecto bacteriostático a concentraciones más bajas hasta la dilución 4 (23.76 mg/mL), mientras que el extracto de la CP-663 testigo sólo mostró efecto bacteriostático hasta la dilución 2 (90.50 mg/mL), que corresponde a 280% más de extracto, lo que demostró que el ácido acetilsalicílico promueve la producción de compuestos con actividad antimicrobiana. El efecto del AAS en el cultivo de *H. erinaceus* permitió incrementar el rendimiento de basidiocarpos, la eficiencia biológica, y las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de los extractos hidroalcohólicos obtenidos. Se propone una estrategia para promover el cultivo de *H. erinaceus* en comunidades rurales.

Palabras clave: extracto hidroalcohólico, *Hericium erinaceus*, hongo medicinal, propiedades antibacterianas, propiedades antioxidantes, sustratos.

**EFFECT OF ACETYLSALICYLIC ACID ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF LION'S MANE (*Hericium erinaceus*): EDIBLE MUSHROOM WITH WIDE CULTIVATION POTENTIAL IN RURAL COMMUNITIES OF MEXICO**

Zabdi Meneses García M.C

Colegio de Postgraduados, 2022

**ABSTRACT**

*Hericium erinaceus* is considered an interesting edible mushroom due to its functional and medicinal properties. The effect of acetylsalicylic acid (ASA) on the growth of different *Hericium* strains (CP-663, CP-826, CP-1037, CP-1066), as well as on antioxidant and antimicrobial properties, was studied. The strain CP-663 showed a growth kinetics of 3.35 cm, in the presence of 100  $\mu$ M ASA, at 21 days. The strain CP-663 of *H. erinaceus* was selected for cultivation on substrates. This strain was cultivated on substrate of oak sawdust alone (control), and oak sawdust added with ASA (10 mM). A better biological efficiency was obtained in ASA 10 mM (12.29%), compared to the control (10.74%). To determine the antioxidant and antimicrobial properties, hydroalcoholic extracts were obtained from dehydrated basidiocarps. The amount of protein of *H. erinaceus* cultivated on oak sawdust+10 mM ASA was  $634.62 \pm 11.25$   $\mu$ g/mL, while in the control was  $547.98 \pm 10.31$   $\mu$ g/mL. The content of polyphenols was  $2,800.22 \pm 7.52$  EAG  $\mu$ g/mL in the control, while in the treatment with ASA (10 mM) was  $3,091.72 \pm 85.62$  EAG  $\mu$ g/mL. The extract obtained from the treatment with ASA 10 Mm showed a bacteriostatic effect at lower concentrations up to dilution 4 (23.76 mg/mL), while the control extract only showed a bacteriostatic effect up to dilution 2 (90.50 mg/mL), which corresponds to 280% more extract, showing that acetylsalicylic acid promotes the production of compounds with antimicrobial activity. The effect of ASA on the cultivation of *H. erinaceus* allowed to increase the yield of basidiocarps, the biological efficiency, and the antioxidant and antimicrobial properties of the hydroalcoholic extracts obtained. A strategy to promote the cultivation of *H. erinaceus* in rural communities is proposed.

Keywords: antibacterial properties, antioxidant properties, hydroalcoholic extracts, *Hericium erinaceus*, medicinal mushroom, substrates.

## DEDICATORIAS

A mi mamá, Irene García Ramos, quien siempre ha estado a mi lado apoyándome en cada etapa y proceso de mi vida tanto personal como profesional, por llevarme siempre de la mano por el camino correcto y por cada uno de los valores que me inculcó desde niña. Gracias por ser la mejor mamá, amiga y ser humano del mundo que, sin tu paciencia, ayuda y motivación no sería lo que soy ahora. No me alcanzará la vida para agradecerte todo lo que haces por mí. Eres un gran ejemplo de mujer, madre, esposa e hija. Todos mis logros son gracias a ti.

Te amo mamá

A mi papá, José Gerardo Guillermo Meneses Daza<sup>†</sup>, quien, físicamente no ha estado conmigo para compartir cada uno de mis logros, siempre estuvo presente en mi corazón, de él recibí las mejores lecciones de vida, me enseñó a perseguir mis sueños, a no darme por vencida, a ser paciente, atenta, feliz y a no tenerle miedo a nada. Con él viví la mejor infancia del mundo, y me regaló momentos que estarán siempre en mi memoria, cada uno de sus besos, consejos y amor los llevo en mi corazón. Gracias por ser mi guía y mi luz para lograr una meta más en mi vida.

Te amo papá

## AGRADECIMIENTOS

Al pueblo mexicano que mediante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) han hecho posible continuar con mi preparación académica.

Al Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla, por darme la oportunidad de entrar al programa de Maestría en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional.

A cada uno de los miembros que conforman el Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CB-HCFM) Mtra. Myrna Bonilla Quintero, Mtra. Beatriz Petlascalco Sánchez, Mtra. Nora Eva Fernández Velázquez, Mtro. Iván Omar Castillo Sebastián, Mtro. Alfredo Guadalupe Morales Juárez, Biól. Wilfrido Martínez por su apoyo en todo momento durante mi estancia en cada una de las áreas.

A los integrantes de mi Consejo Particular Dra. María Eugenia Meneses Álvarez, Dr. Miguel Sánchez Hernández, Dr. Isaac Tello Salgado por sus aportaciones en el trabajo de investigación.

Al Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera por su valiosa participación y consejos para enriquecer la investigación.

A la Dra. Mercedes Sobal Cruz por su motivación y confianza para continuar con mi formación académica.

A Louis Méndez Valencia por estar siempre que lo necesito, apoyarme en cada paso que doy, por su cariño y comprensión en todo momento.

A mi compañero de vida Yair Hernández por darme su apoyo incondicional durante el trabajo de investigación y estar presente en todo momento.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	iii
ABSTRACT .....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	xiii
LISTA DE CUADROS .....	xviii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	2
2.1    Objetivo general .....	2
2.2    Objetivos específicos .....	2
2.3    Hipótesis.....	2
III. REVISION DE LITERATURA.....	3
3.1    Biotecnología y desarrollo .....	3
3.2    Tecnologías para la producción de hongos comestibles.....	4
3.3    Hongos comestibles en México .....	5
3.4    Producción y cultivo de hongos en México .....	6
3.5    La biotecnología de hongos comestibles .....	7
3.6    Los hongos comestibles, funcionales y medicinales .....	8
3.7    Beneficios del consumo de hongos en la salud.....	8
3.8    Alimentos funcionales .....	9
3.9    El ácido acetilsalicílico .....	10
3.10   Antioxidantes .....	11
3.11   Compuestos bioactivos .....	11

3.12	<i>Hericium erinaceus</i> .....	12
3.12.1	Características morfológicas y taxonomía .....	13
3.12.2	Substratos empleados para su producción.....	14
3.12.3	Valor nutricional.....	15
3.12.4	Propiedades funcionales y medicinales.....	16
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
4.1	Material biológico .....	21
4.2	Preparación de los medios de cultivo para propagar los hongos de estudio .....	21
4.3	Cinética de crecimiento y área de la colonia .....	21
4.3.1	Inoculación de los tratamientos .....	21
4.3.2	Caracterización de las cepas estudiadas .....	22
4.4	Cinética de crecimiento y área de la colonia .....	22
4.5	Cultivo de hongo <i>Hericium erinaceus</i> .....	23
4.5.1	Preparación de inóculo para cultivo en sustrato sólido e incubación de semilla.....	23
4.5.2	Preparación de las Unidades de Producción Sembradas para Cosechar (UPSC).....	23
4.5.3	Inoculación e incubación del sustrato estéril.....	24
4.5.4	Fructificación de las UPSC .....	25
4.5.5	Caracterización de los basidiocarpos .....	25
4.5.6	Determinación de rendimiento, eficiencia biológica (EB) e índice de degradación (ID).....	26
4.6	Obtención de las muestras para macerados y extractos.....	26



4.6.1	Preparación de macerados .....	27
4.6.2	Obtención de extractos.....	28
4.7	Caracterización fisicoquímica.....	29
4.7.1	Rendimiento por gravimetría.....	29
4.7.2	pH, conductividad y resistividad .....	29
4.7.3	Grados Brix .....	29
4.8	Análisis de las propiedades funcionales .....	30
4.8.1	Determinación de proteínas .....	30
4.8.2	Determinación de polifenoles totales .....	31
4.8.3	Determinación de la propiedad antioxidante (DPPH) .....	32
4.8.4	Determinación de la actividad antioxidante ABTS .....	32
4.8.5	Determinación de la capacidad antioxidante por el método ORAC .....	34
4.8.6	Cuantificación de $\beta$ -carotenos .....	34
4.8.7	Determinación de glucanos (alfa, beta y totales).....	35
4.9	Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de microdilución para la solución exploratoria .....	35
4.9.1	Obtención del inóculo bacteriano .....	36
4.9.2	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	37
4.9.3	Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) .....	38
4.10	Análisis estadístico .....	39
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
5.1	Caracterización morfológica de las cepas estudiadas.....	40
5.1.1	CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	40

5.1.2	CP-826 de <i>Hericiium</i> spp. ....	41
5.1.3	CP-1037 <i>Hericiium coralloides</i> .....	41
5.1.4	CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp. ....	42
5.2	Cinética de crecimiento (cm) .....	43
5.2.1	CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	43
5.2.2	CP-826 de <i>Hericiium</i> spp. ....	44
5.2.3	CP-1037 de <i>Hericiium coralloides</i> . ....	45
5.2.4	CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp. ....	46
5.3	Área de la colonia (cm <sup>2</sup> ) .....	47
5.3.1	CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	47
5.3.2	CP-826 de <i>Hericiium</i> spp. ....	48
5.3.3	CP-1037 de <i>Hericiium coralloides</i> . ....	49
5.3.4	CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp. ....	50
5.4	Caracterización de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	51
5.5	Eficiencia biológica (EB) e índice de degradación (ID).....	52
5.6	Propiedades fisicoquímicas de extractos .....	53
5.6.1	Rendimiento.....	53
5.6.2	Conductividad, pH, y °Brix .....	53
5.7	Propiedades funcionales .....	54
5.8	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs. <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1) .....	56
5.9	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs. <i>Salmonella thyphi</i> (CPB-1) .....	57

5.10	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs. <i>Staphylococcus aureus</i> (CPB-2).....	57
5.11	Efecto bactericida del extrato hidroalcohólico de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Staphylococcus aureus</i> (CPB-2).....	58
5.12	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs. <i>Escherichia coli</i> (CPB-3).....	59
5.13	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs. <i>Escherichia coli</i> (CPB-3).....	60
5.14	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4) .....	61
5.15	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Streptococcus agalactiae</i> (CPB-4) .....	62
5.16	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-5) .....	63
5.17	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Bacillus subtilis</i> (CPB-5) .....	64
5.18	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6) .....	64
5.19	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CPB-6) .....	65
5.20	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Stenotrophomonas</i> spp. (CPB-7).....	66
5.21	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> vs <i>Stenotrophomonas</i> spp. (CPB-7).....	67
5.22	Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 vs <i>Listeria monocytognes</i> (CPB-11).....	68

5.23	Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 vs <i>Listeria monocytogenes</i> (CPB-11).....	69
VI.	CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS .....	73
VII.	CONCLUSIONES.....	73
VIII.	ESTRATEGIA PARA EL APROVECHAMIENTO DEL HONGO MEDICINAL MELENA DE LEÓN ( <i>Hericium erinaceus</i> ).....	75
IX.	LITERATURA CITADA .....	79

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esporocarpo o basidiocarpo fresco de <i>Hericiium erinaceus</i> . .....	12
<b>Figura 2.</b> Diagrama general de la metodología establecida para la investigación. ....	20
<b>Figura 3.</b> Preparación de inóculo o semilla para cultivo en substrato sólido. A: Inóculo de <i>Hericiium erinaceus</i> en medio EMA. B: Siembra de inóculo en semilla. C: Inoculación de semilla para substrato. ....	23
<b>Figura 4.</b> Preparación de las unidades de producción sembradas para cosechar (UPSC) en medio sólido. A: Embolsado de substrato para esterilización. B: Esterilización de substrato en STERIVAP. C: Enfriado de UPSC para inoculación. ....	24
<b>Figura 5.</b> Inoculación e incubación del substrato estéril. A: Incorporación de semilla en substrato estéril. B: Incubación de substrato en área autorizada. C: Aparición de primordios. ....	24
<b>Figura 6.</b> Unidades de producción sembradas para cosechar (UPSC) en el módulo de fructificación. ....	25
<b>Figura 7.</b> Análisis de los grupos de espigas de los basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> . A: Un solo grupo. B: Dos o más grupos. C: Tres o más grupos .....	26
<b>Figura 8.</b> Basidiocarpos deshidratados de <i>Hericiium erinaceus</i> . ....	27
<b>Figura 9.</b> Preparación de muestra para macerados. A: Molino de acero inoxidable. B: Sobre de papel filtro con muestra. C: Muestra macerada en solución hidroalcohólica. ...	27
<b>Figura 10.</b> Proceso de obtención de los extractos. A: Prensa hidráulica. B: Filtración de macerado. C: Evaporación del solvente. D: Aforado. E: Esterilización del extracto. ....	28
<b>Figura 11.</b> Caracterización de extractos en potenciómetro Mettler Toledo. ....	29
<b>Figura 12.</b> Medición de sólidos disueltos en refractómetro ATAGO. ....	30

<b>Figura 13.</b> Arreglo de la cantidad de bacterias a una concentración de $1 \times 10^8$ UFC/mL para el diseño experimental y de $1 \times 10^4$ UFC/mL para comprobar el inóculo con 50 unidades formadoras de colonias (UFC).....	37
<b>Figura 14.</b> Modelo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton estéril para la obtención de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de <i>Hericiium erinaceus</i> . CE=Control de esterilidad del medio de cultivo. CC=Control de crecimiento bacteriano. CEE=Control de esterilidad del extracto. D=Dilución. ....	39
<b>Figura 15.</b> Morfología de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> en medio EMA Testigo, AAS 100 $\mu$ M, y AAS 1 $\mu$ M a los 21 días de desarrollo. ....	40
<b>Figura 16.</b> Morfología de la cepa CP-1066 de <i>Hericiium spp.</i> en medio CYM Testigo, AAS 100 $\mu$ M y AAS 1 $\mu$ M, a los 21 días de desarrollo. ....	42
<b>Figura 17.</b> Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> en los diferentes tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS) de esta investigación.....	43
<b>Figura 18.</b> Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-826 de <i>Hericiium spp.</i> en los diferentes tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS) de esta investigación.....	44
<b>Figura 19.</b> Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-1037 de <i>Hericiium spp.</i> en los diferentes tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS) de esta investigación.....	45
<b>Figura 20.</b> Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-1066 de <i>Hericiium spp.</i> en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).....	46
<b>Figura 21.</b> Área de la colonia ( $\text{cm}^2$ ) de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).....	47

<b>Figura 22.</b> Área de la colonia (cm <sup>2</sup> ) de la cepa CP-826 de <i>Hericiium</i> spp. en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).....	48
<b>Figura 23.</b> Área de la colonia (cm <sup>2</sup> ) de la cepa CP-1037 de <i>Hericiium coralloides</i> . en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).....	49
<b>Figura 24.</b> Área de la colonia (cm <sup>2</sup> ) de la cepa CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp. en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).....	50
<b>Figura 25.</b> Basidiocarpos de <i>Hericiium erinaceus</i> , cepa CP-663, obtenidos en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (100 µM). .....	51
<b>Figura 26.</b> Eficiencia biológica e índice de degradación de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivado en aserrín de encino con AAS, comparativamente con el testigo. ....	52
<b>Figura 27.</b> Rendimiento de extractos de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivado en el substrato testigo y el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM). .....	53
<b>Figura 28.</b> Efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-1 de <i>Salmonella thyphi</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC= Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....	56
<b>Figura 29.</b> Efecto bactericida del extracto de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre la cepa bacteriana CPB-1 de <i>Salmonella thyphi</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....	57
<b>Figura 30.</b> Efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-2 de <i>Sthapylococcus aureus</i> . A: Testigo. B:	

Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC= Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....	58
<b>Figura 31.</b> Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre la cepa bacteriana CPB-2 de <i>Sthapylococcus aureus</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....	59
<b>Figura 32.</b> Efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-3 de <i>Escherichia coli</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....	60
<b>Figura 33.</b> Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre la cepa bacteriana CPB-3 de <i>Escherichia coli</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....	61
<b>Figura 34.</b> Efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-4 de <i>Streptococcus agalactiae</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....	62
<b>Figura 35.</b> Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de <i>Hericiium erinaceus</i> sobre la cepa bacteriana CPB-4 de <i>Streptococcus agalactiae</i> . A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....	62



- Figura 36.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-5 de *Bacillus subtilis*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....63
- Figura 37.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-5 de *Bacillus subtilis* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....64
- Figura 38.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....65
- Figura 39.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....66
- Figura 40.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-7 de *Stenotrophomonas spp.* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. ....67
- Figura 41.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-7 de *Stenotrophomonas spp.* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. ....68

**Figura 42.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-11 de *Listeria monocytogenes*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. .... 69

**Figura 43.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-11 de *Listeria monocytogenes* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad. .... 70

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Resumen de sinónimos taxonómicos para <i>Hericiium erinaceus</i> .....	13
<b>Cuadro 2.</b> Composición nutricional de extracto de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	15
<b>Cuadro 3.</b> Composición nutricional del micelio de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	16
<b>Cuadro 4.</b> Material biológico utilizado y depositado en CB-HCFM del Colegio de Postgraduados Campus Puebla.....	21
<b>Cuadro 5.</b> Características morfológicas del crecimiento micelial de la colonia al final de la cinética.....	22
<b>Cuadro 6.</b> Preparación de curva de albúmina de suero bovino (Sigma).....	30
<b>Cuadro 7.</b> Concentración de la muestra y estándares.....	32
<b>Cuadro 8.</b> Estándares para la determinación de la actividad antioxidante con el reactivo ABTS.....	33
<b>Cuadro 9.</b> Estándares para la determinación de $\beta$ -carotenos.....	34
<b>Cuadro 10.</b> Bacterias de interés clínico utilizadas para la prueba antimicrobiana de la CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> .....	35
<b>Cuadro 11.</b> Distribución de las muestras en las microplacas.....	37
<b>Cuadro 12.</b> Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética.....	40
<b>Cuadro 13.</b> Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-826 de <i>Hericiium spp.</i> cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética.....	41

<b>Cuadro 14.</b> Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-1037 de <i>Hericiium coralloides</i> cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética. ....	41
<b>Cuadro 15.</b> Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp., cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética. ....	42
<b>Cuadro 16.</b> Cinética de crecimiento lineal de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> . ....	44
<b>Cuadro 17.</b> Cinética de crecimiento lineal de la cepa CP-826 de <i>Hericiium</i> spp. ....	45
<b>Cuadro 18.</b> Cinética de crecimiento de la cepa CP-1037 de <i>Hericiium</i> spp. ....	46
<b>Cuadro 19.</b> Cinética de crecimiento lineal de la cepa CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp. ....	47
<b>Cuadro 20.</b> Área micelial de la colonia de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> . ....	48
<b>Cuadro 21.</b> Área micelial de la colonia de la cepa CP-826 de <i>Hericiium</i> spp. ....	49
<b>Cuadro 22.</b> Área micelial de la colonia de la cepa CP-1037 de <i>Hericiium coralloides</i> . ....	50
<b>Cuadro 23.</b> Área micelial de la colonia de la cepa CP-1066 de <i>Hericiium</i> spp. ....	51
<b>Cuadro 24.</b> Caracterización fisicoquímica de los extractos de la cepa CP-663 de <i>Hericiium erinaceus</i> , obtenidos a partir del testigo y del tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM). ....	54
<b>Cuadro 25.</b> Propiedades funcionales estudiadas del extracto de <i>Hericiium erinaceus</i> , cepa CP-663, tanto en el testigo como en el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM). ....	55
<b>Cuadro 26.</b> Propiedades funcionales estudiadas del extracto de <i>Hericiium erinaceus</i> , cepa CP-663, tanto en el testigo como en el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM). ....	55

<b>Cuadro 27.</b> Concentración mínima inhibitoria (CMI mg/mL) de los extractos hidroalcohólicos de <i>Hericiium erinaceus</i> contra ocho especies bacterianas clínicamente relevantes. ....	70
<b>Cuadro 28.</b> Concentración mínima bactericida (CMB mg/mL) de los extractos hidroalcohólicos de <i>Hericiium erinaceus</i> contra ocho especies bacterianas clínicamente relevantes. ....	71

## I. INTRODUCCIÓN

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 (Martínez-Carrera et al., 1991). La producción comercial de hongos se encuentra presente en varios Estados de México, colocándolo en el primer lugar a nivel Latinoamericano. A diferencia de otros países donde el cultivo de hongos comestibles es un negocio privado, su evolución en México ha tenido dos vertientes, siendo la principal el desarrollo rural por el sector social, lo que inició a partir de 1989 (Martínez-Carrera et al., 1991). El empleo de los hongos con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde hace muchos de años. Su utilización en la práctica medicinal de diversos pueblos ha dado lugar a que se profundice en el conocimiento y aislamiento de extractos o compuestos responsables de la actividad medicinal. El ácido acetilsalicílico (AAS) se ha utilizado principalmente en el estudio sobre el crecimiento en plantas. De igual forma, se ha estimado su efecto en la acumulación de compuestos fenólicos (Kovacik et al., 2008), en la embriogénesis somática en cultivo de tejidos (Luo et al., 2001), en el incremento de biomasa en soya (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 1998), en pinos (San Miguel et al., 2003), maíz (Gunes et al., 2007) y trigo (Shakirova et al., 2003). En estudios sobre hongos Rendón-Hernández (2015), mencionó que el ácido acetilsalicílico tiene un efecto en la fisiología de los hongos *Fistulina guzmanii* y *Volvariella bombycina*, en su eficiencia biológica, y en el contenido de proteínas a una concentración de AAS 100  $\mu\text{M}$ . Además, a este hongo se le han realizado pruebas antimicrobianas en bacterias de interés clínico principalmente en la industria de alimentos como lo son: *Escherichia coli*, *Salmonella thipy*, *Listeria monocytogenes*, entre otras. *Hericium erinaceus* ha sido catalogado como un hongo funcional con potencial debido a su capacidad antioxidante (Wang et al., 2005). En la presente investigación, se estudiará el efecto ácido acetilsalicílico sobre las propiedades funcionales, antimicrobianas y medicinales del hongo comestible *H. erinaceus*, conocido como “melena de león”, para proponerlo como una opción de cultivo y alimento en las comunidades rurales que se dedican a cultivar hongos.

## II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1 Objetivo general

Determinar las propiedades funcionales antioxidantes y antibacterianas del hongo comestible *Hericiium erinaceus*, al cultivarlo en aserrín de encino y aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS).

### 2.2 Objetivos específicos

1. Cultivar *Hericiium erinaceus* en sustrato de aserrín de encino y aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS).
2. Obtener extractos hidroalcohólicos de *Hericiium erinaceus* a partir de los basidiocarpos obtenidos, determinando sus propiedades funcionales antioxidantes y antibacterianas.
3. Diseñar una estrategia para promover la producción y el consumo del hongo “melena de león” (*Hericiium erinaceus*), en las comunidades rurales de México.

### 2.3 Hipótesis

El crecimiento y las propiedades funcionales de *Hericiium erinaceus* se incrementan al incorporar ácido acetilsalicílico (AAS) en el sustrato de cultivo.

### **III. REVISION DE LITERATURA**

#### **3.1 Biotecnología y desarrollo**

La biotecnología es un campo que responde a un enfoque de mundo globalizado ya que es interdisciplinario y brinda soluciones innovadoras y sostenibles a los problemas que aquejan a la humanidad. Gracias a los desarrollos que se han realizado, esta se ha convertido en un área de conocimiento disputada, que ha creado temores, y al mismo tiempo nuevas esperanzas, sobre el futuro del mundo, sus recursos y la forma en que nos relacionamos con ellos (Flórez, 2010).

Los hechos que han cambiado fundamentalmente la agricultura de nuestro tiempo, y todo el conjunto de prácticas productivas, económicas, sociales, culturales, de salud pública, e incluso las formas de existencia de las comunidades y pueblos que la han acompañado, se basan en el capitalismo biotecnológico. Las hoy denominadas Ciencias de la Vida integradas por la biología molecular, la genómica y la biotecnología, poseen la novedosa condición de reunir conocimientos y técnicas que hacen posible la directa intrusión y transformación de lo viviente de manera dirigida, así como también la producción técnica de vida (Digilio, 2021).

Los E.U.A. ven en la ingeniería genética una excelente oportunidad para mantener su hegemonía mundial en la agricultura. Impulsadas por estas expectativas, las empresas de biotecnología están creciendo exponencialmente. Sin embargo, la tan esperada transición de los ensayos y pruebas de tecnología a la aplicación industrial se ha retrasado, lo que dificulta la inversión. Esta situación mejorará mucho cuando las empresas agroquímicas, agroalimentarias y farmacéuticas de importancia industrial se den cuenta de que la biotecnología puede ser una herramienta para expandirse y mejorar su rentabilidad (Digilio, 2021).

La transición del desarrollo científico a la tecnología y de esta última a la tecnología comercialmente viable, en el caso de la biotecnología, implica una amplia gama de actividades como la identificación de especies, utilizando marcadores moleculares o las técnicas básicas de clonación, que, como activos clave, poseen conocimientos de alto nivel en biología, química fina e incluso bioinformática. El segundo grupo de técnicas se utiliza para una aplicación específica y/o uso específico en un caso y por lo tanto tiene un mayor grado de especificidad. Por lo general,



su desarrollo y circulación es acotado a empresas o instituciones o forma parte de acuerdos entre ambos (Bisang et al., 2009).

La biotecnología es una tecnología que utiliza las propiedades de los organismos para producir y transformar alimentos, obtener sustancias con actividad terapéutica, aportar soluciones a cambios ambientales, etc. En algunos casos, utiliza propiedades de organismos presentes en la naturaleza, que corresponden a la biotecnología antigua o clásica; en otros casos, se aplica a la producción de sustancias o procesos mejorados por parte de los organismos que constituyen el conocimiento biotecnológico moderno o de segunda generación (por ejemplo, producción de antibióticos, vitaminas, entre otros). Actualmente, se ha llegado a hablar de biotecnología de tercera y cuarta generación, surgida en la segunda mitad del siglo XX, que permitió la manipulación de genomas para traspasar las barreras entre especies gracias a un conocimiento profundo de los fundamentos moleculares de la vida. La tercera generación de biotecnología se basa en la manipulación de moléculas de ADN para obtener organismos o productos útiles, y la cuarta generación de biotecnología se basa en el conocimiento de la secuencia de nucleótidos en el ADN y el proteoma. Todo lo expuesto anteriormente hace ver que la biotecnología responde a los problemas de un mundo globalizado, por ser interdisciplinaria y aportar soluciones innovadoras y sustentables a los problemas que son propios de las sociedades humanas de hoy (Flórez, 2010).

### **3.2 Tecnologías para la producción de hongos comestibles**

Los macromicetos han sido parte de la cultura humana durante miles de años y han sido descritas como alimento humano en las civilizaciones más importantes de la historia. Se han descrito las propiedades nutricionales de las macrobacterias, como sus propiedades anticancerígenas y antitumorales, hipocolesterolemiantes, antivirales, antibacterianas o inmunomoduladoras. Debido a la enorme capacidad de las macrobacterias para crecer en diferentes sustratos y condiciones ambientales, se ha explorado el uso de la fermentación líquida (LFF) como una herramienta para aprovechar al máximo sus cultivos. Si bien es cierto que la obtención de esporocarpos es sencilla debido a que se pueden usar diferentes sustratos (paja, pulpa de café, aserrín de pino, cascara de cacao, aserrín de encino, etc.) baratos y accesibles, el cultivo tradicional no permite obtener los bioactivos en breves periodos de tiempo (días) y con procesos de purificación sencillos (Arango y Nieto, 2013).

Desde un punto de vista biotecnológico, se entiende por fermentación al proceso mediante el cual los microorganismos utilizan la materia orgánica para producir biomasa y metabolitos en ausencia o presencia de oxígeno. La descomposición de los sustratos se lleva a cabo mediante enzimas producidas por microorganismos para este fin. La fermentación se puede clasificar en natural o artificial, según haya intervención humana en el proceso. Asimismo, también pueden clasificarse según el tipo de producto a obtener, según la presencia o ausencia de oxígeno, o según el estado del sustrato. Los principales hongos comestibles cultivados por fermentación en estado líquido son *Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus* spp., y *Flammulina velutipes* (Arango y Nieto, 2013).

Los hongos comestibles son producidos comercialmente sobre materias primas sometidas a compostaje aeróbico con diferentes combinaciones de heno, rastrojo, cáscara de semilla de algodón, olote, pasto, estiércol de pollo y de caballo, corteza de árbol, harina de semillas de algodón y de soya, desechos de destilación de etanol y yeso (Díaz, 2010).

### **3.3 Hongos comestibles en México**

En América, se ha demostrado el uso de hongos comestibles desde tiempos ancestrales. En Chile, evidencias arqueológicas de 13 000 años de antigüedad demuestran el uso de este tipo de hongos. En Perú, algunos objetos cerámicos y textiles recuperados, pertenecientes a las culturas preinca e inca, muestran imágenes de hongos como *Calvatia* spp., *Morchella* spp., *Amanita muscaria* y *Psilocybe* spp., hongos comestibles, medicinales y psicotrópicos. La cultura maya, en América Central, también elaboró algunas figuras de hongos en piedra. En México, sin embargo, existen pocas pruebas documentales del uso de los hongos antes de la llegada de los españoles ya que la mayoría de los códices prehispánicos fueron destruidos por los colonizadores quienes los consideraban una “obra del demonio” (Quiroz y Pradilla, 2018).

México es uno de los países con mayor diversidad de hongos comestibles silvestres; se consumen alrededor de 371 especies. Debido a esta diversidad fúngica es importante estudiar las especies silvestres nativas, mantener su conservación y buscar alternativas para su aprovechamiento. El estudio de los hongos comestibles silvestres puede generar grandes beneficios económicos, sociales, tecnológicos y científicos. Los hongos representan una alternativa para la seguridad

alimentaria, impulsan la producción rural de pequeños productores, y la dependencia de cepas extranjeras puede disminuir (Díaz-Talamantes et al., 2017).

Los hongos silvestres comestibles no sólo aportan sabor a los alimentos, también aportan nutrientes y propiedades medicinales. En los últimos años, se han demostrado los beneficios que brinda incorporarlos a la dieta y el interés por consumirlos ha aumentado, lo que ha incrementado la venta en los supermercados de hongos comestibles cultivados. Hoy en día muchas especies silvestres de hongos se encuentran en un estatus vulnerable debido en parte a la influencia directa o indirecta de la sociedad sobre la naturaleza. Algunas de las causas que condicionan la extinción o disminución de esas especies son: el aumento de la población humana, que trae como consecuencia el crecimiento de las ciudades y la disminución de áreas boscosas; la contaminación del ambiente, ya que los hongos por naturaleza absorben sustancias químicas incluyendo las tóxicas; y el cambio climático, que afecta la temporalidad, frecuencia e intensidad de las lluvias, de las que depende el periodo reproductivo y la distribución de los hongos (Quiroz y Pradilla, 2018).

Los hongos crudos son preparados de una forma especial; algunas veces se consumen durante la recolecta, pero en ocasiones son deshidratados al sol o preparados en salmuera para ser consumidos cuando termina la época de lluvias, actividad que es realizada exclusivamente por mujeres. Una tercera actividad es la distribución, misma que se lleva a cabo en la cocina, escenario femenino de la vida cotidiana de las comunidades indígenas. La distribución la realizan estas empezando la repartición entre los hombres del grupo familiar: primero los adultos, después los jóvenes, enseguida las mujeres jóvenes y finalmente la mujer madre-esposa. Entre la transformación y la distribución, se lleva a cabo la venta o comercialización de los hongos, que sólo está dirigida a personas que tienen contacto con los puntos de venta como los mercados, pero no son vendidos a los integrantes de la comunidad. Las mujeres mayores (de 40 a 60 años) son quienes se encargan de la venta de hongos en los mercados de pueblos y ciudades importantes (Quiroz y Pradilla, 2018).

### **3.4 Producción y cultivo de hongos en México**

La producción de hongos comestibles no afecta los valores o actividades centrales de la vida de los agricultores, ni daña el entorno ecológico de los agricultores, constituyendo así una forma alternativa de producción rural de alimentos (Martínez-Carrera et al., 1991). Por lo tanto, la

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) recomienda el establecimiento de programas de promoción del cultivo de hongos en los países menos desarrollados para reducir la deficiencia de proteínas en las dietas de sus residentes y reducir la contaminación ambiental. Su cultivo se remonta al año 1000 dC en países asiáticos, dedicándose al cultivo, desarrollo, ensayo, trueque y comercialización de setas y sus variedades. Hay registros en Estados Unidos en 1880, en Canadá en 1912 y en México en 1933, en un rancho cerca de Texcoco, México. A México le siguieron posteriormente varios países de Latinoamérica como Colombia, Brasil y Chile. A diferencia de otros países donde el cultivo de hongos comestibles es un negocio privado, su evolución en México ha tenido dos vertientes principales: el desarrollo industrial privado y la producción rural por el sector social, esta última vertiente es la más reciente, generándose a partir de 1989 mediante el desarrollo del modelo sostenible de producción rural de hongos comestibles (Martínez-Carrera et al., 2016).

El cultivo de hongos en México es parte del sector primario donde se agrupan también actividades económicas agrícolas, pecuarias, pesqueras y silvícolas y la minería, el cultivo de hongos se deriva del manejo forestal donde se aprovechan los productos maderables y no maderables (Martínez-Carrera et al., 2007). En Mesoamérica, los hongos estaban presentes en la alimentación de diferentes civilizaciones, los aztecas los denominaban “nanacatl”, vocablo del náhuatl que significa carne. La producción anual de hongos y setas en México supera las 1,400 toneladas, siendo el Estado de México el principal productor (Espinosa y Munguía, 2017).

### **3.5 La biotecnología de hongos comestibles**

La biotecnología es fundamental para el desarrollo de técnicas rentables y productivas para la obtención de metabolitos, tal como lo es la producción de hongos por cultivo tradicional. Según lo reportado, los metabolitos secundarios producidos por los macromicetos les confieren propiedades nutricionales especiales, en su mayoría se aíslan de basidiocarpos, y algunos de estos compuestos se extraen actualmente para la producción farmacéutica comercial. Estos compuestos se pueden aislar a partir de vectores de micelio y árboles frutales, así como a partir de medios gastados que son obtenidos en forma de virutas y se esterilizan para el cultivo de hongos. Entre ellos se encuentran los glucanos, enzimas, polisacáridos, ácidos grasos, polifenoles, flavonoides y terpenoides. Investigaciones recientes han demostrado que las proporciones de estos compuestos varían con la etapa de crecimiento del hongo y el medio de cultivo. También se pueden distinguir

dos tendencias en la biotecnología de hongos comestibles y medicinales, las cuales son la biotecnología aplicada y la biotecnología moderna. La biotecnología aplicada en hongos comestibles se ha originado de las técnicas tradicionales, enriquecidas con innovaciones biológicas, mecánicas y locales derivadas de un contexto social, económico y ecológico. En cambio, la biotecnología moderna se ha desarrollado y visto fortalecida con poderosas tecnologías que permiten el estudio y manipulación directa del material genético de los hongos comestibles y medicinales, concretamente del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Martínez-Carrera et al., 2006).

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

Los hongos tienen usos ornamentales, medicinales, industriales, ceremoniales, insecticidas y comestibles, entre otros (Zamora-Martínez, 1999). 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. 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. Algunos géneros que han sido empleados para el tratamiento en alrededor de 100 padecimientos son los siguientes: *Fomitopsis*, *Laetiporus*, *Inonotus*, *Phellinus*, *Calvatia*, *Langermannia*, *Lycoperdon*, *Armillaria*, *Bovista*, *Pycnoporus*, *Calocybe*, *Lentinula*, *Lepista*, *Pleurotus*, *Trametes*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Flammulina*, y *Hericiium* (Galván et al., 1997).

En tiempos actuales, un gran porcentaje de la población se ha interesado por mejorar su calidad de vida mediante el uso de productos naturales y una buena alimentación. El uso de extractos y compuestos bioactivos a partir de los hongos comestibles y medicinales, es objeto de intenso estudio y muestra resultados alentadores en la terapia antitumoral. Estos se consumen en algunos países como suplemento nutricional y cada día tienen una mayor aceptación (Quiroz y Pradilla, 2018).

### **3.7 Beneficios del consumo de hongos en la salud**

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 le 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 un valor nutritivo igual al de algunos alimentos ricos en proteínas y fibras (Roberfroid, 1999). Actualmente, el uso de los macromicetos se ha extendido en todo el mundo debido al gran valor alimenticio y al potencial medicinal, por lo que también son llamados nutraceuticos. Es decir, son alimentos que han revolucionado el mercado por ser ingredientes o compuestos bioactivos de origen natural que se usan como complementos en la dieta. Estos productos tienen como propósito mantener la salud, prevenir y tratar enfermedades e incrementar la calidad de vida (Meléndez-Sosa et al., 2020).

Las propiedades funcionales de los hongos comestibles y medicinales pueden concentrarse mediante extractos acuosos y alcohólicos, de los cuales pueden obtenerse lectinas y polisacáridos de alto peso molecular, tales como  $\alpha$ -glucanos,  $\beta$ -glucanos, heteroglicanos, proteoglicanos 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., 2016).

Comer frutas, verduras, tomar vino tinto y jugos frutales puede prevenir diversas enfermedades, como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Los antioxidantes contenidos en dichos alimentos eliminan los radicales libres, que causan daño oxidativo a los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Los compuestos fenólicos presentes en frutas y verduras son los principales compuestos bioactivos asociados con la inhibición de la aterosclerosis y el cáncer. Las actividades biológicas de los compuestos fenólicos pueden estar relacionadas con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y eliminar los radicales libres. Los antioxidantes presentes en los hongos comestibles son de gran interés como posibles agentes protectores para ayudar al cuerpo humano a reducir el daño oxidativo sin ninguna interferencia (Sánchez, 2017).

### **3.8 Alimentos funcionales**

El término alimento funcional fue acuñado en Japón en la década de 1980 para definir alimentos con funciones o actividades biológicas. También en el país se aplica el concepto de Alimentos para Usos Específicos en Salud (FOSHU) a los Alimentos para Usos Específicos en Salud. Sin embargo, en la actualidad, no existe una definición oficial aceptada mundialmente para los alimentos funcionales. En Estados Unidos, expertos del Institute of Food Technology (IFT) en

alimentos establecieron que los alimentos funcionales describen alimentos y sus componentes que proveen nutrientes esenciales necesarios para el mantenimiento, el crecimiento y el desarrollo normal y/o producen beneficios para la salud o tienen los otros componentes bioactivos que actúan fisiológicamente requeridos. En el caso de Europa, de acuerdo con el Instituto de Fermentaciones (IFI), un alimento funcional es aquel que ha demostrado satisfactoriamente afectar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, en una forma relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad. Respecto a México, no existe una definición oficial pero la Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO) propone un concepto similar al establecido por Europa (Flores et al., 2017).

### **3.9 El ácido acetilsalicílico**

El ácido salicílico (AS) es un metabolito secundario sintetizado naturalmente por las plantas como mecanismo de defensa contra el ataque de patógenos y el estrés ambiental. Sin embargo, cuando se suministra de forma exógena en bajas concentraciones, mejora varios procesos fisiológicos y bioquímicos que afectan el rendimiento de los cultivos, lo que indica su uso potencial en la producción agrícola. Esto de la misma forma que su análogo el ácido acetilsalicílico (AAS), comúnmente conocido como aspirina el cual, aunque no ha sido identificado como un producto vegetal natural, se ha empleado en algunas investigaciones como sustituto de AS, sin ningún riesgo de fitotoxicidad y con similares efectos (Tucuch-Haas et al., 2021).

En el Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CB-HCFM), se han realizado diversos estudios empleando el AAS como modulador del crecimiento y de las propiedades funcionales y medicinales. Sólo por mencionar algunos, que añadiéndolo al substrato de cultivo de *Ganoderma lucidum*, moduló las propiedades de los extractos obtenidos a partir de basidiomas maduros a través de la expresión génica (Meneses et al., 2016). Otro estudio fue el de Romero-Córdoba y colaboradores (2021), en el cual presentaron un perfil completo del transcriptoma hepático y renal de ratones C57BL/6 bajo el consumo de una dieta alta en colesterol y dos extractos de *Ganoderma lucidum* estandarizados obtenidos de basidiocarpos cultivados en substrato convencional (*Gl-1*) o substrato adicionado con ácido acetilsalicílico (ASA; *Gl-2*).

### **3.10 Antioxidantes**

Los antioxidantes pueden eliminar o bloquear los radicales libres, e inhibir la peroxidación lipídica. La actividad de los compuestos antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de su estructura química (Avello y Suwualsky, 2006). Recientemente, se está demostrando con distintos trabajos de investigación *in vitro* e *in vivo* junto con trabajos epidemiológicos, que los antioxidantes son agentes preventivos y reparadores de enfermedades crónicas y degenerativas y que pueden ser claves para mejorar el estado de salud y el bienestar social (Arevalillo, 2004).

Los antioxidantes son importantes para mantener la salud humana y, en consecuencia, existe un interés creciente por determinar la capacidad antioxidante de los alimentos y bebidas. Los hongos comestibles contienen compuestos bioactivos con propiedades funcionales y medicinales. Son una fuente natural de antioxidantes y ayudan a prevenir el estrés oxidativo cuando se integran en la dieta. Los hongos también son un alimento único porque su capacidad antioxidante está naturalmente asociada con propiedades antimicrobianas (Adebayo et al., 2018).

### **3.11 Compuestos bioactivos**

Debido a la importancia de los prebióticos en la salud, estudios recientes han encontrado otras fuentes potenciales de obtención de los mismos. Los hongos tienen un alto potencial como prebióticos, ya que contienen carbohidratos como quitina, hemicelulosa,  $\alpha$  y  $\beta$  glucanos, mananos, xilanos y galactanos. La quitina es un polisacárido insoluble en agua y se encuentra entre el 80 y 90% del material seco de la pared celular de los hongos; son indigeribles por el humano y juega el rol de fibra dietética (Yuichi et al., 2012).

Entre los compuestos bioactivos de los hongos, los polisacáridos son los que presentan mayor actividad antitumoral, antiviral e inmunomoduladora (Mizuno y Nishitani, 2013). Los polisacáridos biológicamente activos se pueden encontrar en los esporocarpos, en el micelio cultivado, e incluso ser extraídos del medio donde se cultivan. Existen numerosos estudios, tanto *in vivo* como *in vitro*, en los que se han aislado  $\beta$ -glucanos y complejos polisacáridos-proteína de diferentes hongos y se ha demostrado que éstos tienen importantes propiedades biológicas como agentes inmunomoduladores, antitumorales, hipoglicémicos y antioxidantes (Palacios, 2015).



Numerosos trabajos que se han llevado a cabo en varias especies de hongos comestibles, incluyendo *Grifola frondosa*, *Hericiium erinaceus*, *Lentinula edodes*, y *Pleurotus ostreatus*, entre otras, han mostrado que sus extractos acuosos y metanólicos son ricos en compuestos fenólicos y que tienen una alta capacidad antioxidante *in vitro* (Mau et al., 2002; Elmastas et al., 2007).

### 3.12 *Hericiium erinaceus*

*Hericiium erinaceus* (Figura 1) es un hongo comestible y medicinal con potenciales efectos neuroprotectores. El estudio de *H. erinaceus* ha generado una atención considerable durante los últimos 10 años, particularmente con respecto a su utilidad en el tratamiento de la disfunción motora, la enfermedad de Alzheimer y otras formas de demencia (Rossi et al., 2018). El esporocarpio o cuerpo fructífero se encuentra ampliamente en la naturaleza y se puede obtener mediante cultivo controlado. El micelio generalmente se produce a partir de la cepa de *H. erinaceus* mediante fermentación sumergida en medio artificial, y el caldo de cultivo se recoge del medio fermentado de micelio. En las últimas décadas, se han aislado grandes cantidades de metabolitos como erinacinas, erinacerinas, erinaceolactonas, glicoproteínas, polisacáridos y esteroides del cuerpo fructífero de *H. erinaceus*, y se han revisado exhaustivamente las propiedades promotoras de la salud del cuerpo fructífero (Wang et al., 2019).



**Figura 1.** Esporocarpio o basidiocarpio fresco de *Hericiium erinaceus*.

### 3.12.1 Características morfológicas y taxonomía

*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers., 1797, es un basidiomiceto perteneciente a la familia Hericiaceae, orden Russulales, y clase Agaricomycetes. En el Cuadro 1, se ofrece una descripción general de los sinónimos de *H. erinaceus*. Incluso en la literatura actual, el epíteto a menudo sigue estando mal escrito como "erinaceum" gramaticalmente incorrecto, en particular por no especialistas. El nombre fue propuesto por Bulliard, evidentemente porque el hongo le recordaba a este animal. Esto también se refleja en el nombre alemán "Igel-Stachelbart" y algunos nombres comunes en inglés como "Bearded Hedgehog" y "Hedgehog Mushroom. Sin embargo, al hongo se le han dado muchos otros nombres comunes, los cuales están relacionados con la conspicua macromorfología de los basidiomas. En Japón, *H. erinaceus* se conoce como "Yamabushitake"; Yamabushi significa literalmente "sacerdote de la montaña". En China, el hongo se conoce con el nombre Houtou, que significa "cabeza de mono". Este hongo también se conoce como "Melena de león", "Hongo de mono", "Cabeza de oso", "Hongo de cabeza de cerdo", "Barba blanca", "Barba de anciano", "Pom Pom" y "Diente barbudo" en otras partes del mundo. *H. erinaceus* es fácil de identificar ya que sus basidiomas conspicuos consisten en numerosas espinas carnosas colgantes, típicamente largas, que son al principio blancas, se vuelven amarillentas y luego marrones con la edad (Thongbai et al., 2015).

#### **Cuadro 1.** Resumen de sinónimos taxonómicos para *Hericium erinaceus*.

---

*Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. 1797

Variedades y formas (todas sinónimas)

*Hericium erinaceus* f. *caput-medusae* (Bull.) Nikol.

*Hericium erinaceus* subsp. *erinaceo-abietis* Burds., O.K. Mill. and Nishij.

*Hericium erinaceus* subsp. *unguiculatum* Pers.

*Hericium erinaceus* var. *sulphureum* Pers.

*Hericium erinaceus* var. *viridescens* Pers.

Synonyms

*Clavaria erinaceus* (Bull.) Paulet.

*Dryodon erinaceus* (Bull.) P. Karst.

*Clavaria conferta* Paulet

*Dryodon caput-medusae* (Bull.) Quéf.

**Continuación Cuadro 1.** Resumen de sinónimos taxonómicos para *Hericiium erinaceus*.

---

*Dryodon juranus* Quél.

*Hericiium caput-medusae* (Bull.) Pers.

*Hericiium echinus* (Scop.) Pers.

*Hericiium grande* Raf.

*Hericiium hystrix* Pers.

*Hericiium unguiculatum* (Pers.) Legon and A. Henrici

*Hydnum caput-medusae* Bull.,

*Hydnum echinus* (Scop.) Fr.

*Hydnum erinaceus* Bull.

*Hydnum grande* (Raf.) Steud.

*Hydnum hystricinum* Batsch,

*Hydnum hystrix* (Pers.) Fr.

*Hydnum juranum* (Quél.) Sacc. and D. Sacc.

*Hydnum omasum* Panizzi

*Hydnum unguiculatum* (Pers.) Streinz

*Manina cordiformis* Scop.

*Martella echinus* Scop.

*Martella hystricinum* (Batsch) Kuntze

*Martella hystrix* (Pers.) Lloyd

*Merisma caput-medusae* (Bull.) Spreng.

*Merisma hystrix* (Pers.) Spreng.

*Steccherinum quercinum* Gray

---

Fuente: Thongbai et al., 2015.

### 3.12.2 Substratos empleados para su producción

*Hericiium* fue domesticado por científicos de la Academia de Ciencias Agrícolas de Shanghái, y de ahí fue difundida la técnica de su cultivo a otros lugares. Hoy en día es cultivado en bolsas de plástico, en una variedad de substratos como lo son: bagazo de caña de azúcar, aserrín, cáscaras de semillas de algodón, olote y paja picada de arroz suplementados con arroz, salvado de trigo, sacarosa, yeso, y algunas veces con ingredientes adicionales. Las cáscaras de la semilla de algodón han sido consideradas por algunos como el mejor material para cultivar el hongo cabeza de mono

en cualquier región aldononera, porque su costo es bajo, es fácil de preparar y presenta un alto rendimiento (Liu, 1981). Actualmente, es principalmente producido en China. Su producción anual fue estimada en 2,800 toneladas en 1998 y 9,547 toneladas en 2001 (Rendón-Hernández, 2015).

*H. erinaceus* ha sido cultivado en distintos substratos, como lo son: aserrines de pino, roble, haya, abedul, caucho y mezclas de aserrín suplementados con salvado de trigo, así como también en paja de trigo y arroz, paja de centeno, bagazo de caña de azúcar, cascarillas de semillas de algodón y olote (Liu, 1981; Stamets, 2000; Siwulski y Pawlak, 2005; Hyunjong y Thatithatgoon, 2005; Hassan, 2007; Siwulski et al., 2009) incluidos medios artificiales, pero también substratos baratos como residuos agrícolas y suero de tofu. El hongo se puede cultivar a gran escala en substratos económicos, lo que es favorable para la producción en masa.

### 3.12.3 Valor nutricional

Los hongos comestibles son aclamados como un alimento delicioso y muchos los consideran un manjar. Además de su gran sabor, son un alimento muy completo porque contienen más proteínas que el arroz, el trigo y la leche. Por otro lado, las proteínas presentes son de alta calidad ya que contienen todos los aminoácidos esenciales que requiere el ser humano, entre ellos metionina, lisina y triptófano, a diferencia de la proteína de origen vegetal, que frecuentemente carece o tiene una baja cantidad de algunos aminoácidos esenciales (Espinosa y Munguía, 2017).

**Cuadro 2.** Composición nutricional de extracto de *Hericiium erinaceus*.

Analito	Resultado	Unidad
Calorías	2.23	Kcal/g
Proteína cruda	8.25	% wt
Grasa cruda	0.17	% wt
Fibra cruda	5.92	% wt
Polisacáridos/glucanos totales	>45	% wt
Sodio	0.0146	% wt

Fuente: Evidencia basada en medicina complementaria y alternativa (Brandalise et al., 2017).

**Cuadro 3.** Composición nutricional del micelio de *Hericiium erinaceus*.

Analito	Resultado	Unidad
Calorías	1.98	Kcal/g
Proteína cruda	10.22	% wt
Grasa cruda	1.02	% wt
Fibra cruda	39.2	% wt
Polisacaridos/glucanos totales	>37	% wt
Sodio	0.0031	% wt

Fuente: Evidencia basada en medicina complementaria y alternativa (Brandalise et al., 2017).

### 3.12.4 Propiedades funcionales y medicinales

Los científicos han prestado mayor atención al potencial terapéutico de los hongos medicinales para su uso como agentes antimicrobianos y antioxidantes y como un recurso natural alternativo en la quimioprevención y la prevención de la diabetes (Thongbai et al., 2015).

Hoy en día el hongo comestible *Hericiium erinaceus* es catalogado como un alimento con potencial funcional muy alto debido a su capacidad para mejorar algunos funcionamientos biológicos de los seres humanos, como son su actividad antioxidante, la regulación de los niveles de lípidos en la sangre, y la reducción de los niveles de glucosa en la sangre, además de que es utilizado en platillos convencionales en países asiáticos. Los polisacáridos de este hongo pueden tener efectos en úlceras gástricas, cáncer esofágico, hepatitis y cáncer de piel. Asimismo, se han realizado pruebas antimicrobianas y sus propiedades antioxidantes, tanto en el micelio como en los basidiocarpos de esta especie (Rendón-Hernández, 2015). Las aplicaciones más importantes de *Hericiium erinaceus*, se resumen a continuación.

#### a) Actividades antitumorales e inmunomoduladoras

Los polisacáridos crudos solubles en agua de *H. erinaceus* han demostrado ser eficaces contra líneas de células tumorales *in vitro*, por ejemplo, contra hepatocitos malignos, carcinoma mamario, linfoma y cáncer de esófago. Resultados diversos indicaron un efecto antitumoral de los polisacáridos de *H. erinaceus* mediante la activación de diferentes células inmunes, como la

expresión de citocinas (IL-1 $\beta$  y TNF- $\beta$ ) y mediante la activación de la producción de óxido nítrico (NO).

Los polisacáridos derivados de cultivos miceliales sumergidos de *H. erinaceus*, también se han reconocido como posibles agentes anticancerígenos. Además, varios estudios demostraron que los extractos acuosos y orgánicos tienen efectos inmunomoduladores, y el modo de acción de ambas actividades mencionadas parecen basarse en los mismos objetivos bioquímicos. Los  $\beta$ -glucanos extraídos de un cultivo micelial sumergido de *H. erinaceus* mostraron importantes propiedades anticancerígenas en sistemas animales (Thongbai et al., 2015).

b) Síndrome metabólico: actividades antihiper glucémicas y antihipercolesterolémicas

Algunas especies se utilizan como alimentos funcionales con efectos antidiabéticos o para la prevención dietética de enfermedades cardiovasculares, que son una de las principales causas de muerte tanto en los países occidentales, como en aquellos de Asia Pacífico. Varios estudios han demostrado efectos antihiper glucémicos y antihiperlipidémicos significativos en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina, alimentadas con metanol y extractos acuosos de *H. erinaceus*. Aunque aún no se dispone de estudios clínicos en humanos, los estudios anteriores indican el gran potencial de *H. erinaceus* para tratar trastornos metabólicos y prevenir enfermedades cardiovasculares (Thongbai et al., 2015).

c) Actividad neuroprotectora

El factor de crecimiento nervioso (NGF) es una proteína muy conservada fundamental para la supervivencia que participa en la prevención de la muerte neuronal y la promoción del crecimiento de neuritis, apoya la formación de sinapsis y mejora la función de la memoria, y también es esencial para mantener y organizar la función neuronal. *Hericiium erinaceus* muestra una acción sobre el tejido nervioso en ensayo *in vitro*. Los extractos de *H. erinaceus* mostraron capacidades para promover el desarrollo normal de células cerebelosas cultivadas y demostraron un efecto regulador sobre el proceso de génesis de la mielina. La administración dietética de tabletas de 250 mg de polvo de *H. erinaceus* al 96% también resultó en la prevención de la demencia y la disminución del deterioro cognitivo de los déficits espaciales a corto plazo y de memoria en ratones del Instituto de Investigación del Cáncer (ICR), inducidos por el péptido  $\beta$ -amiloide (Thongbai et al., 2015).

#### d) Actividad antimicrobiana

Se ha demostrado que *H. erinaceus* es una fuente de varios agentes antimicrobianos. Se demostró que los compuestos de tipo fenol y ácido graso de los extractos de *H. erinaceus* tienen actividad antifúngica y antibacteriana. En la década del 2000, se informó que otros compuestos antimicrobianos de *H. erinaceus* eran activos contra hongos y protozoos, así como contra varias bacterias patógenas gram positivas y gram negativas. Kim y colaboradores (2012) encontraron metabolitos del cuerpo fructífero de *H. erinaceus* con actividad antimicrobiana efectiva en un ensayo *in vivo* contra el crecimiento de *Salmonella* mediante la estimulación del sistema inmunológico. Se encontró un efecto inhibitorio directo de extractos de etanol y acetato de etilo de esporocarpos de *H. erinaceus* contra *Helicobacter pylori*, en pacientes asociados con gastritis crónica y úlceras gástricas (Thongbai et al., 2015).

#### e) Actividades antioxidantes y antienvjecimiento

Se han realizado estudios para investigar las propiedades antioxidantes de *H. erinaceus*. Otro estudio informó sobre las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos de los esporocarpos y el micelio. Los extractos miceliales mostraron el mayor contenido fenólico total y el mayor poder antioxidante reductor férrico (FRAP). Los extractos de fructificación, tanto frescos como secados al horno, contenían compuestos fenólicos con actividades antioxidantes. Los resultados de la preadministración de los  $\beta$ -glucanos de *H. erinaceus* mostraron un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes y una disminución del nivel de peroxidación lipídica. Estos resultados sugirieron que los extractos de *H. erinaceus* pueden ser una buena fuente para aumentar las actividades de las enzimas antioxidantes en los seres humanos. Xu y colaboradores (2010) también encontraron que los  $\beta$ -glucanos de *H. erinaceus* mostraron importantes propiedades antienvjecimiento de la piel.

#### f) Otros usos terapéuticos y actividades biológicas de los metabolitos de *Hericiium*

Los diferentes metabolitos bioactivos derivados de *H. erinaceus* son seguros para su uso como productos farmacéuticos y suplementos dietéticos debido a los efectos secundarios mínimos de los compuestos de origen natural. La mayoría de las propiedades potenciales de los extractos de *H. erinaceus* de esporocarpos, se han estudiado en modelos animales durante casi tres décadas. Se ha demostrado que los efectos citoprotectores de los esporocarpos liofilizados de *H. erinaceus* son

eficaces contra la lesión de la mucosa gástrica inducida por etanol en ratas. El extracto de *H. erinaceus* se investigó para el síndrome de dificultad respiratoria aguda en un estudio de caso de un hombre de 63 años que ingresó en el hospital para cuidados intensivos y sufría de insuficiencia respiratoria aguda grave con infiltración difusa en ambos pulmones. La actividad bioactiva de la hericenona B del cuerpo fructífero también ejerce una acción antiplaquetaria. *H. erinaceus* también contiene sustancias biológicamente activas que mostraron actividades sobre el crecimiento de las plantas. Hericerin (52), por ejemplo, mostró actividad contra la germinación del polen de pino y el crecimiento de polen de té (Thongbai et al., 2015).



#### IV. MATERIALES Y MÉTODOS

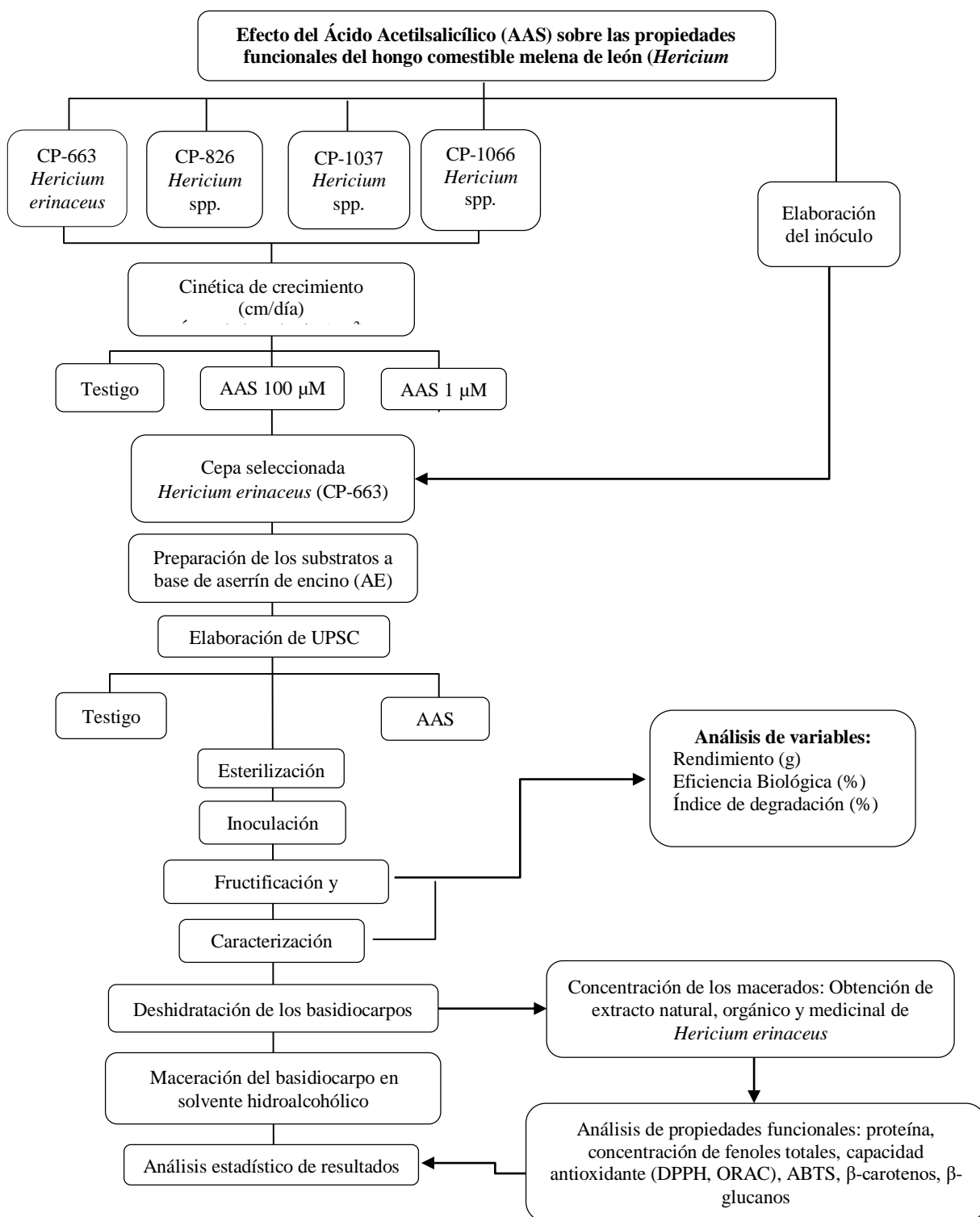


Figura 2. Diagrama general de la metodología establecida para la investigación.

## 4.1 Material biológico

Las cepas de *Hericiium* utilizadas para este trabajo se encuentran depositadas en la Plataforma de Investigación Científica, Tecnológica y de Innovación (P-ICTI-1) de Recursos Genéticos del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CB-HCFM) del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla, las cuales están identificadas con las claves CP-663, CP-826, CP-1066, y CP-1037 (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Material biológico utilizado y depositado en CB-HCFM del Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla.

Género	Clave	Procedencia
<i>Hericiium erinaceus</i> (Bull.) Pers. 1797	CP-663	Comercial
<i>Hericiium</i> spp.	CP-826	Comercial
<i>Hericiium</i> spp.	CP-1066	Comercial
<i>Hericiium</i> spp.	CP-1037	Morelos, México

## 4.2 Preparación de los medios de cultivo para propagar los hongos de estudio

Una vez seleccionadas las cepas de estudio, se prepararon los medios de cultivo: EMA (Agar con Extracto de Malta), PDA (Agar con Dextrosa y Papa), y CYM (Medio Completo de Levadura), utilizados para propagar en cajas de Petri las cepas CP-663, CP-826, CP-1066, y CP-1037 de *Hericiium*. Los medios se elaboraron siguiendo las indicaciones de acuerdo al fabricante, y se prepararon los tratamientos adicionando el ácido acetilsalicílico (SIGMA) a concentraciones de 100  $\mu$ M y 1  $\mu$ M.

## 4.3 Cinética de crecimiento y área de la colonia

### 4.3.1 Inoculación de los tratamientos

Del inóculo preparado anteriormente, se cortaron círculos de 5 mm de diámetro con ayuda de un popote estéril. Dichos círculos, se colocaron en el centro de la caja de Petri (Samuels et al., 2002). Todas las cajas una vez inoculadas selladas y rotuladas, se incubaron a temperatura ambiente.

### 4.3.2 Caracterización de las cepas estudiadas

Se realizó una descripción de las características morfológicas de cada cepa (n= 5). Las variables que se evaluaron se describen en el Cuadro 5.

**Cuadro 5.** Características morfológicas del crecimiento micelial de la colonia al final de la cinética.

Variables	Características
Color	Tabla de colores (Royal Horticultural Society, 2015, Londres)
Textura	Lanosa, algodonosa, pulverulenta, aterciopelada, postrada
Densidad	Escaso, regular, abundante
Micelio aéreo	Escaso, abundante

### 4.4 Cinética de crecimiento y área de la colonia

Para calcular el crecimiento micelial se tomaron fotografías de cada una de las cepas y sus tratamientos al tiempo 0, 7, 14 y 21 días. Las cajas de Petri se colocaron sobre una superficie plana con fondo negro y una regla metálica como escala. Cada una de las imágenes se ordenó por día de incubación, número de cepa y tratamientos. Para obtener los datos correspondientes, se utilizó el programa ImageJ, 1.47v (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, E.U.A.), se procesaron las fotografías y se realizó la medición correspondiente. De acuerdo a Fernández (2015), la cinética de crecimiento (cm) se midió de manera lineal desde el extremo final del punto del inóculo, hasta el borde de la colonia y el área de la colonia (cm<sup>2</sup>) se midió rodeando todo el micelio formado en la caja de Petri. Finalmente, los datos fueron guardados en una hoja de Excel y se obtuvo el promedio y la desviación estándar de cada una de las réplicas por cepa (n= 5).

## 4.5 Cultivo de hongo *Hericiium erinaceus*

### 4.5.1 Preparación de inóculo para cultivo en substrato sólido e incubación de semilla

Para la elaboración de la semilla, se siguió el procedimiento de acuerdo a los protocolos del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CB-HCFM), en donde se pusieron a hidratar granos de trigo por 20 minutos. Posteriormente, los granos de trigo se dejaron en reposo por 20 minutos, pasando ese tiempo se colocaron en una tina para eliminar el exceso de humedad y enfriar la semilla, con ayuda de una pala se removió por 10 minutos para acelerar el proceso. Una vez que la semilla tuvo la humedad adecuada, se agregaron 5 g de cal y 20 g de yeso por cada kg de trigo en peso seco, se mezcló bien y se vertió en frascos de vidrio. Finalmente, los frascos con la semilla de trigo se colocaron en una autoclave para el proceso de esterilización a una temperatura de 121°C durante 1 hora y 30 minutos. Pasado el tiempo, se dejaron enfriar los frascos a temperatura ambiente por 24 horas para después inocularlos, en este proceso se hicieron crecer los hongos previamente inoculados en cajas de Petri en el medio de cultivo EMA, añadiendo el micelio de la cepa CP-663 en los frascos con semilla, dejándolos incubar por 15 días hasta que el micelio cubriera por completo la semilla (Figura 3).



**Figura 3.** Preparación de inóculo o semilla para cultivo en substrato sólido. A: Inóculo de *Hericiium erinaceus* en medio EMA. B: Siembra de inóculo en semilla. C: Inoculación de semilla para substrato.

### 4.5.2 Preparación de las Unidades de Producción Sembradas para Cosechar (UPSC)

El substrato sólido que se eligió para *Hericiium erinaceus* fue aserrín de encino. Se prepararon 20 unidades de producción de un kilo, fueron embolsadas y se pasaron a un esterilizador de vapor

(STERIVAP HP IL 12622), a una temperatura de 122°C por 20 minutos dejándose enfriar por 12 horas antes de la inoculación (Figura 4).



**Figura 4.** Preparación de las unidades de producción sembradas para cosechar (UPSC) en medio sólido. A: Embolsado de sustrato para esterilización. B: Esterilización de sustrato en STERIVAP. C: Enfriado de UPSC para inoculación.

#### 4.5.3 Inoculación e incubación del sustrato estéril

Las bolsas con sustrato estéril se inocularon con 200 g de semilla y se homogeneizó por toda la bolsa para obtener una mejor colonización (Figura 5). Cada una de las bolsas fue sellada con ayuda de un sellador termoelectrónico (Brother®, E.U.A.), para evitar la contaminación y la pérdida de humedad. Finalmente, las UPSC fueron incubadas en la plataforma (P-ICTI-2) de Producción de Unidades de Semilla (US) y Unidades Sembradas para Cosechar (UPSC) a una temperatura de 20.3°C y una humedad del 26% hasta que se observó la presencia de primordios de fructificación de *Hericium*.



**Figura 5.** Inoculación e incubación del sustrato estéril. A: Incorporación de semilla en sustrato estéril. B: Incubación de sustrato en área autorizada. C: Aparición de primordios.

#### 4.5.4 Fructificación de las UPSC

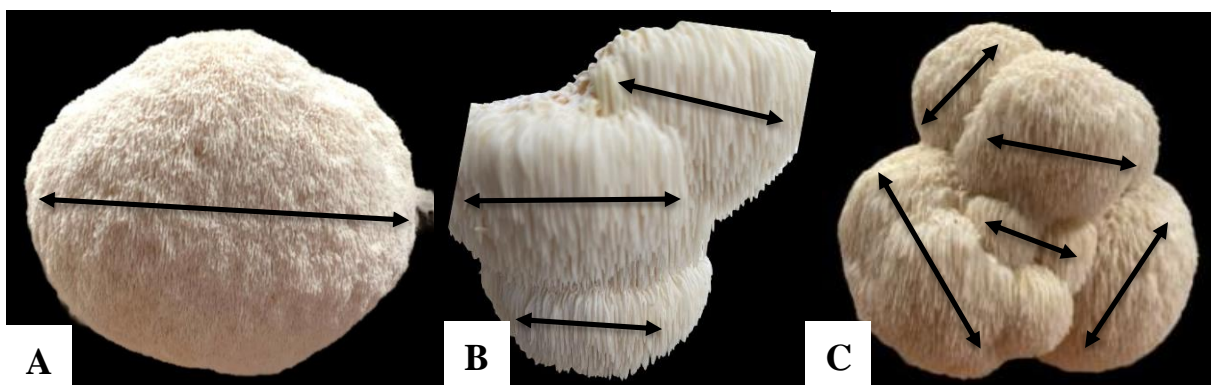
Al concluir el tiempo de incubación las unidades de producción sembradas para cosechar (UPSC), se trasladaron al módulo de fructificación. De acuerdo a Rendón (2015), cada una de las bolsas se mantuvo en un rango de temperatura de 14°C y 23°C, con una humedad relativa superior al 65% (Figura 6). Una vez desarrollados los esporocarpos se cosecharon y caracterizaron.



**Figura 6.** Unidades de producción sembradas para cosechar (UPSC) en el módulo de fructificación.

#### 4.5.5 Caracterización de los basidiocarpos

Para la CP-663 de *H. erinaceus*, se registró el peso fresco por unidad en una báscula digital (Rhino<sup>®</sup>, México), la caracterización de acuerdo con el protocolo del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CB-HCFM), fue en base a tamaño por grupo de espinas (Figura 7) las cuales se midieron con una regla graduada de metal marca ACME lemus<sup>®</sup> 1023 (México) y por color (Royal Horticultural Society, 2015, London), olor, frescura y apariencia.



**Figura 7.** Análisis de los grupos de espinas de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus*. A: Un solo grupo. B: Dos o más grupos. C: Tres o más grupos

#### 4.5.6 Determinación de rendimiento, eficiencia biológica (EB) e índice de degradación (ID)

La producción de los basidiocarpos se determinó mediante la siguiente formula, expresada en peso de los basidiocarpos (g):

$$R = PF$$

es decir, el rendimiento (R) es el promedio de los basidiocarpos o biomasa fresca (PF) de cada cosecha. 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 substrato utilizado multiplicado (Ps S) por 100, es decir:

$$EB = (Pf Cf / Ps S) \times 100$$

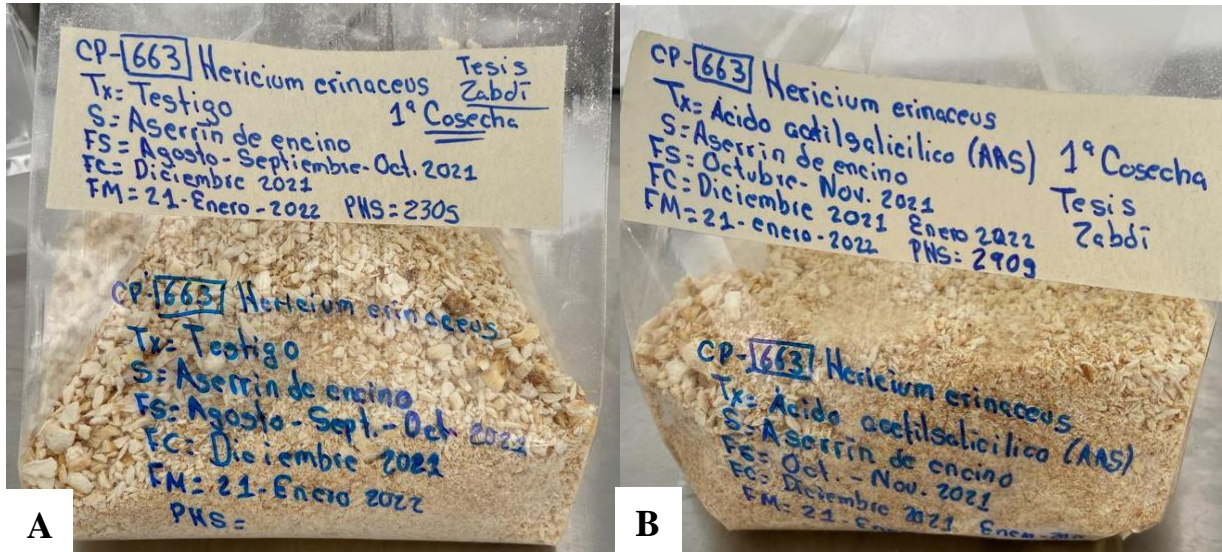
Y el índice de degradación (ID) es el resultado del peso seco inicial de la las Unidad de Producción Sembrada para Cosechar (PiUPSC), menos el peso seco final de la UPSC (PSfUPSC) entre el peso seco inicial de la unidad de producción (PSiUPSC) multiplicado por 100 (Nyochembeng, 2008).

$$ID = ((PSiUPSC - PSfUPSC) / PSiUPSC) \times 100$$

#### 4.6 Obtención de las muestras para macerados y extractos

Los basidiocarpos se seccionaron y deshidrataron en horno de secado a una temperatura de 40°C para evitar cualquier degradación de compuestos (Figura 8). Posteriormente se almacenaron en

bolsas de poliuretano selladas con la menor cantidad de aire posible y se guardaron en el área de materia prima a una temperatura de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.



**Figura 8.** Basidiocarpos deshidratados de *Herichium erinaceus*.

#### 4.6.1 Preparación de macerados

El molido de los basidiocarpos conservados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , se llevó a cabo en un molino de acero inoxidable. Se colocó la muestra molida (10 g) en sobres de papel filtro de poro medio de 7.5 cm ancho x 9.0 cm largo, los cuales fueron cosidos con hilo blanco (marca Seralón). Las muestras se colocaron dentro de frascos de boca ancha y se le agregaron 150 mL de solución hidroalcohólica al 32% v/v (Figura 9), el frasco se tapó y conservó en reposo a temperatura ambiente y en oscuridad por 24 horas.

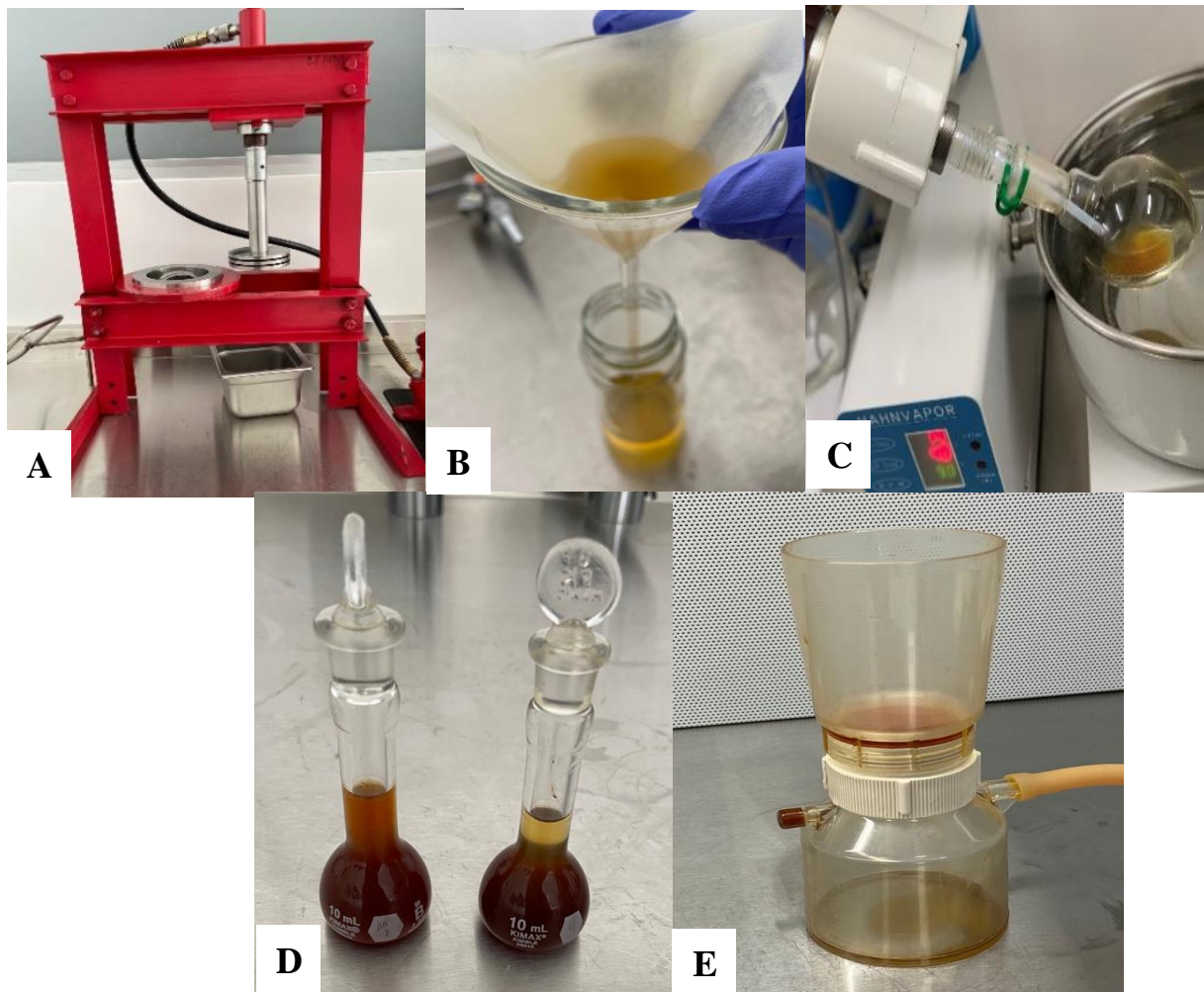


**Figura 9.** Preparación de muestra para macerados. A: Molino de acero inoxidable. B: Sobre de papel filtro con muestra. C: Muestra macerada en solución hidroalcohólica.



#### 4.6.2 Obtención de extractos

Finalizado el tiempo de maceración, el sobre de papel filtro se presionó manualmente y después con una prensa hidráulica a 2.6 toneladas de presión (manómetro 300 kg/cm<sup>2</sup>) para recuperar todo el solvente posible. El macerado obtenido se filtró con papel filtro de poro medio y se llevó a cabo la concentración en un rotavapor marca Hahn Shin Scientific a 38°C y 90 rpm hasta obtener un volumen final de 7 mL del concentrado. Posteriormente, se recuperó el extracto con una pipeta Pasteur utilizando el mismo solvente hidroalcohólico al 32% para lavar el matraz en el cual se concentró el macerado, aforando a 10 mL (n= 3) (Figura 10). Para esterilizar el extracto se utilizó un sistema Sterilfil marca Merck-Millipore, con membrana de filtro de 0.45µm. El extracto estéril se almacenó en tubos Falcon estériles de 15 mL a 4°C hasta su uso.



**Figura 10.** Proceso de obtención de los extractos. A: Prensa hidráulica. B: Filtración de macerado. C: Evaporación del solvente. D: Aforado. E: Esterilización del extracto.

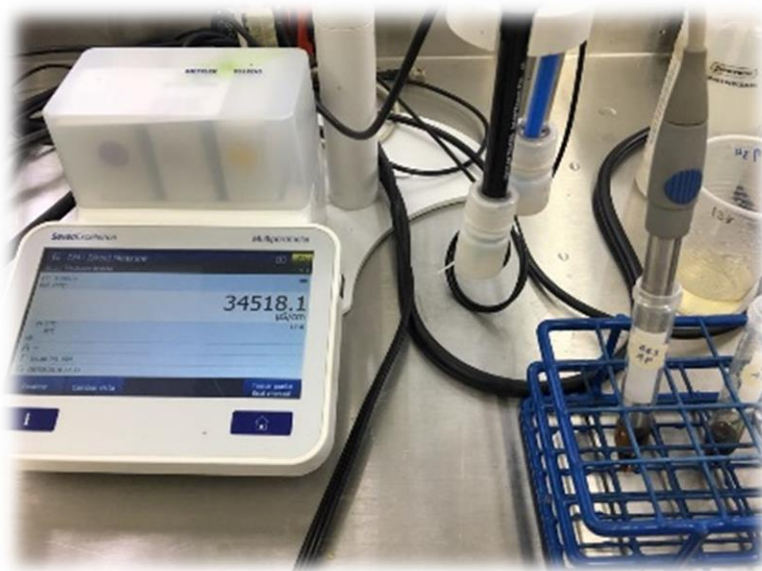
## 4.7 Caracterización fisicoquímica

### 4.7.1 Rendimiento por gravimetría

El rendimiento del extracto se evaluó pesando 200  $\mu\text{L}$  con una micropipeta de 1000  $\mu\text{L}$  marca Thermo Scientific, Finnpiptette en charolas de plástico previamente secadas en un horno de secado marca Lab-line, U.S.A. a 40°C. Posteriormente, se colocaron las charolas con la muestra en el horno de secado a 40°C por 24 horas, hasta la evaporación del solvente y peso constante. Posteriormente, se realizaron los cálculos del rendimiento en mg/mL de cada muestra.

### 4.7.2 pH, conductividad y resistividad

Se llevó a cabo la medición de pH, conductividad y resistividad, con un potenciómetro marca Mettler Toledo E.U.A, se realizaron 3 réplicas utilizando 1 mL de muestra (Figura 11).



**Figura 11.** Caracterización de extractos en potenciómetro Mettler Toledo.

### 4.7.3 Grados Brix

Para los grados Brix, se utilizó un refractómetro marca Pal-1 Profesional ATAGO 0-53 Brix 3810 (ATAGO®, E.U.A.), utilizando agua destilada para su calibración. Para la determinación se utilizaron 300  $\mu\text{L}$  del extracto ( $n=3$ ) y se colocaron en el refractómetro (Figura 12).



**Figura 12.** Medición de sólidos disueltos en refractómetro ATAGO.

#### **4.8 Análisis de las propiedades funcionales**

##### **4.8.1 Determinación de proteínas**

Este método fue propuesto por Bradford (Lehninger, 1976). Se preparó una solución stock de Albúmina de Suero Bovino (BSA por sus siglas en inglés) a una concentración 1 mg/mL en un tubo eppendorf de 2 mL, se pesó 1 mg de albúmina de suero bovino en 1 mL de agua destilada y se agitó en vortex (Heidolph Reax top, México) por un minuto. Se preparó la curva de calibración con concentraciones conocidas (0, 10, 20, 60, 80, 100  $\mu\text{g/mL}$ ), ver Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Preparación de curva de albúmina de suero bovino (Sigma).

Concentración de BSA ( $\mu\text{g/mL}$ )	Solución stock requerida ( $\mu\text{L}$ )
0	0
10	10
20	20
60	60
80	80
100	100

BSA= Albúmina de suero bovino

Las muestras a analizar también fueron diluidas en las mismas concentraciones que el BSA. La curva de calibración se arregló en las tres primeras columnas, a partir de las siguientes columnas se agregaron las muestras con réplicas ( $n= 3$ ). En cada pozo de la microplaca se colocaron 80  $\mu\text{L}$  de muestra a analizar o curva de calibración, se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de colorante (Bio-Rad protein stains). Se dejó incubar por 30 minutos y pasado el tiempo se leyó la placa en un espectrofotómetro de microplacas Multiskan SkyHigh (ThermoScientific™), a una longitud de onda de 595 nm.

#### **4.8.2 Determinación de polifenoles totales**

Para la cuantificación de los polifenoles totales en las muestras, 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.

Reactivo 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 1 mg/mL: se pesaron 0.010050 g de ácido gálico y se disolvió en 1 mL de etanol para ayudar a su disolución, se aforó a 10 mL con agua destilada.

Curva de calibración de ácido gálico: En tubos eppendorf, envueltos con papel aluminio para evitar la luz, se agregaron 0, 25, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{L}$  de la solución stock de ácido gálico (Meyer) y se completó con agua destilada a 1 mL. Dichas soluciones tuvieron una concentración de 0, 25, 50, 100, 150 y 200  $\mu\text{g/mL}$ .

En una microplaca de 96 pozos, se colocaron en orden consecutivo: 100  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu, 20  $\mu\text{L}$  de solución de ácido gálico de concentración conocida o muestra y 75  $\mu\text{L}$  de solución saturada de carbonato de sodio. La placa se incubó a temperatura ambiente y en obscuridad por 2 horas, el blanco de la muestra se obtuvo adicionando los 20  $\mu\text{L}$  del macerado y extracto después de haber pasado las 2 horas de incubación a temperatura ambiente. Al término, se leyó la placa en un espectrofotómetro de microplacas Multiskan SkyHigh marca ThermoScientific™, a una longitud de onda de 740 nm.

### 4.8.3 Determinación de la propiedad antioxidante (DPPH)

Preparación de los estándares y la muestra

A partir de una solución stock de cada estándar y la muestra en el programa Excel archivo DPPH Original, se prepararon las diluciones para determinar las curvas de concentración como se muestra en el Cuadro 7.

**Cuadro 7.** Concentración de la muestra y estándares.

BHA (µg/mL)	BHT (µg/mL)	α-tocoferol (µg/mL)	Ácido ascórbico (µg/mL)
0	0	0	0
0.25	0.25	0.25	0.25
0.5	0.5	0.5	0.5
0.75	0.75	0.75	0.75
1	1	1	1
5	5	5	5
10	10	10	10
25	25	25	25

BHA=Hidroxibutilanisol. BHT=Butilhidroxitolueno.

Preparación de la solución de DPPH: la solución del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) 0.4 mM, se realizó en un matraz completamente cubierto con papel aluminio y con metanol grado analítico. Se hicieron réplicas por columnas (n= 3), se pusieron 160 µL del extracto en sus diferentes concentraciones y 40 µL de la solución de DPPH, se incubaron en oscuridad por 30 minutos, y se leyó en el espectrofotómetro Multiskan SkyHigh marca ThermoScientific™, a una longitud de onda de 517 nm. A partir de las absorbancias obtenidas, se determinó el porcentaje de actividad antioxidante con la ecuación que se presenta en la Figura 13 (Murillo et al., 2007).

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

### 4.8.4 Determinación de la actividad antioxidante ABTS

Preparación de los estándares y la muestra

A partir de una solución stock de cada estándar y tomando en cuenta el rendimiento (mg/mL) de cada muestra a analizar, en el programa Excel archivo “ABTS Original” se prepararon las diluciones para determinar las curvas de concentración, mostradas en el Cuadro 8.

**Cuadro 8.** Estándares para la determinación de la actividad antioxidante con el reactivo ABTS.

BHA (µg/mL)	BHT (µg/mL)	α-tocoferol (µg/mL)	Ácido ascórbico (µg/mL)
0	0	0	0
0.25	0.25	0.25	0.75
0.5	0.5	0.5	0.5
0.75	0.75	0.75	0.75
1	1	1	1
5	5	5	5
10	10	10	15
25	25	25	40

BHA=Hidroxibutilanisol. BHT=Butilhidroxitolueno.

#### Generación del radical catión ABTS•+

La actividad antioxidante de ABTS se determinó espectrofotométricamente de acuerdo con un método modificado de Öztürk et al. (2011). El ABTS • + se produce por la reacción entre 7 mM de ABTS • + en agua y 2.45 mM de persulfato de potasio, almacenado en oscuridad a temperatura ambiente durante 12-16 h

#### Reacción en microplaca

Antes del uso, la solución de ABTS • + se ajusta a la absorbancia de  $0.710 \pm 0.020$  a 734 nm usando etanol al 99% en una relación de 65,67: 1 (etanol: reactivo). La solución del radical catión ABTS•+ solo es estable durante máximo dos días; por tal razón, se preparan 20 mL de solución para cada ensayo.

La oxidación de ABTS • + se lleva a cabo añadiendo 160 µL de solución ABTS • + a 40 µL de solución de muestra en etanol a diferentes concentraciones. Después de 10 min, la absorbancia se mide a 734 nm usando un lector de microplacas de 96 pozos.

#### 4.8.5 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ORAC

Para el análisis de las muestras se determinaron por las técnicas establecidas por Huang et al., (2002) en donde primero se prepararon los reactivos de buffer de fosfatos, la fluoresceína, AAPH y una curva estándar de Trolox. El ensayo se hizo en el equipo SYNERGY. BioTek Synergy HT.

#### 4.8.6 Cuantificación de β-carotenos

La actividad antioxidante mediante β carotenos se determinó por el método de blanqueamiento y lectura de la densidad óptica en un espectrofotómetro, basado en la prueba de β caroteno-linoleico (Prieto et al., 2012), con modificaciones.

A partir de una solución stock de cada estándar y tomando en cuenta el rendimiento (mg/mL) de cada muestra a analizar, en el programa Excel archivo “β-Carotenos Original” se prepararon las diluciones para determinar las curvas de concentración siendo las mostradas en el Cuadro 9.

**Cuadro 9.** Estándares para la determinación de β-carotenos.

BHA (µg/mL)	BHT (µg/mL)	α-tocoferol (µg/mL)	Ácido. Ascórbico (µg/mL)
0	0	0	0
0.25	0.25	0.25	0.25
0.5	0.5	0.5	0.5
0.75	0.75	0.75	0.75
1	1	1	1
5	5	5	5
10	10	10	15
25	25	25	40

BHA=Hidroxibutilanisol. BHT=Butilhidroxitolueno

En un matraz se colocaron 4 mg de β caroteno, 0.5 mL de ácido linoleico, 4 g de Tween 80 y 20 mL de cloroformo, la suspensión se agitó en vortex. El cloroformo se evaporó en rotavapor con

vacío a 40 °C por un tiempo de 15 minutos. El residuo aceitoso se dividió en alícuotas de 1 mL en tubos de 30 mL, los cuales se mantuvieron a -28 °C hasta su uso. Para su uso, se adicionaron 30 mL de bufer Briton 100 mM, pH de 6.5 en agua (mili-Q), previamente calentada a 45 °C. La reacción se realizó con 35 mL de la muestra a analizar (en sus diferentes concentraciones) y 165 mL del reactivo. La absorbancia se midió en tiempo 0 y 120 minutos a 517 nm. El contenido de β-carotenos se determinó con la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = A_{\text{control (-)}} - A_{\text{extracto}} / A_{\text{control}} * 100$$

Dónde: A control (-): Absorbancia del ABTS (solo) al tiempo 0. A extracto: Absorbancia de los extractos.

#### 4.8.7 Determinación de glucanos (alfa, beta y totales)

La determinación de Beta glucanos se realizó mediante el kit enzimático Megazyme para hongos y levaduras K-YGBL 12/16, siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### 4.9 Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método de microdilución para la solución exploratoria

A partir de los extractos hidroalcohólicos, se realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana. Las siguientes especies de bacterias se utilizaron para el ensayo (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Bacterias de interés clínico utilizadas para la prueba antimicrobiana de la CP- 663 de *Hericium erinaceus*.

Código	Bacteria
CPB-1	<i>Salmonella typhi</i> (BUAP) (CQ30)
CPB-2	<i>Staphylococcus aureus</i> (BUAP) (CQ35)
CPB-3	<i>Escherichia coli</i> (BUAP) (CQ37)
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i> (BUAP) (CQ39)
CPB-5	<i>Bacillus subtilis</i> (BUAP) (CQ40)



**Continuación Cuadro 10.** Bacterias de interés clínico utilizadas para la prueba antimicrobiana de la CP- 663 de *Hericiium erinaceus*.

Código	Bacteria
CPB-6	<i>Pseudomonas aeruginos</i> (BUAP) (CQ45)
CPB-7	<i>Stenotrophomonas</i> spp. (BUAP) (CQ49)
CPB-11	<i>Listeria monocytogenes</i> (Murray et al.) (ATCC19111)

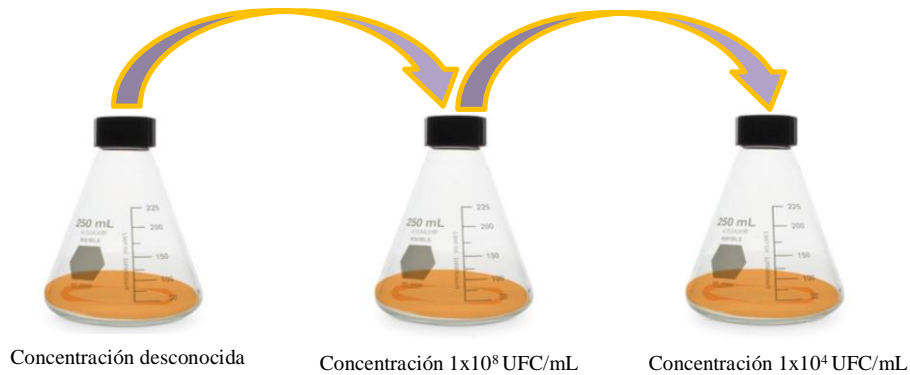
#### 4.9.1 Obtención del inóculo bacteriano

De un cultivo fresco desarrollado previamente por 24 horas a 35.5°C de cada una de las bacterias en estudio, se tomó una asada y se sembraron matraces Erlenmeyer de 125 mL con 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, este matraz se rotuló con el nombre “Matraz semilla”. De este matraz, se tomaron 100 µL con una micropipeta (Finnpipete) y se colocaron en una microplaca que se leyó en un espectrofotómetro (Multiskan SkyHigh, ThermoScientific™), a una longitud de onda de 600 nm. Con esas lecturas, se obtuvo el valor promedio que fue procesado en un programa de Excel, obteniendo el resultado en una tabla y en una gráfica, mostrando la concentración de bacterias/mL cultivadas en el matraz “semilla”. Conocida la concentración del matraz semilla se pudo determinar con la siguiente ecuación, la alícuota requerida para tener una concentración de  $1 \times 10^8$  bacterias/mL en el matraz 1.

$$\text{Concentración 1} \times \text{Volumen 1} = \text{Concentración 2} \times \text{Volumen 2}$$

$$\text{Volumen 1} = \text{Concentración 2} \times \text{Volumen 2} / \text{Concentración 1}$$

Para confirmar la concentración poblacional de las bacterias, se determinó el volumen a transferir del matraz 1 (4 µL) al matraz 2, de este último se sembraron 50 µL en cajas de Petri con medio de cultivo Agar Mueller Hinton para confirmar una población de 50 unidades formadoras de colonias (UFC), como se muestra en la Figura 13. Con dicho rango, se confirma que el matraz 1 puede usarse como inóculo para los bioensayos.



**Figura 13.** Arreglo de la cantidad de bacterias a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL para el diseño experimental y de  $1 \times 10^4$  UFC/mL para comprobar el inóculo con 50 unidades formadoras de colonias (UFC).

#### 4.9.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se procedió al llenado de la microplaca de 96 pozos (Corning) siguiendo el orden que se muestra en el Cuadro, se establecieron controles positivos para la bacteria y controles negativos para el solvente, el medio de cultivo líquido Muller Hinton y el extracto.

**Cuadro 11.** Distribución de las muestras en las microplacas.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
D1	A	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	E	E	B(-)	B(-)	B(-)	PE
D2	B	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	E	E	B(-)	B(-)	B(-)	PE
D3	C	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	E	E	B(-)	B(-)	B(-)	PE
D4	D	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	E	E	B(-)	B(-)	B(-)	PE
D5	E	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	E	E	B(-)	B(-)	B(-)	PE
D6	F	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	E	E	B(-)	B(-)	B(-)	PE
D7	G	C(+)	C(+)	C(+)	C(+)	E	E	C(-)	C(-)	C(-)	C(-)	C(-)	C(-)
	H	B(-)	B(+)	B(+)	B(+)	B(+)	B(+)	C(-)	C(-)	C(-)	C(-)	C(-)	C(-)

D= Dilución. C= Control. B= Blanco. E= Experimento. PE= Prueba de esterilidad.

Al finalizar el llenado de la microplaca, se acondicionó en un recipiente de plástico hermético con agua destilada para evitar que las muestras se evaporaran durante la incubación y mantener la humedad dentro del recipiente simulando una cámara húmeda. La microplaca se incubó por 24

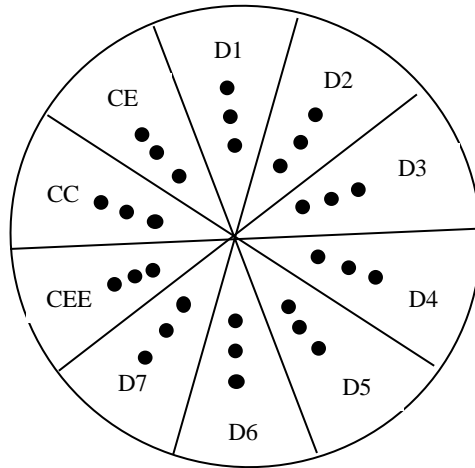
horas a 35°C, transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la lectura de la microplaca en el espectrofotómetro (Multiskan SkyHigh, ThermoScientific™), a una longitud de onda de 600 nm. Las lecturas obtenidas se procesaron en Excel para determinar si el extracto tiene efecto antimicrobiano sobre la bacteria en sus diferentes diluciones y concentraciones (Cuadro 11).

**Cuadro12.** Concentración del extracto de *Hericiium erinaceus* CP-663 en las microdiluciones.

Dilución	Concentración	
	Testigo mg/mL	Tratamiento mg/mL
1	181	190.06
2	90.5	95.03
3	45.25	47.51
4	22.62	23.76
5	11.31	11.88
6	5.65	5.94
7	2.82	2.97

#### 4.9.3 Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Para comprobar la actividad bactericida de los diferentes extractos probados en cada una de las bacterias, se diseñó una caja de Petri con medio de cultivo agar Mueller Hinton (Figura 14). Después de leer la placa de prueba de susceptibilidad bacteriana en un espectrofotómetro (24 horas de incubación), se inocularon tres puntos con 1,0 µL de microdilución y se incubaron las placas durante 24 horas. La concentración mínima inhibitoria se verificó cuando el extracto impidió el crecimiento bacteriano después de 24 horas de incubación en las cajas de Petri. La actividad bactericida se determinó como la concentración del extracto que impidió el crecimiento bacteriano 48 horas después de realizada la prueba de susceptibilidad antimicrobiana. Basado en el mismo principio que la CMI, la actividad bacteriostática se define como la concentración de un complemento alimenticio que inhibe el crecimiento bacteriano después de 24 horas en una caja de Petri, pero permite el crecimiento bacteriano después de 48 horas.



**Figura 14.** Modelo de inoculación de la caja de Petri con agar Mueller Hinton estéril para la obtención de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los extractos de *Hericium erinaceus*. CE=Control de esterilidad del medio de cultivo. CC=Control de crecimiento bacteriano. CEE=Control de esterilidad del extracto. D=Dilución.

#### 4.10 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron por medio de un análisis de varianza (ANOVA) bajo un diseño completamente al azar. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey, con un  $\alpha = 0.05 \%$ . Todo ello realizado mediante el paquete estadístico *Statistical Analysis System* (SAS) versión 9.4.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

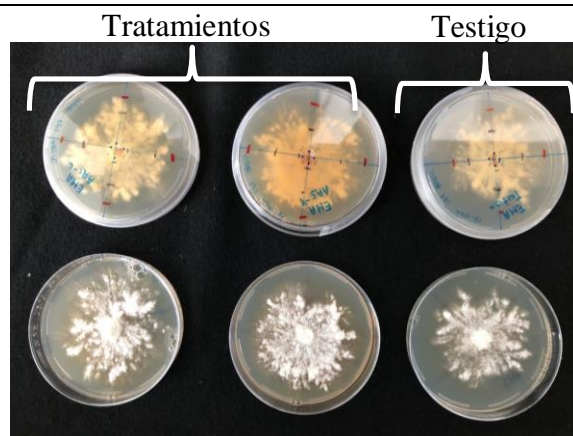
### 5.1 Caracterización morfológica de las cepas estudiadas

#### 5.1.1 CP-663 de *Hericiium erinaceus*

Esta cepa en EMA Testigo mostró un color anaranjado a diferencia de los otros dos testigos PDA y CYM que mostraron color crema (Figura 9). En el caso de los tratamientos con AAS hubo diferencia únicamente en CYM AAS 100  $\mu\text{M}$  y 1  $\mu\text{M}$ . Los tratamientos que presentaron una densidad y micelio aéreo abundante fueron EMA Testigo, EMA 100, CYM Testigo y en sus dos concentraciones de AAS (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética.

Tratamientos	Color (código RHS)	Densidad	Micelio aéreo	Textura
EMA Testigo	Naranja (N170A)	Abundante	Abundante	Algodonosa
EMA AAS 100 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
EMA AAS 1 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Escasa	Escasa	Algodonosa
PDA Testigo	Crema (164D)	Escasa	Escasa	Algodonosa
PDA AAS 100 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Escasa	Escasa	Algodonosa
PDA AAS 1 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Escasa	Escasa	Algodonosa
CYM Testigo	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM AAS 100 $\mu\text{M}$	Naranja (N170A)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM AAS 1 $\mu\text{M}$	Café (165B)	Abundante	Abundante	Algodonosa



**Figura 15.** Morfología de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* en medio EMA Testigo, AAS 100  $\mu\text{M}$ , y AAS 1  $\mu\text{M}$  a los 21 días de desarrollo.

### 5.1.2 CP-826 de *Hericiium spp.*

En esta cepa, los tratamientos donde hubo una coloración significativa fueron EMA AAS 100  $\mu\text{M}$ , CYM Testigo, y CYM AAS 100  $\mu\text{M}$ , en cuanto a la densidad en todos los tratamientos fue abundante, pero en el caso de PDA Testigo, PDA AAS 100  $\mu\text{M}$ , y PDA 1  $\mu\text{M}$  fue escasa (Cuadro 13).

**Cuadro 13.** Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-826 de *Hericiium spp.* cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética.

Tratamientos	Color (código RHS)	Densidad	Micelio aéreo	Textura
EMA Testigo	Crema (164D)	Escasa	Escasa	Algodonosa
EMA AAS 100 $\mu\text{M}$	Naranja (N170A)	Abundante	Abundante	Algodonosa
EMA AAS 1 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
PDA Testigo	Crema (164D)	Abundante	Escasa	Algodonosa
PDA AAS 100 $\mu\text{M}$	Rojo (179A)	Abundante	Escasa	Algodonosa
PDA AAS 1 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Abundante	Escasa	Algodonosa
CYM Testigo	Naranja (N170A)	Abundante	Escasa	Algodonosa
CYM AAS 100 $\mu\text{M}$	Naranja (N170A)	Abundante	Escasa	Algodonosa
CYM AAS 1 $\mu\text{M}$	Amarillo (161D)	Abundante	Abundante	Algodonosa

### 5.1.3 CP-1037 *Hericiium coralloides*

En esta cepa se registró una densidad y un micelio aéreo escasos en los tratamientos EMA Testigo y EMA AAS 100  $\mu\text{M}$ , a diferencia de los demás tratamientos que tuvieron una densidad y un micelio aéreo abundantes (Cuadro 14).

**Cuadro 14.** Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-1037 de *Hericiium coralloides* cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética.

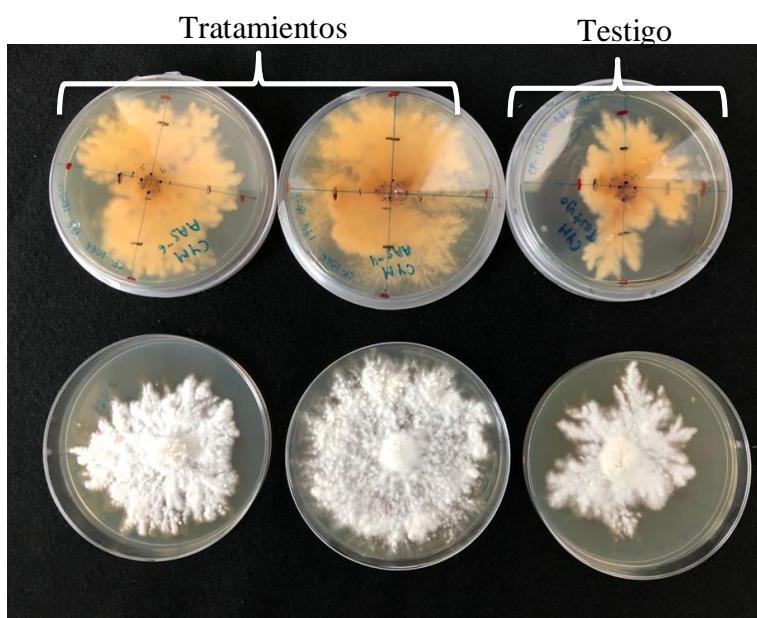
Tratamientos	Color (código RHS)	Densidad	Micelio aéreo	Textura
EMA Testigo	Naranja (N170A)	Escasa	Escasa	Algodonosa
EMA AAS 100 $\mu\text{M}$	Rojo (176A)	Escasa	Escasa	Algodonosa
EMA AAS 1 $\mu\text{M}$	Naranja (N170A)	Escasa	Escasa	Algodonosa
PDA Testigo	Crema (199D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
PDA AAS 100 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Abundante	Escasa	Algodonosa
PDA AAS 1 $\mu\text{M}$	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM Testigo	Naranja (N170A)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM AAS 100 $\mu\text{M}$	Naranja (N170A)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM AAS 1 $\mu\text{M}$	Rojo (179A)	Abundante	Abundante	Algodonosa

#### 5.1.4 CP-1066 de *Hericium* spp.

En esta cepa, los tratamientos donde hubo una coloración significativa fueron EMA AAS 100  $\mu$ M, PDA AAS 100  $\mu$ M y CYM Testigo, en cuanto a la densidad en todos los tratamientos y testigos fue abundante, pero en el caso de EMA Testigo y EMA AAS 100  $\mu$ M fue escasa (Cuadro 15).

**Cuadro 15.** Características morfológicas macroscópicas de la cepa CP-1066 de *Hericium* spp., cultivada en diferentes tratamientos de medios de cultivo y ácido acetilsalicílico (AAS), al final de la cinética.

Tratamientos	Color (código RHS)	Densidad	Micelio aéreo	Textura
EMA Testigo	Crema(164D)	Escasa	Escasa	Algodonosa
EMA AAS 100 $\mu$ M	Naranja (N170A)	Escasa	Escasa	Algodonosa
EMA AAS 1 $\mu$ M	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
PDA Testigo	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
PDA AAS 100 $\mu$ M	Café (165B)	Abundante	Abundante	Algodonosa
PDA AAS 1 $\mu$ M	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM Testigo	Café (165B)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM AAS 100 $\mu$ M	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa
CYM AAS 1 $\mu$ M	Crema (164D)	Abundante	Abundante	Algodonosa

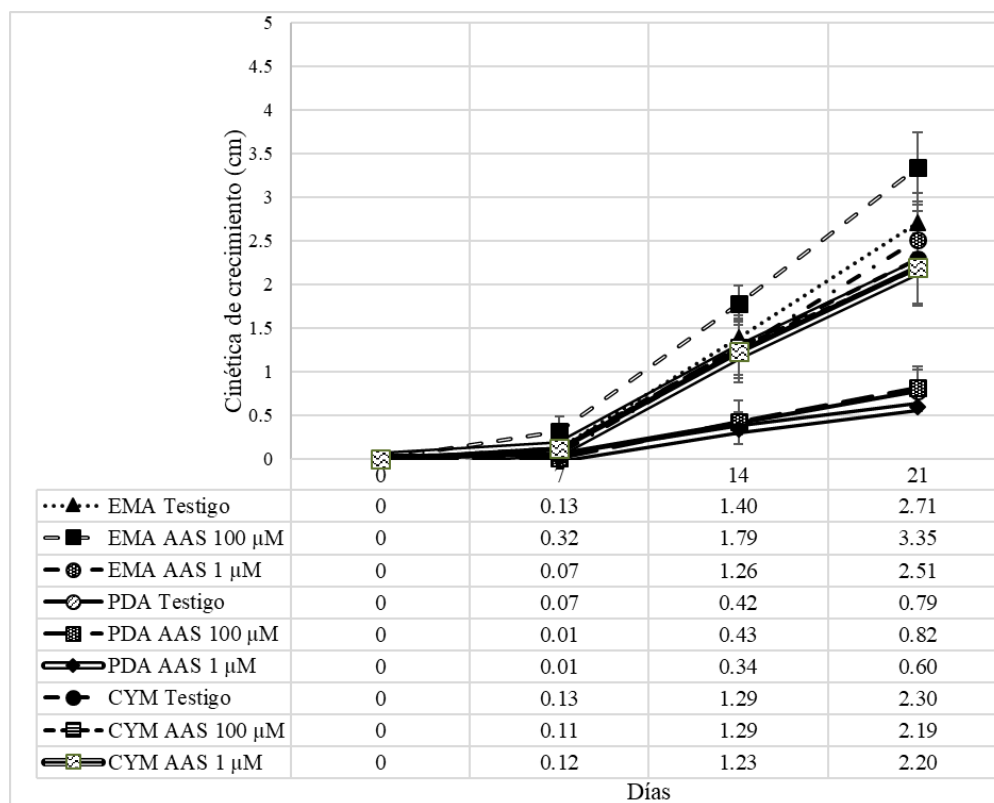


**Figura 16.** Morfología de la cepa CP-1066 de *Hericium* spp. en medio CYM Testigo, AAS 100  $\mu$ M y AAS 1  $\mu$ M, a los 21 días de desarrollo.

## 5.2 Cinética de crecimiento (cm)

### 5.2.1 CP-663 de *Hericium erinaceus*

En la cepa CP-663, se fue observando que cada uno de los tratamientos se comportó de manera distinta y el crecimiento fue variado, a los 7 días sobresale el crecimiento de las colonias en el tratamiento EMA + AAS 100  $\mu\text{M}$  con una longitud de 0.32 cm con una diferencia del 146% respecto al testigo, a los 14 días se aprecia el crecimiento de las colonias con EMA + AAS 100  $\mu\text{M}$ , obteniendo una longitud promedio de las colonias de 1.79 cm, a diferencia del testigo que fue de 1.40 cm (Figura 17). De acuerdo con el análisis de varianza y la comparación de Tukey (Cuadro 16), a los 21 días de desarrollo, punto final de la cinética, el tratamiento donde se observó mayor crecimiento de manera significativa de esta cepa fue EMA + AAS 100  $\mu\text{M}$ , con una longitud promedio de las colonias de 3.35 cm, a diferencia del testigo que fue de 2.71 cm lo cual representa un 24%.



**Figura 17.** Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* en los diferentes tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS) de esta investigación.

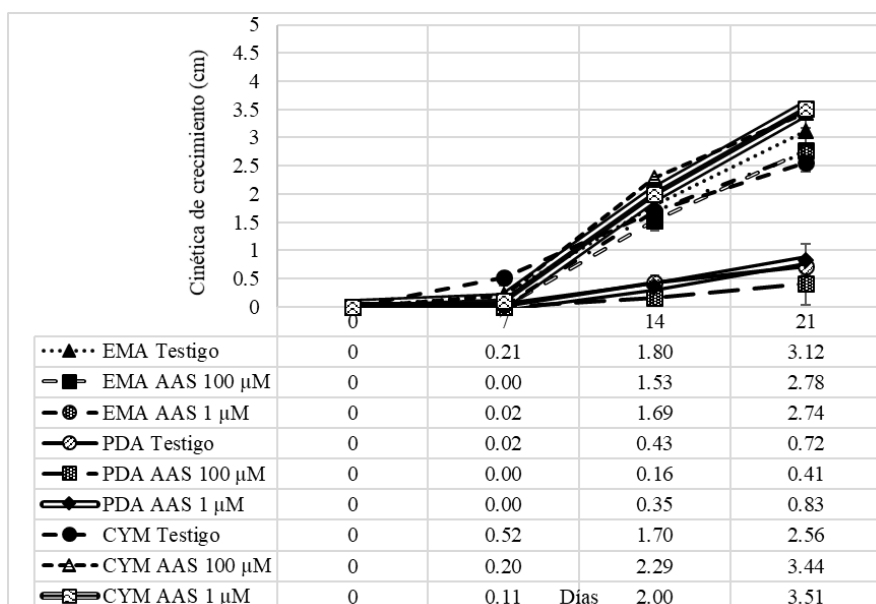


**Cuadro 16.** Cinética de crecimiento lineal de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus*.

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.13±0.03 <sup>b</sup>	1.40±0.14 <sup>b</sup>	2.71±0.34 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.32±0.17 <sup>a</sup>	1.79±0.20 <sup>a</sup>	3.35±0.40 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.07±0.03 <sup>b</sup>	1.26±0.12 <sup>b</sup>	2.51±0.41 <sup>bc</sup>
PDA	Testigo	0.07±0.02 <sup>b</sup>	0.42±0.12 <sup>c</sup>	0.79±0.24 <sup>d</sup>
	AAS 100 µM	0.01±0.01 <sup>c</sup>	0.43±0.25 <sup>c</sup>	0.82±0.25 <sup>d</sup>
	AAS 1 µM	0.01±0.01 <sup>c</sup>	0.34±0.06 <sup>c</sup>	0.60±0.20 <sup>d</sup>
CYM	Testigo	0.13±0.10 <sup>b</sup>	1.29±0.36 <sup>b</sup>	2.30±0.54 <sup>bc</sup>
	AAS 100 µM	0.11±0.03 <sup>b</sup>	1.29±0.32 <sup>b</sup>	2.19±0.40 <sup>c</sup>
	AAS 1 µM	0.12±0.08 <sup>b</sup>	1.23±0.35 <sup>b</sup>	2.20±0.43 <sup>c</sup>

### 5.2.2 CP-826 de *Hericium* spp.

En esta cepa, se observó una tendencia de crecimiento a los 14 días con los testigos y los dos tratamientos de EMA y CYM obteniendo una longitud promedio de las colonias de 1.80 cm y 1.70 cm para los testigos, respectivamente, a diferencia de los tratamientos con AAS que fue de 0.52 cm a los 7 días de desarrollo (Figura 18). De acuerdo con el análisis de varianza y la comparación de medias Tukey (Cuadro 17) a los 21 días de desarrollo, el mayor valor con diferencia significativa para el crecimiento de esta cepa fue el de CYM + AAS 1 µM, con una longitud de 3.51 cm, 37% mayor respecto a su testigo.



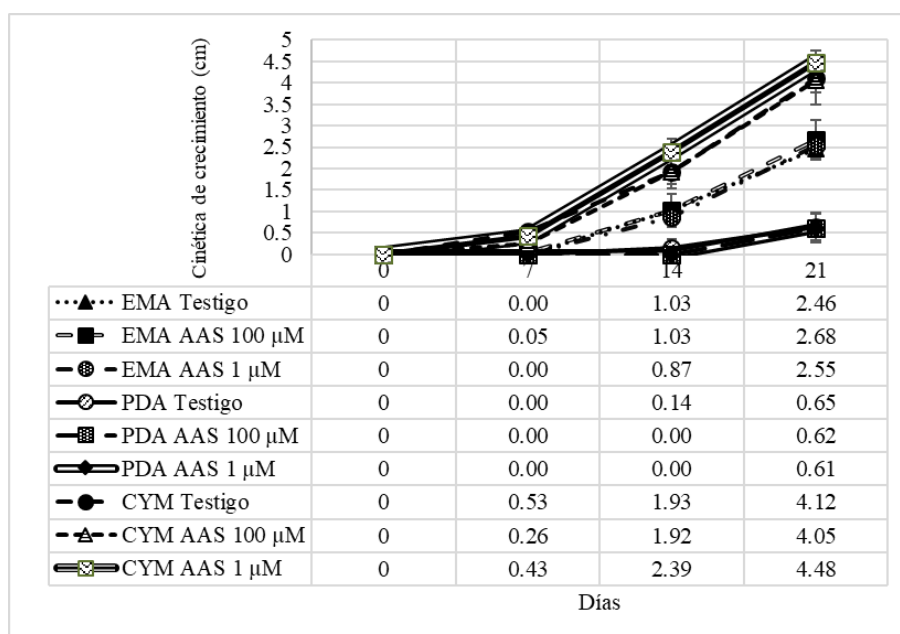
**Figura 18.** Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-826 de *Hericium* spp. en los diferentes tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS) de esta investigación.

**Cuadro 17.** Cinética de crecimiento lineal de la cepa CP-826 de *Hericium* spp.

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.21±0.16 <sup>b</sup>	1.80±0.21 <sup>ab</sup>	3.12±0.44 <sup>ab</sup>
	AAS 100 µM	0.00±0.01 <sup>c</sup>	1.53±0.18 <sup>b</sup>	2.78±0.39 <sup>b</sup>
	AAS 1 µM	0.02±0.02 <sup>c</sup>	1.69±0.18 <sup>b</sup>	2.74±0.29 <sup>b</sup>
PDA	Testigo	0.02±0.02 <sup>c</sup>	0.43±0.07 <sup>c</sup>	0.72±0.16 <sup>c</sup>
	AAS 100 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.16±0.20 <sup>c</sup>	0.41±0.38 <sup>c</sup>
	AAS 1 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.35±0.21 <sup>c</sup>	0.83±0.28 <sup>c</sup>
CYM	Testigo	0.52±0.19 <sup>a</sup>	1.70±0.59 <sup>b</sup>	2.56±0.68 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.20±0.21 <sup>b</sup>	2.29±0.52 <sup>a</sup>	3.44±0.61 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.11±0.16 <sup>bc</sup>	2.00±0.73 <sup>ab</sup>	3.51±0.67 <sup>a</sup>

### 5.2.3 CP-1037 de *Hericium* spp.

Para esta cepa, cada uno de los tratamientos mostró crecimiento; sin embargo, a los 14 días de desarrollo el tratamiento de CYM + AAS 1 µM tuvo una longitud de 2.39 cm, a diferencia de los tratamientos de PDA adicionados con AAS, donde no se observó crecimiento hasta ese punto (Figura 19). De acuerdo con el análisis de varianza y la comparación de medias Tukey (Cuadro 18) a los 21 días de desarrollo, el medio de cultivo CYM, fue donde se observó crecimiento significativo, siendo el tratamiento CYM + AAS 1 µM el mayor, con una longitud de 4.48 cm, 9% mayor que su testigo.



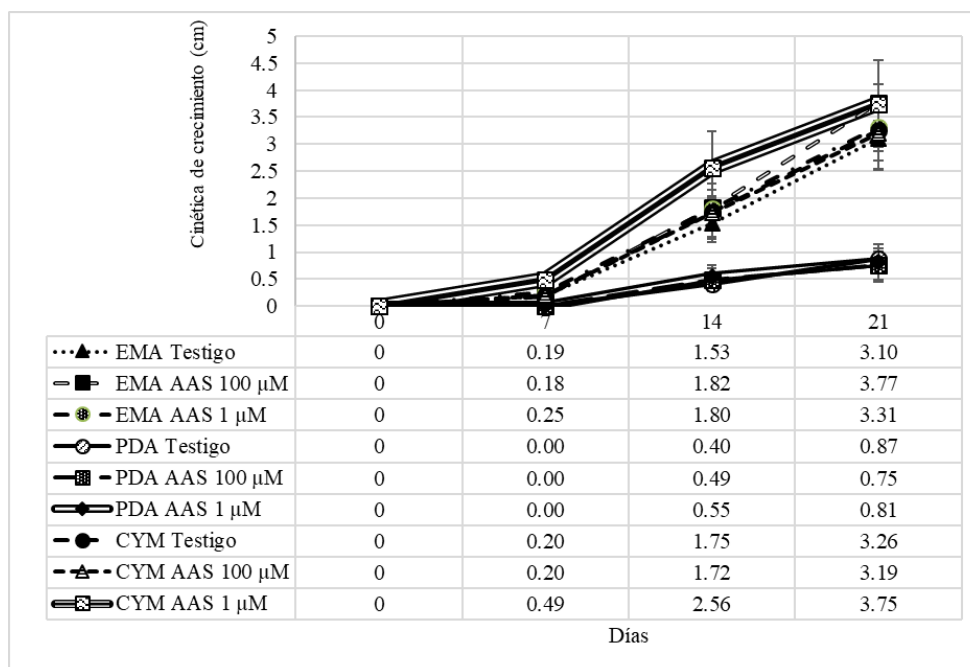
**Figura 19.** Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-1037 de *Hericium* spp. en los diferentes tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS) de esta investigación.

**Cuadro 18.** Cinética de crecimiento de la cepa CP-1037 de *Hericiium spp.*

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.00±0.01 <sup>c</sup>	1.03±0.18 <sup>c</sup>	2.46±0.25 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.05±0.10 <sup>c</sup>	1.03±0.38 <sup>c</sup>	2.68±0.46 <sup>b</sup>
	AAS 1 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.87±0.29 <sup>c</sup>	2.55±0.36 <sup>b</sup>
PDA	Testigo	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.14±0.21 <sup>d</sup>	0.65±0.31 <sup>c</sup>
	AAS 100 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.62±0.33 <sup>c</sup>
	AAS 1 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.61±0.33 <sup>c</sup>
CYM	Testigo	1.93±0.10 <sup>a</sup>	1.93±0.40 <sup>b</sup>	4.12±0.34 <sup>a</sup>
	AAS 100 µM	1.92±0.25 <sup>b</sup>	1.92±0.29 <sup>b</sup>	4.05±0.56 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	2.39±0.15 <sup>a</sup>	2.39±0.30 <sup>a</sup>	4.48±0.28 <sup>a</sup>

#### 5.2.4 CP-1066 de *Hericiium spp.*

En esta cepa, el tratamiento que mostró un crecimiento significativo a los 14 días de desarrollo fue CYM + AAS 1 µM con una longitud de 2.56 cm, la diferencia con su testigo fue de 3.26 cm (Figura 20). De acuerdo con el análisis de varianza y la comparación de medias Tukey (Cuadro 19) a los 21 días de desarrollo, los tratamientos donde se observó mayor crecimiento de esta cepa fueron EMA + AAS 100 µM con una longitud de 3.77 cm y CYM + AAS 1 µM con una longitud de 3.75 cm, 27% y 15% mayor que su testigo respectivamente.



**Figura 20.** Cinética de crecimiento lineal (cm) de la cepa CP-1066 de *Hericiium spp.* en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS)

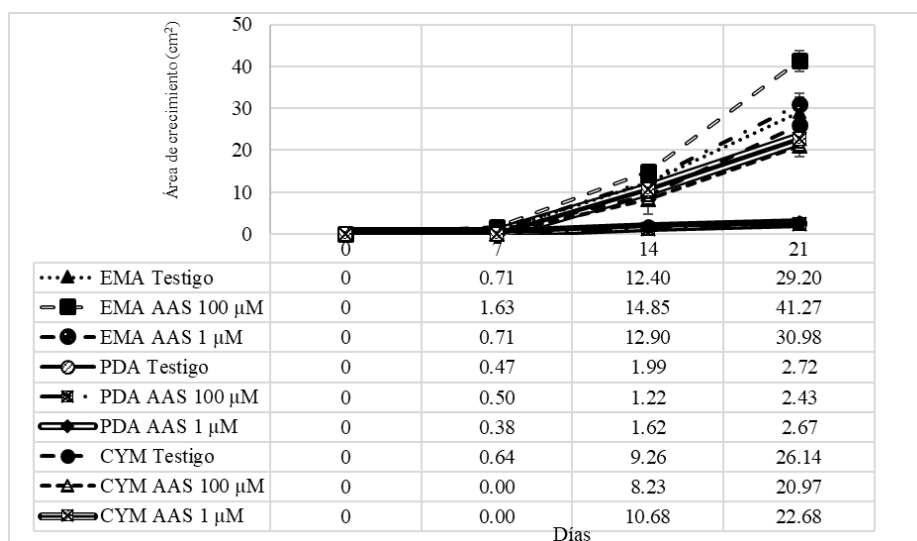
**Cuadro 19.** Cinética de crecimiento lineal de la cepa CP-1066 de *Hericiium spp*

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.19±0.21 <sup>b</sup>	1.53±0.34 <sup>b</sup>	3.10±0.55 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.18±0.20 <sup>b<sup>c</sup></sup>	1.82±0.20 <sup>b</sup>	3.77±0.34 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.25±0.13 <sup>b</sup>	1.80±0.20 <sup>b</sup>	3.31±0.44 <sup>ab</sup>
PDA	Testigo	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.40±0.09 <sup>c</sup>	0.87±0.14 <sup>c</sup>
	AAS 100 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.49±0.21 <sup>c</sup>	0.75±0.31 <sup>c</sup>
	AAS 1 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	0.55±0.21 <sup>c</sup>	0.81±0.33 <sup>c</sup>
CYM	Testigo	0.20±0.21 <sup>b</sup>	1.75±0.51 <sup>b</sup>	3.26±0.57 <sup>ab</sup>
	AAS 100 µM	0.20±0.20 <sup>b</sup>	1.72±0.43 <sup>b</sup>	3.19±0.66 <sup>ab</sup>
	AAS 1 µM	0.49±0.12 <sup>a</sup>	2.56±0.68 <sup>a</sup>	3.75±0.80 <sup>a</sup>

### 5.3 Área de la colonia (cm<sup>2</sup>)

#### 5.3.1 CP-663 de *Hericiium erinaceus*

Para esta cepa, se observó que hubo crecimiento a los 14 días de desarrollo para la mayoría de los tratamientos, sobresaliendo con un área de 14.85 cm<sup>2</sup> tratamiento EMA + AAS 100 µM 20% mayor, comparada con el testigo que fue de 12.40 cm<sup>2</sup>. Finalmente, de acuerdo al análisis de varianza y a la comparación de medias Tukey (Cuadro 20) a los 21 días, de igual forma, en el tratamiento EMA + AAS 100 µM registró un área de 41.27 cm<sup>2</sup>, 41% más a diferencia del tratamiento PDA AAS 100 µM con 2.43cm<sup>2</sup>, en el cual se observó el menor crecimiento, en tanto que fue porcentaje mayor respecto a su tratamiento testigo (Figura 21).



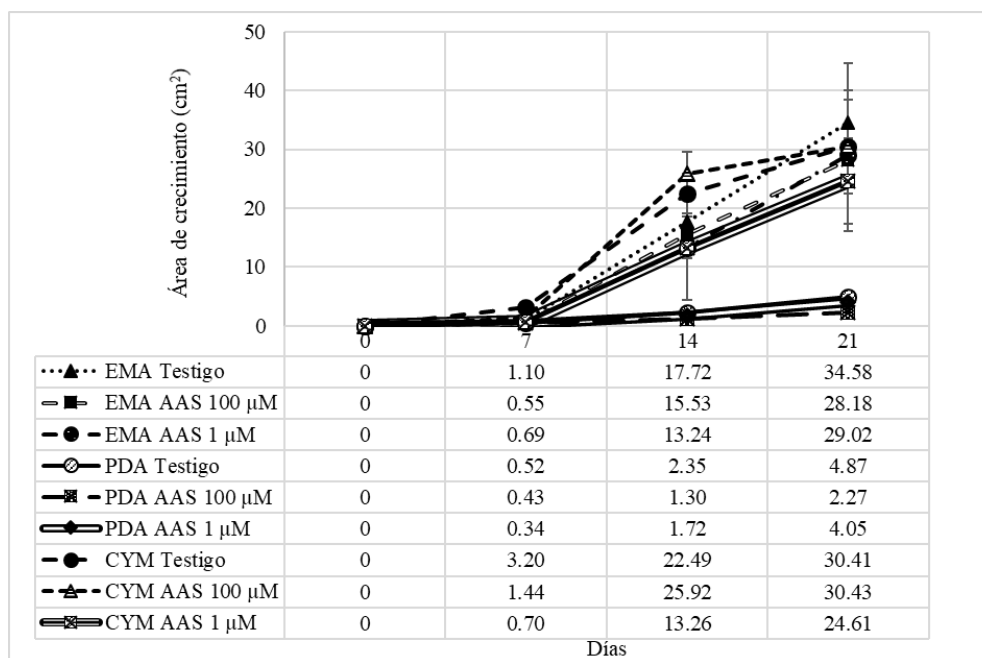
**Figura 21.** Área de la colonia (cm<sup>2</sup>) de la cepa CP-663 de *Hericiium erinaceus* en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).

**Cuadro 20.** Área micelial de la colonia de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus*

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.71±0.20 <sup>b</sup>	12.40±1.26 <sup>abc</sup>	29.20±3.47 <sup>bc</sup>
	AAS 100 µM	1.63±0.29 <sup>a</sup>	14.85±1.64 <sup>a</sup>	41.27±2.59 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.71±0.10 <sup>b</sup>	12.90±0.77 <sup>ab</sup>	30.98±2.71 <sup>b</sup>
PDA	Testigo	0.47±0.02 <sup>b</sup>	1.99±0.23 <sup>d</sup>	2.72±0.53 <sup>e</sup>
	AAS 100 µM	0.50±0.00 <sup>b</sup>	1.22±0.68 <sup>d</sup>	2.43±0.62 <sup>e</sup>
	AAS 1 µM	0.38±0.04 <sup>b</sup>	1.62±0.07 <sup>d</sup>	2.67±0.06 <sup>e</sup>
CYM	Testigo	0.64±0.17 <sup>b</sup>	9.26±0.69 <sup>bc</sup>	26.14±5.18 <sup>bcd</sup>
	AAS 100 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	8.23±3.45 <sup>c</sup>	20.97±2.54 <sup>d</sup>
	AAS 1 µM	0.00±0.00 <sup>c</sup>	10.68±1.50 <sup>abc</sup>	22.68±2.85 <sup>cd</sup>

### 5.3.2 CP-826 de *Hericium* spp.

Esta cepa mostró un pico de desarrollo a los 14 días de incubación en los tratamientos CYM Testigo y CYM 100 µM, con un área de 22.49 cm<sup>2</sup> y 25.92 cm<sup>2</sup>, respectivamente (Figura 22). Sin embargo, al finalizar la cinética a los 21 días de desarrollo, en base al análisis de varianza y la comparación de medias Tukey (Cuadro 21), los tratamientos en medios EMA y CYM, testigos y adicionados con AAS presentaron una diferencia significativa en un rango de 28.18 a 34.58 cm<sup>2</sup>, respecto al medio PDA en un rango de 2.27 a 4.87 cm<sup>2</sup> en idénticas condiciones.



**Figura 22.** Área de la colonia (cm<sup>2</sup>) de la cepa CP-826 de *Hericium* spp. en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).

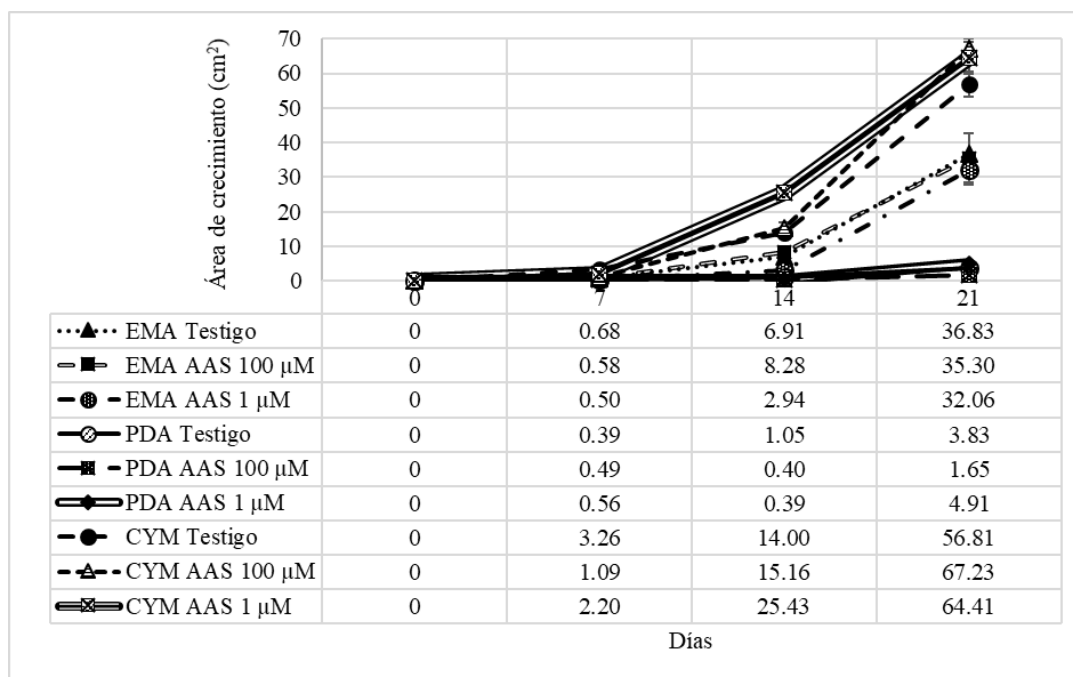
**Cuadro 21.** Área micelial de la colonia de la cepa CP-826 de *Hericum* spp.

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	1.10±0.14 <sup>bc</sup>	17.72±0.94 <sup>ab</sup>	34.58±5.43 <sup>a</sup>
	AAS 100 µM	0.55±0.13 <sup>c</sup>	15.53±0.54 <sup>b</sup>	28.18±3.48 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.69±0.06 <sup>bc</sup>	13.24±1.72 <sup>b</sup>	29.02±1.37 <sup>a</sup>
PDA	Testigo	0.52±0.01 <sup>c</sup>	2.35±0.21 <sup>c</sup>	4.87±0.68 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.43±0.02 <sup>c</sup>	1.30±0.26 <sup>c</sup>	2.27±0.48 <sup>b</sup>
	AAS 1 µM	0.34±0.01 <sup>c</sup>	1.72±0.16 <sup>c</sup>	4.05±0.58 <sup>b</sup>
CYM	Testigo	3.20±0.62 <sup>a</sup>	22.49±3.42 <sup>ab</sup>	30.41±7.99 <sup>a</sup>
	AAS 100 µM	1.44±0.32 <sup>b</sup>	25.92±3.73 <sup>a</sup>	30.43±14.25 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.70±0.31 <sup>bc</sup>	13.26±8.86 <sup>b</sup>	24.61±7.27 <sup>a</sup>

### 5.3.3 CP-1037 de *Hericum coralloides*

La cepa CP-1037, a los 14 días en el tratamiento CYM AAS 1 µM, mostró el mayor crecimiento, con un área de 25.43 cm<sup>2</sup>, a diferencia del testigo cuya área fue de 14 cm<sup>2</sup> (Figura 23). De acuerdo al análisis de varianza y a la comparación de medias Tukey (Cuadro 22), a los 21 días de desarrollo, el crecimiento en medio CYM fue significativamente diferente, siendo el tratamiento CYM+AAS 100 µM con 67.23 cm<sup>2</sup> mayor en un 18% respecto al testigo con 56.81

cm<sup>2</sup>.



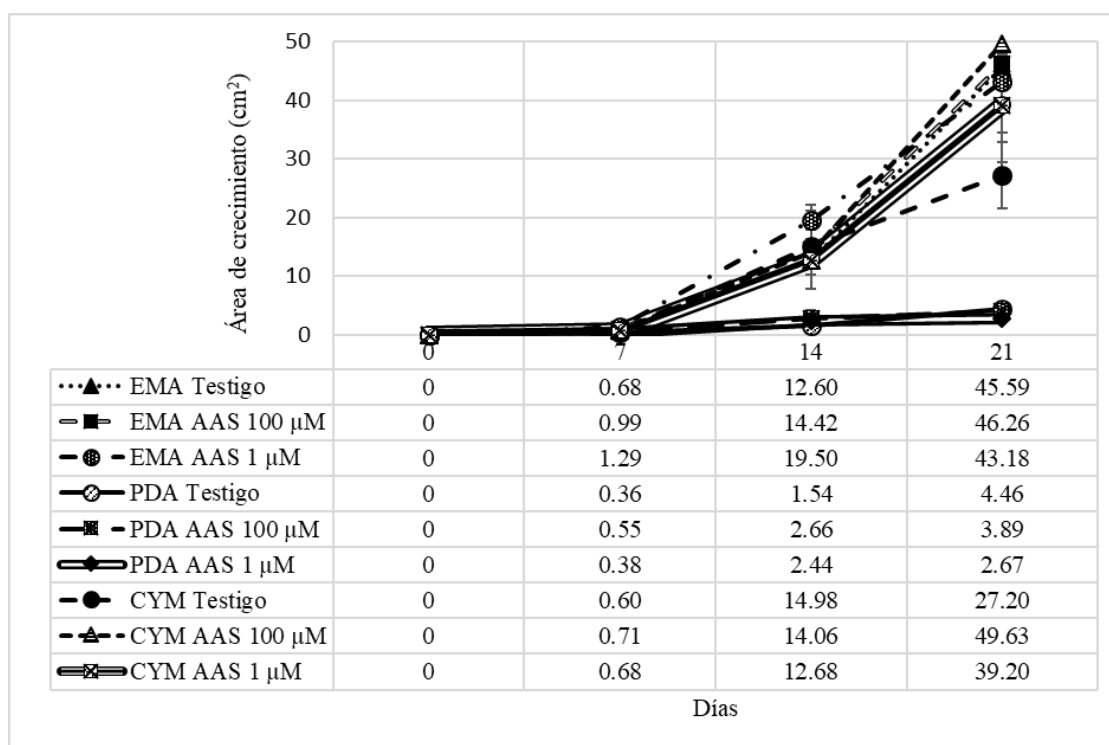
**Figura 23.** Área de la colonia (cm<sup>2</sup>) de la cepa CP-1037 de *Hericum coralloides*. en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).

**Cuadro 22.** Área micelial de la colonia de la cepa CP-1037 de *Hericium coralloides*.

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.68±0.09 <sup>c</sup>	6.91±0.72 <sup>c</sup>	36.83±5.75 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.58±0.09 <sup>c</sup>	8.28±1.35 <sup>c</sup>	35.30±7.34 <sup>b</sup>
	AAS 1 µM	0.50±0.01 <sup>c</sup>	2.94±1.10 <sup>d</sup>	32.06±3.60 <sup>b</sup>
PDA	Testigo	0.39±0.02 <sup>c</sup>	1.05±0.16 <sup>d</sup>	3.83±0.65 <sup>c</sup>
	AAS 100 µM	0.49±0.02 <sup>c</sup>	0.40±0.01 <sup>d</sup>	1.65±1.22 <sup>c</sup>
	AAS 1 µM	0.56±0.05 <sup>c</sup>	0.39±0.05 <sup>d</sup>	4.91±0.89 <sup>c</sup>
CYM	Testigo	3.26±0.56 <sup>a</sup>	14.00±0.45 <sup>b</sup>	56.81±3.67 <sup>a</sup>
	AAS 100 µM	1.09±0.50 <sup>bc</sup>	15.16±1.68 <sup>b</sup>	67.23±2.78 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	2.20±1.00 <sup>ab</sup>	25.43±1.61 <sup>a</sup>	64.41±4.73 <sup>a</sup>

### 5.3.4 CP-1066 de *Hericium* spp.

Esta cepa CP-1066 logró un área de crecimiento micelial de 19.50 cm<sup>2</sup>, a los 14 días de desarrollo en el tratamiento EMA+AAS 1 µM, a diferencia del testigo que el área fue de 12.60 cm<sup>2</sup> (Figura 24). Con el análisis de varianza y la comparación de medias Tukey (Cuadro 23), a los 21 días de desarrollo, el tratamiento que obtuvo la mayor área de crecimiento micelial fue CYM+AAS 100 µM con 49.63 cm<sup>2</sup> con una diferencia del 82% respecto a su testigo que fue de 27.20 cm<sup>2</sup>.



**Figura 24.** Área de la colonia (cm<sup>2</sup>) de la cepa CP-1066 de *Hericium* spp. en todos los tratamientos de medios de cultivo y concentraciones estudiadas de ácido acetilsalicílico (AAS).

**Cuadro 23.** Área micelial de la colonia de la cepa CP-1066 de *Hericium* spp.

Medio	Tratamientos	Días		
		7	14	21
EMA	Testigo	0.68±0.05 <sup>bc</sup>	12.60±0.47 <sup>a</sup>	45.59±2.47 <sup>ab</sup>
	AAS 100 µM	0.99±0.02 <sup>ab</sup>	14.42±0.63 <sup>a</sup>	46.26±1.62 <sup>ab</sup>
	AAS 1 µM	1.29±0.13 <sup>a</sup>	19.50±1.69 <sup>a</sup>	43.18±0.78 <sup>ab</sup>
PDA	Testigo	0.36±0.03 <sup>c</sup>	1.54±0.10 <sup>b</sup>	4.46±0.29 <sup>c</sup>
	AAS 100 µM	0.55±0.02 <sup>c</sup>	2.66±1.41 <sup>b</sup>	3.89±0.17 <sup>c</sup>
	AAS 1 µM	0.38±0.02 <sup>c</sup>	2.44±0.15 <sup>b</sup>	2.67±0.06 <sup>c</sup>
CYM	Testigo	0.60±0.12 <sup>c</sup>	14.98±7.13 <sup>a</sup>	27.20±5.70 <sup>b</sup>
	AAS 100 µM	0.71±0.07 <sup>bc</sup>	14.06±2.15 <sup>a</sup>	49.63±20.31 <sup>a</sup>
	AAS 1 µM	0.68±0.31 <sup>bc</sup>	12.68±2.36 <sup>a</sup>	39.20±4.79 <sup>ab</sup>

#### 5.4 Caracterización de los basidiocarpos de *Hericium erinaceus*

El color de los basidiocarpos, de acuerdo a la gama de colores de *Royal Horticultural Society* (2015), fue blanco/crema en el estadio maduro, tornándose a marrón con el paso de los días. En cuanto al tamaño, en el testigo se obtuvo un promedio de 18 cm y para el tratamiento con AAS un diámetro total de 24.3 cm, en cuanto a frescura y apariencia fue buena para el testigo y para el tratamiento con AAS 100 µM con una consistencia carnosa/suave (Figura 25).

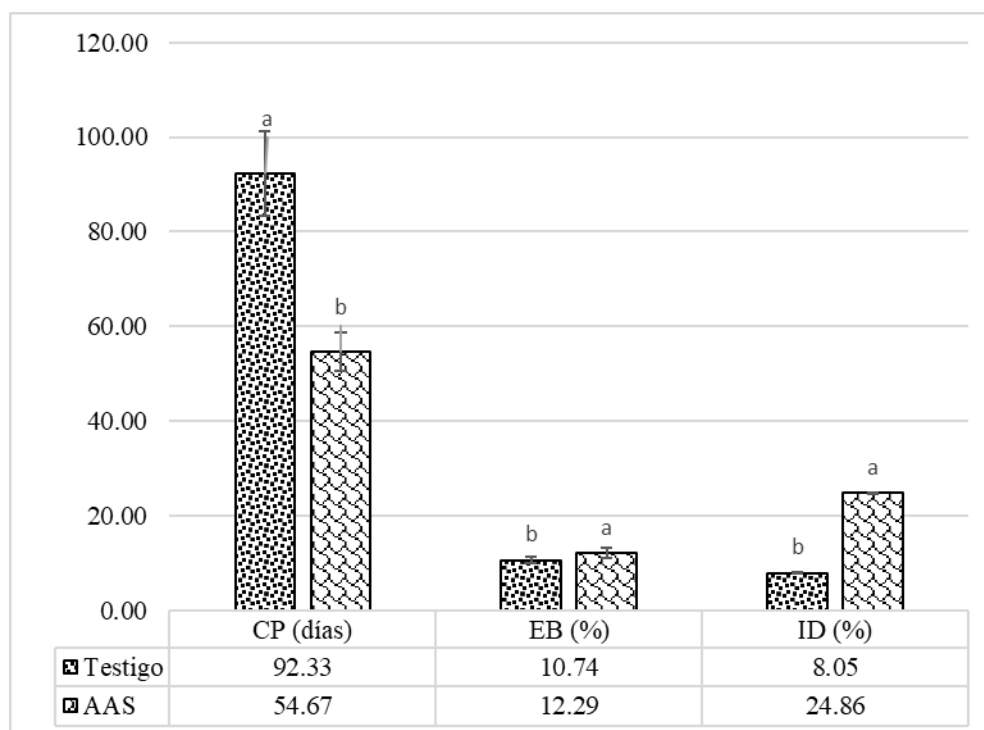


**Figura 25.** Basidiocarpos de *Hericium erinaceus*, cepa CP-663, obtenidos en aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (100 µM).



### 5.5 Eficiencia biológica (EB) e índice de degradación (ID)

Una vez cosechados los basidiocarpos, se calculó la eficiencia biológica obtenida en el tratamiento con AAS para la primera cosecha, de acuerdo al análisis de varianza y la comparación de medias Tukey (Figura 26). se obtuvo un promedio de 12.29% en encino, a diferencia del testigo que fue de 10.74%. De acuerdo a los resultados obtenidos y comparando con lo que mencionaron Ríos y colaboradores (2010), los bajos índices de eficiencia biológica se atribuyen al agotamiento de los nutrientes en el substrato y la forma en que los asimila, son factores que influyen directamente sobre la producción de basidiocarpos. A diferencia de Díaz (2010), en el tratamiento de paja de sorgo, en la dosis al 8% de ácidos húmicos obtuvo una EB de 0.96%, en paja de pasto con dosis de melaza obtuvo una EB de 5.68%, seguida de la dosis con ácidos húmicos con un 4.98%. En cuanto al índice de degradación se obtuvo 24.86% para encino+AAS, a diferencia del testigo que fue de 8.05%.

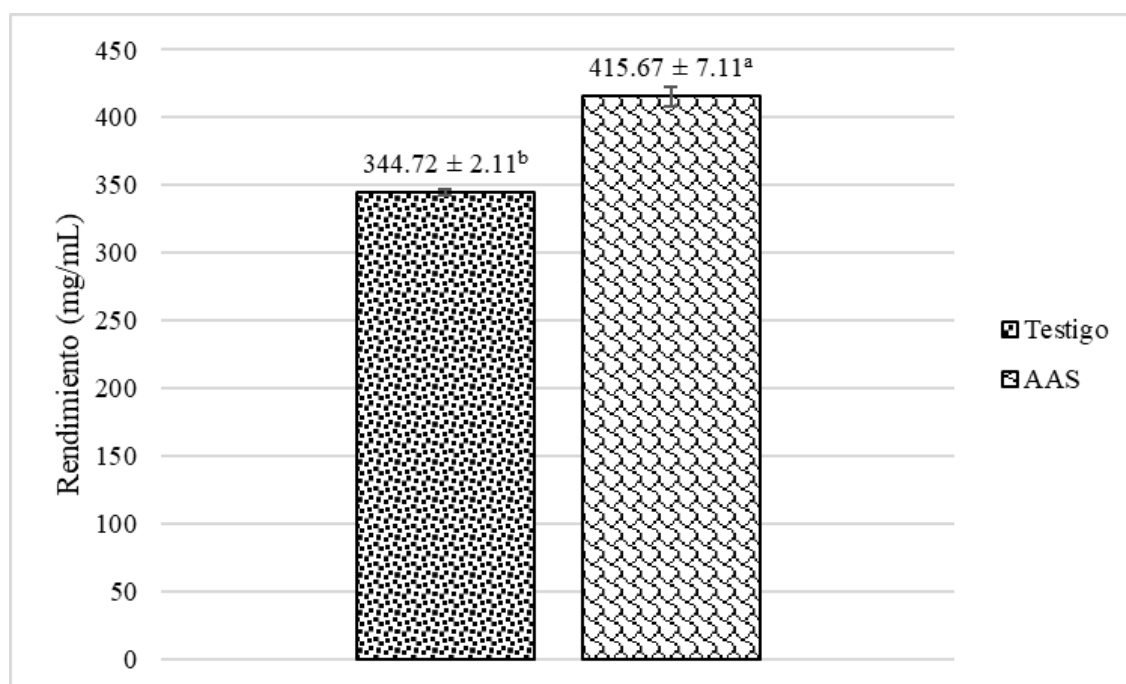


**Figura 26.** Eficiencia biológica e índice de degradación de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* cultivado en aserrín de encino con AAS, comparativamente con el testigo.

## 5.6 Propiedades fisicoquímicas de extractos

### 5.6.1 Rendimiento

De los extractos obtenidos (Testigo, AAS 10 mM) se procedió a analizar sus propiedades funcionales. Primero se obtuvo el rendimiento, en donde de acuerdo al análisis de varianza y la comparación de medias Tukey, en ácido acetilsalicílico fue en el que se obtuvo mayor rendimiento con 415.67 mg/mL, a diferencia del testigo con 344.72 mg/mL (Figura 27). En cambio, Rendón (2015) obtuvo un rendimiento de 292 mg mL<sup>-1</sup> para testigo y 257 mg mL<sup>-1</sup> en AAS 100 μM. Comparando con otros hongos comestibles, funcionales y medicinales.



**Figura 27.** Rendimiento de extractos de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* cultivado en el substrato testigo y el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM).

### 5.6.2 Conductividad, pH, y °Brix

Los resultados obtenidos de la caracterización fisicoquímica de los extractos de *Hericium erinaceus* se encuentran en el Cuadro 24. Los resultados fueron significativamente más altos en el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS), tanto en conductividad como en grados Brix. No hubo diferencia estadística significativa en el pH.

En el extracto testigo se presentó menor valor de conductividad con una media de 45,837  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , siendo significativamente inferior al tratamiento con AAS con una media de 68,093  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . En cuanto al pH, se obtuvo 5.31% en testigo y 5.29% en AAS. En la cantidad de sólidos disueltos totales, el tratamiento presentó un valor de 37.02 °Bx, en comparación con el testigo que fue de 33.91 °Bx.

**Cuadro 24.** Caracterización fisicoquímica de los extractos de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus*, obtenidos a partir del testigo y del tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM).

Tratamiento	Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	pH	Sólidos disueltos totales (°Bx)
Testigo	45837 $\pm$ 3194.64 <sup>b</sup>	5.31 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	33.91 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>
AAS	68093 $\pm$ 2796.05 <sup>a</sup>	5.29 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	37.02 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>

Columnas con superíndice de letras diferentes son estadísticamente significativos ( $\alpha= 0.05$ ).

### 5.7 Propiedades funcionales

Las propiedades funcionales evaluadas se presentan en los Cuadros 25 y 26, los cuales de acuerdo al análisis de varianza y la comparación de medias Tukey muestran diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y el tratamiento.

En proteína, se obtuvo una media de 634.62  $\mu\text{g}/\text{mL}$  en el tratamiento con AAS, mayor que en el testigo con 547.98  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . El contenido de fenoles totales fue mayor en AAS que en el testigo, con 3091.72  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y 2800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivamente. Los resultados del ensayo DPPH y ABTS con los extractos hidroalcohólicos demostraron que el testigo tuvo mayor capacidad antioxidante con 5,573.8  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (DPPH) y 3,669.57  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (ABTS)). En la determinación de antioxidantes por la técnica del radical oxígeno ORAC, se obtuvo una concentración de 4,881.07  $\mu\text{moles}/\text{g}$  en el tratamiento con AAS, mientras que en el testigo la concentración fue de 4,326.41  $\mu\text{moles}/\text{g}$  (Cuadro 25). Aunque en esta especie existen pocos estudios, existe evidencia de que los hongos comestibles poseen compuestos fenólicos relacionados con propiedades antioxidantes, como es el caso del estudio realizado por González-Morales y colaboradores (2021). En este estudio, se analizaron los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de seis especies de hongos comestibles recolectados en el Estado de México, obteniendo un promedio de 12.51 mg AEG/100g hongos silvestres en extractos metanólicos y un promedio de 171.16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para DDPH.

**Cuadro 25.** Propiedades funcionales estudiadas del extracto de *Hericium erinaceus*, cepa CP-663, tanto en el testigo como en el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM).

Tratamiento	Proteína ( $\mu\text{g/mL}$ )	Polifenoles totales EAG ( $\mu\text{g/mL}$ )	DPPH ( $\mu\text{L/mL}$ )	ABTS ( $\mu\text{L/mL}$ )	ORAC ( $\mu\text{moles/g}$ )
Testigo	547.98 $\pm$ 10.31 <sup>b</sup>	2800.22 $\pm$ 7.52 <sup>b</sup>	5573.8 $\pm$ 378.2 5 <sup>a</sup>	3669.57 $\pm$ 122.2 0 <sup>a</sup>	4326.41 $\pm$ 45.16 <sup>b</sup>
AAS	634.62 $\pm$ 11.25 <sup>a</sup>	3091.72 $\pm$ 85.62 a	3256 $\pm$ 242.11 <sup>b</sup>	2923.08 $\pm$ 55.87 b	4881.07 $\pm$ 164.49 a

Columnas con superíndice de letras diferentes son estadísticamente significativos ( $\alpha=0.05$ ).

El betacaroteno pertenece a un grupo de pigmentos de color llamados carotenoides. Se convierte en vitamina A en el cuerpo y se encuentra en muchas frutas y verduras, sin embargo, al medirlos en los extractos se obtuvo en el testigo 4,821.24  $\mu\text{g/mL}$  y en AAS 3,669.8  $\mu\text{g/mL}$ . Los  $\beta$ -glucanos son polisacáridos no celulósicos constituidos por unidades de glucosa, presentes en cereales como la cebada y la avena, levaduras, hongos, algunas bacterias y algas marinas (Trujillo et al., 2018). Estos compuestos bioactivos son de gran importancia para el organismo y se conoce que tienen un rol importante como moduladores del sistema inmunológico. Por esta razón, los  $\beta$ -glucanos están asociados con el incremento de la longevidad y otros efectos benéficos. En la presente investigación, el tratamiento con AAS tuvo la mayor cantidad de glucanos totales con 30.51  $\mu\text{g/mL}$ , al igual que  $\alpha$ -glucanos con 17.07  $\mu\text{g/mL}$  y  $\beta$ -glucanos con 13.44  $\mu\text{g/mL}$  (Cuadro 26). Estos compuestos son de suma importancia debido a que, dependiendo de su estructura fisicoquímica y su origen, su consumo se asociaría a efectos beneficiosos para la salud del ser humano como la disminución de la concentración plasmática de colesterol total y la reducción del índice glicémico (Pizarro et al., 2014).

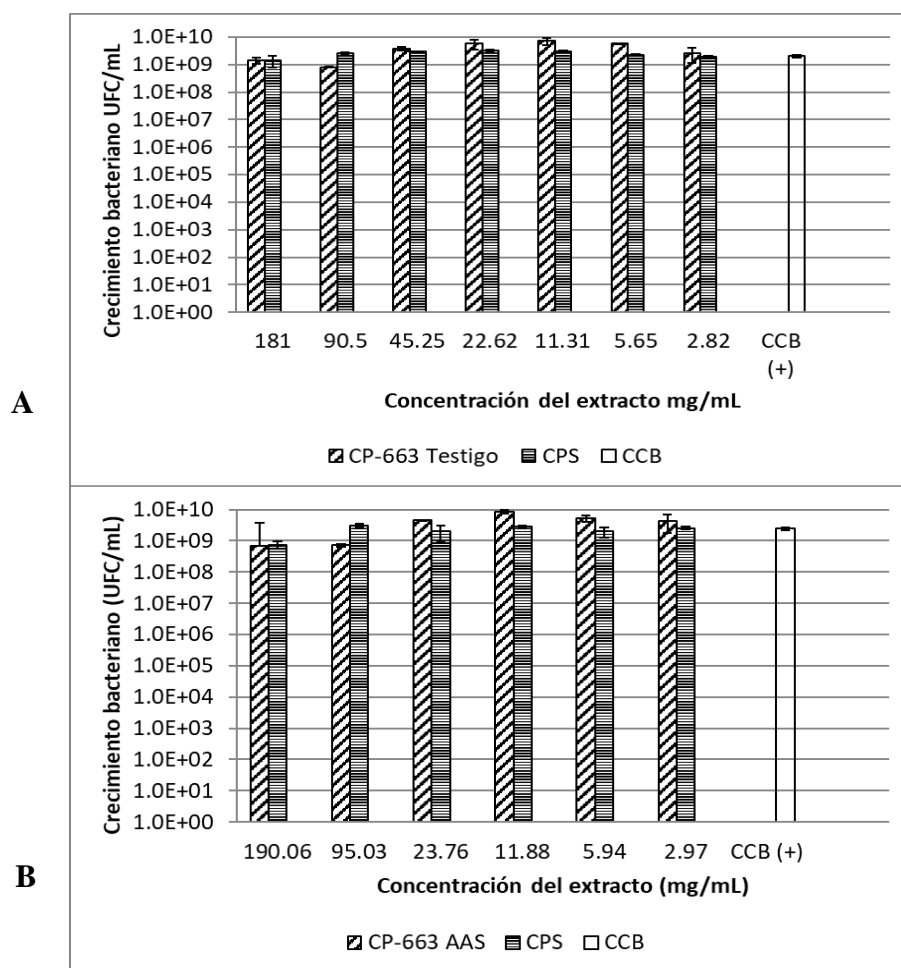
**Cuadro 26.** Propiedades funcionales estudiadas del extracto de *Hericium erinaceus*, cepa CP-663, tanto en el testigo como en el tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS 10 mM).

Tratamiento	Beta-carotenos ( $\mu\text{g/mL}$ )	Glucanos totales ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\alpha$ -glucanos ( $\mu\text{g/mL}$ )	$\beta$ -glucanos ( $\mu\text{g/mL}$ )
Testigo	4821.24 $\pm$ 315.81 <sup>a</sup>	27.53 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	16.49 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	11.04 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>
AAS	3669.84 $\pm$ 242.70 <sup>b</sup>	30.51 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	17.07 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	13.44 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>

Columnas con superíndice de letras diferentes son estadísticamente significativos ( $\alpha=0.05$ ).

### 5.8 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Salmonella thyphi* (CPB-1)

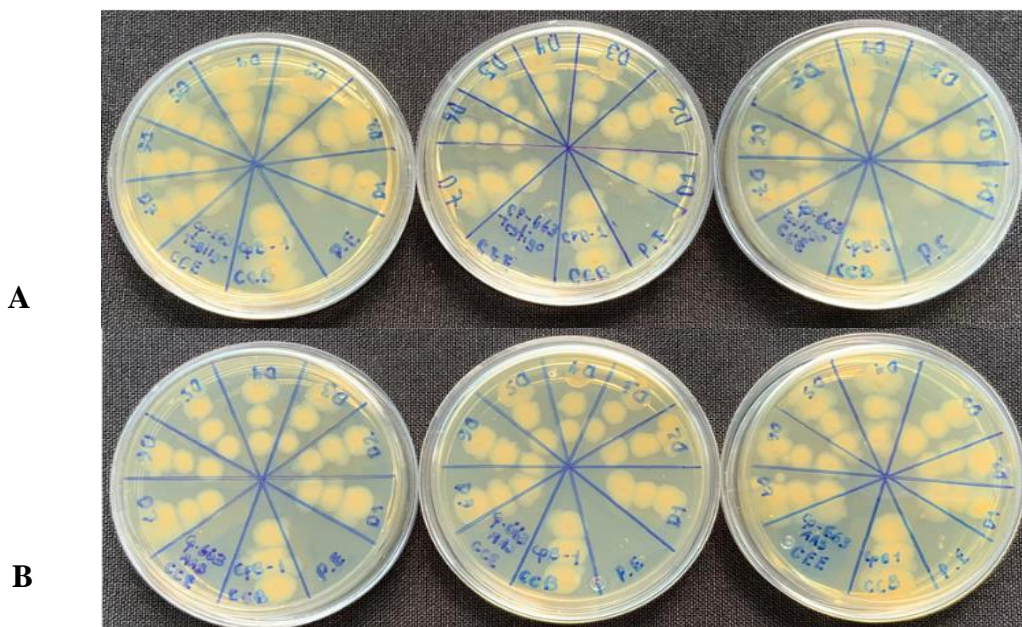
La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL (Figura 28). En ambos casos, comparativamente con el control, no presentaron efecto bacteriostático en ninguna de las diluciones probadas contra la cepa bacteriana CPB-1 *Salmonella typhi*. Esto a diferencia de Rendón (2015), quien obtuvo en testigo un efecto bacteriostático en la primera dilución con un rendimiento de 146 mg mL<sup>-1</sup> y la concentración inicial de su extracto alcohólico fue de 292 mg mL<sup>-1</sup> y en el tratamiento con AAS 10 mM no tuvo un efecto bacteriostático en ninguna dilución.



**Figura 28.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-1 de *Salmonella thyphi*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC= Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.9 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de *Hericum erinaceus* vs. *Salmonella thyphi* (CPB-1)

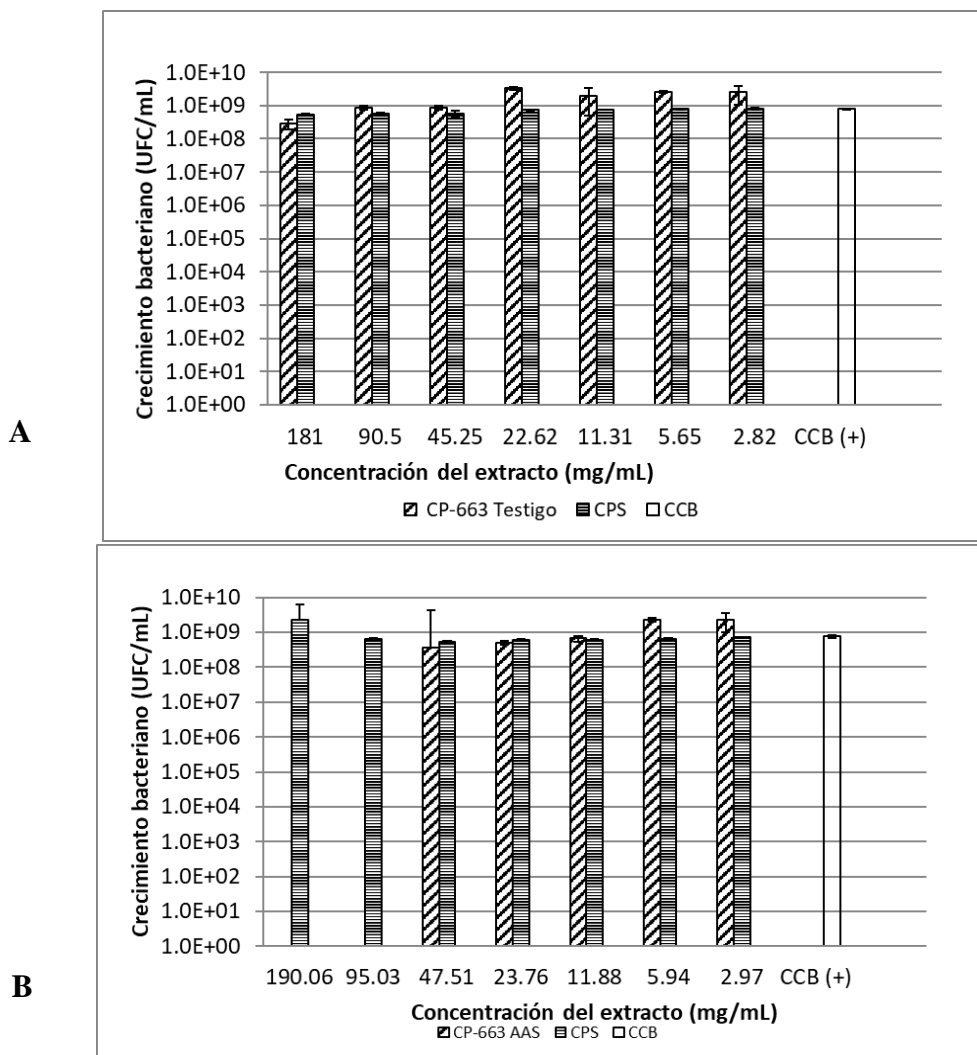
En testigo y tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS), no se presentó ningún efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-1 de *Salmonella thyphi*, de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas con medio Mueller Hinton. Se registró crecimiento bacteriano en todas las diluciones estudiadas.



**Figura 29.** Efecto bactericida del extracto de *Hericum erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-1 de *Salmonella thyphi*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

### 5.10 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de *Hericum erinaceus* vs. *Staphylococcus aureus* (CPB-2)

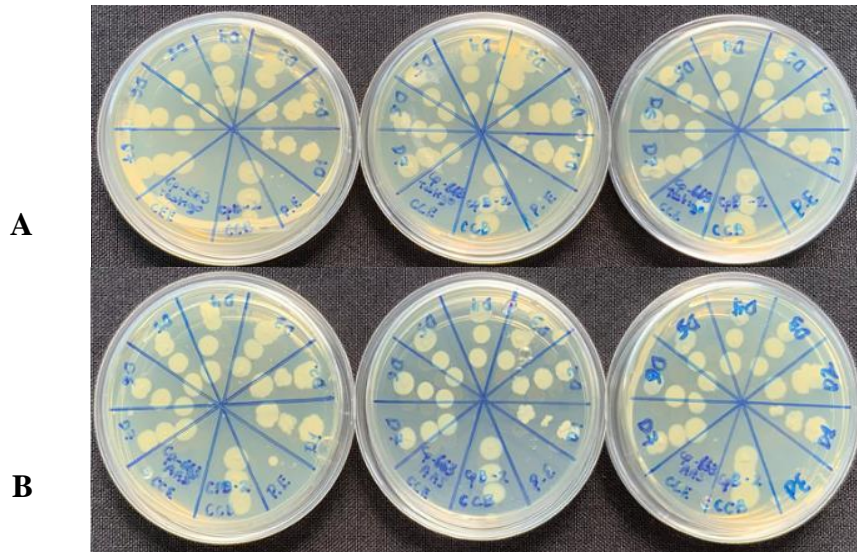
La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL (Figura 30). El extracto hidroalcohólico de *H. erinaceus* CP-663 cultivado en aserrín de encino (testigo) no presentó efecto bacteriostático en ninguna de sus diluciones probadas contra la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus*, mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM mostró un efecto bacteriostático hasta la segunda dilución con una concentración del extracto de 95.03 mg/mL.



**Figura 30.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-2 de *Staphylococcus aureus*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC= Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.11 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Staphylococcus aureus* (CPB-2)

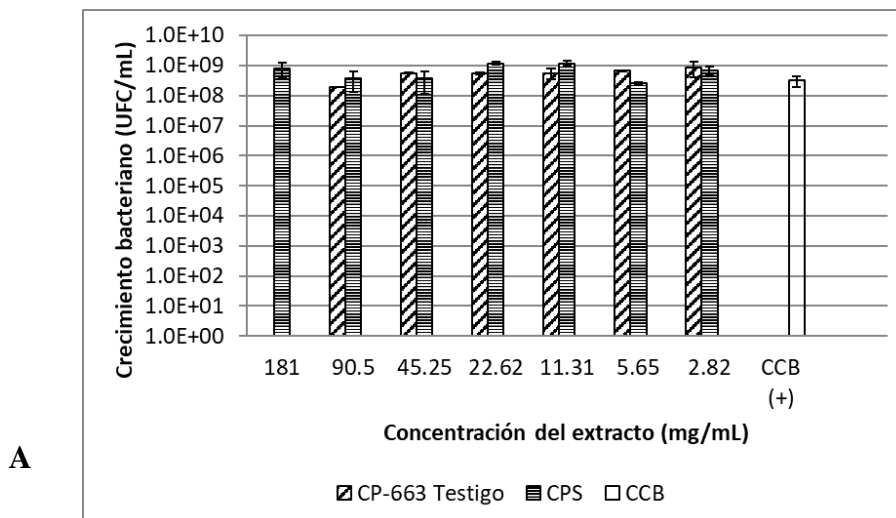
En testigo y tratamiento no se presentó ningún efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-2 de *Staphylococcus aureus*, de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas con medio Mueller Hinton. Se registró crecimiento bacteriano en todas las diluciones estudiadas.



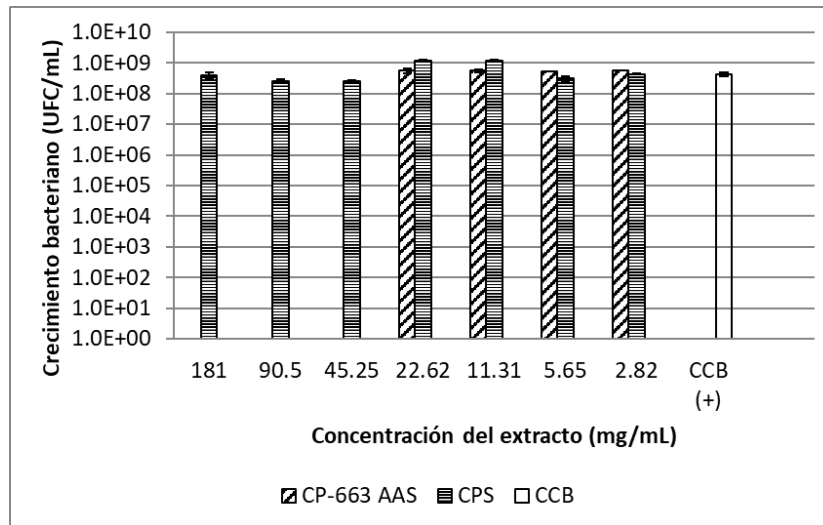
**Figura 31.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-2 de *Staphylococcus aureus*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

### 5.12 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Escherichia coli* (CPB-3)

La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL. En ambos casos, comparativamente con el control, se obtuvo un efecto bacteriostático en la primera dilución con una concentración de 181 mg/mL del testigo, mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM mostró un efecto bacteriostático hasta la tercera dilución con una concentración de 47.51 mg/mL.







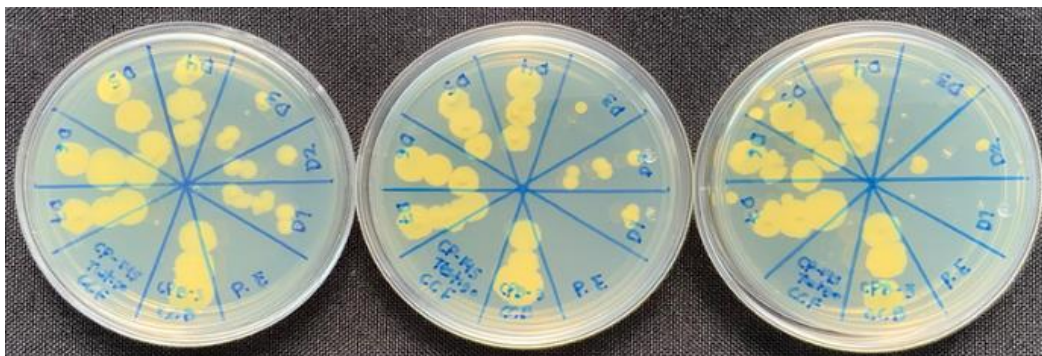
**B**

**Figura 32.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-3 de *Escherichia coli*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

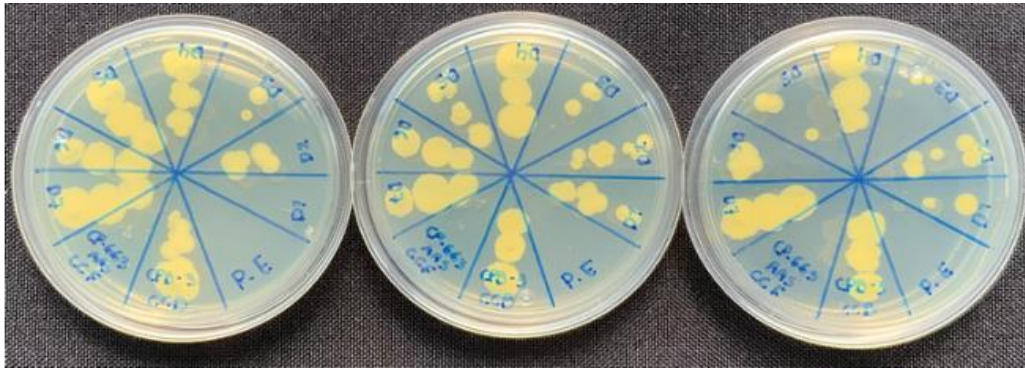
### 5.13 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la cepa CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Escherichia coli* (CPB-3)

En testigo y tratamiento no se presentó efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-3 de *Escherichia coli*, de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas con medio Mueller Hinton. Se registró crecimiento bacteriano en todas las diluciones estudiadas (Figura 33). El débil crecimiento bacteriano en las primeras diluciones confirmó el efecto bacteriostático.

**A**



**B**

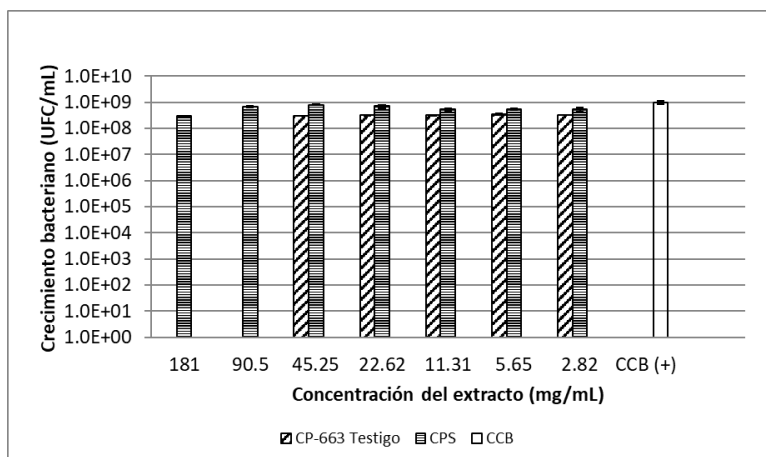


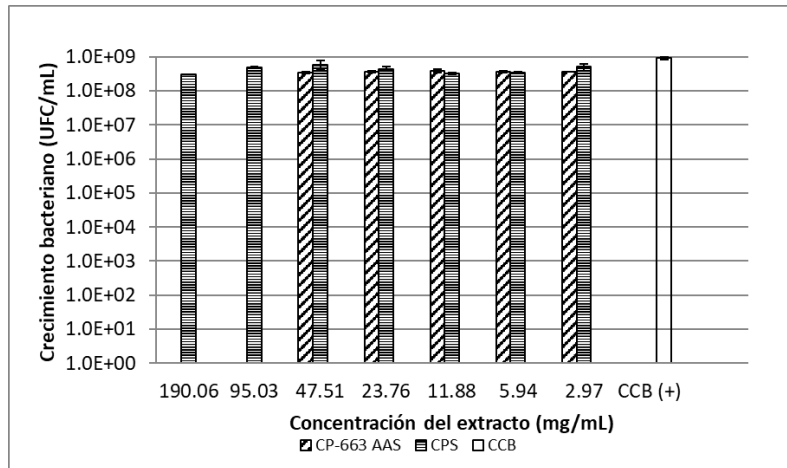
**Figura 33.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericum erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-3 de *Escherichia coli*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

#### 5.14 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericum erinaceus* vs. *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL. En ambos casos, comparativamente con el control, se obtuvo un efecto bacteriostático sobre *Streptococcus agalactiae* (CPB-4) en la segunda dilución con una concentración de 90.5 mg/mL del testigo, mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM también registró un efecto bacteriostático en la segunda dilución con una concentración del extracto de 95.03 mg/mL (Figura 34). Al igual que Rendón-Hernández (2015), en esta bacteria y en la misma cepa de estudio obtuvo un efecto bacteriostático a partir de la dilución 1 con un rendimiento de 146 mg mL<sup>-1</sup> en testigo, mientras que en AAS 10 mM obtuvo un rendimiento de 35.38 mg mL<sup>-1</sup> en la dilución tres, reportando su efecto bacteriostático en ambos análisis.

**A**



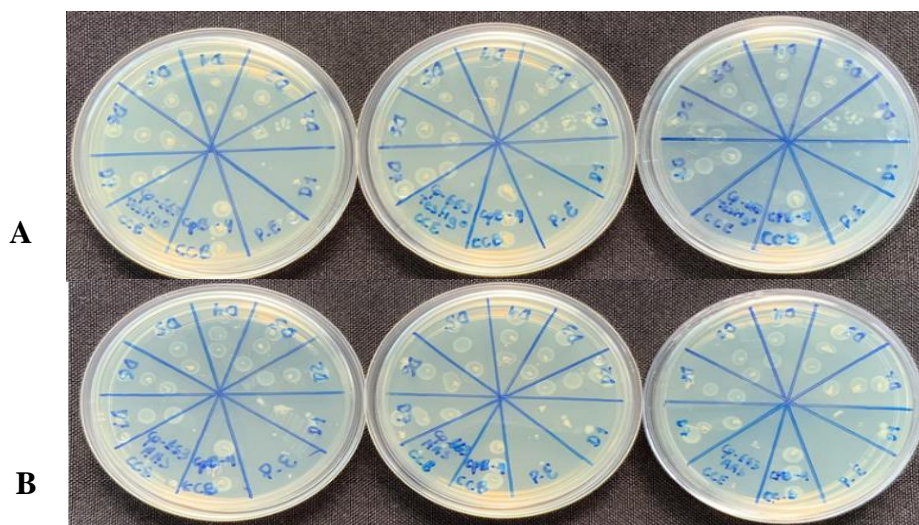


**B**

**Figura 34.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-4 de *Streptococcus agalactiae*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.15 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericium erinaceus* vs *Streptococcus agalactiae* (CPB-4)

En testigo y tratamiento no se presentó efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-4 de *Streptococcus agalactiae*, de acuerdo a lo obtenido en las tres réplicas con medio Mueller Hinton. Se registró crecimiento bacteriano en todas las diluciones estudiadas (Figura 35).



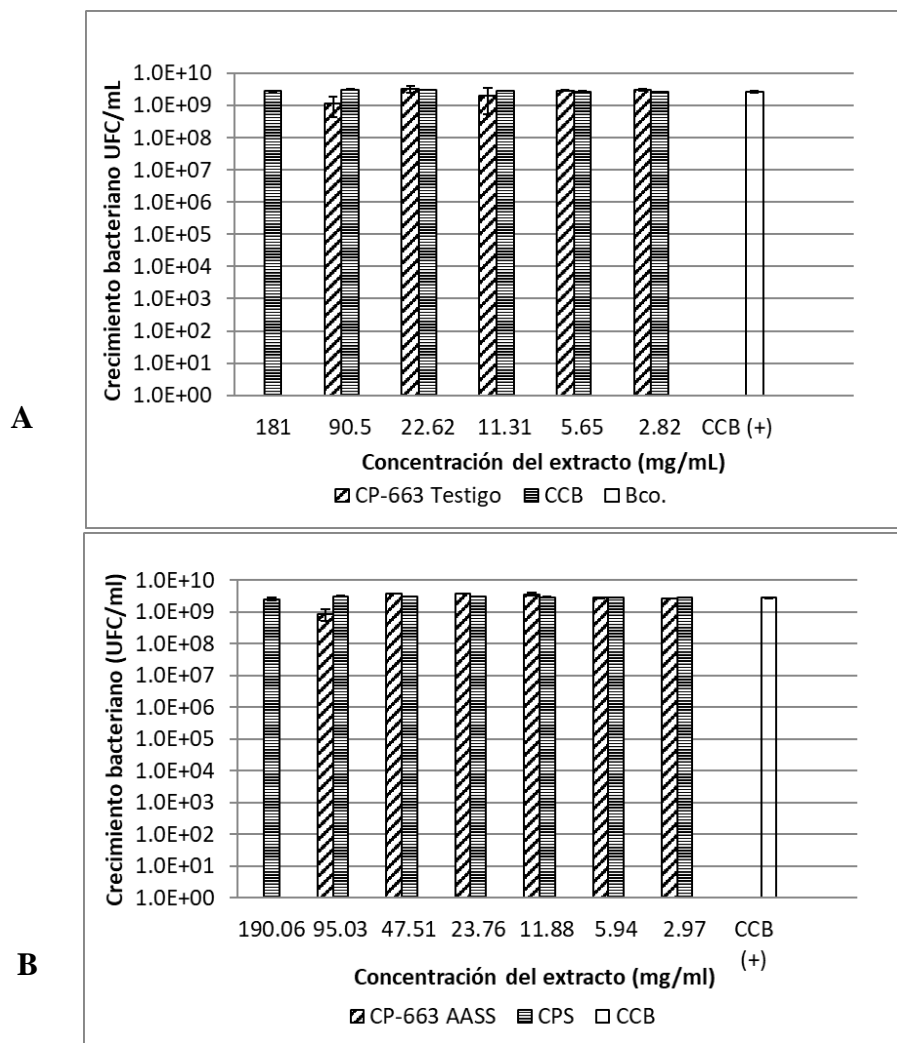
**A**

**B**

**Figura 35.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-4 de *Streptococcus agalactiae*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

### 5.16 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericum erinaceus* vs. *Bacillus subtilis* (CPB-5)

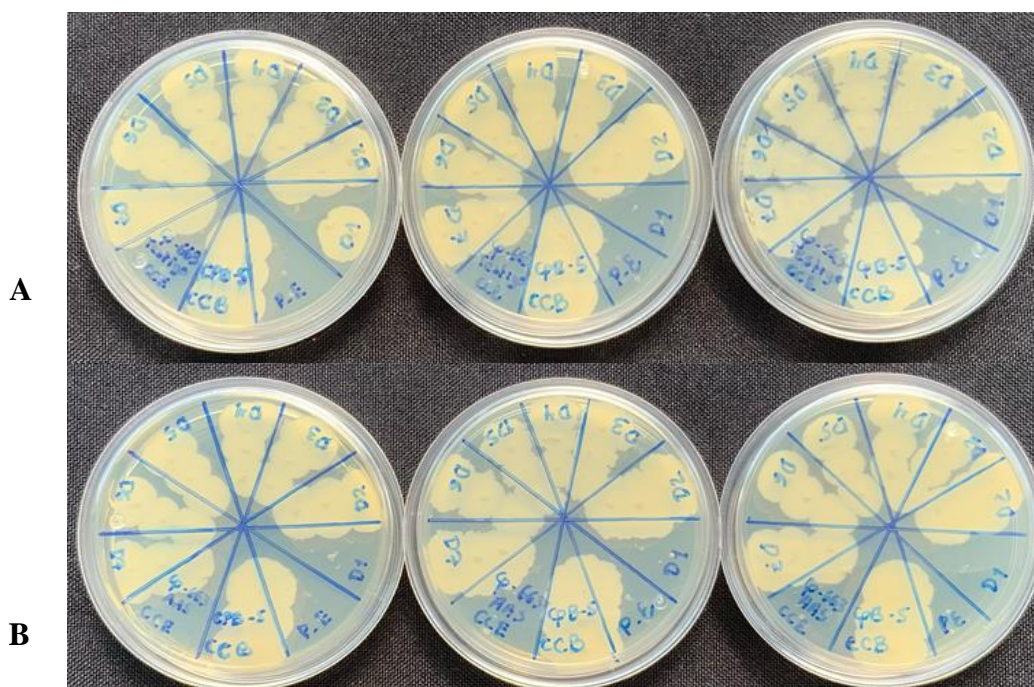
La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL. En ambos casos, comparativamente con el control, se obtuvo un efecto bacteriostático en la primera dilución a una concentración de 181 mg/mL y 190.06 mg/mL, respectivamente, probadas contra la cepa bacteriana CPB-5 *Bacillus subtilis* (Figura 36).



**Figura 36.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericum erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-5 de *Bacillus subtilis*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.17 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericum erinaceus* vs *Bacillus subtilis* (CPB-5)

En testigo y tratamiento se presentó efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-5 de *Bacillus subtilis*, en la dilucion D1 con una dosis de 181 mg/mL para testigo y 190.06 mg/mL para AAS (Figura 37).

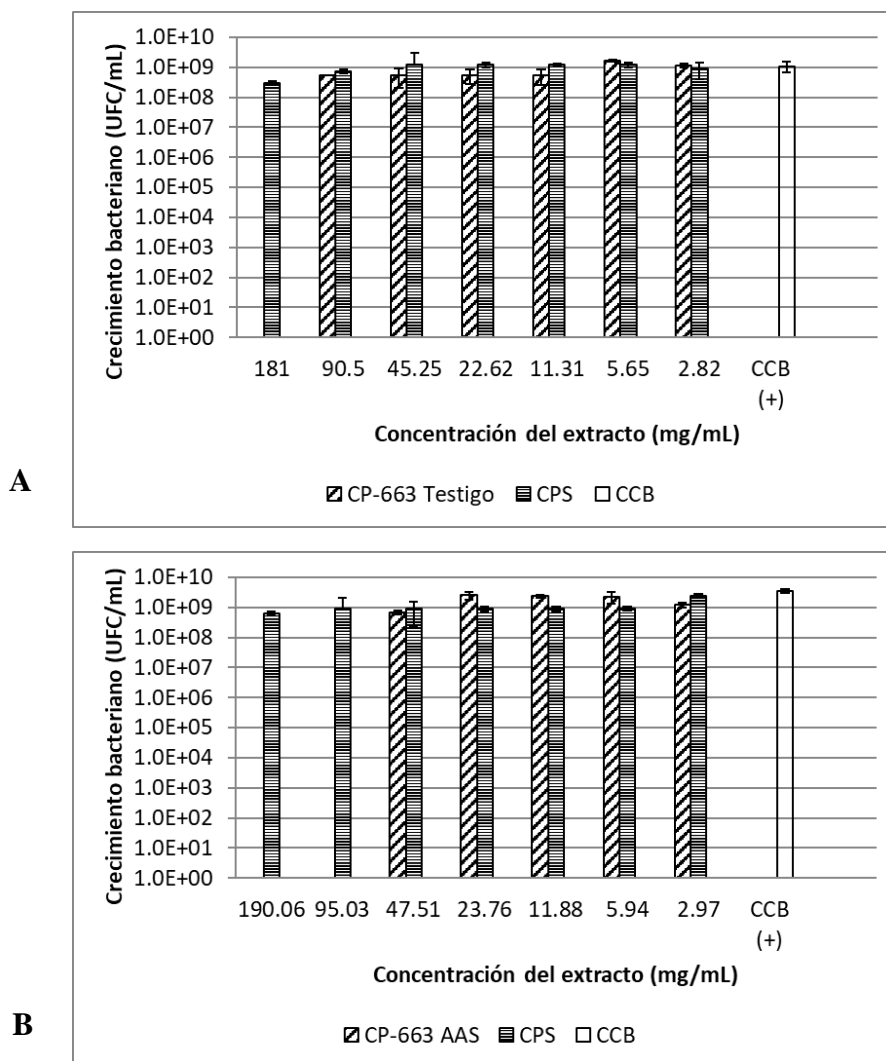


**Figura 37.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericum erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-5 de *Bacillus subtilis* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

### 5.18 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericum erinaceus* vs. *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL. En ambos casos, comparativamente con el control, se presentó efecto bacteriostático sobre *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6) en la primera dilución con una concentración de 181 mg/mL en el testigo, mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM también mostró un efecto bacteriostático en la segunda dilución con una concentración del extracto de 95.03 mg/mL (Figura 38). Rendón-Hernández (2015) en su análisis a la CP- 663 contra la CPB-6, obtuvo un efecto bacteriostático en

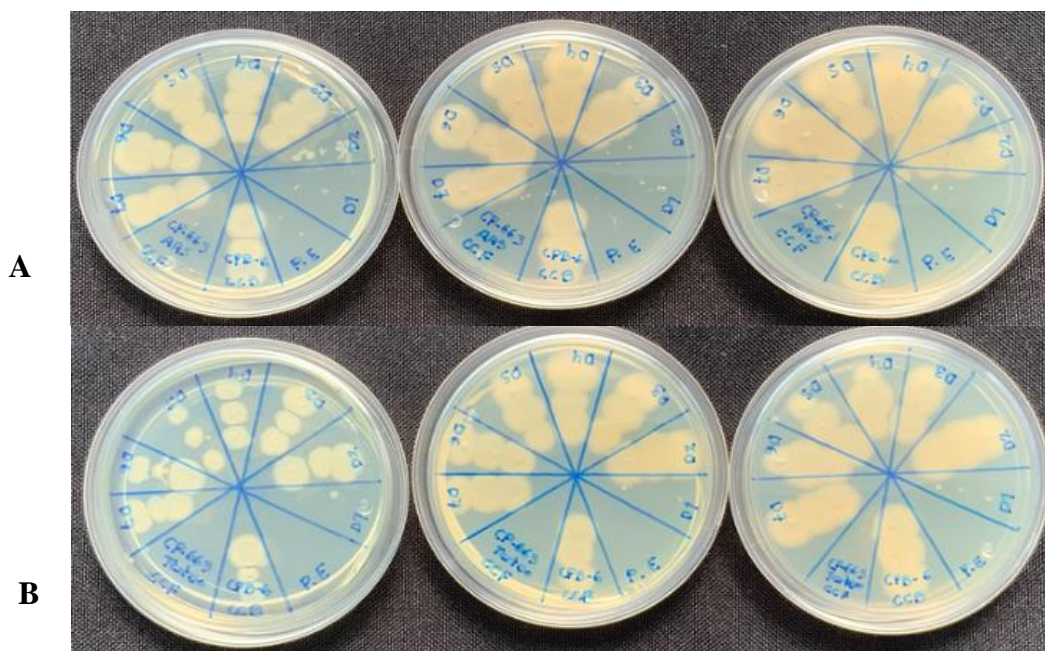
testigo con un rendimiento de  $146 \text{ mg mL}^{-1}$  correspondientes a la primera dilución a una concentración inicial del extracto de  $292 \text{ mg mL}^{-1}$  y en AAS 10 mM en la segunda dilución con un rendimiento de  $70.75 \text{ mg mL}^{-1}$  a una concentración inicial del extracto de  $283 \text{ mg mL}^{-1}$ .



**Figura 38.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.19 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Pseudomonas aeruginosa* (CPB-6)

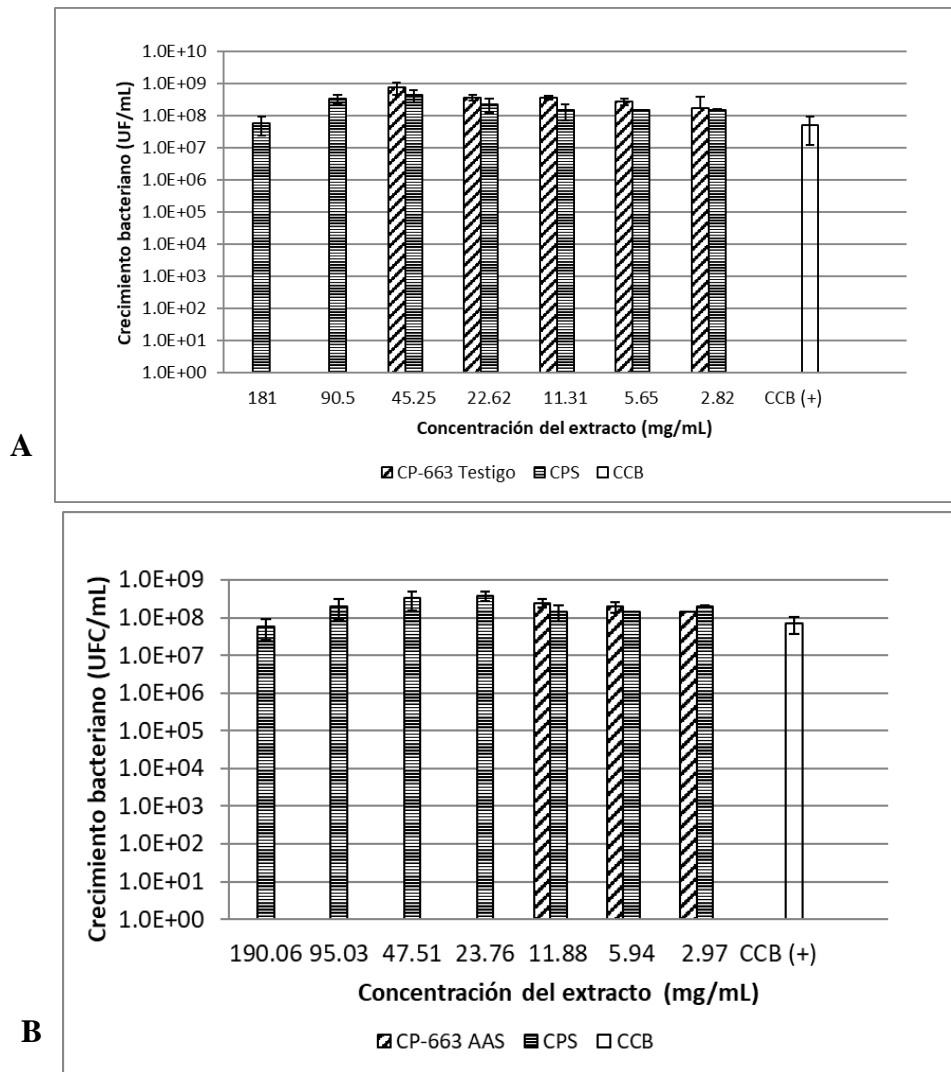
En testigo y tratamiento se presentó efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa*, en la dilución D1 con una dosis de  $181 \text{ mg/mL}$  para testigo y  $190.06 \text{ mg/mL}$  para AAS 10 mM (Figura 39).



**Figura 39.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

### 5.20 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Stenotrophomonas* spp. (CPB-7)

La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL. El extracto hidroalcohólico de *H. erinaceus* CP-663 cultivado en aserrín de encino (testigo) presentó efecto bacteriostático en la segunda dilución con una concentración de 90.5 mg/mL contra la cepa bacteriana *Stenotrophomonas* spp. CPB-7, mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM también tuvo un efecto bacteriostático en la cuarta dilución con una concentración del extracto de 23.76 mg/mL (Figura 40). A diferencia de Rendón-Hernández (2015) que obtuvo un efecto bacteriostático en la tercera dilución con un rendimiento de 36.5 mg mL<sup>-1</sup> con una concentración inicial del extracto alcohólico de 292 mg mL<sup>-1</sup> para testigo, mientras que para AAS 10 mM igual obtuvo un efecto en la tercera dilución con un rendimiento de 35.38 mg mL<sup>-1</sup> a una concentración inicial del extracto alcohólico de 283 mg mL<sup>-1</sup>.

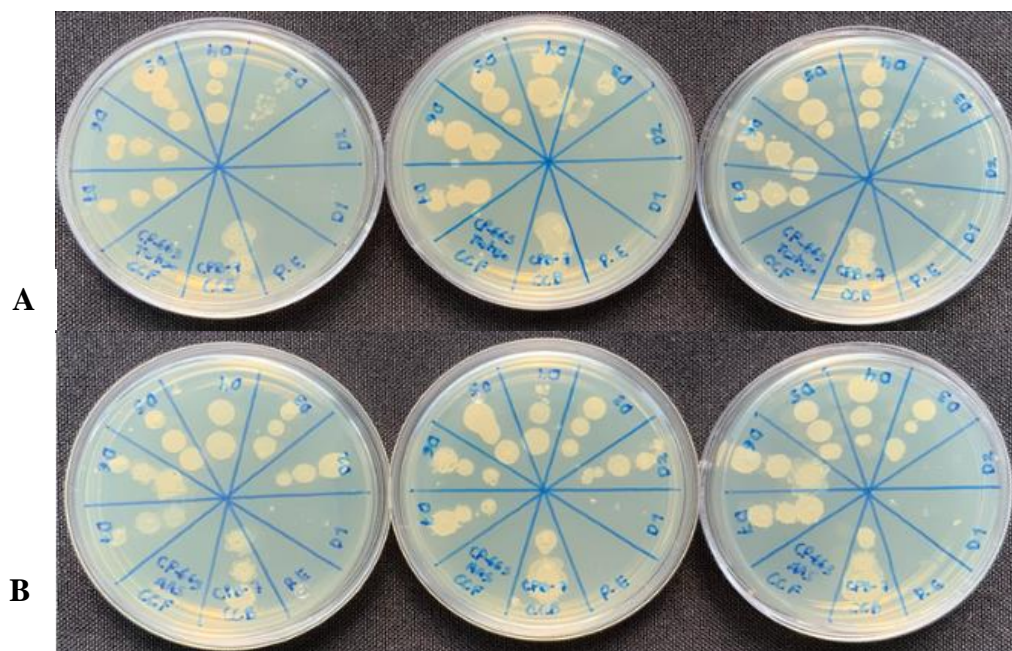


**Figura 40.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-7 de *Stenotrophomonas* spp. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.21 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 de *Hericium erinaceus* vs. *Stenotrophomonas* spp. (CPB-7)

En testigo y tratamiento se presentó efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-7 de *Stenotrophomonas* spp., hasta la dilución 2 con una concentración de 90.5 mg/mL en testigo y en el tratamiento con AAS 10 mM sólo presento efecto bactericida en la primera dilución contra la cepa bacteriana CPB-7 de *Stenotrophomonas* spp. a una concentración 190.06 mg/mL (Figura 41).

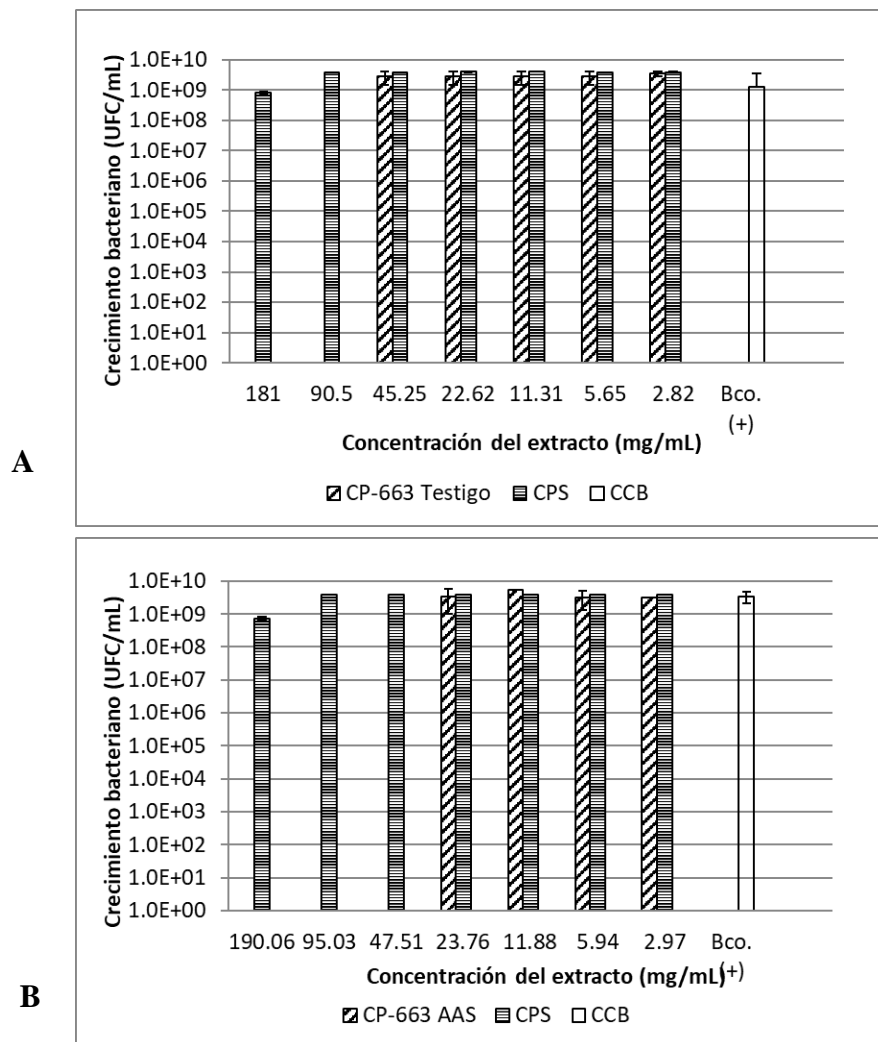




**Figura 41.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-7 de *Stenotrophomonas* spp. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

### 5.22 Efecto bacteriostático del extracto hidroalcohólico de la CP-663 vs. *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

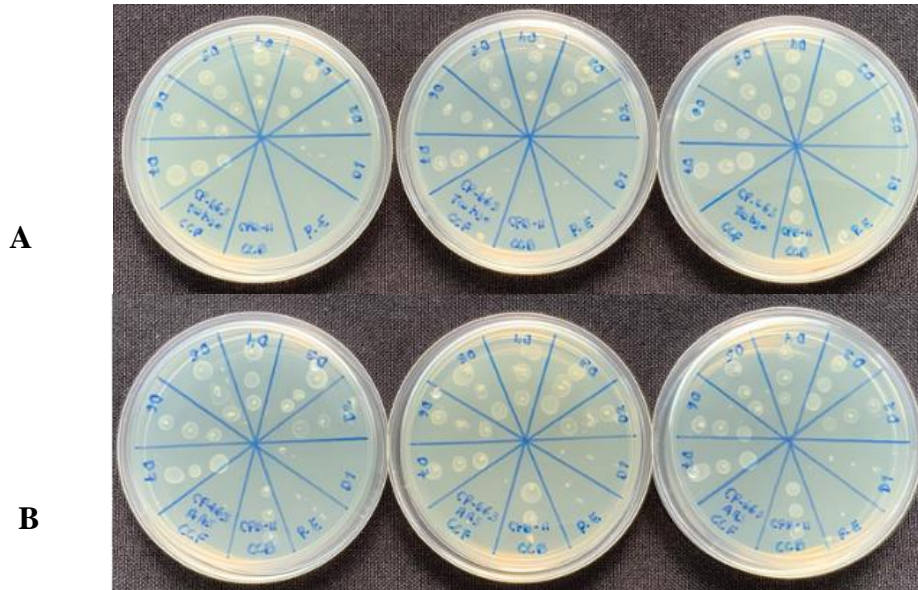
La concentración inicial del extracto hidroalcohólico testigo de *H. erinaceus* fue de 362 mg/mL y en AAS fue de 380.11 mg/mL. En ambos casos, comparativamente con el control, se obtuvo un efecto bacteriostático en la segunda dilución del testigo con una concentración de 90.5 mg/mL contra la cepa bacteriana *Listeria monocytogenes* CPB-11, mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM también mostró un efecto bacteriostático en la tercera dilución con una concentración del extracto de 47.51 mg/mL (Figura 42). Rendón-Hernández (2015) de igual forma obtuvo en testigo un efecto bacteriostático con un rendimiento de 73 mg mL<sup>-1</sup> y una concentración inicial del extracto alcohólico de 292 mg mL<sup>-1</sup> y en AAS 10 mM en la segunda dilución obtuvo un efecto bacteriostático con un rendimiento de 70.75 mg mL<sup>-1</sup> y una concentración inicial del extracto alcohólico de 283 mg mL<sup>-1</sup>.



**Figura 42.** Efecto del extracto hidroalcohólico de *Hericium erinaceus* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa CPB-11 de *Listeria monocytogenes*. A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). UFC=Unidades formadoras de colonias. CPS= Control positivo del solvente. CCB= Control de crecimiento de la bacteria.

### 5.23 Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de la CP-663 vs. *Listeria monocytogenes* (CPB-11)

En testigo y tratamiento se presentó efecto bactericida del extracto estudiado de *H. erinaceus*, al ser evaluado contra la cepa bacteriana CPB-11 de *Listeria monocytogenes*, en la dilucion D1 con una dosis de 181 mg/mL para testigo y 190.06 mg/mL para AAS 10 mM (Figura 43).



**Figura 43.** Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Hericiium erinaceus* sobre la cepa bacteriana CPB-11 de *Listeria monocytogenes* A: Testigo. B: Tratamiento con ácido acetilsalicílico (AAS). D1 a D7= Microdiluciones del tratamiento. CCB= Control de crecimiento de la bacteria. PE (CE)= Prueba o control de esterilidad.

En resumen, la concentración mínima inhibitoria y bactericida de los extractos hidroalcohólicos de *Hericiium erinaceus* se presenta en los Cuadros 27 y 28.

**Cuadro 27.** Concentración mínima inhibitoria (CMI mg/mL) de los extractos hidroalcohólicos de *Hericiium erinaceus* contra ocho especies bacterianas clínicamente relevantes.

Registro	Especie	Tratamientos con extractos	
		Testigo (mg/mL)	AAS 10 mM (mg/mL)
CPB-1	<i>Salmonella typhi</i>	>181	>190.06
CPB-2	<i>Staphylococcus aureus</i>	>181	95.03
CPB-3	<i>Escherichia coli</i>	181	47.51
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	90.5	95.03
CPB-5	<i>Bacillus subtilis</i>	181	190.06
CPB-6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	181	95.03
CPB-7	<i>Stenotrophomonas spp.</i>	90.5	23.76
CPB-11	<i>Listeria monocytogenes</i>	90.5	47.51

**Cuadro 28.** Concentración mínima bactericida (CMB mg/mL) de los extractos hidroalcohólicos de *Hericiium erinaceus* contra ocho especies bacterianas clínicamente relevantes.

Registro	Especie	Tratamientos	
		Testigo (mg/mL)	AAS 10 mM (mg/mL)
CPB-1	<i>Salmonella typhi</i>	SE	SE
CPB-2	<i>Sthapylococcus aureus</i>	SE	SE
CPB-3	<i>Escherichia coli</i>	SE	SE
CPB-4	<i>Streptococcus agalactiae</i>	SE	SE
CPB-5	<i>Bacillus subtilis</i>	181	190.06
CPB-6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	181	190.06
CPB-7	<i>Stenotrophomonas spp.</i>	90.5	190.06
CPB-11	<i>Listeria monocytogenes</i>	181	190.06

SE= Sin efecto

De las 8 bacterias de importancia clínica estudiadas, se observó que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM obtuvo un efecto bacteriostático en 7 bacterias (CPB-2, CPB-3, CPB-4, CPB-5, CPB-6, CPB-7, CPB-11), mientras que el extracto hidroalcohólico de la CP-663 cultivada en aserrín de encino testigo sólo tuvo efecto en 6 bacterias (CPB-3, CPB-4, CPB-5, CPB-6, CPB-7, CPB-11). Adebayo y colaboradores (2018) reportaron la actividad bacteriostática y bactericida más potente sobre *Bacillus subtilis* que mostró un alto grado de susceptibilidad a una concentración muy baja ( $3.33 \text{ mg mL}^{-1}$ ) de extracto de *Pleurotus levis*. El extracto con AAS 10 Mm mostró efecto bacteriostático a concentraciones más bajas hasta la dilución 4 (23.76 mg/mL), mientras que el extracto de la CP-663 testigo sólo mostró efecto bacteriostático hasta la dilución 2 (90.50 mg/mL), que corresponde a 280% más de extracto, lo que demuestra que el ácido acetilsalicílico promueve la producción de compuestos con actividad antimicrobiana. Sólo hubo una bacteria (CPB-1 *Salmonella typhi*) que no mostró susceptibilidad antimicrobiana a los extractos hidroalcohólicos de la CP-663 en ninguna de las concentraciones evaluadas y tratamientos estudiados, por lo que se propone usar concentraciones más altas de los extractos.

El efecto bactericida de los extractos hidroalcohólicos de la CP-663 de basidiocarpos cultivados en aserrín de encino testigo y AAS 10 mM, mostraron el mismo efecto contra las bacterias CPB-5 de *Bacillus subtilis*, CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa*, y CPB-11 de *Listeria monocytogenes*. Sólo para la cepa bacteriana CPB-7 de *Stenotrophomonas spp.*, el extracto testigo mostró un efecto

bactericida a una menor concentración de 90.05 mg/mL comparado con el extracto con AAS 10 mM, el cual tuvo un efecto bactericida a una concentración de 190.06 mg/mL. En el resto de las bacterias no se registró un efecto de actividad bactericida para los extractos obtenidos.

A partir de los análisis anteriores, nos damos cuenta que la gran diversidad de recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales que existen en México representa una fuente potencial de propiedades funcionales, las cuales pueden aprovecharse en beneficio de la sociedad (Armendáriz et al., 2010). El uso de antioxidantes para la preservación de los alimentos es indispensable, porque con ello se asegura su calidad, ya que mantiene la apariencia, color y olor para el consumidor (Cortés, 2019). Los antioxidantes son el compuesto bioactivo que destaca y que está siendo de suma importancia específicamente en la industria alimentaria, debido a que previene los efectos adversos de especies reactivas de oxígeno sobre las funciones fisiológicas normales del organismo, al proteger los alimentos de la rancidez y decoloración ocasionadas por los radicales libres generados por procesos químicos como la oxidación de aceites y grasas.

Los hongos comestibles han sido descritos como una fuente importante de compuestos biológicos capaces de reducir la carga de bacterias patógenas y los de niveles radicales libres en los alimentos, se ha demostrado que existe un efecto antimicrobiano en especies de hongos comestibles, como por ejemplo en los extractos etanólicos y acuoso-etanólicos de *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus* con un alto efecto inhibitor sobre *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, y *Salmonella typhimurium* (del Mar Torres-Martínez et al., 2022).

## VI. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Los extractos del hongo comestible *Hericiium erinaceus* tuvieron propiedades funcionales incrementadas por la adición del ácido acetilsalicílico (AAS) al substrato de cultivo, tanto en el contenido de antioxidantes (AAS: 3,091.72 EAG  $\mu\text{G}/\text{mL}$ ), como en la actividad antibacteriana (efectos bacteriostático y bactericida). Por lo tanto, se aceptó la hipótesis planteada.

## VII. CONCLUSIONES

1. *Hericiium erinaceus* es un recurso genético importante para México con propiedades antioxidantes y antibacterianas, el cual puede ser cultivado a pequeña y gran escala en las comunidades rurales de México.
2. De acuerdo a la determinación de la cinética de crecimiento, se observó que los valores más altos con diferencia significativa se presentaron en un rango de  $3.35\pm 0.40$  a  $4.48\pm 0.28$  cm, que corresponden a la cepa CP-663 en el tratamiento EMA+AAAS  $100\ \mu\text{M}$  y a la cepa CP-1037 en el tratamiento CYM+AAS  $1\ \mu\text{M}$ , respectivamente. En tanto que los valores significativos del área micelial de la colonia, se observaron en un rango de  $24.61\pm 7.27\ \text{cm}^2$  de la cepa CP-826 en medio CYM+AAS  $1\ \mu\text{M}$ , a  $67.23\pm 2.78\ \text{cm}^2$  de la cepa CP-1037 en medio CYM+AAS  $100\ \mu\text{M}$ . Se seleccionó la cepa CP-663 correspondiente a *Hericiium erinaceus*, cuyos valores de cinética de crecimiento y área micelial se encontraron dentro de los rangos mencionados, dicha cepa se cultivó en el substrato aserrín de encino y aserrín de encino adicionado con ácido acetilsalicílico (AAS  $10\ \text{mM}$ ).
3. La cepa de *Hericiium erinaceus* CP-663 requirió de 54 días, menor tiempo que el testigo (92 días) para formar los basidiocarpos, como se esperaba en el tratamiento al que se le añadió ácido acetilsalicílico.
4. Se obtuvo un basidiocarpo de mayor diámetro en el tratamiento con AAS ( $24.3\ \text{cm}$ ) y su apariencia y color se diferencian del testigo.

5. Se obtuvieron los extractos hidroalcohólicos a partir de los basidiocarpos de *Hericiium erinaceus*, caracterizando sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas.
6. El contenido de proteínas fue mayor en el tratamiento al que se le añadió AAS 10 mM (AAS: 634.62 µg/mL), al igual que el contenido de polifenoles totales (AAS: 3,091.72 EAG µg/mL).
7. La cantidad de betaglucanos totales fue mayor en el tratamiento con AAS (30.51 µg/mL).
8. La CP-663 cultivada en aserrín de encino con AAS 10 mM tuvo un efecto bacteriostático en 7 bacterias de interés clínico (CPB-2 de *Sthapylococcus aureus*, CPB-3 de *Escherichia coli*, CPB-4 de *Streptococcus agalactiae*, CPB-5 de *Bacillus subtilis*, CPB-6 de *Pseudomonas aeruginosa*, CPB-7 de *Stenotrophomonas* spp., CPB-11 de *Listeria monocytogenes*) a concentraciones más bajas hasta la dilución 4 (23.76 mg/mL), mientras que el extracto de la CP-663 testigo sólo mostró efecto bacteriostático hasta la dilución 2 (90.50 mg/mL), que corresponde a 280% más de extracto.
9. El extracto testigo mostró un efecto bactericida a una menor concentración de 90.05 mg/mL, comparado con el extracto de AAS 10 mM que mostró efecto bactericida a una concentración de 190.06 mg/mL para la cepa bacteriana CPB-7 de *Stenotrophomonas* spp.
10. El efecto del AAS desarrolla un papel importante en el cultivo de hongos comestibles, funcionales y medicinales al ser incorporado en el substrato de cultivo para la siembra de los mismos, ya que previene el crecimiento de agentes contaminantes, además de permitir el incremento del rendimiento y de las propiedades funcionales y medicinales.

## VIII. ESTRATEGIA PARA EL APROVECHAMIENTO DEL HONGO MEDICINAL MELENA DE LEÓN (*Hericiium erinaceus*)

Con una población mundial en aumento, la disminución de la tierra cultivable, la rápida urbanización e industrialización, el cambio climático y la necesidad de alimentos funcionales y de alta calidad, es necesario centrarse en nuevos cultivos y considerar la versatilidad y el dinamismo de los mercados globales, al igual de apoyar la rápida y continuos saltos tecnológicos, cambios que afectan a empresas de todo el mundo. La investigación biotecnológica ayuda a atender las diversas necesidades del sector agroalimentario, que considera la aplicación de diversas tecnologías para la producción de nuevas variedades de plantas y animales con características específicas mediante el uso de sistemas biológicos, organismos vivos o sus derivados, plantas avanzadas y tecnología de reproducción animal, desarrollo de alimentos funcionales como prebióticos y probióticos, diversos insumos, productos y procesos utilizados en el sector primario y la industria de alimentos y bebidas (Rodríguez, 2020). En México existe una extensa red de instituciones que ofrecen formación académica en biotecnología y también tiene los expertos y la infraestructura para llevar a cabo la investigación y el desarrollo tecnológico, el 47% de las empresas hacen proyectos de biotecnología agroalimentaria, el 33% relacionada con salud y el 19% de los casos con enfoque industrial (Escalante, 2017). El uso y consumo de hongos ha sido utilizado por los seres humanos durante décadas con fines medicinales y alimentarios (Pérez Armendáriz et al., 2010; Sahagún, 2021).

El cultivo de hongos no requiere grandes extensiones de tierra, la disponibilidad de fondos puede ser moderada en comparación con otros cultivos y requiere poco mantenimiento, por lo que es una actividad viable para los agricultores, residentes rurales y mujeres jefas de familia. Además de ser de gran interés como alimento saludable, bajo en calorías, colesterol y como gran fuente de proteína no animal. Además, se consideran alimentos funcionales, es decir, alimentos que contienen compuestos biológicamente activos. Martínez-Carrera et al. (2012, 2016) establecieron que los hongos comestibles presentan propiedades antioxidantes, antibacteriales, antivirales, antialérgicas y antitumorales, además disminuyen el colesterol, los lípidos y la glicemia en la sangre. Los buenos resultados en esta investigación comprobaron estas propiedades antioxidantes y antibacterianas de *Hericiium erinaceus*. Mundialmente hay una larga tradición de pueblos que



recolectan hongos comestibles, provenientes de Japón, China, India, y también de culturas americanas como en México que consumen más de 275 especies de hongos. Estas culturas no sólo han utilizado los hongos como fuente de alimento, sino que han desarrollado un culto hacia estos por sus atributos medicinales y espirituales (Montenegro y Stuardo, 2021).

Con estas acciones no solo se fortalecen los medios de vida de los agricultores al generar ingresos agrícolas constantes, si no que de igual manera se reduce de forma significativa la vulnerabilidad ante la pobreza y la inestabilidad alimentaria. No hay duda de que, si la tecnología de cultivo de hongos se promueve y desarrolla adecuadamente, particularmente en comunidades vulnerables, la oportunidad de crecimiento económico será un parteaguas para asegurar un futuro sostenible (Sahagún, 2021). Además de lograr la autosuficiencia alimentaria con la capacidad de producir de forma independiente los alimentos que consume la población sin la ayuda de insumos externos para lograr la soberanía alimentaria, haciendo caso a la FAO en relación con el fomento de la agricultura familiar y comunitaria. Haciendo referencia al concepto de estrategia se define como una manera de resolver problemas actuales con el fin de alcanzar un objetivo.

Las estrategias son diseñadas para el futuro con el fin de efectuar cambios positivos, en base a todo lo anteriormente mencionado, se propone una estrategia utilizando el recurso genético para pequeñas comunidades rurales en donde se les brindara la capacitación, adecuada para el cultivo de *Hericiium erinaceus* además de ideas y recetas para la transformación de la materia prima en productos innovadores y de impacto y así contribuir en su desarrollo personal y profesional, al igual de promover la investigación biotecnológica como parte de la formación profesional de la población en general.

### Objetivos

- Fomentar el cultivo de *Hericiium erinaceus* en las comunidades rurales de México.
- Mejorar la calidad de vida de los habitantes al incorporar alimentos con alto valor nutricional y funcional.
- Elaborar productos innovadores a partir del hongo comestible *Hericiium erinaceus* que generen impacto dentro y fuera de las comunidades rurales.
- Brindar un progreso y bienestar en las comunidades rurales al impulsar el desarrollo tecnológico como parte del biotecnocapitalismo.

#### Principales actores de la estrategia:

- Productores de subproductos agrícolas como maíz, trigo, pajas, etc. Para uso como substrato en el cultivo de hongos.
- Recolectores de hongos silvestres para autoconsumo y venta en mercados.
- Expertos en todo lo relacionado con el cultivo, cosecha y aprovechamiento de hongos comestibles para la transferencia de tecnología a las comunidades.
- Expertos en todo el sistema de producción de hongos comestibles, funcionales y medicinales, desde el cultivo, cosecha, venta, distribución. y aprovechamiento de la generación de una innovación y transferencia a las comunidades rurales del país de una tecnología para el cultivo de *Hericiium* para autoconsumo, a pequeña y gran escala.
- Las instituciones de investigación y organizaciones, tal es el caso del Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales (CB-HCFM) del Colegio de Postgraduados, *Campus* Puebla, que ofertan sus productos y servicios para la capacitación adecuada de la siembra, cosecha y manejo postcosecha de hongos comestibles funcionales y medicinales.
- Estancias gubernamentales que brindan apoyos técnicos, financieros y administrativos al público en general.
- Industrias del sector alimentario, farmacéutico, centros comerciales, mercados, etc.

Obtención de semilla

- Centro de Biotecnología de Hongos Comestibles, Funcionales y Medicinales

Distribución de áreas

- Área de producción de UPSC
- Área de esterilización de las UPSC.
- Área de inoculación
- Área de incubación
- Área de almacenamiento de los substratos
- Área de refrigerador o cámara fría para almacen de basidiocarpos frescos

Material

- Tambos de plástico o costales para almacenar insumos de substratos
- Balanza granataria (1 g- 20 kg)
- Tinas de plástico (200-500 litros)
- Bolsas de polipropileno con filtro de 13.5 x 80 cm
- Cucharones de acero inoxidable
- Cubetas de plástico de 20 L de capacidad
- Mesas de plástico de 2 x 1 m
- Ollas de presión de 21 L de capacidad
- Estantes de plástico

Dimensiones de las Áreas de fructificación y cosecha

- 4 x 3 m cerrada, con un extractor y un ventilador, áreas limpias, iluminada, libre en sus alrededores de animales de granja, y disponibilidad de agua limpia

Material

- Cuchillo
- Regla
- Lápiz
- Balanza

Transformación de basidiocarpos

- Basidiocarpos de *Hericiium* en escabeche
- Basidiocarpos de *Hericiium* deshidratados
- Basidiocarpos de *Hericiium* en Salmuera
- Artesanías con basidiocarpos de *Hericiium*

## IX. LITERATURA CITADA

- Adebayo, E. A., Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Escudero, H., Meneses, M. E., Avila-Nava, A., Castillo, I., y Bonilla, M. (2018). Comparative study of antioxidant and antibacterial properties of the edible mushrooms *Pleurotus levis*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* and *P. tuber-regium*. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5), 1316-1330.
- Arango, C. S., & Nieto, I. J. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1-8.
- Arevalillo, J. M. F. (2004). La transformación industrial de la producción agropecuaria. Antioxidantes en productos agroalimentarios. Secretaria General Técnica.
- Armendáriz, B. P., Mayett, Y., Jiménez, F. R., Sobal, M., Morales, P., Bonilla, M., Ramírez-Carrasco, P., Tello, I., Trigós, A., Mendoza, G., Soriano-Santos, J., y Martínez-Carrera, D. M. (2010). Desarrollo de bebidas y alimentos funcionales a partir de los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales en México, 21.
- Avello, M, y Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.
- 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.
- Brandalise, F., Cesaroni, V., Gregori, A., Repetti, M., Romano, C., Orrú, G., Botta, L., Girometta, C., Guglielminetti, M. L., Savino, E. y Rossi, P. (2017). Dietary supplementation of *Hericium erinaceus* increases mossy fiber-CA3 hippocampal neurotransmission and recognition memory in wild-type mice. *Hindawi*. (2017), 13.
- Cortes A. S., (2019). *Determinación de la actividad antioxidante de extractos de hongos in vitro y en alimentos*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de México.

- del Mar Torres-Martínez, B., Vargas-Sánchez, R. D., Ibarra-Arias, F. J., Ibarra-Torres, E. V., Torrescano-Urrutia, G. R., y Sánchez-Escalante, A. (2022). Efecto del solvente de extracción sobre la composición química, propiedades fisicoquímicas y biológicas de extractos de hongos comestibles. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24(1).
- Díaz Cortés, N. (2010). *Evaluación de la producción de dos especies de hongos comestibles silvestres utilizando residuos agrícolas como sustrato* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Díaz-Talamantes, C., Burrola-Aguilar, C., Aguilar-Miguel, X., y Mata, G. (2017). Crecimiento miceliar in vitro de hongos comestibles silvestres de alta montaña en el centro de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 23(3), 369-383.
- Digilio, P. (2021). Biotecnología, desarrollo y neoliberalismo. *erasmus*, 23.
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., y Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4), 337-345.
- Escalante, L. F. (2017). Panorama actual de la industria biotecnológica en México. *ProMéxico. Inversión y Comercio*. 81.
- Espinosa, F., y Munguía, A. C., (3 de octubre de 2017). El poder de los hongos comestibles. *El poder del consumidor*. Recuperado de <https://elpoderdelconsumidor.org/2017/10/poder-los-hongos-comestibles/>
- Flores, J. G. P., Ordaz, J. J., & López, E. C. (2017). ¿Qué es un alimento funcional? *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 4(8).
- Flórez, Á. M. W. (2010). La biotecnología en un mundo globalizado. *Revista Colombiana de Bioética*, 5(2), 164-169.
- Galván, E., L. Perez-Ramirez y J. Cifuentes. (1997). Los hongos macroscópicos en la medicina. Congreso Nacional de Micología (Memorias). IX Jornadas científicas. UNACH-Sociedad Mexicana de Micología. Tapachula, Chiapas.

- González-Morales, A., Ribas-Aparicio, R. M., y Burrola-Aguilar, C. (2021). Actividad antioxidante de hongos silvestres consumidos tradicionalmente en el centro de México. *Scientia Fungorum*, 52, 10.
- Gunes, A.; Inal, A.; Alpaslan, M.; Eraslan, F.; Guneri Bagsi, E. & Cicek, N. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.), grown under salinity. *J. Plant Physiol.* 164: 728-736.
- Gutiérrez-Coronado, M.; Trejo L., C. y Larqué-Saavedra, A. (1998). Effect of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol. and Biochem.* 36 (8): 563-565.
- Hassan, F. R. H. (2007). Cultivation of monkey head Mushroom (*Hericium erinaceus*) in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research* 3(10): 1229-1233.
- Huang D, Ou B, Hampsch-Woodill M, Flanagan J and Prior R. High-throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *J Agric Food Chem* 2002; 50:4437-4444.
- Hyunjong, K. y Thatithatgoon, S. (2005). Cultivo de hongos en el Norte de Tailandia. Capítulo 2: Cultivo de hongos para la subsistencia en el mundo. *Manual del cultivador de hongos*. 33-41.
- Kovacik, J.; Gruz, J.; Backor, M.; Strnad, M. y Repeak, M. (2008). Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Reports*, 28 (135), 9.
- Lehninger, A. L. (1976). Curso breve de bioquímica. Omega, Barcelona ISBN 84-282-0445-4
- Luo, J. P.; Juang, S. T.; Pan, L. J. (2001). Enhanced somatic embryogenesis by salicylic acid of *Astragalus adsurgens* Pall.: relationships with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-metabolizing enzyme activities. *Plant. Sci.* 161: 125-132.
- Martínez-Carrera, D, 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. Pp. 209-224. In: El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. en México. ECOSUR-CONACYT, México, D.F.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, A. Tovar Palacio, N. Torres, M. E. Meneses, M. Sobal Cruz, P. Morales Almora, M. Bonilla Quintero, H. Escudero Uribe, I. Tello-Salgado, T. Bernabé-González, W. Martínez Sánchez y 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*. Eds. D. Martínez-Carrera y J. Ramírez Juárez. Editorial del Colegio de Postgraduados-AMC-CONACYT-UPAEP-IMINAP, San Luis Huexotla, Texcoco.
- 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., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M., Martínez, W. y Mayett, Y. (2012). Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. Pp. 449-474. In: Memorias Reunión General de la Academia Mexicana de Ciencias: Ciencia y Humanismo (Agrociencias). *Academia Mexicana de Ciencias*, México, D.F. 750 pp.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla y W. Martínez. (2006). México ante la globalización en el siglo XXI: el sistema de producción-consumo de los hongos comestibles. In: El cultivo de *Pleurotus* en México. ECOSUR-IE-UNAM-COLPOS, México, D.F.
- Martínez-Carrera, D., R. Leben, P. Morales, M. Sobal, A. Larqué-Saavedra. (1991). Historia del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo* 96: 33-43.
- Mau, J.L., Lin H.C., Song S.F. (2002) Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International*, 35: 519–526.

- Meléndez-Sosa, M. F., García-Barrales, A. M., y Ventura-García, N. A. (2020). Perspectivas e impacto en la salud del consumo de los alimentos funcionales y nutraceuticos en México. *RD-ICUAP*, 6(1), 114-136.
- Meneses, M. E., Martínez-Carrera, D., Torres, N., Sánchez-Tapia, M., Aguilar-López, M., Morales, P., Sobal, M., Bernabé, T., Escudero, H., Granados-Portillo, O., y Tovar, A. R. (2016). Hypocholesterolemic properties and prebiotic effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 mice. *PloS one*, 11(7), 28.
- Mizuno, M., y Nishitani Y. (2013) Immunomodulating compounds in Basidiomycetes. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 52(3): 202–207.
- Montenegro, I., y Stuardo, C. (2021). Introducción al cultivo de hongos comestibles. Documento de divulgación (54), 60.
- Müller, L., S. Gnoyke, M. A. Popken y V. Böhn. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology* 43, 992-999.
- Murillo, E., Lombo, O., Tique, M. y Méndez, J. (2007). Potencial Antioxidante de *Bauhinia Kalbreyeri* Harms (FABACEAE). *Información Tecnológica* 18: 65-74.
- Nyochembeng, L. M., Beyl, C. A., y Pacumbaba, R. P. (2008). Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. *Bioresource Technology* 99 (13): 5645-5649.
- Öztürk, M., M. Duru, S. Kivrak, N. Mercan-Doğan, A. Türkoglu, y M. 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.
- Palacios Romero, I. (2015). *Extracción y caracterización de polisacáridos y estudio del perfil de compuestos volátiles en hongos comestibles*. Tesis de Doctorado. Universidad de Valladolid.



- Pérez Armendáriz, B., Mayett, Y., Jiménez, F. R., Sobal, M., Morales, P., Bonilla, M., Ramírez, P., Tello, I., Trigos, A., Mendoza, G., Soriano, J., González, N., & Martínez-Carrera, D. (2010). Desarrollo de bebidas y alimentos funcionales a partir de los recursos genéticos de hongos comestibles y medicinales en México. Pp. 221-240. *In: Hacia un Desarrollo Sostenible del Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI*. D. Martínez- Carrera, N. Curvetto, M. Sobal, P. Morales y V. M. Mora. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales-COLPOS-UNS-CONACYT-AMC-UAEM-UPAEP-IMINAP, Puebla.
- Pizarro, S., Ronco, A. M., & Gotteland, M. (2014).  $\beta$ -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud? *Revista chilena de nutrición*, 41(4), 439-446.
- Prieto, M.A., I. Rodríguez-Amado, J.A. Vazquez, M.A Murado. (2012).  $\beta$ -Carotene Assay Revisited. Application to Characterize and quality antioxidant and preoxidant activities in Microplate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 8983-8993.
- Quiroz, E y Pradilla, H. (2018). El pasado del futuro alimentario: los alimentos ancestrales americanos. *Los hongos comestibles en México (1)*. Instituto Mora.
- Rendón-Hernández, G. A., (2015). *Caracterización y cultivo de diferentes recursos genéticos de hongos y su importancia en el desarrollo de la zona central de México*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla.
- Rios, M., Hoyos, J. L., y Sanchez, S. A. M. (2010). Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(2), 86-94.
- Roberfroid, M.B. (1999). Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. *Journal of Nutrition* 129:1398-1401.
- Rodríguez Estay, Alejandro. (2020). Investigación, innovación y transferencia de tecnología. *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 28(3), 360.

- Romero-Córdoba, S. L., Salido-Guadarrama, I., Meneses, M. E., Cosentino, G., Iorio, M. V., Tagliabue, E., Torres, N., Sanchez-Tapia, M., Bonilla, M., Castillo, I., Petlascalco, B., Tovar, R.A., y Martínez-Carrera, D. (2020). Mexican *Ganoderma lucidum* extracts decrease lipogenesis modulating transcriptional metabolic networks and gut microbiota in C57BL/6 mice fed with a high-cholesterol diet. *Nutrients*, 13(1), 38.
- Rossi, P., Cesaroni, V., Brandalise, F., Occhinegro, A., Ratto, D., Perrucci, F., Lnaia, V., Girometta, C., Orrú, G. y Savino, E. (2018). Dietary supplementation of lion's mane medicinal mushroom, *Hericium erinaceus* (agaricomycetes), and spatial memory in wild-type mice. *International journal of medicinal mushrooms*, 20(5).
- Sahagún, F. V. (2021). Aprovechamiento sostenible de hongos comestibles; hacia una seguridad alimentaria. *Meio Ambiente (Brasil)*, 2(5).
- Samuels, G., W. Gams, L. A. Castlebury y O. Petrini. (2002). Trichoderma species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 94(1),146-170.
- Sánchez, K. I. E. (2017). *Propiedades nutricionales y valor nutracéutico de tres especies de hongos comestibles silvestres de la Sierra Norte de Puebla*. Colección de memorias de los congresos de la sociedad química de México. 37.
- Siwulski, M. y Pawlak, R. (2005). Influence of sawdust substrate and its heat treatment on the mycelium growth and yield of *Hericium erinaceus* (Bull. Fr.) Pers. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wroclaiwui. Rolnictwo* 515 (3): 266-272.
- Siwulski, M., Sobieralski, K. y Wojnilowicz, M. (2009). Comparison of mycelium growth and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. Reino Unido: University of Strathclyde.
- Stamets, P. (2000). *Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms*. Third Ed. 10 Speed Press: CA, USA.
- Thongbai, B., Rapior, S., Hyde, K. D., Wittstein, K., & Stadler, M. (2015). *Hericium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological Progress*, 14(10), 1-23.

- Trujillo, A. S. D., Insuasti, J. P., Juárez, M. G., y de Champiñones Carbonero-Jacales, P. (2018). Beta-Glucanos de Pleurotus y sus efectos en la salud. *Revista Biorrefinería*, 1(4).
- Tschierpe, H. J. y Hartmann, K. (1977). A comparison of different growing methods. *Mushroom Journal* 60: 404-416.
- Tucuch-Haas, C. J., Angulo-Castro, A., Tucuch-Haas, J. I., Mejía-Delgadillo, M. A., y López-Orona, C. A. (2021). Uso de Aspirina® (Ácido Acetilsalicílico) en el rendimiento del grano del cultivo de Maíz. *Revista biociencias*, 8.
- Wang, X. Y., Zhang, D. D., Yin, J. Y., Nie, S. P., y Xie, M. Y. (2019). Recent developments in *Hericium erinaceus* polysaccharides: extraction, purification, structural characteristics and biological activities. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(sup1), S96-S115.
- Yuichi, S., K. Naotake y S. Toshitsugu. (2012). Senescence of the *Lentinula edodes* Fruiting Body After Harvesting, *Food Quality*, Dr. Kostas Kapis. 10.
- Zamora-Martínez, M. (1999). Hongos comestibles de México. Memorias del ciclo de conferencias. La investigación y la educación forestal en México (SEMARNAP).