

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

LICENCIATURA EN PROMOCIÓN DE LA SALUD

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, FARMACOLÓGICA Y EVALUACIÓN DEL
POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE LOS HONGOS COMESTIBLES SILVESTRES:
YEMA (*Amanita caesaria*), VENADO (*Amanita vaginata var. punctata*), JUAN
DIEGO (*Amanita rubescens*), OREJA (*Clitocybe gibba*), XOCOYOTL (*Laccaria
laccata*) y ESCOBETA (*Ramaria apiculata*).**

TRABAJO RECEPCIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN PROMOCIÓN DE LA SALUD

PRESENTA

CONCEPCIÓN MALACARA MÁRQUEZ

DIRECTOR
Mtro. Edgar Del Carmen Sierra Palacios

Ciudad de México, enero 2019.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a mi familia, que gracias a su apoyo pude concluir mi carrera. A mi madre, hermanos y hermanas gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y estudiante. A mis hijos por estar siempre conmigo apoyándome en lo más necesario, por impulsarme y darme el tiempo para realizar la licenciatura, por tenerme paciencia durante el proceso de esta investigación.

Finalmente quiero dedicar mi trabajo a todos mis amigos y amigas, por apoyarme, por extender su mano, por levantarme el ánimo cuando más lo necesite; a ti mi gran amigo que siempre estuviste pendiente, gracias.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a Dios por darme fortaleza, sabiduría, paciencia y con esto permitir llegar a este momento tan especial en mi vida.

A la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, por el apoyo brindado por medio de la beca modalidad titulación 2018-II; como también por el apoyo brindado para la impresión y empastado del presente trabajo recepcional a través de la convocatoria para impresión y/o empastado del trabajo recepcional o tesis 2019.

Al laboratorio de Productos Naturales por permitirme realizar la investigación para la realización de este trabajo.

Al Mtro. Edgar del Carmen Sierra Palacios quiero agradecerle, por la paciencia y la dedicación que tuvo para compartir conmigo sus conocimientos, por resolver cada una de mis dudas que me surgieran, agradecer la claridad con la que me enseñó. Gracias maestro.

Al Dr. José Alberto Mendoza Espinoza, por el apoyo, por compartir sus conocimientos conmigo y asesorarme en diferentes etapas del escrito.

A la Biól. Bernarda García Ocón por el apoyo, consejos y palabras de aliento que me han ayudado a luchar por lo que quiero.

A mis lectores Mtra. Alma Rosa Plaza García, Dra. Patricia Bustamante Camilo, Mtro. Dairo Orjuela Henry, por el tiempo que dedicaron para la revisión del presente trabajo de investigación.

A las colectoras de hongos de la comunidad de San Pedro Nexapa, ya que gracias a ellas obtuve los hongos silvestres comestibles dentro del mercado municipal de Amecameca.

Quiero agradecer sinceramente a aquellas personas que compartieron conmigo sus conocimientos y me apoyaron en cada etapa de esta investigación: Dra. Rocío Gómez Cansino, M. en BT. Clara Cervantes Arista, M. en BE. Omar Yarim Alcántar Ramírez.

2.3.5. Saponinas	24
2.3.6. Flavonoides	25
2.3.7. Antraquinonas	26
2.4. Antioxidantes	27
2.4.1. Molécula antioxidante	27
2.4.2. Tipos de antioxidantes	28
2.4.2.1. Vitamina E	29
2.4.2.2. Vitamina C	29
2.4.2.3. Betacaroteno	29
2.4.2.4. Licopeno	30
2.4.2.5. Glutati3n	30
2.4.2.6 Coenzima Q10	31
2.4.2.7. 1cido ti3ctico	31
2.4.2.8. Melatonina	32
2.4.2.9. Enzima super3xido dismutasa	32
2.4.2.10. Enzima catalasa	33
2.4.2.11. Enzima glutati3n peroxidasa	33
2.4.2.12. Cobre	34
2.4.2.13. Zinc	34
2.4.2.14. Manganeseo	35
2.4.2.15. Hierro	35
2.4.2.16. Selenio	36
2.4.3. Compuestos antioxidantes en hongos	36
2.4.4. Determinaci3n del poder antioxidante	36
2.4.4.1. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	36
2.4.4.2. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS)	37
2.4.4.3. Capacidad de absorci3n de radicales de ox3geno (ORAC)	38
2.4.4.4. An1lisis del poder reductor f3rrico/antioxidante (FRAP)	39
3. Planteamiento del problema	40
4. Justificaci3n	41

5. Objetivos	42
5.1 Objetivo general	42
5.2. Objetivos específicos	42
6. Metodología	43
6.1. Material biológico	44
6.1.1. Obtención de los extractos de los hongos	44
6.2. Caracterización química cualitativa	45
6.2.1. Espectro UV/vis	45
6.2.2. Antraquinonas	45
6.2.3. Alcaloides	45
6.2.4. Determinación de taninos	46
6.2.5. Cumarinas	46
6.2.6. Saponinas	46
6.3. Potencial antioxidante	47
6.3.1. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	47
6.3.2. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS)	47
6.3.3. Flavonoides	48
6.3.4. Fenoles totales	48
6.4. Evaluación farmacológica	48
6.4.1. <i>Artemia salina</i>	48
6.4.2. Citotoxicidad <i>in vitro</i> en líneas celulares de cáncer	49
7. Resultados	51
7.1. Obtención del material biológico	51
7.1.1. Proceso de obtención de los extractos	52
7.1.2. Rendimiento final de los extractos	57
7.2 Caracterización química	58
7.2.1. Espectro UV/vis	58
7.2.2. Química cualitativa de los extractos	62
7.3. Evaluación del potencial antioxidante	63
7.3.1. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	63

7.3.2. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS)	64
7.3.3. Flavonoides	65
7.3.4. Fenoles totales	66
7.4. Evaluación farmacológica	67
7.4.1. Toxicidad <i>in vitro</i> en <i>Artemia salina</i>	67
7.4.2. Citotoxicidad <i>in vitro</i> en líneas celulares de cáncer	69
8. Conclusión	70
9. Perspectivas del trabajo de investigación	71
10. Vinculación del estudio de los hongos comestibles silvestres con la Promoción de la Salud	72
11. Bibliografía	73
12. Anexos	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Poblado de Amecameca, Estado de México	5
Figura 2. Ubicación geográfica de Amecameca dentro de la República Mexicana	6
Figura 3. Ubicación geográfica de Amecameca dentro del Estado de México	7
Figura 4. Estructura de un hongo	10
Figura 5. Hongo silvestre comestible Yema (<i>Amanita caesaria</i>)	15
Figura 6. Hongo silvestre comestible Venado (<i>Amanita vaginata var. punctata</i>)	16
Figura 7. Hongo silvestre comestible Juan Diego (<i>Amanita rubescens</i>)	17
Figura 8. Hongo silvestre comestible Oreja (<i>Clitocybe gibba</i>)	18
Figura 9. Hongo silvestre comestible Xocoyotl (<i>Laccaria laccata</i>)	19
Figura 10. Hongo silvestre comestible Escobeta (<i>Ramaria apiculata</i>)	20
Figura 11. Estructura de un sesquiterpeno bisaboleno	21
Figura 12. Estructura del alcaloide psilocibina	22
Figura 13. Estructura de la aflotoxina B ₁	23
Figura 14. Clasificación de los taninos	24
Figura 15. Estructura de la β -amirina, esqueleto base de las saponinas	25
Figura 16. Estructura de los isoflavonoides	26
Figura 17. Estructura general de una antraquinona, antrona, oxantrona, antranol y diantranol	27
Figura 18. Estructura del compuesto químico del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante	37
Figura 19. Estructura del compuesto químico ABTS•+ antes y después de la reacción con el antioxidante	38
Figura 20. Estructura del compuesto químico 2, 4, 6, tripiridil-s-triazina (TPTZ) y su reacción química.	39
Figura 21. Diagrama general del estudio de los extractos de los hongos empleados en el presente trabajo de investigación	43
Figura 22. Venta de hongos silvestres comestibles en el mercado municipal Amecameca, Estado de México	51

Figura 23. Colectoras de hongos silvestres comestibles del mercado municipal de Amecameca, Estado de México	52
Figura 24. Proceso de obtención de los extractos	53
Figura 25. Espectro UV/vis del extracto del hongo Yema	59
Figura 26. Espectro UV/vis del extracto del hongo Venado	59
Figura 27. Espectro UV/vis del extracto del hongo Xocoyotl	60
Figura 28. Espectro UV/vis del extracto del hongo Oreja	60
Figura 29. Espectro UV/vis del extracto del hongo Escobeta	61
Figura 30. Espectro UV/vis del extracto del hongo Juan Diego	61
Figura 31. Gráfica de la evaluación antioxidante de DPPH	64
Figura 32. Gráfica de la capacidad antioxidante ABTS	65
Figura 33. Gráfica de concentración de flavonoides totales	66
Figura 34. Gráfica de concentración de fenoles totales	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de antioxidantes	28
Tabla 2. Cantidad de hongos y solvente metanol en la elaboración de los extractos.	57
Tabla 3. Rendimiento en extracto liofilizado	58
Tabla 4. Resultados de la caracterización química cualitativa de los hongos silvestres comestibles	62
Tabla 5. Toxicidad <i>in vitro</i> de los diferentes extractos de los hongos silvestres comestibles en el modelo de <i>Artemia salina</i>	68
Tabla 6. Citotoxicidad <i>in vitro</i> de los extractos de los hongos silvestres comestibles en líneas celulares de cáncer	69

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos 1. Reactivos, materiales y equipos	86
A. Reactivos	86
B. Equipos	87
C. Materiales de vidrio	88
D. Materiales de plástico	88
E. Otros	89
Anexo 2. Cálculos de la capacidad antioxidante DPPH	90
A. Curva patrón de ácido ascórbico para DPPH	90
B. Hongo silvestre comestible Yema	90
C. Hongo silvestre comestible Juan Diego	91
D. Hongo silvestre comestible Venado	91
E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl	92
F. Hongo silvestre comestible Oreja	92
G. Hongo silvestre comestible Escobeta	93
Anexo 3. Cálculos de la capacidad antioxidante ABTS	94
A. Curva patrón de Trolox	94
B. Hongo silvestre comestible Yema	94
C. Hongo silvestre comestible Juan Diego	95
D. Hongo silvestre comestible Venado	95
E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl	96
F. Hongo silvestre comestible Oreja	96
G. Hongo silvestre comestible Escobeta	97
Anexo 4. Cálculos de flavonoides totales	98
A. Curva patrón de quercetina	98
B. Hongo silvestre comestible Yema	98
C. Hongo silvestre comestible Juan Diego	99
D. Hongo silvestre comestible Venado	99
E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl	100
F. Hongo silvestre comestible Oreja	100
G. Hongo silvestre comestible Escobeta	101

Anexo 5. Cálculos de fenoles totales	102
A. Curva patrón de ácido gálico	102
B. Hongo silvestre comestible Yema	102
C. Hongo silvestre comestible Juan Diego	103
D. Hongo silvestre comestible Venado	103
E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl	104
F. Hongo silvestre comestible Oreja	104
G. Hongo silvestre comestible Escobeta	105
Anexos 6. Toxicidad <i>in vitro</i> en <i>Artemia salina</i>	106
A. Datos y cálculos de toxicidad <i>in vitro</i> en <i>Artemia salina</i>	106
B. Curvas de CI_{50} de toxicidad <i>in vitro</i> en el modelo de <i>Artemia salina</i>	107
Anexo 7. Análisis estadístico	108

Abreviaturas

°C	Grados Celsius
Abs	Absorbancia
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio
cm	Centímetros
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
EAA/g e.s.	Equivalentes de ácido ascórbico por gramo de extracto seco
EAG/g e.s.	Equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto seco
EQ/g e.s.	Equivalentes de quercetina por gramo de extracto seco
E Trolox/mg e.s.	Equivalente de Trolox por miligramo de extracto seco
FRAP	Análisis del poder reductor férrico/antioxidante
g	Gramo
h	Hora
ha	Hectárea
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
l	Litro
M	Molar
mg	Miligramo
µg	Microgramo
ml	Mililitro
mM	Milimolar
µl	Microlitro
µm	Micrómetro
µM	Micromolar
mm	Milimetro
min	Minutos
msnm	Metros sobre el nivel del mar
nm	Nanómetro
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
PBS	Buffer de fosfatos salinos
pH	Potencial de hidrógeno

ppm	Partes por millón
p/v	Peso/ volumen
rpm	Revoluciones por minuto
s	Segundo
TLC	Cromatografía de capa fina
Trolox	(6-Hidroxi -2;5,7,8-tetrametil) croman -2 carboxílico ácido
UV	Ultravioleta
UV/vis	Ultravioleta/visible
v/v	Volumen/volumen
xg	Campos gravitacionales
MCF-7	Carcinoma de mama
HeLa	Carcinoma cervical
HCT-15	Carcinoma de colon
PC3	Carcinoma de próstata
CaOV3	Adenocarcinoma de ovario
TPTZ	2,4,6, tripiridil-s-triazina

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son un grupo de organismos constituidos por una o varias células, con características distintivas, como la ausencia de fotosíntesis, heterótrofos estrictos, con presencia de quitina en la pared celular y ergosterol en la membrana plasmática. Estos organismos los podemos dividir en aquellos invisibles a la vista humana o micromicetos y los visibles, llamados macromicetos, hongos superiores o setas. En estos últimos, la estructura observada recibe el nombre de carpóforo y forman parte de un sistema celular complejo, dicha estructura está formada por una gran cantidad de filamentos capaces de formar esporas, las cuales, están involucradas en la reproducción sexual o asexual de estos organismos. Debido a sus hábitos de alimentación, los macromicetos pueden vivir en asociación con organismos animales o vegetales, por medio de una relación simbiótica denominada micorriza, base fundamental para la existencia de los bosques. Otros hongos, se nutren de células vegetales o animales muertas, como saprobios, permitiendo el reciclado de nutrientes y la continuación de los ciclos vitales en los distintos ecosistemas, mientras que el último grupo obtiene su energía parasitando a otros organismos (UACJ, 2012; Ruiz, 2008; Boa, 2005; De Diego, 2011). Dentro de los macromicetos, existen organismos que han sido utilizados como fuente de alimento por distintas culturas durante miles de años, clasificados como hongos comestibles silvestres (Ruiz, 2008; De Diego, 2011).

Los hongos constituyen un variado grupo ampliamente distribuidos en la naturaleza, cuyo número se conocen unas 100,000 especies, pero se estima que hay más de 1,500,000. Cada año se describen al menos 1,000 especies nuevas (Galindo *et al.* 2013). Las zonas forestales de clima templado-frío en México, presentan características climáticas y buenas condiciones de suelo para la producción de hongos comestibles silvestres. Sin embargo, los trabajos científicos relacionados con este tema son escasos (Arteaga & Moreno, 2007). Los hongos silvestres comestibles son recolectados para la alimentación y para beneficio económico en más de 80 países de todo el mundo (Boa, 2005).

La tradición del consumo de setas u hongos en la región central de México es llevada a cabo por el 54.3% de la población, lo que posiciona al país como uno de los mayores consumidores de hongos en el mundo, con un consumo *per capita* de 977 g por año. Hoy sabemos que los hongos son una fuente excelente de nutrimentos y algunos de ellos presentan diversas actividades farmacológicas entre las que encontramos actividad antioxidante, anticancerígena y estimulante del sistema inmunológico. Para poder atender la demanda de hongos comestibles silvestres a nivel nacional e internacional el país produce 62,500 toneladas anuales de 250 especies distintas (Mayett & Martínez-Carrera, 2010).

Debido a la importancia que presentan los hongos comestibles silvestres en la población mexicana, en el presente trabajo se llevó a cabo la caracterización química y farmacológica de los hongos comestibles silvestres: Yema (*Amanita caesaria*) Venado (*Amanita vaginata* var. *punctata*), Juan Diego (*Amanita rubescens*), Oreja (*Clitocybe gibba*), Xocoyotl (*Laccaria laccata*) y Escobeta (*Ramaria apiculata*), para comprobar si tienen alguna de las actividades antes mencionadas, encontrando resultados positivos en las pruebas químicas y farmacológicas.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Condiciones geográficas del municipio de Amecameca

2.1.1. Clima

Amecameca tiene una altitud en su cabecera municipal de 2,424 msnm. La elevación se da hacia el Oriente, conforme se acerca a la Sierra Nevada hasta alcanzar altitudes de 5,452 msnm en el volcán Popocatepetl y 5,264 msnm en el volcán Iztaccíhuatl (Secretaría de Desarrollo Urbano y Vivienda, 2003). Existen dos tipos de clima en Amecameca, para altitudes inferiores a los 3,800 msnm, tiene un tipo de clima más húmedo que los templados sub húmedos (C (w2) (w)), con lluvias en verano. Para altitudes superiores a 3,800 msnm, el clima es tipo muy frío (EFHw), con una media anual de -2 °C. La temperatura media anual del municipio fluctúa entre los 12 y 18 °C.

La precipitación pluvial promedio de la zona es de 1,200 mm anuales; la temporada de lluvias empieza a finales de mayo y termina en el mes de octubre, las granizadas son habituales. Los vientos del norte son dominantes en primavera; los del sur, en otoño; las heladas son frecuentes de octubre a marzo (Schlaepfer & García, 2012).

2.1.2. Fisiografía

Su pendiente es suave en la parte oriental y plana hacia la zona occidental; conforme se descienda hacia el sur se observan barrancas y cañadas profundas. La Sierra Nevada recorre todo el territorio municipal de norte a sur y sus vertientes ocupan la parte de la zona oriente (SEDESOL, 2011).

2.1.3. Geomorfología

El municipio de Amecameca está situado en las faldas de la Sierra Nevada, dentro de la provincia del eje volcánico y en la cuenca del río Moctezuma-Pánuco (figura 1). Los límites del municipio son: al norte, el municipio de Tlalmanalco; al este el Estado de Puebla; al sur, los municipios de Atautla y Ozumba; y al oeste, los municipios de Ayapango y Juchitepec (López, 1987).

El territorio de Amecameca cuenta con un área aproximada de 18,172 ha (figuras 2 y 3). De las cuales el 55% lo constituyen tierras accidentadas con pendientes mayores al 25%, una zona media que representa el 19% con pendientes que fluctúan entre el 5-25%, la zona plana con pendientes menores al 5%, que constituye el 26% del municipio (Secretaría de Desarrollo Urbano y Vivienda, 2003).

El Iztaccíhuatl (conocido con el nombre de Mujer Blanca) se remonta al período del Mioceno. El Popocatepetl (conocido como el Cerro que Humea) está compuesto en su base por un volcán antiguo tal vez formado en el período del Mioceno. A pesar de su origen común presentan características distintas, ya que mientras el Iztaccíhuatl emergió de una fractura de gran tamaño por donde emanaron materiales en puntos distintos, el Popocatepetl emergió de una sola boca; esto dio origen a una serie de volcanes alineados que lo conforman: Telapón, Papayo, Tecámac y Tláloc (Schlaepfer & García, 2012).

2.1.4. Hidrología

El municipio forma parte de la Región Hidrológica del Valle de México, originada fundamentalmente por aguas de deshielo de los volcanes. La micro-cuenca de Amecameca de Juárez presenta corrientes subterráneas alimentadas por filtración de agua de lluvia, la que no se filtra es captada para los sistemas de agua de algunas poblaciones incluida Amecameca, también se forman algunos ríos y arroyos como son: Palo Rechino, Amalacaxco, Alcallican- Los Reyes, Chopanac, Estotzongo, La Coronilla-Amipulco, casi todos llegan al Río Amecameca para luego unirse a la Subcuenca de Chalco (Secretaría de Desarrollo Urbano y Vivienda, 2003).



Figura 1. Poblado de Amecameca, Estado de México. Fotografía tomada desde el cerro del Sacromonte (Imagen propia).

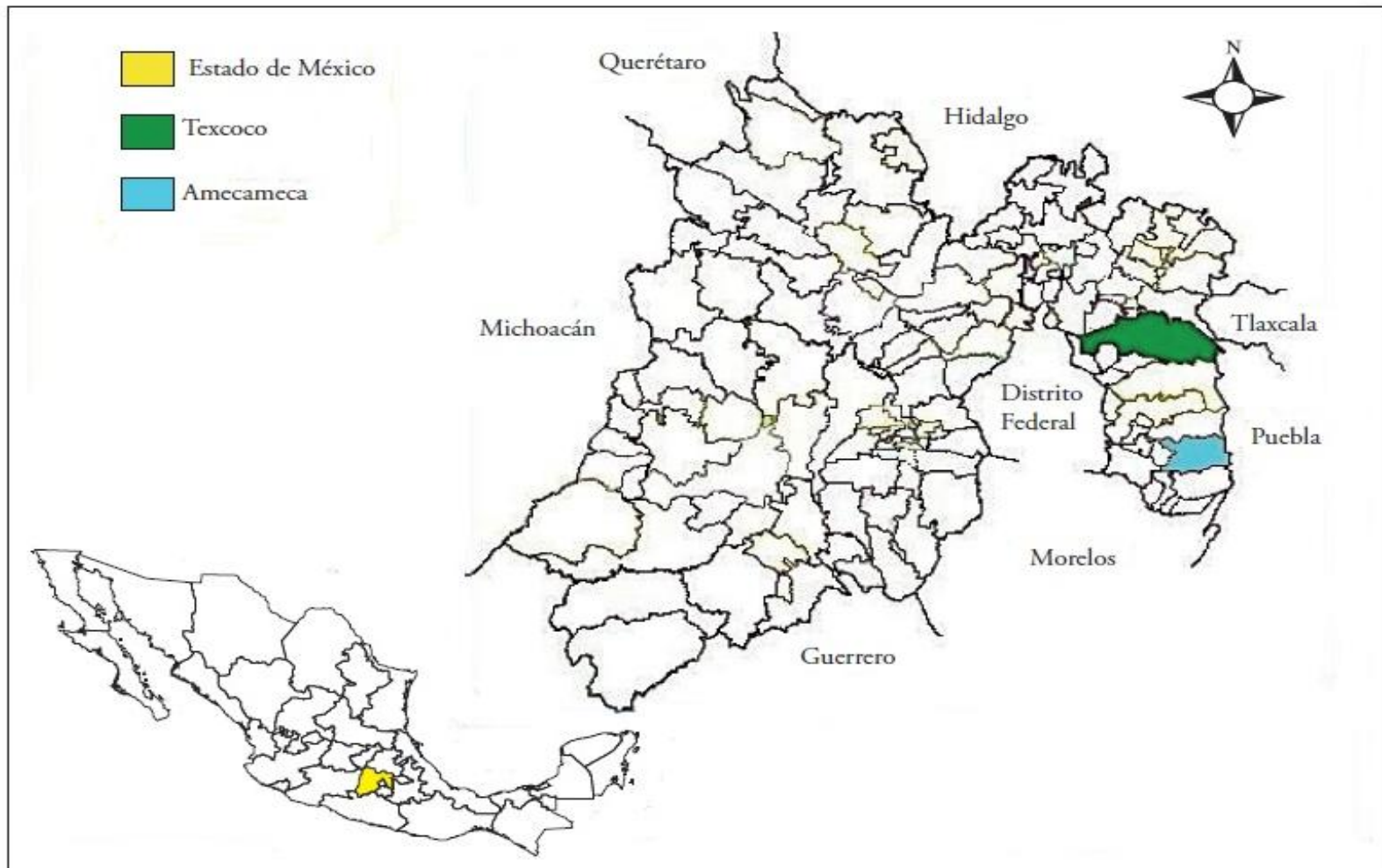


Figura 2. Ubicación geográfica del municipio de Amecameca dentro de la República Mexicana. En color amarillo representa al Estado de México y el color azul equivale al territorio del municipio de Amecameca (Sánchez *et al.* 2014).



Figura 3. Ubicación geográfica de Amecameca dentro del Estado de México (SEGOB, 2014).

2.2. Generalidades de los hongos

Los hongos son organismos eucariotas heterótrofos que degradan la materia orgánica, participan en la mayoría de los ciclos biológicos y son clasificados dentro del Reino Fungi. Las células fúngicas presentan semejanzas estructurales con la célula vegetal y animal. Se diferencia de la primera por la composición de la pared celular y por carecer de cloroplastos, mientras que la diferencia principal con la célula humana y animal es la presencia de pared celular y de ergosterol en lugar de colesterol en la membrana citoplasmática (Quindós, 2015).

Los hongos son organismos sencillos en su estructura y biología (figura 4); viven de la absorción de sustancias nutritivas del medio en el que se desarrollan, del que absorben pocas cantidades. Para ello, necesitan altos niveles de humedad y una temperatura adecuada. Los hongos se encuentran en el agua, en el suelo, en materiales orgánicos diversos, como restos vegetales o de animales e incluso como parásitos de otros seres o de ellos mismos; crecen desde el nivel del mar hasta las altas montañas e incluso en las zonas áridas (“desiertos”), se han adaptado a la escasa humedad disponible.

Los hongos se pueden dividir en microscópicos, como los mencionados mohos y en macroscópicos, como el “tecomate”, las “setas” o las “pancitas” que se caracterizan por tener fructificaciones grandes, pero que emergen de masas algodonosas blancas, formadas por miles de filamentos microscópicos (estructuras celulares del hongo) que viven en el suelo u otro sustrato (por ejemplo, troncos o ramas) (Landa, 2007).

Los hongos incluyen organismos con núcleo que se reproducen por esporas, carecen de clorofila (es decir que no son fotosintéticos), se reproducen sexual o asexualmente, cuyas estructuras somáticas son filamentosas, ramificadas y están rodeadas por una pared celular hecha de celulosa, quitina o ambas. La característica morfológica general de los hongos, con excepciones de aquellos grupos atípicos, a los cuales se conoce como “hongos curiosos” es que crecen en forma de una maraña de tubos delgados, los cuales miden generalmente de una centésima a una décima de mm (10-100), que parten de la espora o el fragmento que les dio origen y se dispersan en todas direcciones. Esta red tubular constituye

al llamado “talo” o “micelio”. Cada uno de los tubos que forman el micelio se denomina “hifa”.

Las hifas están rodeadas por una capa rígida que les confiere resistencia ante la diferencia de las presiones interna y externa, llamada pared celular. El citoplasma de las hifas tiene una alta presión osmótica debido a la acumulación de diferentes sustancias (nutrientes y metabolitos). La pared celular de los hongos tiene una composición compleja, formada principalmente por polisacáridos, proteínas y una pequeña cantidad de lípidos, su rigidez la debe a un polisacárido característico llamado quitina, que es una molécula de alto peso molecular formada por la unión de muchas unidades del monosacárido N-acetilglucosamina (Ruiz, 2008).

Con una detallada observación microscópica de una hifa (con un buen microscopio de luz para las observaciones de baja resolución o preferentemente con un microscopio electrónico para definir una alta resolución), veríamos que su estructura es semejante a la de otras células eucariotas. Es así que observaríamos dentro de las hifas una serie de organelos. Lo más aparentes serían los núcleos, donde reside el material responsable de la herencia, el ADN. Estos se hallan rodeados por una membrana doble, que tienen poros complicados, y un notable nucléolo en su interior. Llamarían nuestra atención también las mitocondrias, encargadas de la función respiratoria celular y una serie de membranas que corren a lo largo de toda la hifa. Este sistema membranal es llamado retículo endoplásmico, cuyas funciones son dividir a la célula y compartimientos, madurar cierto tipo de proteína y controlar su tránsito a distintas células de la zona. Notables son también las vacuolas, que aparecen como sacos, aparentemente vacíos, pero en realidad llenos de materia de desecho que es digerido y eliminado, o aprovechado para la formación de nuevo material celular. Por medio de fijación y tinciones adecuadas podríamos observar los llamados microtúbulos y microfilamentos que constituyen el llamado “citoesqueleto”, el cual, a manera de un microscópico andamio, tiene como función organizar a la hifa, movilizar los organelos y dirigir el crecimiento.

Se distinguen dos tipos de micelio en los hongos. El micelio vegetativo, formado por hifas cuya función es fundamentalmente trófica, es decir, que están

encargadas de obtener el alimento del medio. El micelio reproductor, cuyas hifas se especializan en la reproducción sexual y asexual (Ruiz, 2008).

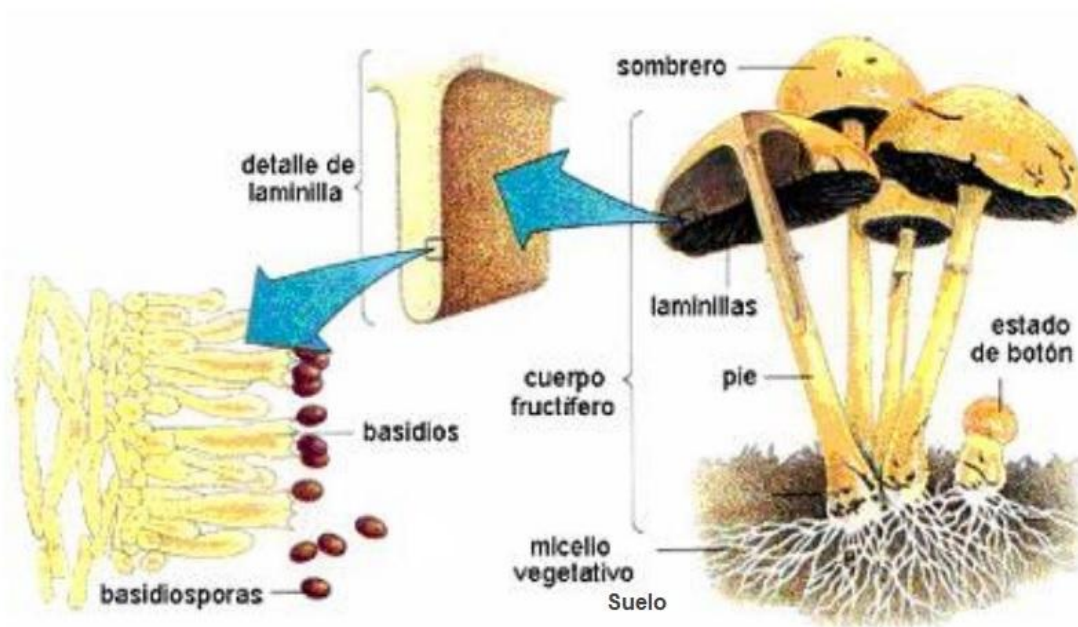


Figura 4. Estructura de un hongo (Díaz, 2006).

2.2.1. Uso de los hongos

La utilización de los hongos por el hombre para la alimentación, la elaboración de bebidas e incluso como medicamentos tiene una historia larga. La producción de pan mediante la fermentación de la masa por la levadura era ya un proceso conocido entre los egipcios. Igual ocurre con las bebidas alcohólicas, la cerveza ya era consumida por los egipcios. En las leyendas de la Biblia se habla de que Noé se embriagó con vino después del diluvio universal, por otra parte, se dice que antes del éxodo de Egipto el ángel que les dio a los judíos las instrucciones para la fuga les advirtió que en la cena pascual debían comer sólo pan ázimo (textualmente sin fermentar).

En cuanto al uso de los hongos como alimento, se sabe que los romanos consumían y apreciaban un buen número de hongos, desde el llamado actualmente champiñón (*Agaricus campestris*) hasta especies de un sabor más

refinado, como *Amanita caesarea*, *Boletus edulis* y las incomparables trufas (Ruiz, 2008).

Los hongos no solo eran utilizados como alimento, tenían otros usos, entre los cuales eran empleados para tratar la psicosis, pero también eran utilizados en rituales espirituales, ya que les servían como un medio para “comunicarse con los dioses” (Ruiz, 2008).

Las primeras referencias documentales elaboradas por los frailes y conquistadores hispanos del siglo XVI son de gran valor. Algunas especies de hongos eran utilizadas en distintos contextos culturales como “indicadores de trance”, no solo entre curanderos y chamanes, sino entre individuos cuya patología se atribuía a alguna enfermedad del “alma”.

Los hongos eran considerados como un medio para establecer comunicación con las deidades (seres divinos o con esencia divina) y con fuerzas sobrenaturales, su ingestión –por parte de sacerdotes y chamanes- formaba parte de un ceremonial, que normalmente seguía un proceso largo y complejo e incluso un prolongado entrenamiento (Landa, 2007).

El hongo *Ustilago maydis* produce el “carbón común” o “huitlacoche” en el maíz. Puesto que el maíz es originario de México y el hongo un patógeno específico del maíz, no extraña saber que el huitlacoche era consumido en la época prehispánica, como lo citan los relatores que colaboraron con Fray Bernardino de Sahagún. Las mazorcas contaminadas poseen un nivel proteico más alto y de mejor calidad que el que tiene normalmente el maíz sano. Además, su sabor exquisito le ha hecho ganar adeptos para su consumo a nivel nacional e internacional (Ruiz, 2008).

No solo el cuerpo fructífero de los hongos sirve como alimento. También existen formas de aprovechamiento de levaduras y micelio de los hongos para mejorar las dietas bajas en proteína.

En la actualidad hay un solo producto de proteína unicelular que se emplea como sustituto de la carne para consumo humano. Este producto, llamado *Quorn*, es obtenido por una compañía inglesa a partir del cultivo del hongo *Fusarium*

venenatum en medios con almidones y se procesa para darle diferente textura, de tal manera que se pueda cocinar en diferentes tipos de platillos (Ruiz, 2008).

En muchas partes del mundo, incluido nuestro país, se elabora una serie de alimentos tradicionales por medio de fermentación con levaduras y hongos. En el sureste de México es tradicional el pozol, una bebida fermentada, elaborada de la masa de maíz nixtamalizado. El producto obtenido es más rico en proteínas y vitaminas que la masa de maíz (Ruiz, 2008).

Los hongos se han utilizado para la producción de sustancias de importancia en la industria farmacéutica desde el descubrimiento de la penicilina. Su introducción en el mercado llevó a una nueva era en el desarrollo de la sociedad, la era posantibióticos: desapareció un gran número de enfermedades infecciosas, se salvaron millones de vidas humanas, se aumentó la esperanza de vida de los humanos en un solo paso gigantesco, se abrió el camino a la búsqueda del gran arsenal de antibióticos con que se cuenta en la actualidad, muchos producidos por hongos (Ruiz, 2008).

Además de la producción de antibióticos, los hongos se han empleado en la síntesis de diversos productos esteroideos. Una gran cantidad de vitaminas también son sintetizadas a nivel industrial por diversos hongos. Podemos citar a la riboflavina, producida por *Ashbya gossypii* principalmente y los carotenos precursores de la vitamina A, que son producidos por diversos hongos como cepas mejoradas de *Blakesleea*, *Choanephora*, *Phycomyces*, etc. Otros productos importantes producidos por los hongos son ácidos orgánicos, enzimas, etc., los cuales se utilizan en diferentes procesos de las industrias alimenticia y química. Recientemente se han desarrollado métodos para purificar diversos polisacáridos de los hongos, como los glucanos, la quitina y quitosano. El quitosano, se emplea en la elaboración de diversos productos para empacar y proteger alimentos, para la elaboración de hilos de sutura, para acelerar la cicatrización de heridas, etc. En muchas de las aplicaciones, el quitosano ha sustituido a los plásticos, con la ventaja de que es biodegradable. También existen especies de hongos que degradan hidrocarburos, como es el caso de la levadura *Yarrowia lipolytica*, por lo

que se han empleado en la biorremediación de aguas y suelos contaminados por petróleo (Ruiz, 2008).

2.2.2. Descripción de los hongos silvestres comestibles

Los hongos tienen diversas formas, tamaños y colores. Macromicetos es una categoría general usada para las especies que tienen una estructura que se puede observar a simple vista y que produce esporas, tales como las setas o las trufas. Las estructuras visibles son los “carpóforos” o “cuerpos fructíferos” (es decir, “portadores del fruto”) (Boa, 2005).

Los hongos dependen de materiales vivos y muertos para su crecimiento, obtienen su nutrimento en tres formas básicas:

2.2.2.1. Saprófitos

Son hongos que viven a expensas de materia orgánica muerta o de materiales inorgánicos. Los hongos colonizan la madera en putrefacción y llevan las sustancias orgánicas presentes hacia el suelo. Dentro de este grupo de hongos, encontramos especies no se pueden apreciar a simple vista (micromicetos) y macromicetos comestibles que crecen en los troncos caídos o crecen en las partes muertas de árboles que están muriendo, pero aún se encuentran de pie. Un ejemplo de estos hongos es la seta “bola de nieve” (*Agaricus arvensis*) la cual es una especie silvestre comestible (Boa, 2005).

Los hongos saprófitos comestibles son recolectados en forma silvestre, pero son más conocidos y más ampliamente valorizados en sus formas cultivadas.

2.2.2.2. Simbióticos

Son hongos asociados con otro organismo. La forma más común de simbiosis asociada con los hongos silvestres comestibles es conocida como micorriza. Muchas plantas dependen de esta asociación hongos-raíces para crecer sanas, conocida como ectomicorriza (EMC). Las EMC están formadas típicamente por macromicetos e incluyen muchas de las principales especies comestibles que son

recolectadas en su ambiente natural, tales como las especies de *Cantharellus* y *Amanitas*, esta última presente en el municipio de Amecameca (Boa, 2005).

2.2.2.3. Patógenos

Se alojan sobre algún ser vivo que los hospede, viviendo a expensas de éste sin ofrecerle ningún beneficio a cambio. Los hongos parásitos pueden producir daños de diversa consideración, desde pasar inadvertidos por completos por el huésped hasta causarle enfermedades graves o incluso la muerte (Díaz, 2006). Pueden parasitar plantas, animales (incluido el hombre) o incluso otros hongos. En varios países se consumen materias vegetales infectadas por hongos patógenos. En México, por ejemplo, se consumen en grandes cantidades la mazorca de maíz infectadas con el hongo *Ustilago maydis* (huitlacoche), tanto frescas como en conserva. El *U. maydis* es un micromiceto: no forma un carpóforo visible y el único rastro de su presencia es una masa de esporas oscuras. Las mazorcas parecen volverse más dulces como resultado del ataque de estos hongos (Boa, 2005).

2.2.2.4. Hongo silvestre comestible Yema (*Amanita caesaria*)

Macroscopía: sombrero de 6 a 20 cm, convexo, carnoso, al principio casi esférico, luego ovoide, al final abierto. Presenta un color llamativo naranja vivo, raras veces con fragmentos membranosos del velo blanco. Cutícula: viscosa, separable, brillante y generalmente lisa. Láminas: amarillas, juntas, anchas, con laminillas y borde generalmente flocoso. Pie: 6 a 12 x 2 a 3 cm, ligeramente claviforme, amarillo, carnoso, engrosado en la base, finalmente lanosos, relleno de una sustancia algodonosa. Anillo: amarillo dorado amplio, frágil, membranoso y estriado. Volva: amplia envolvente, alta, tenaz y de color blanco. Carne: blanca, amarilla cerca de la cutícula, tierna (figura 5) (Sánchez & Rublo, 2008).

Microscopía: esporas ovoides, halinas, lisas, no amiloides. En masa son de color blanco puro. Cutícula: formada por hifas paralelas, gelicadas, no fibuladas (Sánchez & Rublo, 2008).

Hábitat: fructifica especialmente en los parajes de encinares, jarales, castaños y melojares. Siempre prefiere terrenos silíceos, fructifica desde finales de primavera hasta principios de otoño (Sánchez & Rublo, 2008).

Comestibilidad: sabor agradable, estos hongos tienen un alto valor económico entre las setas comestibles, es el hongo silvestre de mayor consumo en México (Páez & Naranjo, 2013). Son micorrícicos, lo que le confiere una importancia ecológica ya que establecen una relación simbiótica con la mayoría de plantas (Páez & Naranjo, 2013).



Figura 5. Hongo silvestre comestible Yema (*Amanita caesaria*) (imagen propia).

2.2.2.5. Hongo silvestre comestible Venado (*Amanita vaginata* var. *punctata*)

Macroscopía: Sombrero de 5 a 8 cm de diámetro, primero ovoidal para aplanarse con la edad, presentando un mamelón central y margen estriado. Brillante en tiempo seco y de color gris plomizo, normalmente con placas escamosas blancas procedentes de la volva o velo universal. Láminas blancas, libres, bastante anchas y apretadas. Pie frágil, hueco, recubierto por una volva blanquecina persistente (figura 6) (Baldomero *et al.* 2001).

Microscopía: Basidios claviformes a mazudos, tetraspóricos, sin fíbula basal. Basidiosporas globosas, débilmente amiloides, lisas, hialinas, apiculadas. Células terminales del himenio subglobosas a piriformes. Cistidios no observados. Pileocutis formada por hifas gelificadas sin fíbulas. Hifas de la volva con esferocistos (Merino, 2009).

Hábitat: bosques templados.

Comestibilidad: dulce, sabor agradable, una cocción prolongada volatiliza las toxinas y lo vuelve comestible, crudo resulta tóxico (Baldomero *et al.* 2001).



Figura 6. Hongo silvestre comestible Venado (*Amanita vaginata var. punctata*) (imagen propia).

2.2.2.6. Hongo silvestre comestible Juan Diego (*Amanita rubescens*)

Macroscopía: sombrero de 5 a 15 cm, hemisférico a plano convexo. Margen liso. Cutícula: brillante, separable, tonalidades vinosas o rojizas, con pequeñas verrugas blanco grisáceas, restos de velo general. Láminas: libres, blancas, después con manchas rojizas. Pie: 6 a 15 x 1 a 3 cm, cilíndrico, blanco vinoso, con finas escamas blanco rojizas. Anillo: alto, colgante, estriado, blanquecino rosado. Volva: harinosa, desaparece al quedar adherida al sombrero. Carne: blanca, roja en las rozaduras (Figura 7) (Sánchez & Rublo, 2008).

Microscopía: esporas ovoides de 8 a 10 x 6 a 7 μm , hialinas, lisas, amiloides. Esporada blanca (Sánchez & Rublo, 2008).

El hábitat: se desarrolla en suelos bajo coníferas y también bajo árboles en bosques templados (George, 2007).

Comestibilidad: olor no destacable, sabor un poco amargo, comestible previa cocción. Tóxico en crudo o poco cocido (Sánchez & Rublo, 2008).



Figura 7. Hongo silvestre comestible Juan Diego (*Amanita rubescens*) (Imagen propia).

2.2.2.7. Hongo silvestre comestible Oreja (*Clitocybe gibba*)

Macroscopía: cuerpos fructíferos gregarios y cespitosos, sombrero poco carnoso de color beige de oscuro a claro, superficie seca y lisa, moderada marcadamente deprimido del centro de 5.3 cm. Láminas: Color crema, unidas de forma arqueada al pie. Pie central, cilíndrico color gris o color del sombrero 2.8 cm de largo y 1.2 cm de ancho.

Hábitat: sobre hojas caídas de todo tipo de bosques (roble, encina, alcornoque) y también coníferas (Figura 8).

Comestibilidad: solo de joven, quitando el pie; adulto, ya con el sombrero abierto, conserva el olor y sabor, pero la carne ya es dura. Olor agradable, sabor suave (Díaz *et al.* 2016).



Figura 8. Hongo silvestre comestible Oreja (*Clitocybe gibba*) (imagen propia).

2.2.2.8. Hongo silvestre comestible Xocoyotl (*Laccaria laccata*)

Macroscopía: carpóforo de talla pequeña, poco carnoso. Esporas blancas. Sombrero algo deprimido en el centro. Cutícula pardo-naranja o pardo-rojizo, lisa, higrófana, pero en tiempo seco algo escamosa. Láminas espaciadas, con lamélulas de color lila o rosado. Pie curvado y fibroso. Carne escasa de color rosa pálido (Figura 9).

Microscopía: esporas incoloras al microscopio y blanca en masa, son esféricas provistas de un pequeño saliente o apículo por donde se sujetaban al basidio y con una pared completamente recubierta de aguijones (Merino, 2009).

Hábitat: es común encontrar pequeños grupos de estas fructificaciones en bosques de coníferas, espacios húmedos abiertos (George, 2007).

Comestibilidad: sabor levemente dulce, se recomienda desechar el pie y utilizar sólo el sombrero (George, 2007).



Figura 9. Hongo silvestre comestible Xocoyotl (*Laccaria laccata*) (imagen propia).

2.2.2.9. Hongo silvestre comestible Escobeta (*Ramaria apiculata*)

Macroscopía: hongo que desarrolla fructificaciones terrícolas, raramente lignícolas, siempre ramificadas. La carne es frágil o tenaz. La belleza de su basidioma y el colorido que presenta, los convierten en unos hongos llamativos y fáciles de reconocer (Figura 10) (Dominguez, 2016).

Microscopía: el sistema hifal es monomítico en el carpóforo, pero en algunas especies aparece una zona dimítica en los rizomorfos. Las hifas generativas presentan fíbulas en algunas especies. Los basidios son bi o tetraspóricos y las esporas amarillentas, ocráceas o parduscas, elisoidales, casi islas, estriadas, verrucosas o también aculeadas, cianófilas.

Hábitat: bosques de coníferas.

Comestibilidad: algunas especies se consideran comestibles, pero hay que tener en cuenta que todas las especies del género son más o menos purgantes, por lo que su consumo no está recomendado (Dominguez, 2016).



Figura 10. Hongo silvestre comestible Escobeta (*Ramaria apiculata*) (imagen propia).

2.3. Metabolitos de los hongos

Por medio de la actividad del metabolismo secundario, los hongos –las bacterias y las plantas- llevan a cabo la síntesis de un gran número de compuestos, con una estructura química complicada, que son normalmente excretados al medio ambiente. Una característica en común de estas sustancias es que son moléculas carbonadas con gran cantidad de átomos de oxígeno y escaso de nitrógeno. Los metabolitos secundarios pueden ser intermediarios de la síntesis de componentes estructurales de la célula. Tal es el caso de algunos compuestos fenólicos que se polimerizan para formar una familia de sustancias increíblemente resistentes que protegen a las esporas de los hongos, las esporopoleninas (Ruiz, 2008).

2.3.1. Terpenos

La palabra terpeno viene del nombre alemán de la esencia de trementina: “Terpentin”. Existe una serie, numerosa y variada de productos orgánicos naturales extendidos en plantas y animales. Son típicos constituyentes de los

aceites esenciales de las plantas (esencias de naranja, menta, lavanda, laurel, rosa, geranio, etc.), pero también se encuentran en especies animales donde a veces, desempeñan un papel fisiológico importante (vitamina A, hormona juvenil de los insectos, etc.) (Yúfera, 1995).

Los terpenos se caracterizan por ser hidrocarburos derivados de una unidad simple de cinco carbonos llamada isopreno (figura 11). Los terpenos se clasifican de acuerdo con el número de unidades de isopreno que contienen. Así los monoterpenos son sustancias de 10 carbonos biosintetizadas a partir de dos unidades de isopreno; los sesquiterpenos son moléculas de 15 carbonos a partir de tres unidades de isopreno, etc. En los hongos, específicamente en basidiomicetes los terpenos que más abundan son los sesquiterpenos, aunque también se encuentran en menor medida, monoterpenos, diterpenos y triterpenos, muchos de los cuales poseen estructuras que hasta ahora, sólo han sido detectadas en esta clase de microorganismos, mientras que otras están estrechamente ligadas a un cierto número de plantas (Pillancari, 2010).

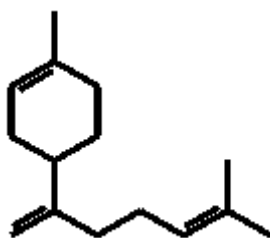


Figura 11. Estructura del sesquiterpeno bisaboleno (Matínez, 2003).

2.3.2. Alcaloides

Debido a la diversidad y a la complejidad de sus estructuras químicas, la nomenclatura de los alcaloides no ha sido esquematizada y su clasificación ha sido realizada por semejanza con estructuras moleculares simples. Los alcaloides son clasificados como indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos, derivados del tropano, etc. (Sharapin, 2000).

A pesar de la gran diversidad de sus estructuras químicas (figura 12), los alcaloides constituyen un grupo bastante homogéneo desde el punto de vista

tecnológico. Se caracterizan por la presencia de nitrógeno básico, teniendo la propiedad de formar sales solubles en el agua con ácidos orgánicos, mientras que sus bases libres son solubles en los solventes orgánicos. Esta propiedad es la base de los procesos generales de extracción de los alcaloides (Sharapin, 2000).

Psilocybe subaeruginosa perteneciente a la familia de los *Psilocybes cyanescens* y *azurescens*, se considera un hongo con una concentración de alcaloides que va desde moderada a potente, el cual nos indica que tiene fuertes efectos fisiológicos. Los hongos psicocíbicos (*Psilocybe spp.*) son hongos que se componen principalmente de un alcaloide denominado psicocibina, el cual tiene efectos similares a los del LSD (Dietilamida del ácido lisérgico); se sabe que una vez ingerida la psicocibina esta es degradada rápidamente en el cuerpo, convirtiéndose en psicocina y esta a su vez es la que hace el efecto alucinante (Growshop, 2016).

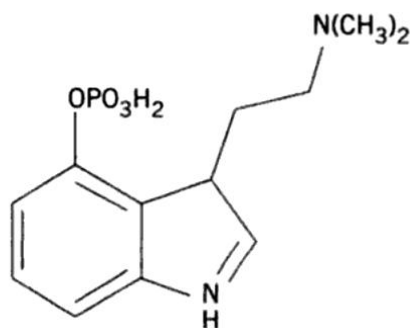


Figura 12. Estructura del alcaloide psicocibina (Cañigüeral & Vanaclocha, 2003).

2.3.3. Cumarinas

Las cumarinas constituyen una clase de metabolitos secundarios, ampliamente distribuidos en el reino vegetal, pudiendo también ser encontrados en hongos y bacterias. Estructuralmente son lactonas del ácido o-hidróxi-cinámico (2H-1-benzopiran-2-ona), siendo el representante más simple de la cumarina (Claramunt *et al.* 2013).

Las cumarinas son productos naturales, pertenecen al grupo de compuestos conocidos como benzopironas, consistentes en un anillo bencénico unido a una

pirona (un anillo heterocíclico de seis miembros que contiene un átomo de oxígeno y cinco carbonos) (Reija, 2007). El hongo *Ganoderma lucidum* mostró una variedad de compuestos entre los cuales se encontraron presentes las cumarinas al igual que en *Aspergillus flavus* (por ejemplo, la aflotoxina B₁) (figura 13) (Arias, 2010).

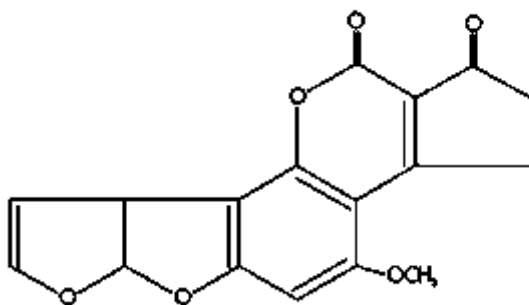


Figura 13. Estructura de la aflotoxina B₁ (Martínez & Anadón, 2012).

2.3.4. Taninos

En la naturaleza pueden encontrarse dos tipos de taninos: condensados (TC) e hidrolizables (TH), según su estructura química. Los TC son polímeros flavonoides, que pueden ser oxidativamente degradados en ácido a antocianidinas. Los TH son polímeros de ácido gálico o ácido hexahidroxidifenólico, ésteres de glucosa y otros polifenoles (Otero & Hidalgo, 2004).

Los taninos son sustancias químicas de sabor astringente que generan varias especies de plantas, muchas de ellas árboles, con el fin de protegerse de los herbívoros, de modo que no puedan comer grandes cantidades (Lastra, 2001).

Cumplen diversas e importantes actividades biológicas en la planta que los produce: actúan como defensa contra enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus, protegen los tejidos contra el ataque de insectos y herbívoros. Los hongos endófitos del árbol guanacastano (*Enterolobium cyclocarpum*) tiene un esqueleto base tricíclico de los compuestos denominados guanacastepenos (Sánchez *et al.* 2013). En la actualidad, la clasificación más aceptada, divide a los

taninos en cuatro grupos: galotaninos, elagitaninos, taninos condensados y taninos complejos (figura 14) (Rodríguez *et al.* 2010).

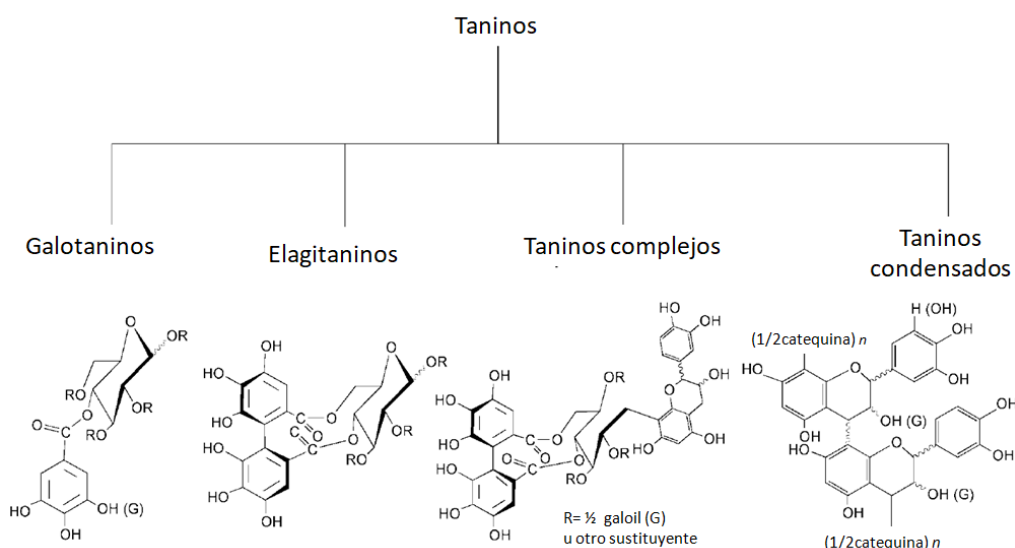


Figura 14. Clasificación de los taninos (Rodríguez *et al.* 2010).

2.3.5. Saponinas

Las saponinas (del latín *sapo*: jabón) son compuestos que al agitarse en agua producen abundante espuma. Debido a esta propiedad, a las plantas que las contienen se les usa como jabón, como es el caso de los rizomas de varias especies de Amarilidáceas, que se usaban como jabón desde épocas prehispánicas y aun actualmente (Romo, 2006). A estos rizomas se les conoce como amole, que en náhuatl significa jabón. Algunas curcubitáceas, conocidas como sancoches y el residuo que queda del lavado de la fibra de la lechuga, también se usan como jabón.

El *Pithomyces chartarum* es un hongo endofito que está presente en plantas como *Brachiaria decumbens* y en otras especies de *Brachiaria*, el cual contiene esporas tóxicas para el ganado ovino y bovino (Miles, 1998); esto debido a que contiene saponinas esteroideas, las cuales producen daño hepático (Ochoa, 2012).

Estructuralmente las saponinas o glucósidos son compuestos orgánicos que contienen uno o varios azúcares (figura 15). Se clasifican como esteroidales o triterpénicos, dependiendo de la naturaleza de la aglucona. Las saponinas por hidrólisis ácida o enzimática dan origen a una sustancia libre del o los azúcares formando así la sapogenina (Romo, 2006).

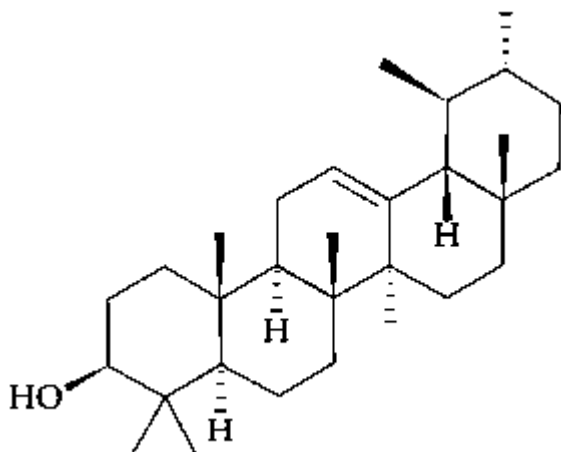


Figura 15. Estructura de la β -amirina, esqueleto base de las saponinas (Ahumada *et al.* 2016).

2.3.6. Flavonoides

Los flavonoides se dividen inicialmente en tres clases, dependiendo del sitio de unión del anillo B con el benzopirano: los flavonoides (2-fenilbenzopiranos), isoflavonoides (3-benzopiranos) y los neoflavonoides (4-benzopiranos) (figura 16) (Estrada *et al.* 2012).

Los flavonoides son compuestos generalmente amarillos que se encuentran en los jugos celulares y en los pétalos de las flores de algunas plantas en forma de glucósidos de diversos azúcares (glucosa, galactosa, ramnosa o una pentosa) y cuyos aglucones son derivados del núcleo fundamental de la fenilbenzopirona. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas, cuyo papel fisiológico, en ellas, no se conoce bien. Muchos de ellos se hallan en la corteza de los árboles (roble, nogal, morera, etc.), se han utilizado como colorantes naturales,

por ejemplo, la quercetina del roble. Otros tienen carácter vitamínico y aplicaciones terapéuticas (Yúfera, 1995). Los hongos presentan en general un bajo contenido de flavonoides, como el hongo *Lentinula edodes* (shitake) el cual contiene apigenin-7-O-rutinosido y 7-O-β-D-glucopiranosil-6-fucopiranosilcrisina (Castañeda, 2009).

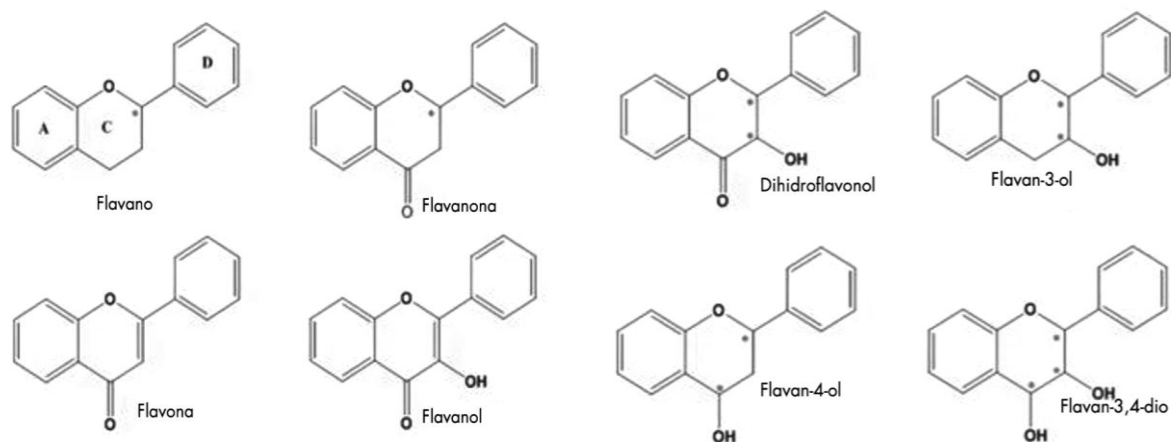


Figura 16. Estructura de los isoflavonoides (Estrada *et al.* 2012).

2.3.7. Antraquinonas

Las antraquinonas se localizan principalmente en vegetales superiores, hay ejemplos de compuestos provenientes de insectos y de microorganismos. También se han aislado derivados reducidos de antraquinonas como antronas y sus fenoles respectivos: antranoles. El ácido acético es aceptado como su precursor biogénico casi exclusivo (Marcano & Hasegawa, 2002). Las antraquinonas son las que le dan el color a los hongos y a las plantas, al parecer las quinonas existen en todos los vegetales, bacterias y hongos, excepto en musgos y helechos (Lang, 2003).

En función de la oxidación del anillo central se clasifican en antraquinonas (con dos funciones cetona en el anillo central) y oxantronas (con una función cetona en el anillo central), cuya forma tautomérica son los antranoles. Si están libres

(genina libre), las antronas y antranoles se oxidan fácilmente a antraquinonas (figura 17) (Sánchez & Santa, 2009).

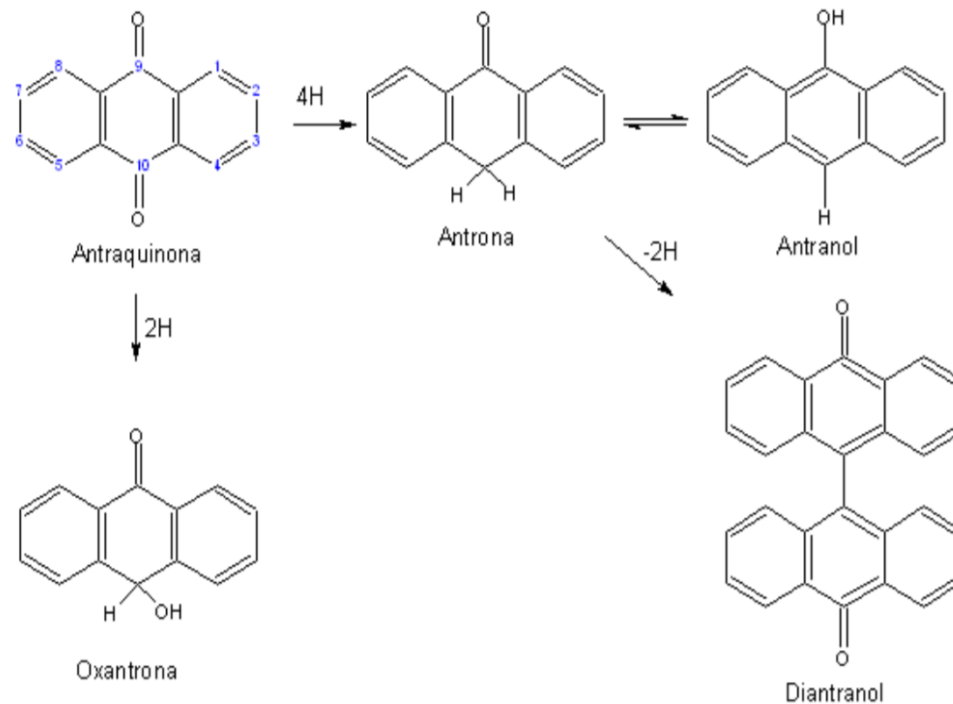


Figura 17. Estructura general de una antraquinona, antrona, oxantrona, antranol y diantranol (Sánchez & Santa, 2009).

2.4. Antioxidantes

2.4.1. Molécula antioxidante

Halliwel y Gutteridge (1998); definieron como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos

tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden generarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes.

Tienen diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistemas de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barredor), otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación) (Criado, 2009).

2.4.2. Tipos de antioxidantes

Los antioxidantes se clasifican en endógenos, fabricados por la propia célula y exógenos, que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes (tabla 1) (Criado, 2009).

Tabla 1. Tipos de antioxidantes

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Betacaroteno	Ácido tióctico	Manganeso
Lycopeno	Melatonina	Hierro
	Enzima Superóxidodismutasa (SOD)	Selenio
	Enzima Catalasa	
	Enzima Glutación peroxidasa	

Fuente: Criado (2009).

2.4.2.1. Vitamina E

Es un conjunto de compuestos fenólicos conocidos como tocoferoles y tocotrienoles. El alfa tocoferol es el más común y biológicamente el que tiene mayor acción vitamínica. Es un antioxidante lipofílico que se localiza en las membranas celulares, cuya absorción y transporte se hallan vinculados con el de los lípidos. Se considera el más importante protector de las moléculas lipídicas, ya que su acción consiste en proteger de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular y también en inhibir la peroxidación de los LDL (lipoproteínas de baja densidad). Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres hidroxilos, neutraliza peróxidos y captura el anión superóxido para convertirlo en formas menos reactivas. Se puede encontrar en la dieta (aguacate, almendras, germen de trigo, frijol de soya, pollo, pescado) (Criado, 2009).

2.4.2.2. Vitamina C

Es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes tal como sucede con la vitamina E y el selenio. No se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser aportada por la dieta (naranja, limón, melón, tomates, verduras de hojas verdes). Sus principales funciones son neutralizar el oxígeno singlete (O_2), capturar radicales hidroxilos, aniones superóxido, regenerar la forma oxidada de vitamina E y se ha comprobado que se absorbe mejor si se encuentra en una formulación que contenga vitamina E (Criado, 2009).

2.4.2.3. Betacaroteno

Es precursor de la vitamina A, importante antioxidante lipofílico que neutraliza el oxígeno singlete. Su deficiencia puede provocar queratosis, ceguera nocturna, sequedad ocular y mancha de Bitot (depósitos blancos de epitelio queratinizado en la esclerótica), así como disminución de la resistencia a infecciones. Tiene la propiedad de capturar las especies reactivas de oxígeno (ERO) producidas en la piel por efecto de la radiación UV, por lo que es un componente habitual de cremas protectoras solares para prevenir fotodermatosis e incluso el cáncer de

piel. Además, es capaz de regenerar la vitamina C una vez que ha reaccionado con un radical libre. En los alimentos se puede encontrar en verduras y frutas amarillas y anaranjadas, verduras de color verde oscuro (Criado, 2009).

2.4.2.4. Licopeno

Entre los carotenoides sin acción análoga a la de la vitamina A, el licopeno destaca por sus acciones antioxidantes. Los tomates y sus productos derivados son las fuentes más representativas de estos compuestos (Criado, 2009).

La principal propiedad biológica del licopeno es la de actuar como sustancia antioxidante al reaccionar con agentes oxidantes, reduciendo la reacción de oxidación tanto *in vitro* como *in vivo*, al eliminar estos agentes de los sistemas biológicos o al detener la formación de radicales libres. Se ha determinado que el 5-cis-licopeno es el isómero más estable, seguido del all-trans-licopeno. Sin embargo, el primero presenta la más alta actividad antioxidante. Se ha observado que el licopeno puede actuar sinérgicamente con otros compuestos naturales como la vitamina E, inhibiendo la proliferación celular en el carcinoma de próstata (Valverde, 2014).

2.4.2.5. Glutación

Es el principal antioxidante hidrosoluble en el citoplasma de la célula. Es un péptido formado por tres aminoácidos: cisteína, glicina y ácido glutámico. Se puede encontrar en la dieta (frutas y verduras) (Criado, 2009).

El glutación se encuentra en concentraciones promedio de 12 mM en células de mamíferos. Tiene importantes funciones como antioxidante, es parte importante de la detoxificación de xenobióticos, es cofactor para las reacciones de isomerización y también sirve como almacenamiento y transporte de cisteína. Es esencial para la proliferación celular y tiene un papel importante en la apoptosis, ya que la disminución de la cantidad de glutación es permisiva para la activación de caspasas y la progresión de los mecanismos de apoptosis. Una función muy importante del glutación es mantener el potencial de óxido-reducción de la célula, ya que mantiene en estado reducido los grupos tiol de las proteínas y así permite

la generación de diversas cascadas de señalización intracelular; un ejemplo es la proteína cinasa C, que contiene varios residuos de tirosina en su centro catalítico, que le confieren sensibilidad al estado redox de la célula, lo que puede afectar la señalización mediada por esta enzima (Martínez *et al.* 2011).

2.4.2.6. Coenzima Q10

Es un potente antioxidante liposoluble presente en todas las células del cuerpo que procede de la dieta (carne, pescado, cacao, aceite de soya y cacahuates) y también es sintetizado en el organismo a partir de tirosina, fenilalanina y Acetil CoA. Se encuentra en todas las membranas celulares, principalmente en la de la mitocondria, donde participa en la cadena de respiración aeróbica. Además, potencia la respuesta del sistema inmune (su capacidad de producir anticuerpos), como antioxidante es capaz de proteger el ADN de la acción de radicales libres y también de impedir la peroxidación lipídica (Criado, 2009).

La coenzima Q10 (ubiquinona-10 o ubidecarenona) y su forma reducida ubiquinol, que son constituyentes de las membranas fosfolipídicas naturales de las células y sus organelos, actúan como antioxidantes y transportadores de electrones en estas membranas. Destaca especialmente el papel desempeñado por la coenzima Q10 en la cadena de transporte de electrones en la membrana interna de la mitocondria.

Como barrera más externa del cuerpo, la piel está expuesta a diversos factores agresivos medio-ambientales (radiación UV) capaces de generar radicales libres. Este estrés oxidativo puede ser el desencadenante y acelerador de procesos degenerativos y enfermedades cutáneas que pueden contribuir también a la patogenia del cáncer de piel y el foto-envejecimiento. El ubiquinol, que es capaz de reducir la vitamina E oxidada, es el primer antioxidante que se agota en la piel bajo la influencia de la radiación UV (Arenas, 2001).

2.4.2.7. Ácido tióctico

También llamado ácido alfa lipoíco, estructuralmente se trata de un ácido graso que contiene dos átomos de azufre. No es una vitamina ya que se puede sintetizar

en el organismo a partir de ácido octanoico y se encuentra en todas las células, donde participa en procesos bioquímicos de producción de energía (ayuda a las vitaminas B en la conversión de carbohidratos, proteínas y lípidos en energía).

La capacidad del organismo de sintetizar esta sustancia es muy limitada. Su acción antioxidante se da a tres niveles: mediante efecto antioxidante directo (es capaz de reciclar otros antioxidantes que se han destruido al neutralizar radicales libres, como la vitamina E, el glutatión, la coenzima Q10 y la vitamina C) y mediante el incremento de la síntesis celular de glutatión al incrementar la expresión de la enzima limitante de su síntesis (Gammaglutamilcisteína ligasa) y al aumentar la captación celular de cisteína (un aminoácido necesario para su síntesis) (Camps *et al.* 2010).

2.4.2.8. Melatonina

La melatonina, considerada la principal hormona de la glándula pineal, es un derivado químico de la serotonina, cuya producción y secreción máxima tiene lugar durante la noche, es decir en la oscuridad, y cuya misión es entrar en todas las células del organismo para realizar en ellas su función más básica, que consiste en actuar como un potente neutralizador de radicales libres. La melatonina atrapa al radical OH⁻, además de estimular las enzimas antioxidativas importantes, superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX) y glutatión reductasa (GR), por lo que es considerada actualmente como un importante antioxidante (Criado, 2009).

2.4.2.9. Enzima superóxido dismutasa (SOD)

Las SOD son una familia de enzimas que catalizan la dismutación de O₂, en los mamíferos se reconocen tres enzimas de esta familia, dos intracelulares y una extracelular. La SOD1 se encuentra en el citoplasma, núcleo, peroxisomas y la membrana externa mitocondrial, su centro catalítico está formada por un cobre y un zinc (SOD Cu-Zn). Su expresión es inducida por estímulos mecánicos, químicos y biológicos como el choque térmico, radiaciones ultravioleta, metales pesados y estrés oxidativo. La SOD2 se encuentra dentro de la mitocondria, ya

que es un organelo que está sometido mayormente a estrés oxidativo, tiene un centro catalítico de Mn (manganeso). La SOD3 está presente en la matriz extracelular principalmente unida a heparina y a las fibras de colágena tipo 1 de la mayoría de los tejidos, además se ha encontrado en plasma, fluido linfático y líquido cefalorraquídeo, pero su concentración es 20 veces mayor en la matriz extracelular que en el plasma (Magaña, 2014).

2.4.2.10. Enzima catalasa

La catalasa (CAT) es una enzima antioxidante presente en la mayoría de los organismos aerobios. Cataliza la dismutación del peróxido (H_2O_2) en agua y oxígeno. La mayoría de estas enzimas son homotetrámeros con un grupo hemo en cada subunidad (Díaz, 2003). La CAT contiene moléculas de NADPH y se caracteriza por su alta capacidad de reacción, pero poca afinidad al sustrato. Tiene dos funciones, una catalítica y una peroxidativa. En la reacción catalítica utiliza como donadores a otras moléculas de H_2O_2 . En la reacción peroxidativa la enzima utiliza como donadores de hidrógeno al metanol, etanol, ácido fórmico, fenol y formaldehído. Una molécula de catalasa es capaz de catalizar la transformación de alrededor de 1×10^7 moléculas de sustrato por segundo, la primera reacción tanto del mecanismo catalítico como peroxidativo es la heterólisis o rompimiento de los enlaces oxígeno-oxígeno, en la reacción catalítica se transfieren dos electrones de la enzima a un oxígeno y forma agua (Magaña, 2014).

2.4.2.11. Enzima glutatión peroxidasa (GP)

Es una enzima selenio dependiente que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua y alcohol, utilizando como agente reductor el glutatión reducido. Existen al menos tres formas de GP seleno dependientes que difieren en su ubicación y en su especificidad de sustrato. Una forma intracelular o celular, una extracelular o plasmática y otra con actividad específica para los fosfolipoperoxidos que, por lo general está asociada a la membrana celular (Criado, 2009).

2.4.2.12. Cobre

Es un micronutriente mineral esencial que forma parte de las cupro-proteínas (cupreínas) y enzimas cobre-dependientes que intervienen en reacciones oxidativas relacionadas con el metabolismo del hierro, de los aminoácidos precursores de neurotransmisores del tejido conectivo y con la destrucción de radicales libres (Menéndez *et al.* 2008). El cobre está presente en la carne de cerdo, pato, salmón, hígado, corazón, nueces, semillas, leche con chocolate, leche de soja (Criado, 2009).

2.4.2.13. Zinc

El estrés oxidativo es un importante factor que contribuye a varias enfermedades crónicas atribuidas al envejecimiento, como la aterosclerosis y los trastornos cardíacos. Juntos, O_2 (peróxido), H_2O_2 (peróxido de hidrógeno) y OH (hidroxilo) se conocen como especies reactivas del oxígeno (ROS) y se producen continuamente *in vivo* en condiciones aerobias. En las células eucariotas, la cadena respiratoria mitocondrial, las enzimas micromecánicas del citocroma P450, las flavoproteínas oxidasas y el metabolismo de los ácidos grasos del peroxisoma son las fuentes intracelulares más significativas de ROS. El nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasas son grupos de enzimas asociadas a la membrana plasmática, que catalizan la producción de $\cdot O_2^-$ a partir del oxígeno mediante el uso de NADPH como el donante de electrones. El zinc es un inhibidor de NADPH oxidasa, lo que resulta en la disminución de la generación de ROS. El zinc también es un cofactor de superóxido dismutasa (SOD), una enzima que cataliza la dismutación de $\cdot O_2^-$ a H_2O_2 . El zinc también induce la generación de metalotioneína, que es muy rica en cisteína y es excelente eliminador de $\cdot OH$ (Prasad, 2014). El zinc está presente en la dieta, en carne, pescado, almendras, avellanas, nueces, huevos, leche y sus derivados; cereales, legumbres, etc. (Criado, 2009).

2.4.2.14. Manganeso

El manganeso es un elemento natural que se encuentra en muchos tipos de rocas. El manganeso no tiene olor ni sabor especial. El manganeso puro es un metal de color plateado; sin embargo, no se encuentra en el ambiente en forma de metal puro. El manganeso es un elemento esencial para la salud, el cuerpo humano típicamente contiene pequeñas cantidades de manganeso y en condiciones normales, el cuerpo las mantiene en cantidades adecuadas. El manganeso es un elemento nutritivo esencial y es importante ingerir diariamente una pequeña cantidad para mantenerse en buena salud (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de enfermedades, 2000). El manganeso forma parte de la estructura de la enzima superóxido dismutasa 2, protege contra la peroxidación lipídica, atrapa radicales hidroxilo y superóxido e induce la síntesis de metalotioneínas. El manganeso se encuentra en frutos secos, especialmente almendras, avellanas y piñones; cereales y legumbres (Criado, 2009).

2.4.2.15. Hierro

El hierro es un metal esencial para la vida, pero en cantidades elevadas resulta tóxico. La eficiencia del hierro Fe^{2+} para ceder electrones y la de hierro Fe^{3+} para aceptarlos, es una característica fundamental para muchas reacciones bioquímicas del organismo. Sin embargo, esta característica lo convierte también en un peligro potencial, ya que, bajo condiciones aerobias, fácilmente puede catalizar la formación de radicales libres nocivos, especies reactivas de oxígeno. La toxicidad del hierro se basa en la química de Fenton y Haber-Weiss, donde pequeñas cantidades del mineral son suficientes para formar radicales hidroxilos (OH) a partir de su peróxido (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), conocidos como intermediarios reactivos de oxígeno (ROS) (Toxqui *et al.* 2010). El hierro se encuentra en ajonjolí, melocotones, legumbres, cereales, germen de trigo, hígado, ternera, almendras, avellanas, mejillones y almejas (Criado, 2009).

2.4.2.16. Selenio

El selenio es un nutriente esencial para los humanos. Se presenta en dos formas diferentes: selenometionina y selenocisteína. La función del selenio como antioxidante no solo se debe a su papel como cofactor de la glutatión peroxidasa y otras selenoproteínas, sino también a su interacción con determinados nutrientes, como la vitamina E. El selenio tiene un papel directo en el reciclaje del tocoferol por el glutatión, en una reacción catalizada por una selenoenzima (Soledad, 2007). Lo podemos encontrar en carnes, pescados, mariscos, cereales, ajo, champiñones y espárragos (Criado, 2009).

2.4.3. Compuestos antioxidantes en hongos

Se han encontrado que los hongos contienen compuestos antioxidantes capaces de eliminar radicales libres. La capacidad antioxidante (EC_{50}) se ha evaluado mediante la capacidad de barrido de radicales de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) en hongos como: *Marasmius oreades* que presentó alta actividad antioxidante (EC_{50} 2.78 mg ml⁻¹), mientras que en *Cantharellus cibarius* dicha propiedad es menor (EC_{50} 7.14 mg ml⁻¹). Se ha determinado un alto contenido de tocoferol (un poderoso antioxidante) en especies como *Hydnum repandum* y *Lepista nuda* (Jiménez *et al.* 2013). Igual se ha determinado la presencia de α -tocoferol, β -caroteno, ácido ascórbico, rutósido, crisina en el hongo *Pleurotus ostreatus* (Jayakumar *et al.* 2011).

2.4.4. Determinación del poder antioxidante

2.4.4.1. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

Un método para evaluar la actividad antioxidante de un compuesto es medir su actividad inhibitoria de radicales libres. Los antioxidantes reaccionan con los radicales libres, tales como los peróxidos generados por la oxidación de los lípidos y detienen la propagación de las reacciones dañinas de las especies reactivas del oxígeno. El DPPH es un radical estable, se ha empleado para determinar el efecto inhibitor de radicales libres de algunos antioxidantes (Shahidi, 1997).

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece (figura 18). El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros de las propiedades antioxidantes (Rio, 2013).

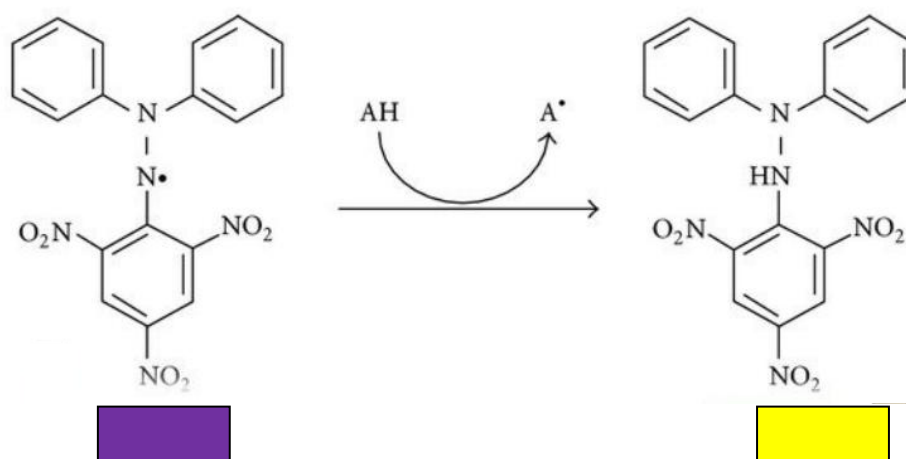


Figura 18. Estructura del compuesto químico del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante (Marjoni & Zulfisa, 2017).

2.4.4.2. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS)

La actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS), es ampliamente usado para evaluar la actividad antioxidante en plantas, alimentos, hongos y bebidas debido a su utilidad tanto en fase acuosa como lipídica y que proporciona rápidamente los resultados más reproducibles empleando equipo de laboratorio relativamente común (figura 19) (Ramírez, 2013). El Método ABTS tiene la flexibilidad de poderse utilizar a diferentes niveles de pH

(a diferencia de DPPH que es sensible al pH ácido) por lo tanto es útil cuando se estudia el efecto del pH sobre la actividad antioxidante de diversos compuestos. Es también útil para medir la actividad antioxidante de muestras extraídas en disolventes ácidos. Además, es soluble en disolventes acuosos y orgánicos, por lo tanto, es útil para evaluar la actividad antioxidante de muestras en diferentes medios (Shalaby & Shanab, 2013).

La longitud de onda de absorción a 734 nm hace a este método particularmente interesante para el estudio de extractos vegetales ya que elimina la posibilidad de interferencias de color (Ramírez, 2013).

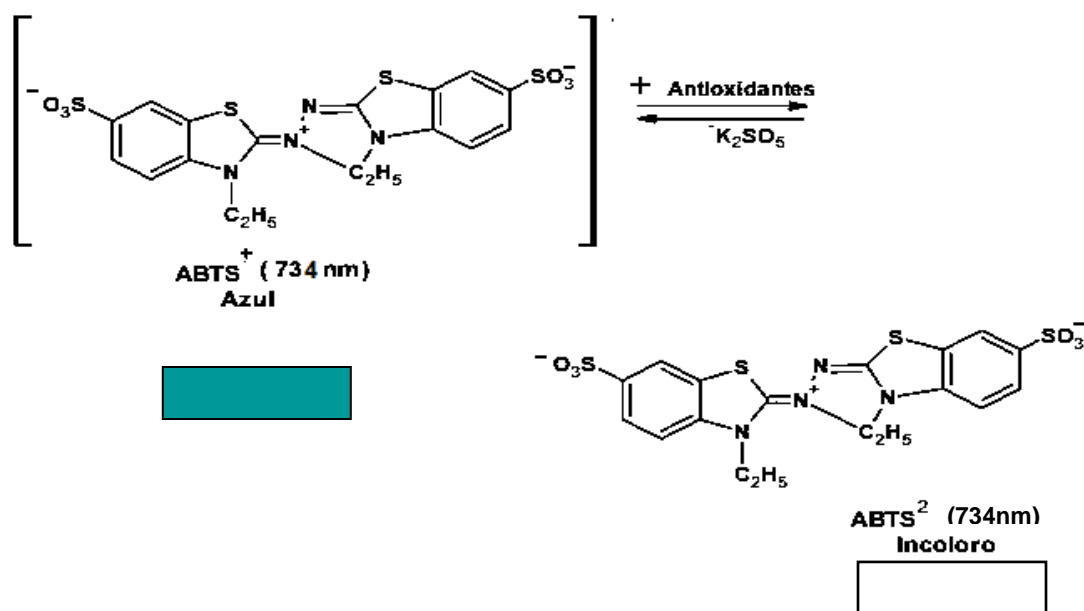


Figura 19. Estructura del compuesto químico ABTS•+ antes y después de la reacción con el antioxidante (Rio, 2013).

2.4.4.3. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

La capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) es un ensayo de laboratorio que mide la capacidad de un compuesto para atrapar el radical peróxilo, relevante en la oxidación de lípidos en los alimentos; mediante un mecanismo de transferencia de un átomo de hidrógeno. En este ensayo los radicales peróxilo generados por iniciadores de radicales libres, reaccionan con

una sonda fluorescente para formar un producto no fluorescente; es decir, a medida que avanza la reacción de la sonda fluorescente se consume la fluorescencia. Además, este método puede medir la expresión antioxidante de compuestos hidrofílicos y lipofílicos en una muestra (Zapata *et al.* 2014).

Esta se basa en la medición de la fluorescencia de una molécula a la que se le somete a la acción de un generador de radicales libres. A medida que la molécula fluorescente es atacada y dañada por los radicales libres, por lo que va perdiendo su fluorescencia, mientras que la labor de los antioxidantes es la de proteger la molécula fluorescente (Domínguez, 2012).

2.4.4.4. Análisis del poder reductor férrico/antioxidante (FRAP)

El análisis del poder reductor férrico/antioxidante (FRAP), fue introducido por Benzie y Strain (Benzie y Strain, 1996; Pulido-Bravo y Saura-Calixto, 2000), para medir la actividad antioxidante total y se basa en la capacidad de los polifenoles para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} (figura 20). Este método fue modificado recientemente para su uso en microplacas de 96-pozos (Tsao y Deng, 2004), dando una reproducibilidad mejor y un rendimiento de procesamiento más alto de muestras. El análisis se basa en el poder reductor de un antioxidante que reduce el ion férrico (Fe^{3+}) al ion ferroso (Fe^{2+}) formando un complejo azul. Una absorción alta a una longitud de onda de 700 nm indica un poder de reducción alto del extracto, es decir una actividad antioxidante alta (Figura 20) (Vásquez, 2007).

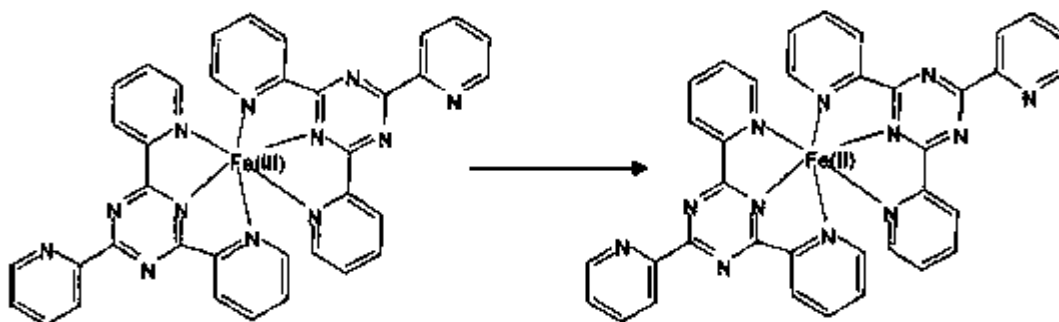


Figura 20. Estructura del compuesto químico 2, 4, 6, tripiridil-s-triazina (TPTZ) y su reacción química. La reacción primaria para el ion férrico y la reducción del potencial antioxidante a ion ferroso (Chandra, 2010).

3. Planteamiento del problema

En la sociedad actual, la población va en aumento y con ello los problemas y afectaciones a la salud. Entre las enfermedades que padece la población se encuentran las enfermedades cardiovasculares (ECV), las cuales son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por ECV que por cualquier otra cosa. En México el 25% de la población adulta está afectada por dichas enfermedades, las cuales, cobran la vida de 150,000 personas al año; además, no podemos dejar de lado los 90,000 decesos por diabetes, otro de los principales males que afecta a la sociedad mexicana (Cruz, 2016). Para las personas con ECV o con un alto riesgo cardiovascular (debido a la presencia de uno o más factores de riesgo, como la hipertensión arterial, la hiperlipidemia o alguna ECV ya confirmada) son fundamentales la detección precoz y el tratamiento temprano, por medio de servicios de orientación o la administración de fármacos, según corresponda (OMS, 2015). Otra de las enfermedades que prevalece en la población son los diferentes tipos de cáncer, según la encuesta del INEGI del 2014; entre la población de 20 años y más, dos de cada 10 casos de cáncer en varones son por tumor maligno en órganos digestivos y tres de cada 10 mujeres con cáncer padecen de tumor maligno de mama, siendo las principales neoplasias malignas para cada sexo en la población adulta (INEGI, 2017). Por tal motivo se buscan nuevas alternativas en fuentes naturales, que aporten una actividad funcional y disminuyan el riesgo de las enfermedades.

4. Justificación

Los hongos silvestres comestibles son poco estudiados, ya que no se les ha dado el suficiente interés, sin embargo, pueden llegar a tener algunas propiedades benéficas para mantener la salud del ser humano, se sabe que los hongos silvestres comestibles son ricos en proteínas (34% en base seca), algunos reportes indican que los hongos comestibles pueden ser portadores de propiedades funcionales como actividad antioxidante, anticancerígena, antibiótica, entre otras que poco se sabe de ello (Martínez-Carrera, 2012). Por eso de la importancia de estudiar más a fondo el reino fungi y las variedades de hongos que están disponibles en las comunidades rurales. La caracterización química y farmacológica de los distintos hongos comestibles silvestres, tendrá un impacto en el conocimiento sobre el beneficio que representan dichos organismos como fuente de compuestos bioactivos para mitigar o aliviar las enfermedades crónico-degenerativas.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Caracterizar de forma química, farmacológica y evaluar el potencial antioxidante de los hongos comestibles silvestres; Yema (*Amanita caesaria*), Venado (*Amanita vaginata var. punctata*), Juan Diego (*Amanita rubescens*), Oreja (*Clitocybe gibba*), Xocoyotl (*Laccaria laccata*) y Escobeta (*Ramaria apiculata*).

5.2. Objetivos específicos

- Obtener el material biológico en el pueblo de Amecameca para el presente estudio.
- Elaborar el extracto metánolico de cada uno de los hongos seleccionados.
- Evaluar *in vitro* la toxicidad de los diferentes extractos de los hongos silvestres comestibles en el modelo de *Artemia salina*.
- Determinar de forma cualitativa la presencia de taninos, saponinas, cumarinas, alcaloides y antraquinonas en los distintos extractos de los hongos evaluados.
- Realizar la cuantificación de la capacidad antioxidante *in vitro* DPPH, ABTS, flavonoides y fenoles totales de cada uno de los extractos.
- Valorar la actividad antiproliferativa *in vitro* en distintas líneas celulares de cáncer de los diversos extractos.

6. Metodología

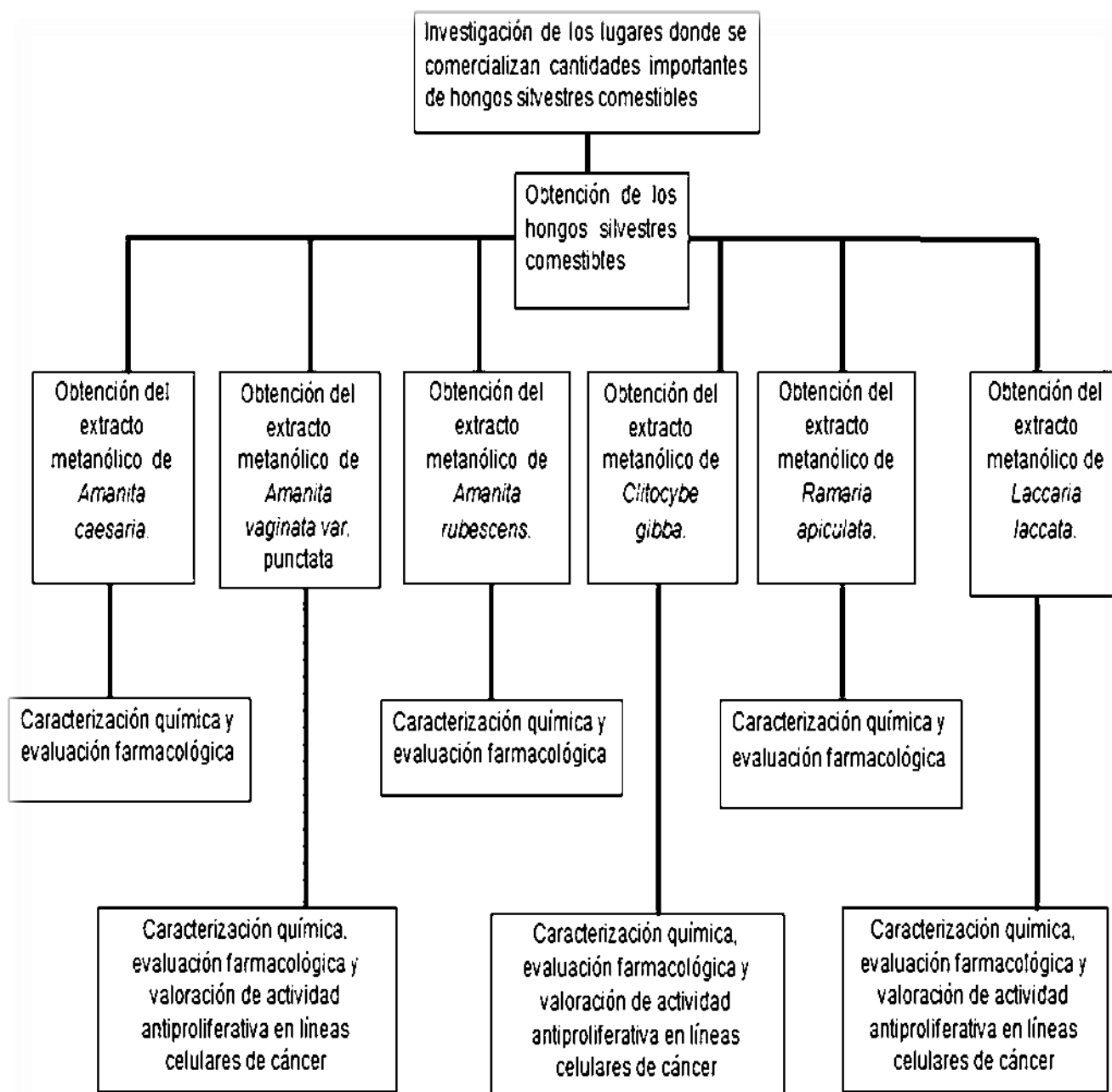


Figura 21. Diagrama general del estudio de los extractos de los hongos empleados en el presente trabajo de investigación.

6.1. Material biológico

Los hongos comestibles silvestres Yema (*Amanita caesaria*), Venado (*Amanita Vaginata var. punctata*), Juan Diego (*Amanita rubescens*), Oreja (*Clitocybe gibba*), Xocoyotl (*Laccaria laccata*) y Escobeta (*Ramaria apiculata*) fueron adquiridos en el interior del mercado de Amecameca, Estado de México, con mujeres recolectoras de hongos originarias de San Pedro Nexapa, comunidad perteneciente al municipio de Amecameca.

6.1.1. Obtención de los extractos de los hongos

Para obtener los extractos se utilizaron las siguientes cantidades de cuerpos fructíferos: Yema (*Amanita caesaria*) 2,356 g; Venado (*Amanita vaginata var. punctata*) 1,508 g; Juan Diego (*Amanita rubescens*) 2,000 g; Oreja (*Clitocybe gibba*) 3,104 g; Xocoyotl (*Laccaria laccata*) 2,168 g y Escobeta (*Ramaria apiculata*) 1,916 g. Los hongos fueron molidos en presencia del solvente metanol, en diferentes cantidades. Yema (*Amanita caesaria*) 1,800 ml; Venado (*Amanita vaginata var. punctata*) 1,050 ml; Juan Diego (*Amanita rubescens*) 1,800 ml; Oreja (*Clitocybe gibba*) 3,700 ml; Xocoyotl (*Laccaria laccata*) 2,850 ml y Escobeta (*Ramaria apiculata*) 1,916 ml. Se dejaron en maceración durante 15 días.

Después de la maceración el extracto se filtró dos veces para obtener solo la parte líquida, el siguiente paso fue colocar el extracto en el rotovapor para separar el solvente del extracto. La temperatura de destilación estuvo en función del punto de evaporación del solvente utilizado. Posteriormente los extractos fueron sometidos a una temperatura de -20° C en un congelador vertical (Labline thermo scientific modelo 3767A), una vez congelados, se colocaron en una liofilizadora (LABCONCO) durante 24 horas hasta obtener el extracto en polvo. Los extractos obtenidos se utilizaron para la evaluación química cualitativa (presencia de antraquinonas, alcaloides, taninos, saponinas y cumarinas), farmacológica (cuantificación de flavonoides totales, fenoles totales, DPPH, toxicidad *in vitro* en el modelo de *Artemia salina*) y citotoxicidad *in vitro* en diferentes líneas de células de cáncer (Villicaña, 2015).

6.2. Caracterización química cualitativa

Para todos los ensayos se realizó pruebas por triplicado para tener certeza estadística en los resultados.

6.2.1. Espectro UV/vis

Para obtener el espectro de absorción de los extractos de los hongos silvestres comestibles, se disolvió 10 mg en 200 μ l de agua destilada. De la solución se tomó 20 μ l de la muestra y se diluyó en 1 ml de metanol. Se evaluó el espectro en un rango de longitud de onda de 190 a 110 nm en un espectrofotómetro (UV/Vis Jenway modelo 6705) (Martínez, 2016).

6.2.2. Antraquinonas

Para determinar la presencia de antraquinonas se empleó la cromatografía en capa fina (silica gel 60F₂₅₄) con ayuda de un aplicador se colocó una porción de los diferentes extractos obtenidos de los hongos silvestres comestibles. Se utilizaron placas de 5X1 cm, las cuales se corrieron en una mezcla de 95:5 de diclorometano (2,375 μ l) y metanol (125 μ l). Terminada la corrida, se dejó secar las placas por 1 minuto. Posteriormente se observaron las placas en la cámara de luz ultravioleta, identificando como antraquinonas las marcas con fluorescencia violeta o rojo marrón, la prueba se realizó por triplicado (Villicaña, 2015).

6.2.3. Alcaloides

Para determinar la presencia de alcaloides se empleó la cromatografía en capa fina, con ayuda de un aplicador se colocó una porción de los diferentes extractos obtenidos de los hongos silvestres comestibles. La aplicación se realizó en placas de silica gel 60F₂₅₄ (5X1 cm), las cuales se corrieron en una mezcla de 95:5 de diclorometano (2,375 μ l) y metanol (125 μ l). Terminado la corrida, se dejó secar las placas por 1 minuto. Posteriormente, se revelaron con el reactivo de Dragendorff. La aparición de una coloración roja-marrón indicó la presencia de alcaloides (Martínez, 2016).

6.2.4. Determinación de taninos

Para la determinación de taninos se utilizaron tres tubos de ensayo por extracto, disolviendo 0.020 g del extracto en 10 ml de agua destilada. A los tres tubos se les adicionó:

- a) Tubo de ensayo 1: grenetina en polvo 0.01 g.
- b) Tubo de ensayo 2: grenetina en polvo 0.01 g y NaCl 0.1 g.
- c) Tubo de ensayo 3: NaCl 0.1 g.

A continuación, los tubos fueron vigorosamente mezclados en el vortex. La aparición de un precipitado blanco en los tubos de ensayo A y/o B indicó la presencia de taninos en el extracto (Peralta *et al.* 2013).

6.2.5. Cumarinas

Para realizar esta prueba se utilizó un tubo de ensayo por cada extracto, disolviendo 0.020 g del extracto en 10 ml de agua destilada, se les agregó 0.1 g de NaCl, luego se colocó en la boca del tubo de ensayo un pedazo de papel filtro previamente humedecido en una solución de 1 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 15 ml de agua destilada, posteriormente el tubo se puso en baño María hasta punto de ebullición. Después de 3 minutos se retiró el papel filtro, se dejó reposar hasta que se evaporó toda la humedad, a continuación, se reveló bajo la acción de luz ultravioleta, la presencia de una coloración amarillo fluorescente indicó la existencia de cumarinas (Peralta *et al.* 2013).

6.2.6. Saponinas

Para la determinación de saponinas se pesó 0.1 g de NaCl, 0.020 g de extracto en un tubo de ensayo y se le añadió 10 ml de agua destilada; se agitó fuertemente, para ver si existía la presencia de saponinas, la aparición de espuma en la parte superior con una duración de 60 a 120 segundos, indicó la presencia de saponinas (Peralta *et al.* 2013).

6.3. Potencial antioxidante

6.3.1. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

La capacidad antioxidante se determinó mediante un método colorimétrico, (Williams *et al.* 1995) usando el radical comercial DPPH.

Se preparó una solución stock con 0.012 g de reactivo DPPH, se disolvió en 50 ml de metanol y su absorbancia se ajustó a 1.1, a una longitud de onda de 515 nm. A partir de la solución stock se preparó la solución de trabajo de diario, para ello se hizo una dilución del stock 1:5 de metanol.

Para determinar la capacidad antioxidante de los hongos silvestres comestibles se utilizaron 0.010 g de extracto, se diluyó en 1 ml de agua destilada. Se tomó de 25 – 100 μ l aforando a 1 ml con la solución diaria DPPH, se incubó durante 30 minutos protegiéndose de la luz, posteriormente se midió la absorbancia a 515 nm. Los resultados se reportaron como mg equivalentes de ácido ascórbico/g de extracto seco (Villicaña, 2015).

6.3.2. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS)

Se usó una pastilla de ABTS de 35 mg diluida en 9 ml de PBS 1x, se preparó el persulfato de potasio pesando 12.16 mg y se diluyó en 9 ml de PBS, ambos se mezclaron para preparar la solución stock. Para la solución diaria de trabajo, 3,200 μ l de la solución stock se disolvieron en 30 ml de PBS con pH de 7.4. El blanco fue el PBS para calibrar el espectrofotómetro en una longitud de onda de 734 nm, hasta tener una absorbancia de 0.7.

Para las muestras se pesaron 10 mg de cada uno de los extractos de los hongos y se diluyeron en 1 ml de agua destilada (10,000 ppm).

Para las mediciones se agregó 1ml de la solución diaria de ABTS y de 1 a 4 μ l de los diferentes extractos de los hongos (Martínez, 2016).

6.3.3. Flavonoides

Para la determinación de flavonoides totales, se colocó de manera directa en un tubo de ensayo de 0.0214 a 0.121 g de extracto de los hongos silvestres comestibles, se diluyó en 0.4 ml de agua destilada, se agregó 1.6 ml de metanol, de esta solución se tomaron 0.5 ml, se adicionó 1.5 ml de metanol, 100 μ l de cloruro de aluminio ($AlCl_3$) al 10% (p/v), 100 μ l de acetato de potasio (CH_3CO_2K) 1 M y 2,800 μ l de agua destilada. Se dejó reposar por 30 minutos, transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 415 nm en el espectrofotómetro (Jenway®), los datos de absorbancia se tomaron en un rango de 0.3 a 0.7, reportando los resultados en mg equivalentes de quercitina/g de extracto seco (Martínez, 2016).

6.3.4. Fenoles totales

Para esta medición se utilizó el reactivo de Folin-Ciocalteu mediante la técnica descrita por Singleton & Rossi (1965). Se colocaron en un tubo de ensayo 0.0032 a 0.0101 g de los extractos de los hongos comestibles silvestres, esto se diluyó en 0.4 ml de agua destilada y 1.6 ml de metanol, se mezclaron durante 1 minuto. Posteriormente se tomó 200 μ l de la mezcla y se colocó en un segundo tubo con 1,000 μ l de reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 1:10 (v/v) en agua destilada) y se dejó reposar por 1 minuto. Pasado el tiempo se agregó 800 μ l de carbonato anhidro 7.5 % (p/v), se mezcló y se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente se tomó lectura en un espectrofotómetro Jenway® a una longitud de onda de 765 nm y en un rango de densidad óptica de 0.3 a 0.7. El contenido de compuestos fenólicos totales se reportó como mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco (Singleton & Rossi, 1965).

6.4. Evaluación farmacológica

6.4.1. *Artemia salina*

Para la evaluación de la toxicidad *in vitro* en *Artemia salina* se colocaron en un cristizador 185 mg de quistes de *Artemia salina*, posteriormente fueron hidratados con agua destilada por 1 hora con aireación. Transcurrido el tiempo se retiró la aireación y se dejaron reposar unos minutos. Los quistes que flotaron se

retiraron de la superficie con la ayuda de un papel filtro. Los quistes que permanecieron en el fondo del cristizador pasaron a la solución descapsulante (1.3 ml salmuera (10 g de sal de mar en 500 ml de dH₂O) con 0.0277 g de hidróxido de sodio (NaOH) y 1.26 ml de cloro comercial al 6 %) donde permanecieron durante 7-10 minutos. Enseguida se lavaron los quistes con agua destilada. Después los quistes fueron depositados en un contenedor de 20x20x30 cm con 500 ml de salmuera pH 8 (10 g de sal de mar en 500 ml de agua destilada) a 28° C, luz y oxígeno durante 24 horas (Martínez, 2016).

Se utilizaron tres repeticiones por cada concentración de cada extracto y un blanco, fueron colocados en tubos de ensayo concentraciones de 500 , 200, 150, 100, 70, 65, 35 y 25 ppm de extracto de cada uno de los hongos silvestres comestibles a los cuales se aforó a 10 ml de salmuera y se agregaron 10 nauplios de *Artemia salina*, estos se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente, pasadas las 24 horas se contaron el número de nauplios *Artemia salina* muertos, calculando así el porcentaje de concentración letal (CI₅₀) en el programa GraphPad PRISM, es decir la dosis mínima de extracto que mata al 50% de las *Artemia salina* (Martínez, 2016).

6.4.2. Citotoxicidad *in vitro* en líneas celulares de cáncer

La evaluación de la citotoxicidad se llevó a cabo utilizando la técnica de la sulforrodamina B, que es un colorante rojo cuya absorción máxima ocurre a 585 nm. Esta sustancia, en solución de ácido acético diluido, se une electrostáticamente a los residuos de los aminoácidos básicos de las proteínas celulares. La sulforrodamina restante se elimina con lavados de ácido acético diluido y el complejo sulforrodamina-proteína se disgrega con una solución alcalina de tris base. La densidad óptica de la sulforrodamina redisuelta será directamente proporcional al crecimiento celular e inversamente proporcional al grado de citotoxicidad del compuesto.

En este trabajo se utilizaron cinco líneas celulares de cáncer: carcinoma de mama (MCF-7), carcinoma de colon (HCT-15), carcinoma de próstata (PC3), adenocarcinoma de ovario (CaOV3) y carcinoma de cérvix (HeLa). Estas líneas se

mantuvieron en medio RMPI 1640 (1x), suplementado con 10% de suero bovino fetal. Todas las líneas se cultivaron a 37 °C bajo atmósfera de CO₂ al 5% y 100% de humedad relativa, se utilizaron en el ensayo cuando se encontraban en fase logarítmica de crecimiento de acuerdo a conteos celulares llevados a cabo en la cámara de Neubauer. El bioensayo se realizó en microplacas de plástico con 96 cavidades (250 µl/ cavidad) de acuerdo con el procedimiento descrito a continuación. Las suspensiones celulares (190 µl) se depositaron en cada una de las cavidades de la placa y se adicionaron 10 µl de la solución con la muestra de prueba, evaluando concentraciones de 20.0, 4.0, 0.8, 0.32, y 0.16 µg/ml, por triplicado. Paralelamente, se prepararon ensayos de control, utilizando 190 µl de la suspensión celular a evaluar y 10 µl de DMSO al 10%. Por otro lado, se depositaron 190 µl de la suspensión celular en una placa adicional y se determinó su densidad óptica inicial. Las placas que contenían las muestras de prueba y los controles se incubaron a 37° C durante 72 h, en tanto que las placas iniciales se incubaron a 37 °C durante 30 min.

Al concluir el período de incubación, las monocapas celulares se sometieron a un proceso de fijación adicionando 50 µl de ácido tricloroacético al 50% en cada una de las réplicas del bioensayo y se incubaron a 4 °C durante 30 min. Todas las placas se lavaron con agua fría por cuatro veces, se tiñeron con 100 µl de una solución de sulforrodamina B (0.4%) en ácido acético (1%) durante 30 min. Se eliminó el exceso de tinción lavando cuatro veces con ácido acético al 1% y se secaron con una corriente de aire. Posteriormente, el colorante unido a las proteínas se solubilizó agitando moderadamente con 200 µl de Tris base 10 mM a un pH de 10 por 5 min. Se registró la densidad óptica en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 564 nm que fue la longitud de onda disponible más cercana al máximo de absorción de la sulforrodamina B.

El porcentaje de proliferación celular se determinó mediante la fórmula: % Proliferación = $(T-Co/C-Co) \times 100$, donde T representa el promedio de la densidad óptica de las concentraciones de prueba, C es el promedio de la densidad óptica en los ensayos de control y Co es el promedio de la densidad óptica inicial. Se empleó un análisis de regresión lineal de los gráficos semi-logarítmicos obtenidos

entre la concentración y el porcentaje de crecimiento celular, se determinó la concentración efectiva del compuesto de prueba necesaria para inhibir la proliferación celular en un 50% (CI₅₀ en µg/ml). Se utilizó vinblastina como control positivo (Mendoza, 2008).

7. Resultados

7.1. Obtención del material biológico

Los hongos silvestres comestibles se obtuvieron en el mercado de Amecameca, Estado de México (figuras 22 y 23); fueron comprados a las mujeres colectoras de hongos del pueblo de San Pedro Nexapa, el costo fue de \$10 por montón de hongos comestibles silvestres (5-10 carpóforos).



Figura 22. Venta de hongos silvestres comestibles en el mercado municipal de Amecameca, Estado de México (Imagen propia).



Figura 23. Colectoras de hongos silvestres comestibles del mercado municipal de Amecameca, Estado de México (Imagen propia).

7.1.1. Proceso de obtención de los extractos

Para obtener los extractos de los hongos silvestres comestibles, primero se pesó, posteriormente se realizó la molienda en una licuadora con el solvente metanol (tabla 2); enseguida se maceró durante quince días. A continuación, se sonicó durante media hora con una frecuencia media. Después se filtró para separar la biomasa del solvente con los metabolitos, una vez obtenido el líquido (solvente con metabolitos) se separó el solvente de los metabolitos por medio del rotovapor, se obtuvo un líquido concentrado el cual se congeló y posteriormente se liofilizó, para obtener el extracto seco listo para ser pesado y almacenado (figura 24).



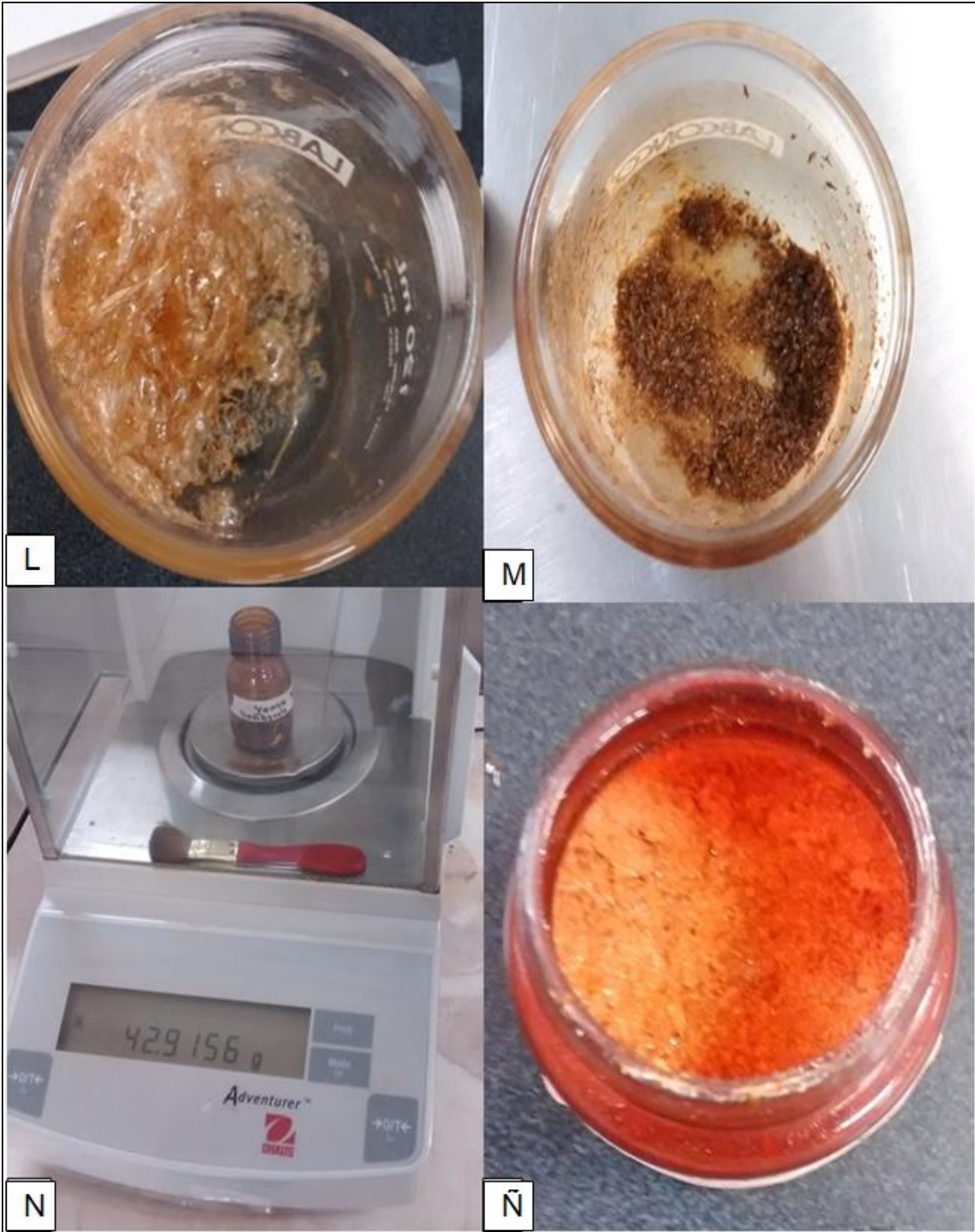
Figura 24. Proceso de obtención de los extractos. A. Peso de los hongos obtenidos en el mercado de Amecameca. B. Molienda de los hongos silvestres comestibles (licuadora). C. Maceración de la biomasa en metanol (Imagen propia).



Continuación. D. Proceso de sonicado de los extractos. E y F. Separación de la biomasa por filtración. G. Extracto filtrado (Imagen propia).



Continuación. H. Separación del solvente del extracto. I. Extracto listo para liofilizar. J y K. Proceso de liofilización (Imagen propia).



Continuación. L y M. Extracto seco liofilizado. N y Ñ. Peso y almacenamiento del extracto en polvo (Imagen propia).

Tabla 2. Cantidad de hongos y solvente metanol en la elaboración de los extractos.

Hongo	Peso (g)	Solvente metanol (ml)
Yema	2,356	1,800
Juan Diego	2,000	1,800
Venado	1,508	1,050
Oreja	3,104	3,700
Xocoyotl	2,168	2,850
Escobeta	1,916	2,100

7.1.2. Rendimiento final de los extractos

El rendimiento final en extracto de los hongos silvestres comestibles fue de 0.83 % en los hongos Juan Diego y Venado, llegando a un máximo de 1.87 % en el hongo Xocoyotl, lo cual significa que este último probablemente tenga una mayor cantidad de metabolitos (tabla 3), ya que la cantidad de carpóforos era similar a otros hongos estudiados que obtuvieron un menor peso seco.

Tabla 3. Rendimiento en extracto liofilizado

Nombre científico	Nombre común	Preso fresco (g)	Peso seco del extracto obtenido (g)	Rendimiento (%)
<i>Amanita caesarea</i>	Yema	2,356	25.5	1.08
<i>Amanita rubescens</i>	Juan Diego	2,000	16.5	0.83
<i>Amanita vaginata</i> <i>var. punctata</i>	Venado	1,508	12.5	0.83
<i>Clitocybe gibba</i>	Oreja	3,104	38.0	1.23
<i>Laccaria laccata</i>	Xocoyotl	2,168	40.6	1.87
<i>Ramaria apiculata</i>	Escobeta	1,916	33.7	1.76

7.2. Caracterización química

7.2.1. Espectro de Uv/Vis

Para obtener el espectro de absorción de los extractos de los hongos Yema, Juan Diego, Venado, Oreja, Escobeta y Xocoyotl, se utilizó el espectrofotómetro en un intervalo de longitud de onda de 190 a 1,100 nm. Los extractos de los hongos evaluados fueron puestos en metanol. Las muestras dieron un perfil parecido, sin embargo, las curvas muestran que el extracto del hongo Yema tiene la mayor concentración de metabolitos, seguido por Venado, Xocoyotl, Oreja, Escobeta y Juan Diego, respectivamente (figura 25).

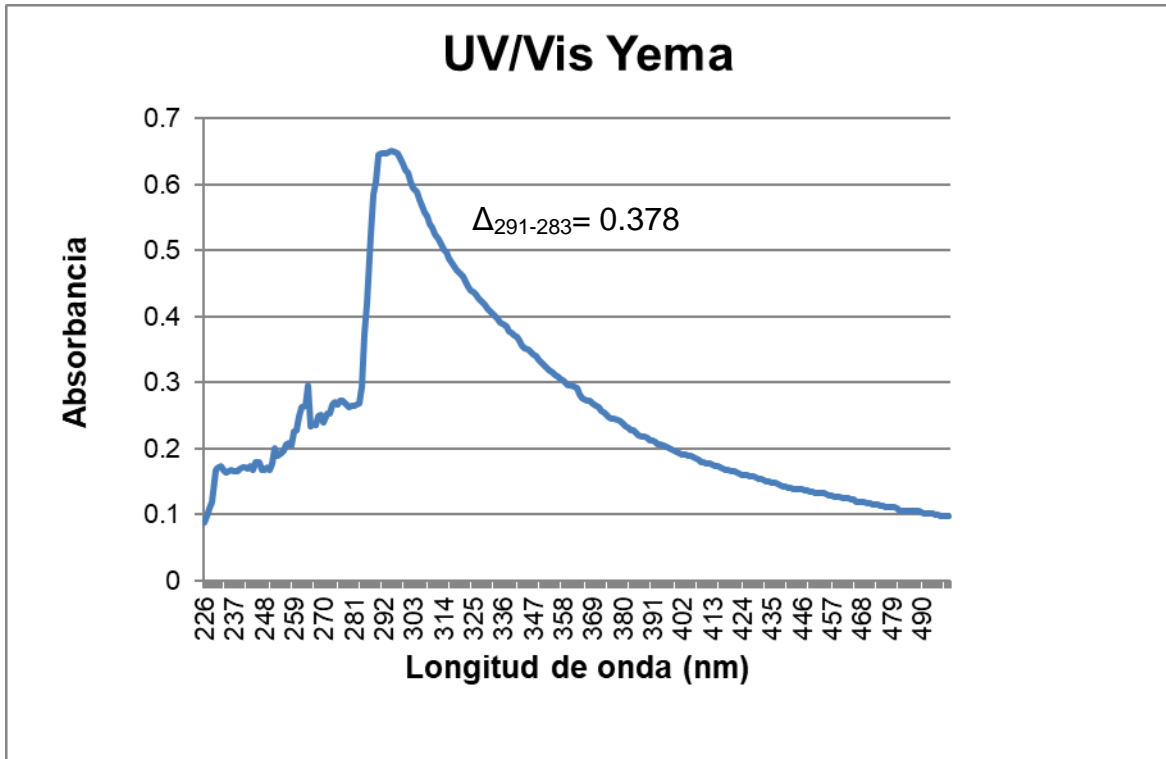


Figura 25. Espectro Uv/vis del extracto del hongo Yema.

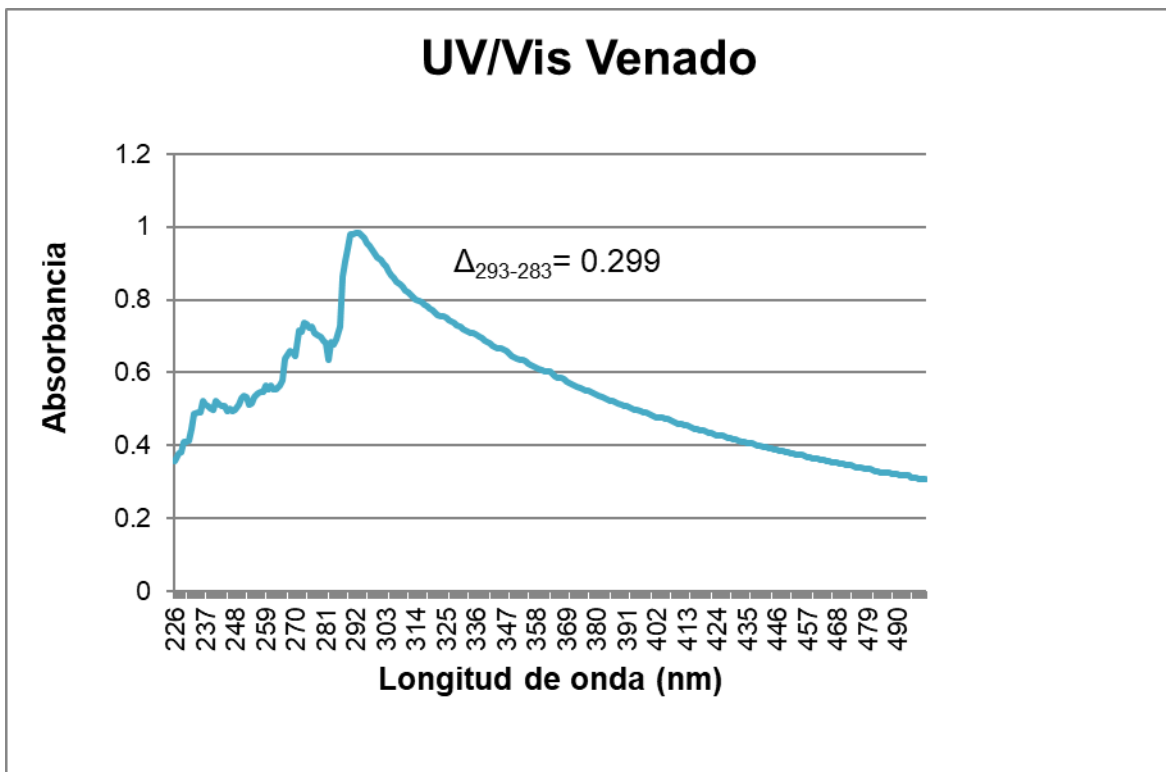


Figura 26. Espectro Uv/vis del extracto del hongo Venado.

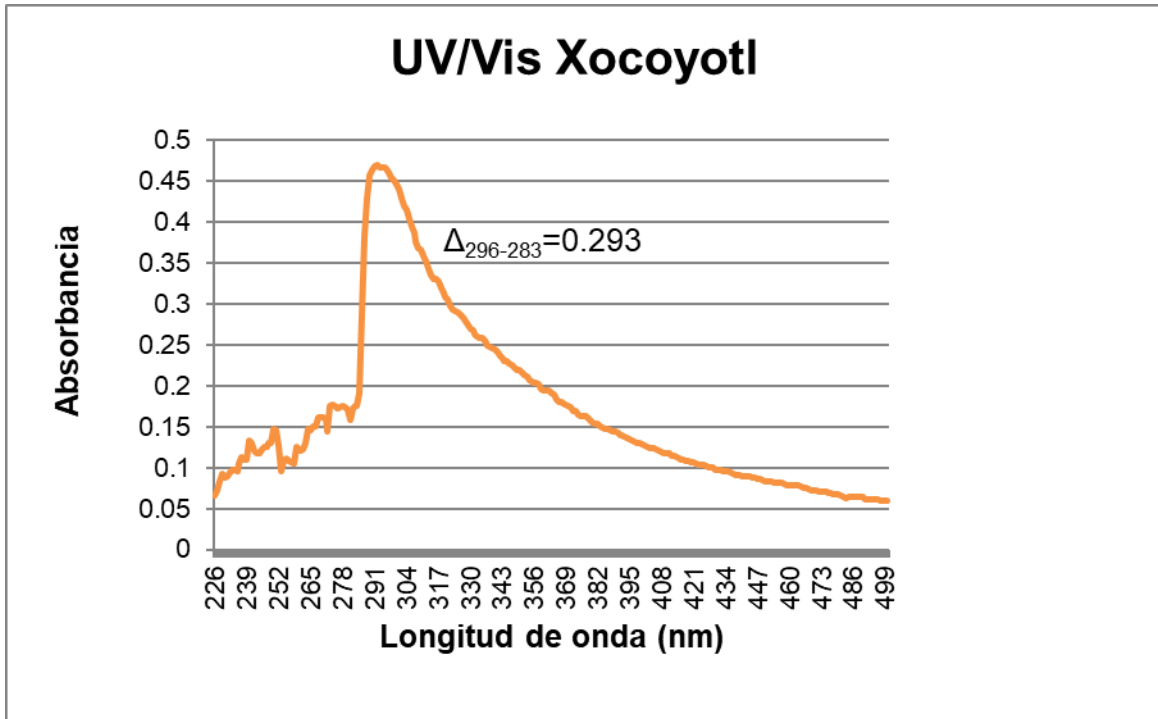


Figura 27. Espectro Uv/vis del extracto del hongo Xocoyotl.

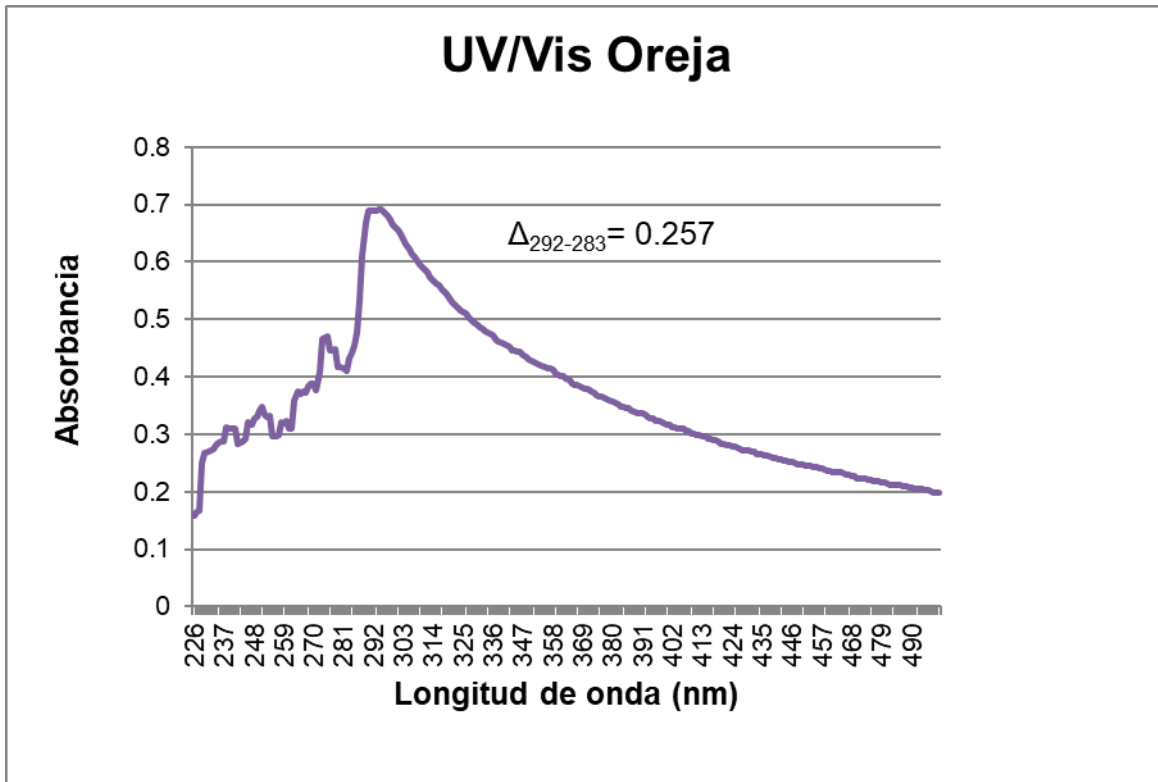


Figura 28. Espectro Uv/vis del extracto del hongo Oreja.

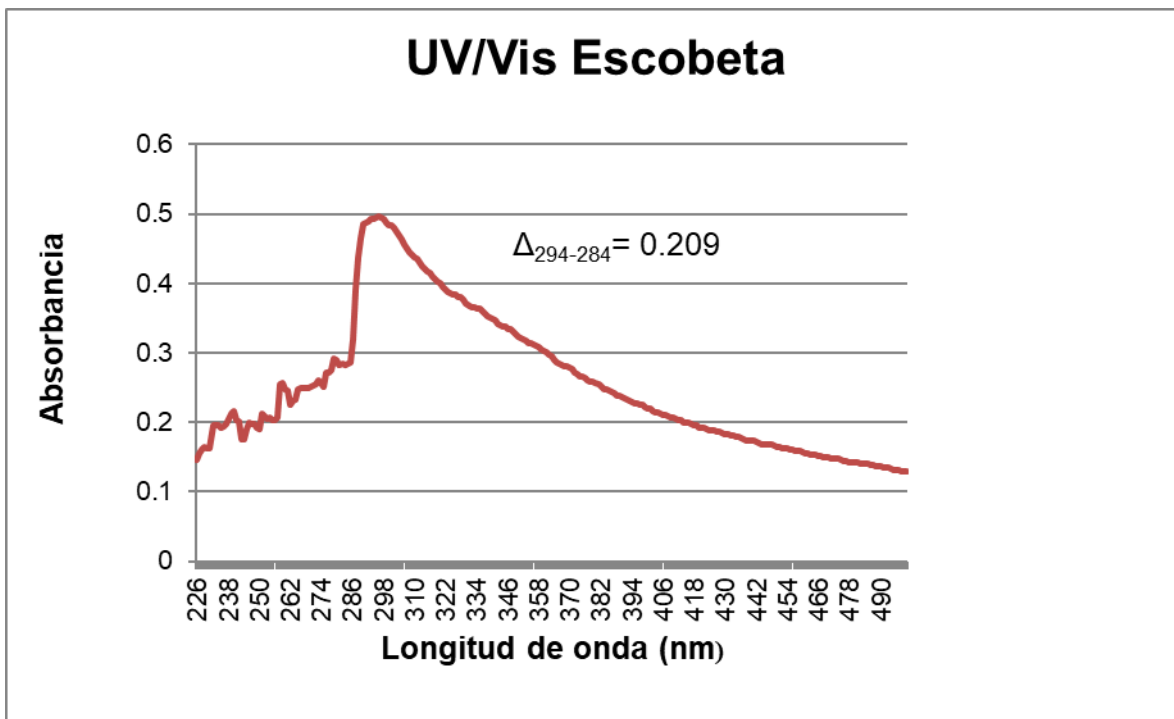


Figura 29. Espectro Uv/vis del extracto del hongo Escobeta.

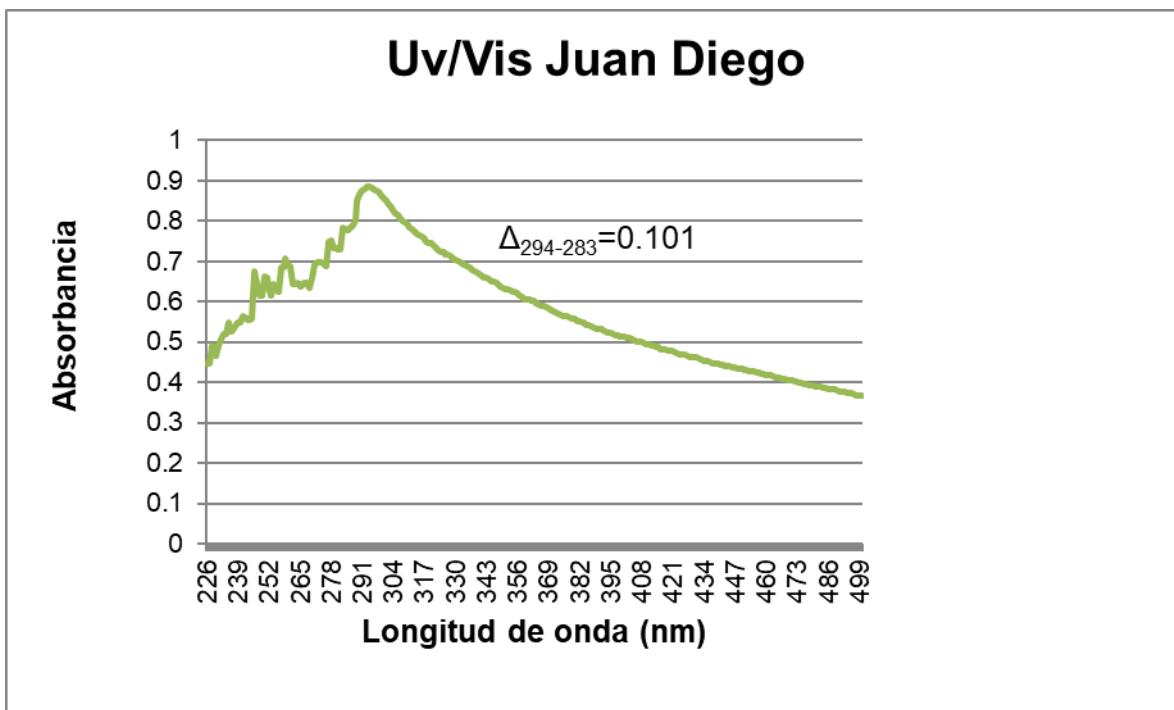


Figura 30. Espectro Uv/vis del extracto del hongo Juan Diego.

7.2.2. Química cualitativa de los extractos

En los datos obtenidos de los extractos de los hongos silvestres comestibles analizados se encontró la presencia de antraquinonas en concentración moderada, mientras que alcaloides y saponinas en una cantidad pequeña; no se detectó contenido de taninos y cumarinas. Aunque no existen antecedentes de la química cualitativa de todos los hongos empleados en el presente estudio, solo existen dos datos correspondientes al hongo Yema, en los cuales no se detectó la presencia de alcaloides y una escasa cantidad de antraquinonas (Quiñones, 2014), lo cual contrasta con las muestras analizadas en el presente estudio (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de la caracterización química cualitativa de los hongos silvestres comestibles

Extracto	Antraquinonas	Alcaloides	Saponinas
Yema	++	+	-
Xocoyotl	++	+	+
Juan Diego	+	+	-
Venado	+	+	+
Oreja	++	+	+
Escobeta	+++	+	+

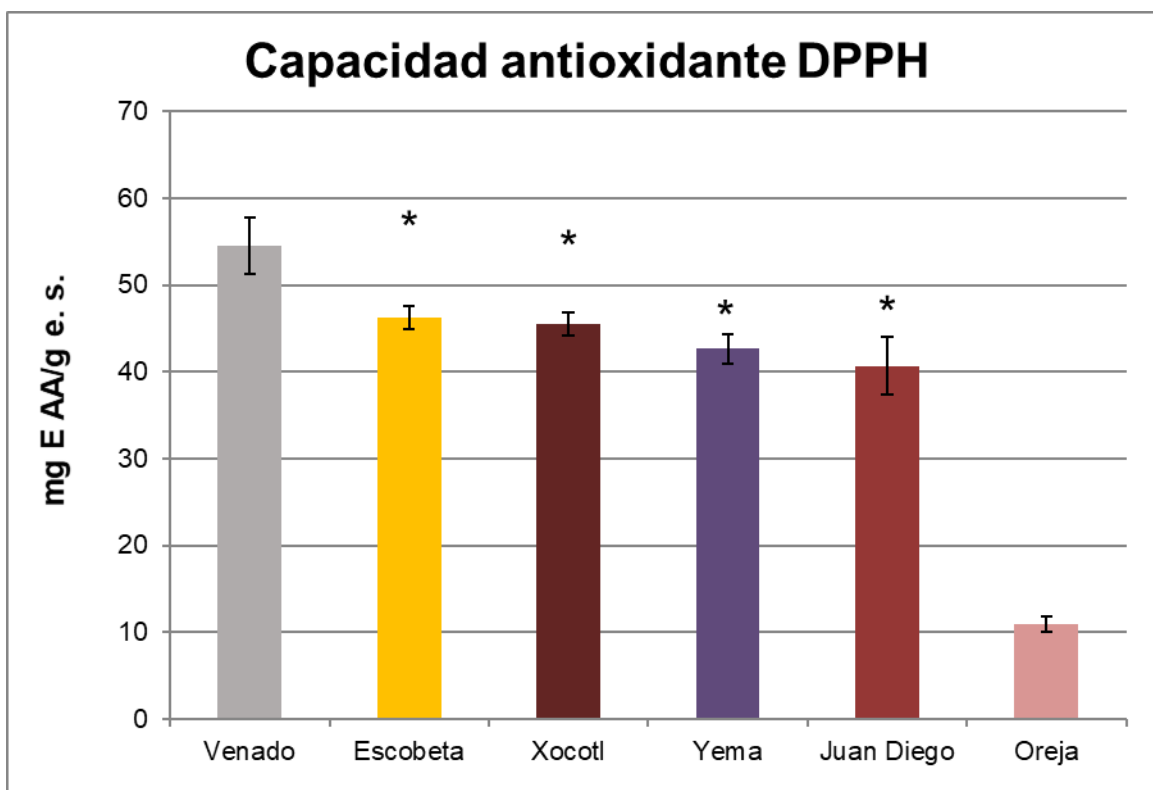
Escala: + Escaso, ++ Moderado, +++ Abundante.

7.3. Evaluación del potencial antioxidante

7.3.1. 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

En el análisis de la capacidad antioxidante DPPH se utilizaron extractos liofilizados de los hongos, Yema (0.19719), Juan Diego (0.2010), Venado (0.2181), Xocoyotl (0.2206), Oreja (0.6952) y Escobeta (0.2943), mg de extracto seco.

Para la actividad antioxidante DPPH se determinó que el extracto del hongo Venado fue el que presentó la mayor capacidad antioxidante con 54.5 ± 3.2 mg E AA/g e.s.; seguido de Escobeta (46.1 ± 1.3); Xocoyotl (45.4 ± 1.3); Yema (42.6 ± 1.7) y Juan Diego (40.6 ± 3.3); quienes registraron los mismos valores estadísticamente. Finalmente, el hongo Oreja presentó la más baja capacidad antioxidante DPPH (10.9 ± 0.9 mg E AA/g e.s.) (Figura 31). Se encontró que los valores obtenidos en los extractos de los hongos evaluados, son inferiores a los reportados para un extracto de diclorometano del hongo *Ganoderma lucidum* (80.7 mg E AA/g e.s.) y superiores para un extracto de acetato de etilo del mismo hongo (48.7 mg E AA/g e.s.); cabe mencionar que dicho hongo tiene un alto poder antioxidante (Angulo *et al.* 2007).



* El asterisco significa que no existe diferencia estadística significativa entre los extractos a nivel de la capacidad antioxidante con un $\alpha= 0.05$

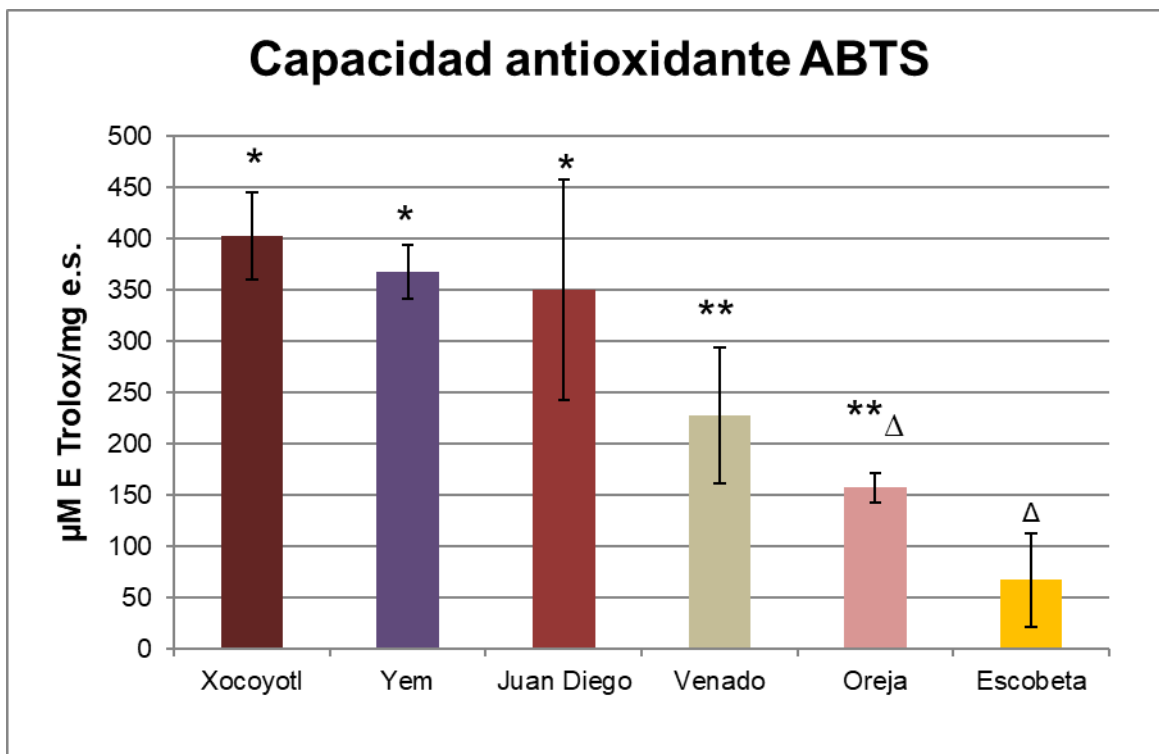
Figura 31. Gráfica de la evaluación antioxidante de DPPH de los extractos de los hongos comestibles silvestres empleados en el presente estudio.

7.3.2. Actividad inhibidora del radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina)-6 sulfonato de amonio (ABTS)

En la capacidad antioxidante ABTS se llevó a cabo con diferentes cantidades de los extractos liofilizados de los hongos, Yema (0.12); Juan Diego (0.013); Venado (0.008); Xocoyotl (0.012); Oreja (0.036) y Escobeta (0.019), mg de extracto seco.

Los datos sobresalientes en la actividad antioxidante ABTS se presentaron en los extractos de los hongos Xocoyotl, Yema y Juan Diego, (402.6 ± 42.4); (367.6 ± 26.0); ($350.3 \pm 108 \mu\text{M E Trolox/mg e.s.}$); respectivamente, ya que estadísticamente registraron el mismo número. A continuación, el hongo Venado (227.8 ± 65.8) y Oreja ($157.1 \pm 13.8 \mu\text{M E Trolox/mg e.s.}$) (figura 32). Los valores obtenidos de la prueba antioxidante ABTS fueron superiores a los publicados para

en el hongo *Tricholoma caligatum* el cual presentó el valor de 0.00744 $\mu\text{M E Trolox/mg}$ (Smolskaite *et al.* 2014).



* El asterisco y triángulo significan que no existe diferencia estadística significativa entre los extractos a nivel de la capacidad antioxidante con un $\alpha = 0.05$

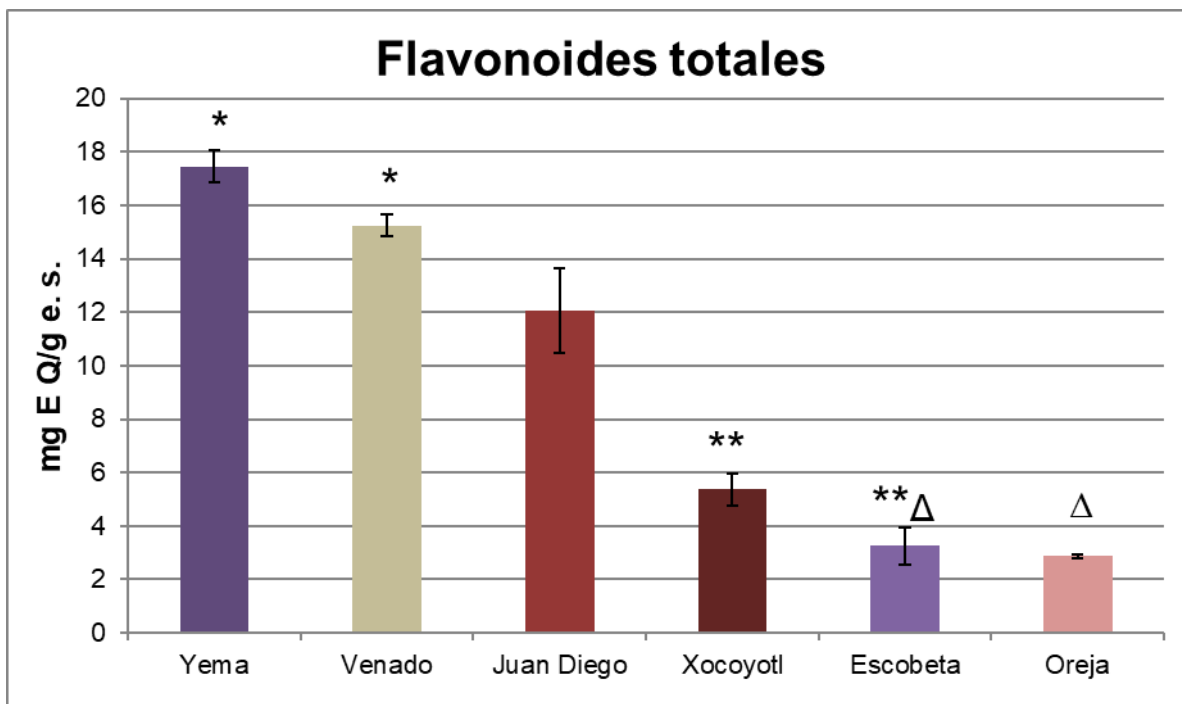
Figura 32. Gráfica de la capacidad antioxidante ABTS de los extractos de los hongos silvestres comestibles analizados.

7.3.3. Flavonoides

Para flavonoides totales se utilizaron diferentes cantidades de los extractos liofilizados de los hongos Yema (5.291); Juan Diego (6.815); Venado (4.926); Xocoyotl (8.339); Oreja (20.874) y Escobeta (24.859), mg de extracto seco.

En las muestras analizadas los mayores datos de flavonoides totales que se obtuvieron fueron en los hongos Yema y Venado (17.4 ± 0.6); (15.2 ± 0.4 mg E Q/g e.s), respectivamente; ya que entre ellos registraron estadísticamente la misma concentración. Enseguida, el hongo Juan Diego (12.0 ± 1.5 mg E Q/g e.s); por último, Xocoyotl y Escobeta con (5.3 ± 0.6); (3.2 ± 0.7 mg E Q/g e.s.), registraron la misma concentración, siendo el hongo Oreja el de menor valor (2.8 ± 0.07 mg E Q/g

e.s.) (figura 33). Los valores obtenidos de flavonoides totales son mayores a los reportados para otros hongos como el macromiceto *Boletus edulis* (2.766 mg E Q/g), *Hericium erinaceus* (0.143 mg E Q/g) y *Hypomyces lactiflorum* (0.142 mg E Q/g), los cuales presentan efectos antioxidantes (Quiñones, 2014).



* El asterisco y triángulo significan que no existe diferencia estadística significativa entre los extractos a nivel de flavonoides totales con un $\alpha = 0.05$

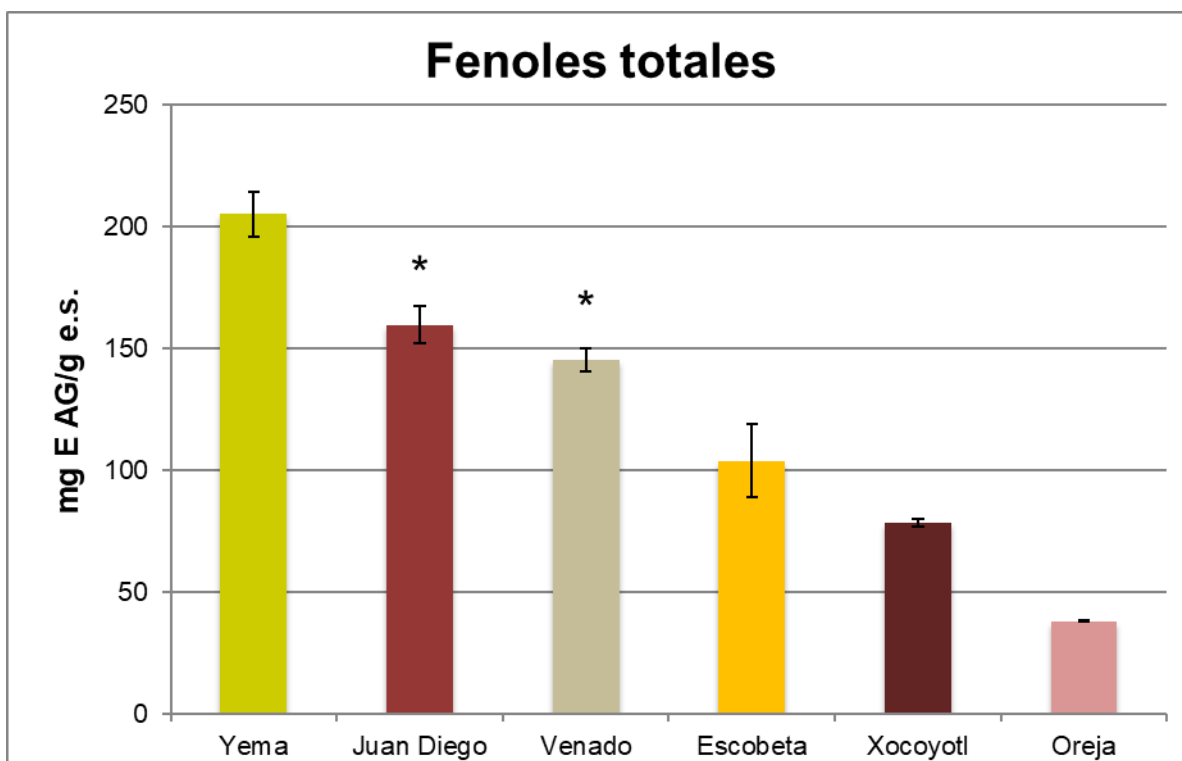
Figura 33. Gráfica de concentración de flavonoides totales presentes en los extractos de los hongos silvestres comestibles evaluados.

7.3.4. Fenoles totales

En fenoles totales se utilizaron distintas cantidades de extracto de los hongos liofilizados, Yema (0.270); Venado (0.397); Juan Diego (0.460); Xocoyotl (0.669); Oreja (0.843) y Escobeta (0.450), mg de extracto seco.

Los datos obtenidos para fenoles totales se presentaron de la siguiente manera, de mayor a menor: Yema (205.0 ± 9.0); Juan Diego (159.5 ± 7.6) y Venado (145.3 ± 4.6 mg E AG/g e.s.), los cuales de forma estadística registraron la misma concentración; seguidos de los extractos de los hongos Escobeta (103.7 ± 14.9), Xocoyotl (78.5 ± 1.56) y Oreja (38.0 ± 0.2 mg E AG/g e.s.) (figura 34). Los valores

obtenidos de fenoles totales son mayores a los reportados para otros hongos como *Macrolepiota procera* (2.20 mg EAG/g) y *Marasmius oreades* (1.50 mg EAG/g) (Herrador, 2014).



*El asterisco representa que no existe diferencia estadística significativa entre los extractos a nivel de fenoles totales con un $\alpha=0.05$

Figura 34. Gráfica de concentración de fenoles totales presentes en los extractos de los hongos silvestres comestibles estudiados.

7.4. Evaluación farmacológica

7.4.1. Toxicidad *in vitro* en *Artemia salina*

Se colocaron en tubos de ensayo concentraciones de 500, 200, 150, 100, 70, 65, 35 y 25 ppm de extracto de cada uno de los hongos silvestres comestibles, a los cuales se aforó a 10 ml con salmuera y se agregaron 10 nauplios de *Artemia salina*. El ensayo *in vitro* en *Artemia salina* mostró cierta toxicidad en varios extractos, el análisis de los datos se realizó con el software GraphPad PRISM, donde se obtuvo la Cl_{50} para cada uno de los extractos, presentando la mayor toxicidad los hongos Oreja y Juan Diego con 1.5 ppm; el resto de los extractos

presentaron un CI_{50} muy cercano, Venado 1.6 ppm, Yema 1.8 ppm y Escobeta 1.8 ppm (Tabla 5). Los resultados obtenidos son interesantes si lo comparamos con los reportados para *Tylopilus violatinctus* el cual presentó una toxicidad CI_{50} de 51 ppm o $\mu\text{g/ml}$ (Ruiz *et al.*, 2017). Por lo que se decidió probar los extractos con los mejores valores de toxicidad en este ensayo en líneas celulares de cáncer.

Tabla 5. Toxicidad *in vitro* de los diferentes extractos de los hongos silvestres comestibles en el modelo de *Artemia salina*.

Hongos silvestres comestibles	CI_{50}
Yema	1.8 ppm
Venado	1.6 ppm
Juan Diego	1.5 ppm
Oreja	1.5 ppm
Escobeta	1.8 ppm
Xocoyotl	> 500 ppm

CI_{50} : dosis mínima de extracto que mata al 50% de *Artemia salina*

7.4.2. Citotoxicidad *in vitro* de los extractos en líneas celulares de cáncer

En la prueba de actividad citotóxica en líneas celulares de cáncer se utilizó como control positivo vinblastina, encontrando los mejores resultados en el extracto del hongo Venado en la línea celular MCF-7 (carcinoma de mama) con un IC₅₀ de 1.7 µg/ml; seguido del hongo Oreja en las líneas celulares de cáncer MCF-7 (carcinoma de mama) con un IC₅₀ 4.3, HCT15 (carcinoma de colon) con un IC₅₀ 5.9 µg/ml, CaOV3 (adenocarcinoma de ovario) con un IC₅₀ 11.9 µg/ml y HeLa (carcinoma cervical) con un IC₅₀ 13.4 µg/ml. El extracto del hongo Xocoyotl presentó resultados aceptables de IC₅₀ de 9.6 µg/ml para PC3 (carcinoma de próstata) (Tabla 6). El hongo oreja presentó valores mayores a los reportados para *Fusarium moniliforme* (5.4 µg/ml) en la línea celular HeLa, mientras que los hongos Venado y Xocoyolt registraron valores similares a lo encontrado en los hongos *Cylindrocarpon musae* (>25 µg/ml), *Fusarium oxysporum* (>25 µg/ml), *Alternaria citri* (>25 µg/ml) y *Collestotrichum gloeosporioides* (>25 µg/ml) en la misma línea celular (Castro, 2015).

Tabla 6. Citotoxicidad *in vitro* de los extractos de los hongos silvestres comestibles en líneas celulares de cáncer.

Extractos	IC ₅₀ (µg/ml) de líneas celulares				
	MCF-7	HeLa	HCT15	PC3	CaOV3
Oreja (<i>Clitocybe gibba</i>)	4.3	13.4	5.9	>25	11.9
Venado (<i>Amanita vaginata var. punctata</i>)	1.7	>25	>25	>25	24.5
Xocoyotl (<i>Laccaria laccata</i>)	>25	>25	23.2	9.6	>25
Vinblastina (+)	0.01	0.0086	0.012	0.0048	0.0054

*MCF-7 = Carcinoma de mama; HeLa = Carcinoma cervical, HCT-15 = Carcinoma de colon; PC3 = Carcinoma de próstata; CaOV3 = Adenocarcinoma de ovario. (+) Control positivo

8. Conclusión

1. Los hongos Escobeta (*Ramaria apiculata*), Oreja (*Clitocybe gibba*) y Xocoyotl (*Laccaria laccata*) contienen una cantidad moderada de antraquinonas y mínima de alcaloides y saponinas.
2. La mayor capacidad antioxidante se presentó en el extracto del hongo Venado (*Amanita vaginata var. punctata*) en el ensayo DPPH (54.5 mg EAA/ g e. s.) y el extracto del hongo Xocoyotl (*Laccaria laccata*) en la prueba de ABTS (402.6 μ M E Trolox/g e. s.).
3. Todos los extractos de los hongos estudiados mostraron toxicidad *in vitro* en el modelo de *Artemia salina*, con valores de CI_{50} de 1.5-1.8, excepto el extracto del hongo Xocoyotl.
4. La citotoxicidad *in vitro* CI_{50} mostró que los extractos de los hongos Venado (1.7 ppm), Oreja (11.9 ppm) y Xocoyotl (9.6 ppm) tienen efecto importante en células de cáncer MCF-7 (Carcinoma de mama); CaOV3 (Adenocarcinoma de ovario) y PC3 (Carcinoma de próstata), respectivamente.

9. Perspectivas del trabajo de investigación

Es claro que esta primera aproximación en el estudio de las cepas de hongos comestibles silvestres presentadas en este trabajo es una primera aproximación en la comprensión de los beneficios que el consumo de ellos tiene, sin embargo, es claro que aún queda una gran cantidad de investigación por realizar. Este trabajo se centró en el estudio de la fracción metanólica de las seis cepas de hongos estudiados, sin embargo, se debe profundizar en el estudio con otras fracciones tanto polares como de baja polaridad (agua, acetona, acetato de etilo y hexano) a fin de identificar algunos compuestos de interés biológico.

Otros estudios interesantes serían los enfocados al estudio de farmacología y farmacodinamia de los metabolitos encontrados en las distintas fracciones, así como los estudios de posible sinergia. Asimismo, sería interesante profundizar en el estudio de estos extractos y las distintas fracciones en estudios relacionados a enfermedades con altos índices de morbilidad como la diabetes mellitus, cáncer y obesidad.

10. Vinculación del estudio de los hongos comestibles silvestres con la Promoción de la Salud

Los hongos silvestres comestibles son una parte esencial para las comunidades que los han utilizado principalmente como fuente de alimentos y algunos en la medicina tradicional para mantener la salud. Los hongos contienen antioxidantes naturales, los cuales nos ayudan a contrarrestar el daño que los radicales libres ocasionan en las células evitando el surgimiento de enfermedades.

Los radicales libres están asociados con el estado de salud, en algunos casos estos radicales libres pueden provocar enfermedades crónicas degenerativas. Si bien el estudio presentado explora de manera preliminar la capacidad antioxidante de las seis cepas de hongos estudiados, es importante destacar que, a pesar de los prometedores resultados, estos no son suficientes para considerar que con ellos podemos contrarrestar las enfermedades crónicas degenerativas. El presente trabajo enfoca sus esfuerzos a comprender la composición química y explora algunas capacidades interesantes como las arrojadas en los ensayos de citotoxicidad frente a líneas celulares de cáncer, pero de ninguna manera con los resultados obtenidos se pretende extender su uso por la población con fines de curar el cáncer.

Los hongos silvestres comestibles contienen nutrimentos importantes y estos están al alcance de las comunidades, además pueden ser colectados por los habitantes de estas regiones para su consumo y/o ponerlos en venta a un bajo costo y con esto generar un ingreso económico.

Los resultados obtenidos en el presente estudio abren una perspectiva importante para que en un futuro se pueda llegar a tener una vinculación directa desde alguna área de acción de la promoción de la salud.

11. Bibliografía

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2000). Resumen de salud pública. Artículo. división de la Toxicología septiembre de 2000. Pp. 1-5. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs151.pdf. (03-07-2018).
- Angulo, AO; Santafé, GP; Zuluaga, JV; Pérez, CC; Torres, O. (2007). Química y actividad antioxidante y bactericida del extracto etanólico del hongo *Ganoderma lucidum*. Revista Scientia et Technica Año XIII, No 33, mayo de 2007. P. 331. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4814586> (12-10-2017).
- Arenas, J. (2001). El envejecimiento cutáneo y la coenzima Q10. Revista Offarm Vol. 20. Núm.5. P. 116. <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-envejecimiento-cutaneo-coenzima-q10-13013474>. (27-6-2017).
- Arias, FN. (2010). Evaluación de metabolitos secundarios del hongo *Ganoderma lucidum* con actividad antifúngica frente a *Fusarium spp.* de interés clínico. Tesis. Pontificia universidad Javeriana Bogotá. Pp. 23-25. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8495/tesis455.pdf;sequence=1>. (12-06-2017).
- Arteaga, MB; Moreno, ZC. (2016). Los hongos comestibles silvestres de Santa Catarina del Monte, Estado de México. Revista Chapingo. Vol. 12. Núm. 2. P. 126. <http://www.redalyc.org/pdf/629/62912205.pdf>. (30-06-18).
- Ahumada, A; Ortega, A; Chito, D; Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*): un subproducto con alto potencial. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas. Vol. 45. Núm. 3. P. 444. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/62043/59010>. (03-07-2018).
- Baldomero, MA; Gómez, FJ; Pulido, CE. (2001). Parte descriptiva. Setas comestibles de Andalucía. P. 47. Jabalruz. Andalucía. España. Libro. https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/portal_web/web/temas_ambientales/biodiversidad/conservacion_biodiversidad/plan_cussta/4_recoleccion_medio_natural/setas_comestAnd_2013.pdf

- Boa, E. (2005). Qué son los hongos. Los hongos silvestres comestibles. FAO. Pp. xi, 8-10. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma Italia. Libro. <http://www.fao.org/3/a-y5489s.pdf>. (17-03-2017).
- Camps, D; Rufino, S; Majul, E; Joison, A. (2010). Ácido tiótico. Bioquímica del estrés oxidativo. Cátedra de Química III, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Córdoba. Pp. 48-49. Córdoba, Argentina. Libro. <https://books.google.com.mx/books?id=QcELAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Bioquimica+del+estres+oxidativo+Camps&hl=es&sa=X&ved=0ahUK EwiBwJnsyvfZAhXK1IMKHQrWAisQ6wEIKTAA#v=onepage&q=Bioquimica%20del%20estres%20oxidativo%20Camps&f=false>. (03-12-2017).
- Cañigüeral, FS; Vanaclocha, VB. (2003). Fitoterapia. Vademécum de Prescripción. Masson. P. 43. Barcelona España. Libro. https://books.google.com.mx/books?id=K3V4p5Pj_dAC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. (03-10-2018).
- Castañeda, IM. (2009). Estudio de los compuestos polifenólicos, con énfasis en flavonoides del hongo *Lentinula edodes* y determinación de la actividad antioxidante. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. P. 68. Bogota, Colombia. <http://bdigital.unal.edu.co/8489/1/197445.2010.pdf> (10-10-2017).
- Castro, ML (2015) Evaluación del potencial bioactivo de cepas de hongos fitopatógenos microscópicos presentes en el estado de Veracruz, México. Tesis. Universidad Veracruzana. P. 74. Xalapa Veracruz. <https://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/42508/1/LagunesCastroMSoleda d.pdf>. (11-08-2017).
- Chandra, P. (2010). Descripción de varios procedimientos de ensayos para determinar la actividad antioxidante. Biotech Articles. <https://www.biotecharticles.com/Applications-Article/Description-of-Variouss-Assay-Procedures-for-Determination-of-Antioxidant-Activity-3712.html>. (15-05-2017).
- Claramunt, VR; López, GC; Pérez, TM; Santa María, GD. (2013). Cumarinas. Química Bioorgánica y Productos Naturales. Universidad

Nacional de Educación a Distancia. P. capítulo 9.5. Madrid España. Libro. <https://books.google.com.mx/books?id=wUdGAgAAQBAJ&pg=PT283&dq=las+cumarinas+en+hongos&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjz-P6G55nbAhVLJKwKHa9MCJJEQ6AEIQjAE#v=onepage&q=las%20cumarinas%20en%20hongos&f=false>. (22-05-2018).

- Criado, CD; Montoya, MM. (2009). Los antioxidantes. Vitaminas y antioxidantes. SANED. Pp. 10-16. Madrid España. Libro. http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTI_OX_EL_MEDICO.pdf. (12-07-2017).
- Cruz, MA. (2016). Mueren al año 150 mil mexicanos por enfermedades cardiovasculares. La jornada. <https://www.jornada.com.mx/2016/08/12/sociedad/034n1soc>. (30-08-2018).
- Díaz, A. (2003). La estructura de las catalasas. Revista de educación bioquímica. Vol.22. Núm. 2. P. 76. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. http://www.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/20032_LA%20ESTRUC_.pdf. (10-12-2017).
- Díaz, CD; Vargas, HI; Chévez, E; Pacheco, CL. (2016). De hongo me como un taco: recetario-catálogo de hongos recolectados en el Llanillo Redondo. Facultad de Biología, Xalapa. Universidad Veracruzana. P. 65. Xalapa, México. Libro. https://www.uv.mx/personal/luipacheco/files/2017/06/De_hongo_me_como_un_taco_2017.pdf. (19-05-2018).
- Díaz, Z. (2006). Selección e identificación de especies de hongos ectomicorizógenos del estado de Hidalgo más competentes en medio de cultivo sólido. Tesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pp. 9,18 Tulancingo Hidalgo. México. https://www.uaeh.edu.mx/nuestro_alumnado/icap/licenciatura/documentos/Seleccion%20e%20identificacion%20de%20especies.pdf
- Domínguez, ER. (2016). *Ramaria apiculata*. Asturnatura. <http://www.asturnatura.com/genero/ramaria.html>. (26-11-2017).

- Domínguez, SH. (2012). Relación entre la capacidad antioxidante y composición fenólica en vinos tintos del CV. *Carménère*. Tesis. Universidad de Chile. P.16. Santiago de Chile, Chile. <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/116346/Sofia%20Hernandez%20Dominguez.pdf?sequence=1>. (15-05-2017).
- Estrada, RR; Ubaldo, DS; Araujo, EA. (2012). Los flavonoides y el sistema nervioso central. *Revista Salud mental*. Vol. 35 Núm. 5. P. 377. México. <http://www.scielo.org.mx/pdf/sm/v35n5/v35n5a4.pdf>. (13-11-2017).
- Galindo, AU; Avendaño, RP; Angulo, AA; Pérez, CA. (2013). Reino de los hongos, características generales. *Biodiversidad. Once Ríos*. P. 109. Sinaloa. México. Libro. http://uaprepasemi.uas.edu.mx/libros/2do_SEMESTRE/15_Biodiversidad.pdf. (09-11-2017).
- George, GM. (2007). *Fungi Austral*. Guía de campo de los hongos más vistosos de Chile. Comité Gestión Ambiental. P. 32-52. Chile. Libro. http://www.corma.cl/_file/material/fungi_austral_baja2.pdf (18-05-2018).
- Herrador, SG (2014). Medicina de los fenoles totales y de la capacidad antioxidante y antirradicalaria de los hongos comestibles. Tesis. Universidad de Valladolid. Pp. 32. Valladolid, España. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/5920/1/TFM-M70.pdf>. (08-08-2017)
- INEGI. (2017). Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. [inegi.org](http://www.inegi.org). P 9. Aguascalientes, Aguascalientes. http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/cancer2017_Nal.pdf. (18-10-2017).
- Jayakumar, T; Thomas, PA; Sheu, JR; Geraldine, P. (2011). In-vitro and in-vivo antioxidant effects of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Revista Food Research International*. Vol. 44. Núm. 4. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911001724>. (30-06-18).
- Jiménez, RM; Pérez, MJ; Almaraz, SJ; Torres, AM. (2013). Hongos silvestres con potencial nutricional, medicinal y biotecnológico

comercializados en Valles Centrales, Oaxaca. Revista mexicana de ciencias agrícolas. Vol. 4. Núm. 2. P. 207.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000200002. (03-07-2017).

- Landa, A; Zulueta, R; Trejo, D. (2007). El maravilloso mundo de los hongos. Universidad Veracruzana. Pp. 14, 19, 21. Jalapa. Veracruz. México.
- Lang, AL. (2003). Ecología química. Plaza y Valdés. P. 46. Ciudad de México. Libro.
<https://books.google.com.mx/books?id=H6j8zaDYSYEC&printsec=frontcover&dq=Ecolog%C3%ADa+qu%C3%ADmica.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj5qpXO0vfZAhXq7IMKHYY2oAuoQ6wEIKTAA#v=onepage&q=Ecolog%C3%ADa%20qu%C3%ADmica.&f=false>. (11-08-2017).
- Lastra, JJ. (2001). Taninos. Bosques naturales de Asturias. Universidad de Oviedo. P. 104. Oviedo España. Libro.
https://books.google.com.mx/books?id=R9tif4trf2AC&pg=PA104&lpg=PA104&dq=Bosques+naturales+de+asturias.+Oviedo:+Universidad+de+Oviedo.+Taninos&source=bl&ots=l4czj7CS0D&sig=XOqnN32JY7B7p31VRXUKb45mpqU&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwiXwp_Rt_HZAhUCWa0KHe45C3cQ6AEINzAG#v=onepage&q=Bosques%20naturales%20de%20asturias.%20Oviedo%3A%20Universidad%20de%20Oviedo.%20Taninos&f=false. (12-06-17).
- López, LH. (1987). Monografía Municipal Amecameca. P. 19. Estado de México.
http://monografiasmexiquenses.mx/kiosco/pdf/Amecameca_1985.pdf. (08-01-17).
- Magaña, AI. (2014). Actividad enzimática antioxidante: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, en el espermatozoide y líquido seminal de conejo Nueva Zelanda y su relación con el sobrepeso. Tesis. Universidad Autónoma Metropolitana Pp. 19, 20. Ciudad de México.
<http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI16898.pdf>. (27-06-2017).

- Marcano, D; Hasegawa, M. (2002). Antraquinonas. Fitoquímica orgánica. Torino. P. 212. Caracas. Venezuela. Libro. https://books.google.com.mx/books?id=hPkjgPwXD-QC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. (12-06-2017).
- Marjoni, MR; Zulfisa, A. (2017). Antioxidant activity of methanol extract/fractions of senggani leaves (*Melastoma candidum* D. Don). Artículo Pharmaceutica Analytica Acta. Vol. 8. Núm. 8 P. 3. <https://www.omicsonline.org/open-access/antioxidant-activity-of-methanol-extractfractions-of-senggani-leavesmelastoma-candidum-d-don-2153-2435-1000557.pdf>. (30-06-18).
- Martínez, J; Torres, PV; Juárez, MA. (2011). El glutatión y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas. Revista de educación bioquímica. Vol. 30 Núm. 2. P. 58. [http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2011/02/30\(2\).pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2011/02/30(2).pdf). (03-06-2017).
- Martínez, CD. (2012). México es el principal productor de hongos comestibles y medicinales en LA. La jornada de Oriente. http://www.lajornadadeoriente.com.mx/noticia/puebla/mexico-es-el-principal-productor-de-hongos-comestibles-y-medicinales-en-la_id_16824.html. (06-08-2018).
- Martínez, LR; Anadón, A. (2012). Aflotoxinas. Micotoxinas. Díaz de los Santos. P. 292. Madrid España. Libro. <https://books.google.com.mx/books?id=xVmOPPw1xA0C&pg=PA292&dq=estructura+quimica+de+aflatoxina&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj-huzWy6TeAhVER6wKHx2gAngQ6wEIMDAB#v=onepage&q=estructura%20quimica%20de%20aflatoxina&f=false>. (26-10-2017).
- Martínez, MA. (2003). Aceites esenciales. Facultad de Química Farmacéutica. P. 4. Medellín. Libro. http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf. (26-10-2018).

- Martínez, YO. (2016). Evaluación del potencial farmacológico del hongo *Fusarium oxysporum*. México: Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. Ciudad de México.
- Meléndez, EA; Granados, RJ. (2005). Química once. En Química orgánica simplificada. Reverté, S.A. P. 470. Barcelona España. Libro. citas.sat.gob.mx/citasat/agregarcita.aspx. (12-07-2017)-
- Mendoza, JA. (2008). Determinación de la citotoxicidad. Análisis conformacional de 6- Heptenil-5,6-dihidro-2H-piran-2-onas, Síntesis de sus Precursores y Evaluación de sus Propiedades Citotóxicas. Tesis. P. 79-80. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México. México.
- Menéndez, A; Wisstaub, A; Montemerlo, H; Alloatti, S; Guidoni, F; Portela, M. (2008). Relación entre las cantidades de cobre y zinc administradas a pacientes graves con nutrición parenteral total y los niveles de cobre y zinc en plasma y eritrocitos. Revista Nutrición hospitalaria. Vol. 23 Núm. 4. 374. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112008000500010 (11-07-2017).
- Merino, AD. (2009). Amanita vaginata. Encycl. Méth. Bot. (Paris) 1(1). P. 2. <http://www.micobotanicajaen.com/Revista/Articulos/DMerinoA/Aportaciones023/AmanitaVaginata.pdf>. (04-07-2018).
- Miles, JW; Maass, BL; Valle, CB. (1998). Brachiaria. Biología, Agronomía y mejoramiento. Centro Nacional de pesquisa de Grado de Corte/ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. P. 128. Cali, Colombia. Libro. https://books.google.com.co/books?id=bYFjP1FzvyAC&printsec=frontcover&source=gbs_v2_summary_r&hl=es#v=onepage&q&f=false. (11-04-2017).
- <http://www.who.int/mediacentre/commentaries/healthy-planet/es/> (11-02-2018).
- Ochoa, WO. (2012). Toxicología de la fotosensibilización en ganaderías de leche. Tesis. Universidad de Cuenca. P. 41. Cuenca. Ecuador. dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/432/1/TESIS.pdf. (10-10-2017).

- OMS. (2015). Enfermedades cardiovasculares. OMS. Ginebra Suiza [http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). (18-10-2017).
- Otero, MJ; Hidalgo, LG. (2004). Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado. Revista Investigación de Ganadería para el Desarrollo Rural vol. 16. Núm. 13. P. 2. http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/64-taninos_en_forrajeras.pdf. (16-02-2017).
- Páez, OL; & Naranjo, JN. (2013). Análisis del complejo *Amanita caesarea*. Revista Vidsupra. Visión científica Vol. 5. Núm. 1. Pp. 9-10. http://www.ciirdurango.ipn.mx/REVISTA_VIDSUPRA/Documents/ELECTRONICAS%20ANTERIORES/ELECTRONICA_VOL5_NO1_JUNIO%2013.pdf. (03-08-2017).
- Peralta, SG; Clarenc, RA; Campos, ML; Jiménez, ML; Espinoza, AM. (2013). toxicity analysis, phytochemical and pharmacological study of the plant known as mora herb, collected at the environmental education center of Yautlica (CEA Yautlica). Asian J. PLANT SCI. (12). Pp. 159-164. <https://scialert.net/fulltext/?doi=ajps.2013.159.164>. (11-07-2017).
- Pillancari, PJ. (2010). Extracción, aislamiento y análisis cualitativo de polisacáridos, terpenos y proteínas presentes en *Flammulina velutipes*. Tesis. Universidad Austral de Chile. P. 11. Valdivia. Chile. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2010/fcp641e/doc/fcp641e.pdf>. (15-02-2017).
- Prasad, AS. (2014). Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: Its role in human health. Revista PubMed Central. Pp. 1, 2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4429650/>. (13-08-2017).
- Quindós, G. (2015). La célula eucariota fúngica. Micología Clínica. DRK edición. P. 3. Barcelona. España. Libro. [https://books.google.com.mx/books?id=MujICAAAQBAJ&pg=PR2&dq=En+Micolog%C3%ADa+Cl%C3%ADnica+\(p%C3%A1g.+3\).+Barcelona+Espa%C3%B1a:+DRK+edici%C3%B3n.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiRpYCI4vbZ](https://books.google.com.mx/books?id=MujICAAAQBAJ&pg=PR2&dq=En+Micolog%C3%ADa+Cl%C3%ADnica+(p%C3%A1g.+3).+Barcelona+Espa%C3%B1a:+DRK+edici%C3%B3n.&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiRpYCI4vbZ)

AhVI_oMKHev-

BlsQ6wEIKTAA#v=onepage&q=En%20Micolog%C3%ADa%20Ci%C3%ADnica%20(p%C3%A1g.%203).%20Barcelona%20Espa%C3%B1a%3A%20DRK%20edici%C3%B3n.&f=false. (07-06-2017).

- Quiñones, MD. (2014). Análisis de componentes antioxidantes en hongos silvestres comestibles consumidos en el Salto, Pueblo Nuevo, Durango. Tesis. Instituto Politécnico Nacional. P. 44. Durango, Durango. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/21650/1/TESIS%20DANIELA.pdf>. (08-08-2017).
- Ramírez, AJ. (2013). Influencia de las técnicas culinarias sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en hortalizas de la dieta mediterránea. Tesis. Universidad de Granada. Pp. 15-17. <https://hera.ugr.es/tesisugr/22622457.pdf> (11-10-2017).
- Reija, OB. (2007). Estudio estructural y dinámico de sistemas organizados mediante sondas fluorescentes. Tesis. Universidad de Santiago de Compostela. P. 40. Santiago de Compostela, España. https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/10347/2349/1/9788497509398_content.pdf
- Rio, JT. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. Tesis. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira. P. 15. Colombia. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/3636/54763T736.pdf;jsessionid=BAD0043C50AE352ABFD88C2844647F8E?sequence=1>. (15-05-2017).
- Rodríguez, LV; Valdivia, BU; Contreras, JE; Rodríguez, RH; Aguilar, C. (2010). Química y biotecnología de la tanasa. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila Vol. 2. Núm. 4. P. 2 <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/Documentos/AQM/AQM4/Qu%C3%ADmica%20y%20Biotecnologia%20de%20la%20Tanasa%20Rdz.-Duran.pdf>. (16-05-2017).

- Romo, AR. (2006). Saponinas. Química de la flora mexicana. Universidad Nacional Autónoma de México. P. 143. México D.F. Libro. https://books.google.com.mx/books?id=2rZKFmqYfSIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q=Saponinas&f=false. (11-08-2017).
- Ruiz, JH. (2008). Viaje al asombroso mundo de los hongos. Fondo de cultura económica. Pp. 25-165. México.
- Ruiz, GL; Vázquez, JA; Vega, VF; Guzmán, DL; Guerrero, GS. (2017). Evaluación del efecto tóxico de hongos Basidiomycota en la eclosión de quistes de *Artemia franciscana*. Revista Iberoamericana de Micología. Vol. 34. Núm. 4. P. 222. <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-iberoamericana-micologia-290-articulo-evaluacion-del-efecto-toxico-hongos-S1130140617300633>. (04-05-2018).
- Sánchez, JA; Rublo, ED; Fernández, DR. (2008). *Amanita caesarea*. Manual de difusión de buenas prácticas para el desarrollo de una actividad micológica sostenible. ADESPER. P. 49. León. España: Libro. <http://www.adesper.com/projects/biodiversidadfungica/docs/Manual.pdf>. (04-05-2017).
- Sánchez-Hernández, MA; Ayala, GA; Cervantes, OR; Garay, HM; De la O, OM; Martínez, TG; Velázquez, LN. (2014). Diagnóstico de la maquinaria agrícola en Amecameca y Texcoco, Estado de México. Revista Agricultura, sociedad y desarrollo. Vol. 11. Núm. 4. P. 503. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722014000400004 (16-05-2018).
- Sánchez, R; Sánchez, BO; Sandoval, YK; *et al.* (2013). Hongos endófitos: potencial de metabolitos. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. Vol. 6. Núm. 2. P. 135. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006. (03-07-2017).
- Sánchez, VA; Santa, JF. (2009). Estudio de antraquinonas presentes en extractos de mucílago y hojas de *Aloe vera* de plantas cultivadas en la

región cafetera. Tesis. Universidad Tecnológica de Pereira. P. 28. Colombia.

<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/1818/5428S211.pdf;jsessionid=16A80A2543FDC304F5381D9CFCB7BE07?sequence=1>. (16-05-2017).

- Schlaepfer, L; García, OB. (2012). Clima. Ocojaltepec, región Tomacoco Amecameca, La colección del herbario en casa libertad. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. Pp. 4,5. México.
- Secretaría de Desarrollo Urbano y Vivienda, GE. (2003). Plan municipal de desarrollo urbano de Amecameca. Gobierno del Estado de México. P. 15 Estado de México. México.
http://seduv.edomexico.gob.mx/planes_municipales/amecameca/PMDU%20AMECAMECA.PDF. (11-03-2017).
- Shahidi, F. (1997). En natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. Fereidoon Shahidi. P. 216. Terranova. Canadá. Libro [https://books.google.com.mx/books?id=9-aZzJxp8DkC&pg=PA150&lpg=PA150&dq=En+Natural+Antioxidants:+Chemistry,+Health+Effects,+and+Applications+\(p%C3%A1g.+216\).+Terranova+Canada:+Fereidoon+Shahidi.&source=bl&ots=xLqKkwQQYD&sig=LHd7PE7u5DVYV_qMK6pktQIbOzw&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwir5d_I5PbZAhUI9IMKHcSYBLQQ6AEIPjAC#v=onepage&q=En%20Natural%20Antioxidants%3A%20Chemistry%2C%20Health%20Effects%2C%20and%20Applications%20\(p%C3%A1g.%20216\).%20Terranova%20C%C3%A1nada%3A%20Fereidoon%20Shahidi.&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=9-aZzJxp8DkC&pg=PA150&lpg=PA150&dq=En+Natural+Antioxidants:+Chemistry,+Health+Effects,+and+Applications+(p%C3%A1g.+216).+Terranova+Canada:+Fereidoon+Shahidi.&source=bl&ots=xLqKkwQQYD&sig=LHd7PE7u5DVYV_qMK6pktQIbOzw&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwir5d_I5PbZAhUI9IMKHcSYBLQQ6AEIPjAC#v=onepage&q=En%20Natural%20Antioxidants%3A%20Chemistry%2C%20Health%20Effects%2C%20and%20Applications%20(p%C3%A1g.%20216).%20Terranova%20C%C3%A1nada%3A%20Fereidoon%20Shahidi.&f=false). (03-09-2017).
- Shalaby, E; Shanab, S. (2013). Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. Revisit Indian Journal of Geo-Marine Sciences. Vol. 42. P. 557. <https://pdfs.semanticscholar.org/2efc/0af6d122d6ddcc41b028a235c094cf9a0512.pdf>. (15-05-2017).
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá. P. 71. Bogotá Colombia. Libro.

<http://www.worldcat.org/title/fundamentos-de-tecnologia-de-productos-fitoterapeuticos/oclc/717811467/viewport>. (12-05-2017).

- SEDESOL. (2011). Atlas de peligros naturales del municipio de Amecameca. Gobierno Federal, SEDESOL.p.22.
http://www.normateca.sedesol.gob.mx/work/models/SEDESOL/Resource/2612/Atlas_Estados/15009_AMECAMECA/1_Atlas_Peligros_Naturales_Amecameca.pdf. (09-01-2017).
- SEGOB. (2014). Acuerdo del Consejo General del Instituto Nacional Electoral. Diario Oficial de la Federación. P. 4. Ciudad de México.
http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5360323&fecha=15/09/2014#
- Singleton, VL; Rossi, JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Revista American Journal of Enology and viticulture*. Vol. 16. Núm. 3. Pp. 144-158.
<http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.short>. (11-08-2017).
- Smolskaite, L; Rimantas, VP; Talou, T. (2014). Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species. *Articulo*. P. 466.
<file:///C:/Users/Laboratorio/Desktop/Comprehensive%20evaluation%20of%20antioxidant%20and%20antimicrobial%20properties.pdf>. (23-05-2018).
- Soledad, JA. (2007). *Estres oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en el paciente crítico*. Universidad de Granada. Tesis. Pp. 19,20. Granada. España.
<https://hera.ugr.es/tesisugr/16710794.pdf>. (10-09-2017).
- Toxqui, L; De Piero, A; Courtois, V; Bastida, S; Sánchez, F; Vaquero, P. (2010). Deficiencia y sobrecarga de hierro; implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Revista Nutrición hospitalaria*. Vol. II. P. 358. <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v25n3/revision3.pdf>. (06-07-2017).
- Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. (agosto de 2012). *Introducción a los hongos*. Hoja técnica de divulgación científica Núm. 2. P. 1.
<http://www.uacj.mx/ICB/UEB/Documents/Hojas%20tecnicas/INTRODUCCION%20A%20LOS%20HONGOS.pdf>. (18-10-2017).

- Valverde, VG. (2014). Estudio del contenido de compuestos bioactivos de tomate. Tesis. Universidad de Murcia. P. 43. Murcia. España. <https://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/39766/1/Tesis%20Doctoral%20Compendio%20Publicaciones%20Ver%C3%B3nica%20Garc%C3%ADa%20Valverde.pdf>. (27-06-2017).
- Vásquez, JB. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *heliocarpus terebinthinaceus*. Tesis Universidad Tecnológica de la Mixteca. P. 15. Huajuapán de León, Oaxaca. México. http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf. (15-05-2017).
- Villicaña, IS. (2015). Estudio químico y evaluación farmacológica del hongo *Sclerotium rolfssii* Sacc cultivado en dos distintos medios de cultivo. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. Pp 30, 38. México D.F.
- Williams, B; Cuvelier, ME; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Revista Food Science and Technology. Vol. 28. Núm. 1. P. 25. http://radio.cuci.udg.mx/bch/EN/Manuals/Techniques/DPPH-original_LebensWissTechnol_1995-v28-p25.pdf. (05-05-2017).
- Yúfera, EP. (1995). Terpenos. Flavonoides y antocianos. Química orgánica, básica y aplicada. Ed. REVERTÉ. Pp. 815-915. Barcelona. España. Libro. https://books.google.com.mx/books?id=aU_aBXvAB3MC&printsec=frontcover&dq=Qu%C3%ADmica+organica,+b%C3%A1sica+y+aplicada.+Barcelona.&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjNgpy3nqHaAhVj2oMKHbu0DWoQ6wEIKzAA#v=onepage&q=Flavonoides&f=false. (19-06-2017).
- Zapata, S; Piedrahita, AM; Rojano, B. (2014). Capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. Revista Perspectivas en nutrición humana. Vol. 16. Núm. 1. P. 27. <http://www.scielo.org.co/pdf/penh/v16n1/v16n1a3.pdf>. (03-07-18).

12. Anexos

Anexo 1. Reactivos, materiales y equipos

A. Reactivos

<u>Reactivo</u>	<u>Marca</u>
Acetato de etilo	Ferm.nt
Acetato de potasio	J.T. Baker
Ácido clorhídrico	J.T.Baker
Agua destilada	-----
Buffer de fosfato salino	J.T. Baker
Carbonato de sodio	J.T. Baker
Cloruro de aluminio	J.T. Baker
Cloruro de sodio	La fina
Dextrosa	Meyer
Diclorometano	J.T. Baker
DPPH	Sigma
Estándares de pH (4, 7 y 10)	J.T. Baker
Etanol	J.T. Baker
Folín Ciocalteu 2N	Sigma
Grenetina pura	Soriana
Hidróxido de sodio lentejas	Meyer
Hidróxido de sodio	Clorox
Metanol	J.T. Baker
Placas de silica Gel60 F ₂₅₄	Merck
Quistes de <i>Artemia salina</i>	Eclosionazol
Reactivo Dragendorff	Sigma
Sal para acuario	Aquarium

B. Equipos

<u>Equipo de laboratorio</u>	<u>Marca</u>
Autoclave vertical	Yamato
Agitador magnético	Thermo scientific
Baño María	Buche
Báscula analítica	Adventure
Báscula analítica	Camry
Báscula granataria	Ohaus
Báscula granataria	Camry
Cámara UV	UVP Upland
Campana de extracción	-----
Campana de flujo laminar	Veco
Centrífuga	Labnet
Computadora	Lenovo
Congelador de -20 °C	Thermo scientific
Espectrofotómetro	Jenway
Horno de microondas	Mabe
Licuadora	American
Liofilizador	Labconco
Microcentrífuga	Thermo scientific
Micropipetas de volumen variable P2; P20; P200 y P1000	Bio Pette
Parrilla de agitación y calentamiento	Thermo scientific
Potenciómetro	Oakton
Reloj	Bio-elec
Refrigerador	Mabe
Rotavapor Básico R-3	Buchi
Termoblock	Dry-Bath
Vórtex	Labnet

C. Materiales de vidrio

<u>Materiales de vidrio</u>	<u>Marca</u>
Frascos de vidrio c/ tapa de 900ml	Pirex
Matraz Erlenmeyer de 250, 500 y 1000 ml	Pirex
Mortero	Pirex
Pipeta Pasteur con bulbo	Pirex
Probeta de vidrio	Pirex
Tubos de ensayo	Pirex
Termómetro	Pirex
Vaso precipitado de vidrio de 40 a 1000ml	Pirex
Viales	Pirex
Cubetas de espectrofotómetro	Pirex

D. Materiales de plástico

<u>Materiales de plástico</u>	<u>Marca</u>
Charolas para pesado	Corning
Coladera de plástico	-----
Cucharas	-----
Embudo de filtración	-----
Espátula de doble cuchara	-----
Frascos de color ámbar de 50 ml	América
Gradillas de plástico y metal	Corning
Pinzas de disección	-----
Probeta de 10, 15, 500 y 1000 ml	Corning
Tina de plástico de 3 lt	-----
Tubo microcentrífuga de 0.6., 1.5 y 2.0 ml	Neptune
Tubo Falcón de 15 y 50 ml	Corning
Vaso de precipitado de plástico de 1000 ml	Corning
Puntas p/ micropipetas de 2 a 1000 µl	Neptune

E. Otros

Material

Algodón

Bolsas de polipapel

Cinta Parafilm^{MR}

Cutter

Etiquetas adheribles

Gasa simple

Marcador

Masking Tape

Palillos tipTAPE

Papel aluminio

Marca

Protec

Reyma

Parafil

Barrilito

Lesa

Pro-Derma

Standtler

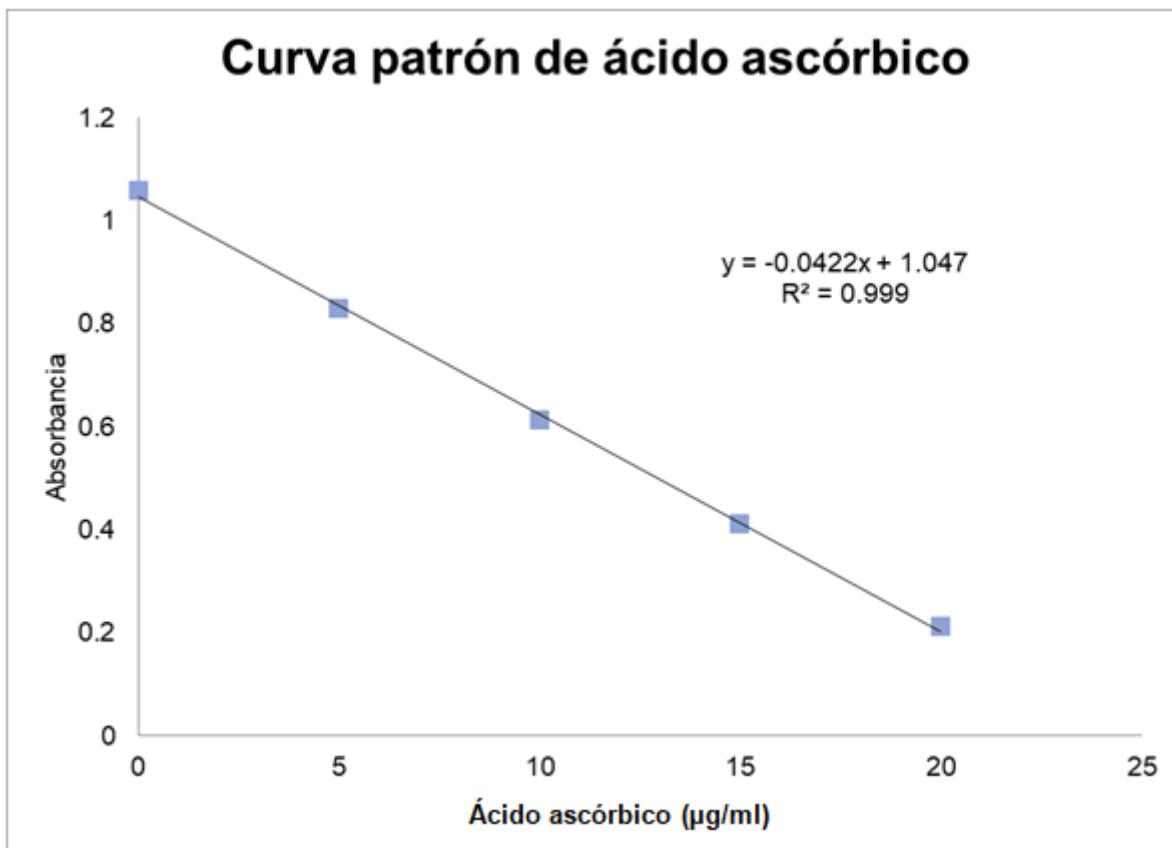
Tape

Usero

Alupack

Anexo 2. Cálculos de la capacidad antioxidante DPPH

A. Curva patrón ácido ascórbico para DPPH



B. Hongo silvestre comestible Yema

Hongos	$X = (Y-b)/a$	mg/mL de AA/ppm de extracto	ppm AA/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AA/g e.s *	Desv. Est.
Yema					
0.67	8.74	0.035	34.98	44.36	1.7
0.70	8.06	0.032	32.23	40.87	
0.69	8.41	0.034	33.65	42.67	
Promedio	0.69	8.40	0.03	33.61	42.63
* Solubilidad del 78.85 %					

C. Hongo silvestre comestible Juan Diego

Hongos		$X = (Y-b)/a$	mg/mL de AA/ppm de extracto	ppm AA/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AA/g e.s *	Desv. Est.
Juan Diego						
Absorbancia	0.73	7.44	0.03	29.76	37.02	3.3
	0.69	8.34	0.03	33.36	41.50	
	0.67	8.74	0.03	34.98	43.50	
	Promedio	0.70	8.18	0.03	32.70	40.67
*Solubilidad del 80.40 %						

D. Hongo silvestre comestible Venado

Hongos		$X = (Y-b)/a$	mg/mL de AA/ppm de extracto	ppm AA/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AA/mg e.s *	Desv. Est.
Venado						
Absorbancia	0.57	11.09	0.044	44.36	50.83	3.2
	0.52	12.32	0.049	49.29	56.48	
	0.52	12.30	0.049	49.19	56.38	
	Promedio	0.54	11.90	0.04	47.61	54.56
* Solubilidad del 87.25 %						

E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl

Hongos		$X = (Y-b)/a$	mg/mL de AA/ppm de extracto	ppm AA/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AA/g e.s *	Desv. Est.
Xocoyotl						
Absorbancia	0.63	9.72	0.03	38.86	44.04	1.3
	0.62	10.09	0.04	40.38	45.76	
	0.61	10.28	0.04	41.14	46.62	
	Promedio	0.62	10.03	0.04	40.12	45.47
* Solubilidad del 88.23 %						

F. Hongo silvestre comestible Oreja

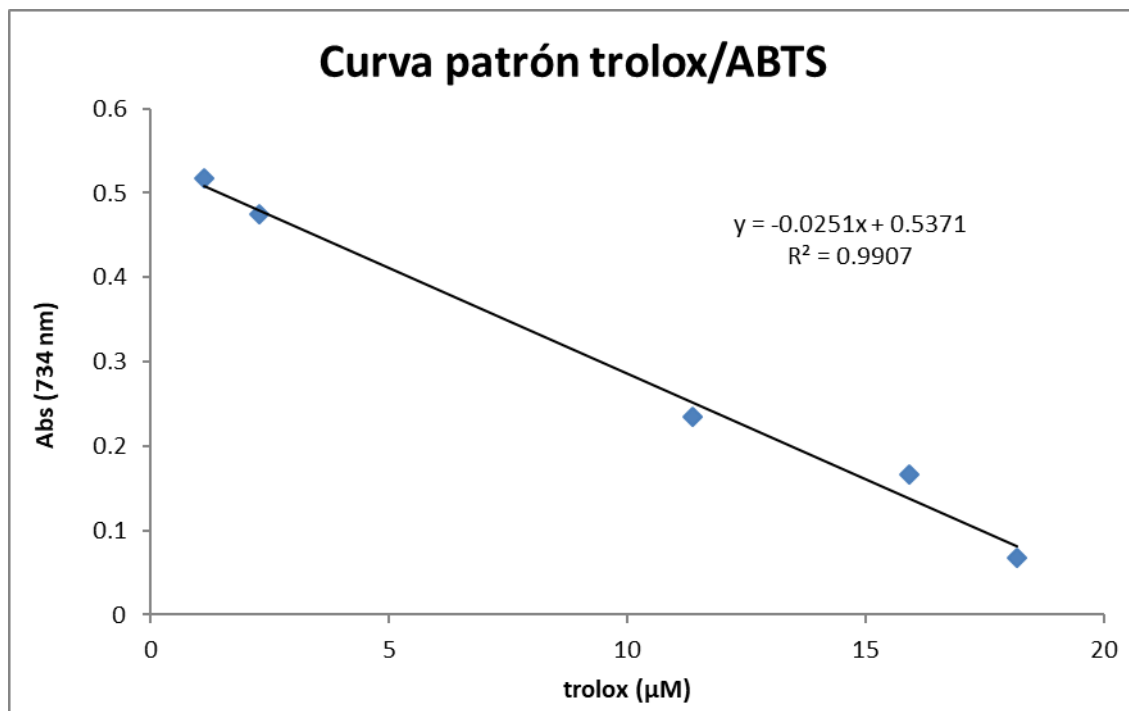
Hongos		$X = (Y-b)/a$	mg/mL de AA/ppm de extracto	ppm AA/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AA/g e.s *	Desv Est.
Oreja						
Absorbancia	0.75	6.87	0.007	6.87	9.88	0.9
	0.71	7.84	0.008	7.84	11.28	
	0.70	8.06	0.008	8.06	11.58	
	Promedio	0.72	7.59	0.008	7.59	10.91
* Solubilidad del 69.52 %						

G. Hongo silvestre comestible Escobeta

Hongos		$X = (Y-b)/a$	mg/mL de AA/ppm de extracto	ppm AA/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AA/g e.s *	Desv Est.
Escobeta						
Absorbancia	0.455	14.03	0.04	46.76	47.66	1.3
	0.478	13.48	0.04	44.94	45.80	
	0.487	13.27	0.04	44.23	45.08	
	Promedio	0.47	13.59	0.04	45.31	46.18
* Solubilidad del		98.11				

Anexo 3. Cálculos de la capacidad antioxidante ABTS

A. Curva patrón de Trolox



B. Hongo silvestre comestible Yema

Hongos	X= (Y-b)/a	μM Trolox/mg liofilizado soluble del extracto	μM Trolox/mg del e.s. *	Desv. Est.
Yema				26.06
0.41	4.71	313.68	390.04	
0.41	4.82	321.65	374.01	
0.46	2.75	183.53	339.05	
Promedio	0.43	272.95	367.69	
* Solubilidad del 78.85 %				

C. Hongo silvestre comestible Juan Diego

Hongos		$X = (Y-b)/a$	μM Trolox/mg liofilizado soluble del extracto	μM Trolox/mg del e.s. *	Desv. Est.
Juan Diego					108.06
Absorbancia	0.46	2.95	196.81	228.85	
	0.39	5.62	374.77	435.78	
	0.41	4.98	332.27	386.36	
Promedio	0.42	4.51	301.28	350.330	
*Solubilidad del		80.40 %			

D. Hongo silvestre comestible Venado

Hongos		$X = (Y-b)/a$	μM Trolox/mg liofilizado soluble del extracto	μM Trolox/mg del e.s. *	Desv. Est.
Venado					65.89
Absorbancia	0.50	1.24	123.90	152.60	
	0.48	2.08	207.57	255.64	
	0.48	2.24	223.51	275.27	
Promedio	0.49	1.85	184.99	227.83	
* Solubilidad del		87.25 %			

E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl

Hongos		$X = (Y-b)/a$	μM Trolox/mg liofilizado soluble del extracto	μM Trolox/mg del e.s. *	Desv. Est.
Xocoyotl					42.46
Absorbancia	0.42	4.51	300.40	378.13	
	0.42	4.51	300.40	378.13	
	0.40	5.38	358.83	451.69	
	Promedio	0.39	4.79	319.876	402.65
* Solubilidad del 88.23 %					

F. Hongo silvestre comestible Oreja

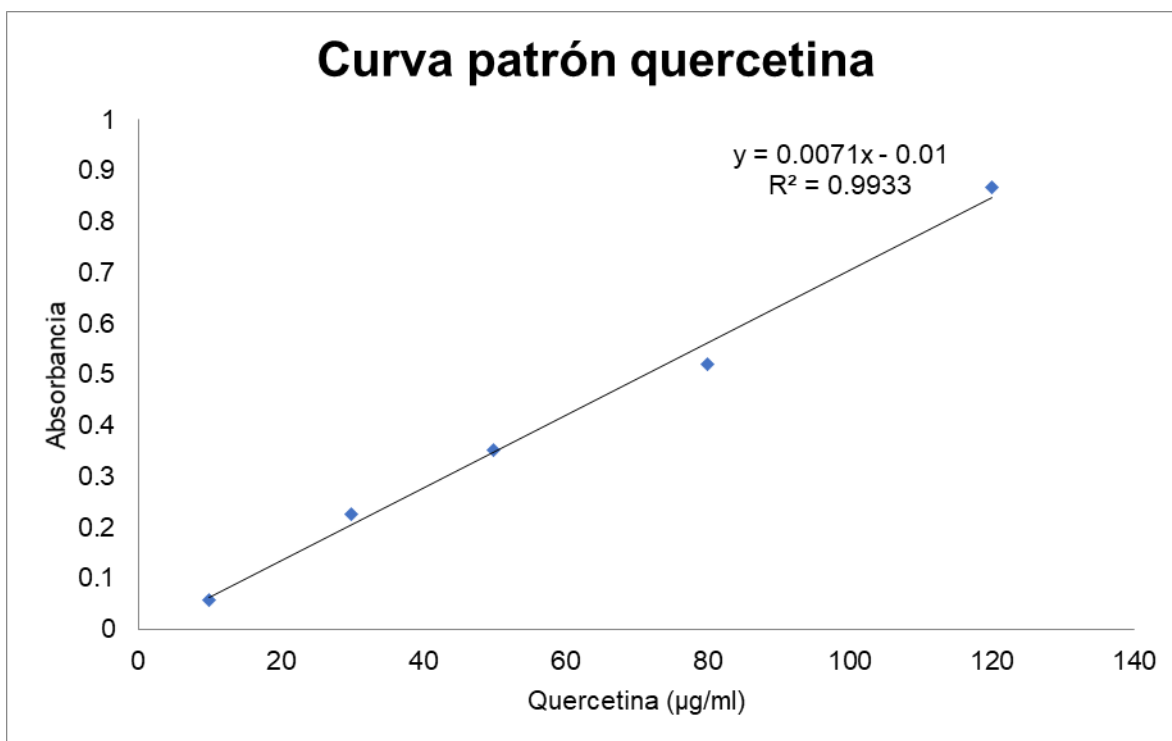
Hongos		$X = (Y-b)/a$	μM Trolox/mg liofilizado soluble del extracto	μM Trolox/mg del e.s. *	Desv. Est.
Oreja					13.81
Absorbancia	0.40	5.18	129.58	145.60	
	0.38	6.14	153.49	172.46	
	0.4	5.46	136.55	153.43	
	Promedio	0.39	5.59	139.87	157.16
* Solubilidad del 69.52 %					

G. Hongo silvestre comestible Escobeta

Hongos		$X = (Y-b)/a$	μM Trolox/mg liofilizado soluble del extracto	μM Trolox/mg del e.s. *	Desv. Est.
Escobeta					54.04
Absorbancia	0.48	2.16	107.77	115.88	
	0.50	1.12	55.98	60.19	
	0.52	0.48	24.10	25.92	
	Promedio 0.50	1.25	62.61	67.32	
* Solubilidad del 98.11					

Anexo 4. Cálculos de flavonoides totales

A. Curva patrón de quercetina



B. Hongo silvestre comestible Yema

Hongos	$X = (Y-b)/a$	ppm Q/mg liofilizado soluble de extracto	mg E Q/g e.s *	Desv. Est.
Yema				
0.73	104.79	16.71	19.81	0.61
0.53	76.48	12.20	14.46	
0.67	95.92	15.30	18.13	
Promedio	0.64	92.39	17.46	
* solubilidad del 84.31 %				

C. Hongo silvestre comestible Juan Diego

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm Q/mg liofilizado soluble de extracto	mg E Q/g e.s *	Desv. Est.
Juan Diego					
Absorbancia	0.66	94.65	10.82	13.89	1.58
	0.52	74.93	8.56	10.99	
	0.53	77.04	8.80	11.30	
	Promedio	0.57	82.20	9.39	12.06
	* solubilidad del 77.88 %				

D. Hongo silvestre comestible Venado

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm Q/mg liofilizado soluble de extracto	mg E Q/g e.s *	Desv. Est.
Venado					
Absorbancia	0.50	72.96	13.64	14.81	0.41
	0.52	75.49	14.11	15.32	
	0.53	77.04	14.40	15.64	
	Promedio	0.52	75.16	14.04	15.25
	* solubilidad del 92.07 %				

E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm Q/mg liofilizado soluble de extracto	mg E Q/g e.s *	Desv. Est.
Xocoyotl					
Absorbancia	0.34	50.42	5.70	6.05	0.61
	0.3	43.66	4.93	5.24	
	0.27	40.42	4.57	4.85	
	Promedio	0.30	44.83	5.06	5.37
* solubilidad del 94.23 %					

F. Hongo silvestre comestible Oreja

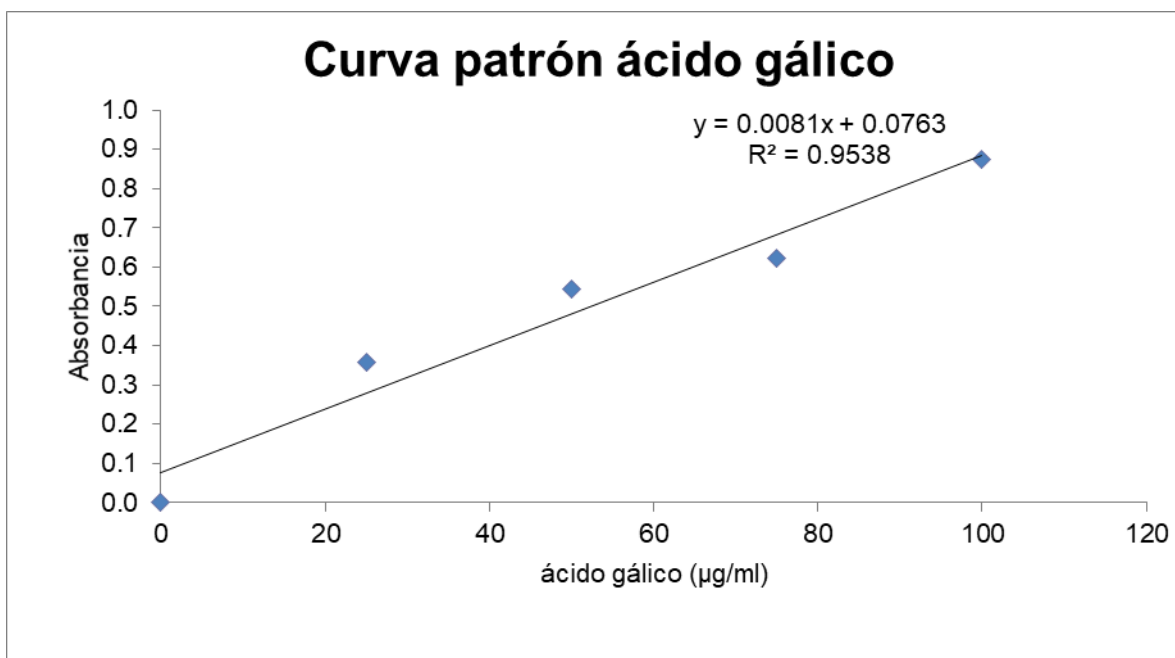
Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm Q/mg liofilizado soluble de extracto	mg E Q/g e.s *	Desv. Est.
Oreja					
Absorbancia	0.42	61.55	2.46	2.95	0.07
	0.40	58.59	2.34	2.81	
	0.42	60.70	2.43	2.91	
	Promedio	0.41	60.28	2.41	2.88
* solubilidad del 83.49 %					

G. Hongo silvestre comestible Escobeta

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm Q/mg liofilizado soluble de extracto	mg E Q/g e.s *	Desv. Est.
Escobeta					
Absorbancia	0.52	75.35	2.49	3.03	0.70
	0.46	66.76	2.21	2.69	
	0.70	100.56	3.32	4.05	
	Promedio	0.56	80.89	2.67	3.25
*solubilidad del 82.17 %					

Anexo 5. Cálculos de fenoles totales

A. Curva patrón ácido gálico



B. Hongo silvestre comestible Yema

Hongos	$X = (Y-b)/a$	ppm AG/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AG/g e.s *	Desv. Est.
Yema				9.06
0.55	52.54	164.19	194.73	
0.59	56.26	175.83	208.54	
0.60	57.15	178.58	211.81	
Promedio	0.58	172.86	205.02	
* solubilidad del 84.31 %				

C. Hongo silvestre comestible Juan Diego

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm AG/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AG/g e.s *	Desv. Est.	
Absorbancia	Juan Diego					7.68
	0.636	60.19	118.01	151.52		
	0.698	66.26	129.93	166.82		
	0.672	63.72	124.93	160.41		
	Promedio	0.66	63.38	124.29	159.58	
* solubilidad del 77.88 %						

D. Hongo silvestre comestible Venado

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm AG/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AG/g e.s *	Desv. Est.	
Absorbancia	Venado					4.69
	0.694	65.87	131.75	143.08		
	0.73	69.40	138.80	150.74		
	0.69	65.48	130.96	142.23		
	Promedio	0.70	66.91	133.83	145.34	
* solubilidad del 92.07 %						

E. Hongo silvestre comestible Xocoyotl

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm AG/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AG/g e.s *	Desv. Est.
Xocoyotl					1.56
Absorbancia	0.565	53.23	74.97	79.56	
	0.564	53.13	74.83	79.41	
	0.546	51.36	72.34	76.77	
Promedio	0.55	52.57	74.04	78.57	
		* solubilidad del 94.23 %			

F. Hongo silvestre comestible Oreja

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm AG/mg liofilizado soluble del extracto	m,g E AG/g e.s *	Desv. Est.
Oreja					0.20
Absorbancia	0.34	31.85	31.54	37.77	
	0.35	32.15	31.83	38.12	
	0.35	32.15	31.83	38.12	
Promedio	0.34	32.04	31.73	38.00	
		* solubilidad del 83.49 %			

G. Hongo silvestre comestible Escobeta

Hongos		$X = (Y-b)/a$	ppm AG/mg liofilizado soluble del extracto	mg E AG/g e.s *	Desv. Est.
Escobeta					14.98
Absorbancia	0.41	38.91	76.30	86.47	
	0.54	50.87	99.75	113.05	
	0.53	50.28	98.60	111.74	
Promedio	0.49	46.69	91.54	103.75	
*solubilidad del 82.17 %					

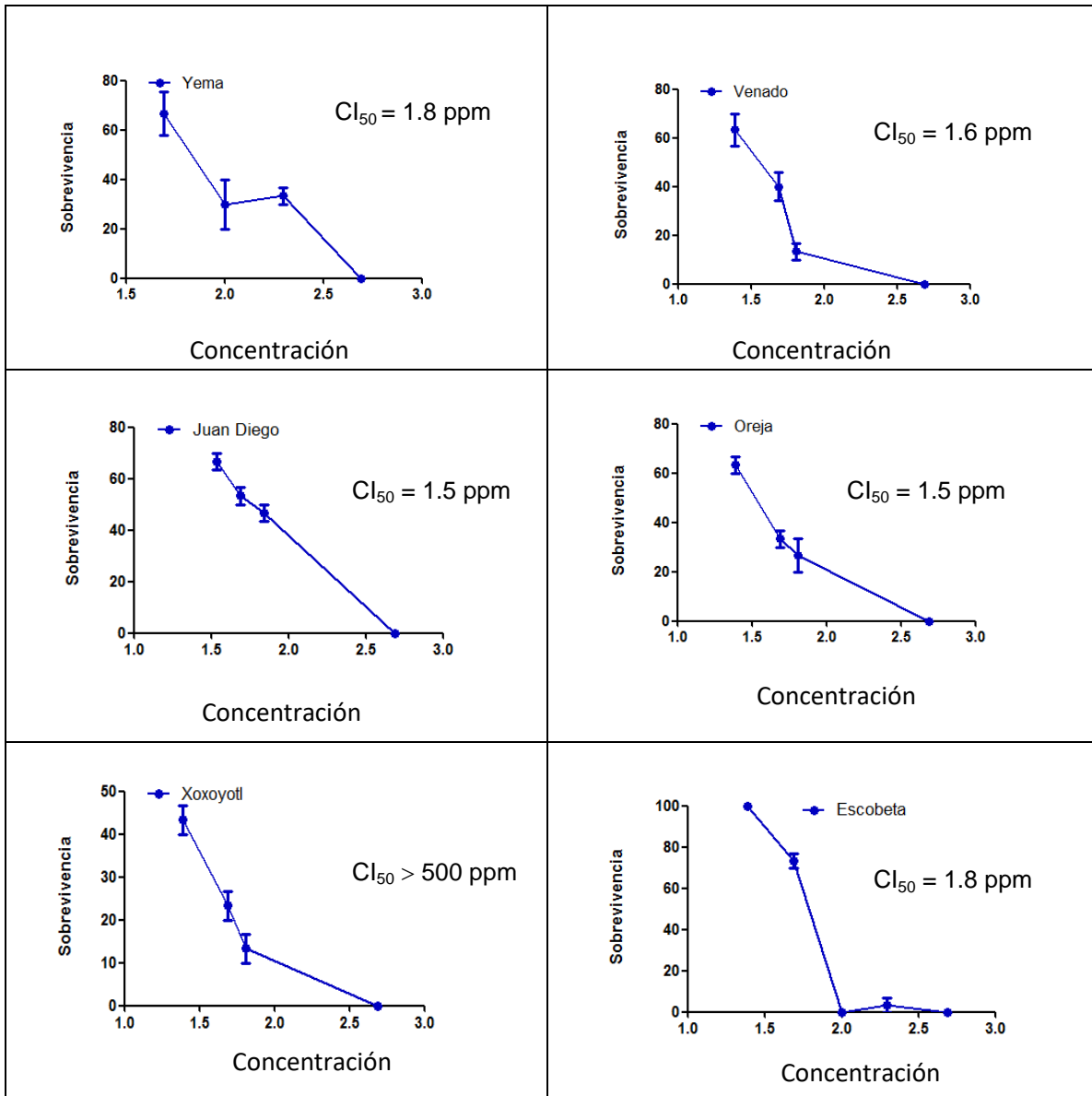
Anexo 6. Toxicidad *in vitro* en *Artemia salina*

A. Datos de toxicidad *in vitro* en *Artemia salina**

Extracto	Yema	Venado	J.D	Oreja	Xocoyotl	Escobeta	Control
500 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
200 ppm	41.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	100.0
150 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
100 ppm	37.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
70 ppm	0.0	0.0	58.0	0.0	0.0	0.0	100.0
65 ppm	0.0	33.0	0.0	25.0	21.0	0.0	100.0
50 ppm	83.0	16.0	54.0	37.0	25.0	91.0	100.0
35 ppm	0.0	0.0	83.0	0.0	0.0	0.0	100.0
25 ppm	0.0	79.0	0.0	71.0	54.0	0.0	100.0

*Valores promedio del triplicado de cada uno de los extractos.

B. Curvas de CI_{50} de toxicidad *in vitro* en el modelo de *Artemia salina*



Anexo 7. Análisis estadístico

ANOVA Simple - DPPH por Hongo

Variable dependiente: DPPH

Factor: Hongo

Número de observaciones: 18

Número de niveles: 6

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para DPPH. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de DPPH para los 6 diferentes niveles de Hongo. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA para DPPH por Hongo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3400.89	5	680.178	141.54	0.0000
Intra grupos	57.6669	12	4.80558		
Total (Corr.)	3458.56	17			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de DPPH en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 141.539, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de DPPH entre un nivel de Hongo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para DPPH por Hongo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Hongo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Oreja	3	10.9133	X
J.D.	3	40.6733	X
Yema	3	42.6333	X
Xocoyotl	3	45.4733	X
Escobeta	3	46.18	X
Venado	3	54.5633	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Escobeta - J.D.		5.50667	6.01292
Escobeta - Oreja	*	35.2667	6.01292
Escobeta - Venado	*	-8.38333	6.01292
Escobeta - Xocoyotl		0.706667	6.01292
Escobeta - Yema		3.54667	6.01292
J.D. - Oreja	*	29.76	6.01292
J.D. - Venado	*	-13.89	6.01292
J.D. - Xocoyotl		-4.8	6.01292
J.D. - Yema		-1.96	6.01292
Oreja - Venado	*	-43.65	6.01292
Oreja - Xocoyotl	*	-34.56	6.01292
Oreja - Yema	*	-31.72	6.01292
Venado - Xocoyotl	*	9.09	6.01292
Venado - Yema	*	11.93	6.01292
Xocoyotl - Yema		2.84	6.01292

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 9 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

ANOVA Simple - ABTS por Hongo

Variable dependiente: ABTS

Factor: Hongo

Número de observaciones: 18

Número de niveles: 6

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para ABTS. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de ABTS para los 6 diferentes niveles de Hongo. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA para ABTS por Hongo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	266434.	5	53286.7	15.40	0.0001
Intra grupos	41512.4	12	3459.36		
Total (Corr.)	307946.	17			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de ABTS en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 15.4036, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de ABTS entre un nivel de Hongo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para ABTS por Hongo

Método: 95.0 porcentaje LSD

Hongo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Escobeta	3	67.33	X
Oreja	3	157.163	XX
Venado	3	227.837	X
J.D.	3	350.33	X
Yema	3	367.7	X
Xocoyotl	3	402.65	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Escobeta - J.D.	*	-283.0	104.634
Escobeta - Oreja		-89.8333	104.634
Escobeta - Venado	*	-160.507	104.634
Escobeta - Xocoyotl	*	-335.32	104.634
Escobeta - Yema	*	-300.37	104.634
J.D. - Oreja	*	193.167	104.634
J.D. - Venado	*	122.493	104.634
J.D. - Xocoyotl		-52.32	104.634

J.D. - Yema		-17.37	104.634
Oreja - Venado		-70.6733	104.634
Oreja - Xocoyotl	*	-245.487	104.634
Oreja - Yema	*	-210.537	104.634
Venado - Xocoyotl	*	-174.813	104.634
Venado - Yema	*	-139.863	104.634
Xocoyotl - Yema		34.95	104.634

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 10 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

ANOVA Simple - FENOLES por Hongo

Variable dependiente: FENOLES

Factor: Hongo

Número de observaciones: 18

Número de niveles: 6

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para FENOLES. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de FENOLES para los 6 diferentes niveles de Hongo. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA para FENOLES por Hongo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	54373.1	5	10874.6	167.23	0.0000
Intra grupos	780.323	12	65.027		
Total (Corr.)	55153.4	17			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de FENOLES en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 167.232, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de FENOLES entre un nivel de Hongo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para FENOLES por Hongo

Método: 95.0 porcentaje LSD

Hongo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Oreja	3	38.0033	X
Xocoyotl	3	78.58	X
Escobeta	3	103.753	X
Venado	3	145.35	X
J.D.	3	159.583	X
Yema	3	205.027	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Escobeta - J.D.	*	-55.83	14.3457
Escobeta - Oreja	*	65.75	14.3457
Escobeta - Venado	*	-41.5967	14.3457
Escobeta - Xocoyotl	*	25.1733	14.3457
Escobeta - Yema	*	-101.273	14.3457
J.D. - Oreja	*	121.58	14.3457
J.D. - Venado		14.2333	14.3457
J.D. - Xocoyotl	*	81.0033	14.3457
J.D. - Yema	*	-45.4433	14.3457
Oreja - Venado	*	-107.347	14.3457
Oreja - Xocoyotl	*	-40.5767	14.3457
Oreja - Yema	*	-167.023	14.3457
Venado - Xocoyotl	*	66.77	14.3457
Venado - Yema	*	-59.6767	14.3457
Xocoyotl - Yema	*	-126.447	14.3457

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 14 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 5 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

ANOVA Simple - FLAVONOIDES por Hongo

Variable dependiente: FLAVONOIDES

Factor: Hongo

Número de observaciones: 18

Número de niveles: 6

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para FLAVONOIDES. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de FLAVONOIDES para los 6 diferentes niveles de Hongo. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA para FLAVONOIDES por Hongo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	608.181	5	121.636	65.88	0.0000
Intra grupos	22.1548	12	1.84623		
Total (Corr.)	630.336	17			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de FLAVONOIDES en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 65.8834, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de FLAVONOIDES entre un nivel de Hongo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para FLAVONOIDES por Hongo

Método: 95.0 porcentaje LSD

Hongo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Oreja	3	2.89	X
Escobeta	3	3.25667	XX
Xocoyotl	3	5.38	X
J.D.	3	12.06	X
Venado	3	15.2567	X
Yema	3	17.4667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Escobeta - J.D.	*	-8.80333	2.41723
Escobeta - Oreja		0.366667	2.41723
Escobeta - Venado	*	-12.0	2.41723
Escobeta - Xocoyotl		-2.12333	2.41723
Escobeta - Yema	*	-14.21	2.41723
J.D. - Oreja	*	9.17	2.41723
J.D. - Venado	*	-3.19667	2.41723
J.D. - Xocoyotl	*	6.68	2.41723
J.D. - Yema	*	-5.40667	2.41723
Oreja - Venado	*	-12.3667	2.41723
Oreja - Xocoyotl	*	-2.49	2.41723
Oreja - Yema	*	-14.5767	2.41723
Venado - Xocoyotl	*	9.87667	2.41723
Venado - Yema		-2.21	2.41723
Xocoyotl - Yema	*	-12.0867	2.41723

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 12 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.