



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Pleurotus djamor*
CULTIVADO EN SEIS COMBINACIONES DE SUSTRATO.**

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
CARDONA PÉREZ DIANA MODESTA**

**DIRECTORA: DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ
CODIRECTORA: M. en C. MA. DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA**

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE, 2021

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a mi madre quien a pesar de estar muy lejos de mí, siempre tengo su apoyo incondicional y también se la dedico a mi familia la cual he formado al lado de mi esposo Daniel Portugal Franco y mi hija Beleth Seri Portugal Cardona que cuando crezca quiero que está orgullosa de mi y ser un buen ejemplo para ella, los cuales son mi motivación para seguir adelante.

Y para mis abuelitas Margarita Gutiérrez y Juana Lara Cardona las mujeres que tanto quiero y respeto por ser valientes en la forma de afrontar la vida, las cuales fueron quienes me guiaron, cuidaron y me dieron todo su amor incondicional.

Agradecimientos

Quiero agradecer primeramente a dios por permitirme llegar hasta estos momentos de mi vida. Agradezco a mis padres quienes siempre me han apoyado al seguir estudiando, sobre todo a mi madre quien ha estado ahí siempre ahí para mí. Agradezco a mi esposo quien siempre me apoyo incondicionalmente a que cumpliera esta meta tan importante para mí de graduarme como licenciada en biología, gracias por tu amor, cariño y comprensión.

A mi directora de tesis Doctora Maura Téllez Téllez por confiar en mí dándome este trabajo de tesis y apoyarme en todo momento que lo necesite, gracias por sus grandes consejos y enseñanzas gracias a usted este trabajo pudo desarrollarse con éxito obteniendo buenos resultados.

A mi codirectora de tesis M. en C. Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta, gracias por su apoyo, confianza y por sus enseñanzas al realizar este proyecto el cual fue un excelente trabajo y parte del desarrollo se lo debo a usted muchas gracias.

A mis sinodales: Dra. Elva Cristina Villegas Villareal, Dra. Rosa Emilia Pérez Pérez, Biol. Rita Barreto González y Biol. Néstor Irai Bautista García, gracias por todo el tiempo invertido, por sus sugerencias y correcciones, gracias a sus comentarios en este trabajo los cuales fueron muy importantes para que este trabajo se realizara con éxito.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio Alma Rosa, Benjamín y Reyes, quienes me ayudaron mucho apoyándome y ayudándome en el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros y amigos de la licenciatura Lizeth, Marta, Luz, Daniel y Paola, gracias por todos los momentos compartidos, gracias por su amistad.

Les agradezco a todos por creer y confiar en mí, por su gran aporte a este trabajo, gracias a ustedes este trabajo se ha realizado con mucho éxito, les agradezco.

CONTENIDO	
	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	i.
ÍNDICE DE TABLAS	ii
RESUMEN	iii
1.Introducción	1
2. Marco teórico	2
2.1 Radical libre	2
2.2 Estrés oxidativo	2
2.2.3 Carbohidratos	2
2.2.4 Lípidos	3
2.2.5 Proteínas	3
2.2.6 Acido desoxirribonucleico	3
2.3 Antioxidantes	3
2.4 Sistemas de defensa antioxidante	4
2.5 Tipos de antioxidante	4
2.5.1 Antioxidantes naturales	4
2.5.2 Antioxidantes sintéticos	4
2.6 Clasificación de antioxidantes	5
2.6.1 Antioxidantes enzimáticos	6
2.6.2 Antioxidantes no enzimáticos	6
2.7 Técnicas para la determinación de actividad antioxidante	11
2.7.1 Determinación directa	12
2.8 Técnica para la determinación de polifenoles totales	12
2.9 Los hongos como antioxidante	12
2.10 Género <i>Pleurotus</i> (Fr.) P. Kumm	13
2.11 Clasificación taxonómica de <i>Pleurotus djamor</i> Karel Boedijin 1959	15
2.12 Distribución geográfica de <i>Pleurotus djamor</i> Karel Boedijin 1959	15
2.13 Descripción de <i>Pleurotus djamor</i> Karel Boedijin 1959	15
2.14 Ciclo biológico de <i>Pleurotus djamor</i> Karel Boedijin 1959	16
3. Antecedentes	17
4. Justificación	20
5. Objetivos	20
5.1 Objetivo general	20
5.2 Objetivos específicos	20
6. Pregunta de investigación	20
7. Materiales y métodos	21
7.1 Material biológico	22
7.2 Cultivo en cajas Petri	22
7.2.1 Preparación de medios de cultivo	22
7.2.2 Características morfológicas a evaluar de la cepa HEMIM-137	22
7.2.3 Características a evaluar	22
7.2.4 Preparación de extractos miceliales	22
7.3 Preparación de semilla o inóculo	23
7.4 Preparación de sustratos	23
7.5 Patrón de producción	23
7.5.1 Parámetros evaluados en el área de fructificación	23
7.6 Deshidratación y fructificación de los cuerpos fructíferos	23
7.6.1 Obtención de extractos	23
7.7 Cuantificación de polifenoles totales	24
7.8 Evaluación de actividad antioxidante	24

7.8.1 Método 2,2-difenil-1-picrihidracilo (DPPH)	24
7.8.2 Método 2,2'-bis-azinoacido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)	24
8. Análisis estadístico	
9. Resultados y discusión	28
9.1 Parámetros evaluados en cajas Petri	28
9.1.2 Características morfológicas	28
9.2 Velocidad de crecimiento	29
9.2.1 Patrón de producción	30
9.2.2 Parámetros evaluados en el área de incubación y fructificación	31
9.2.3 Eficiencia biológica, tasa de producción y ciclo de cultivo	32
9.3 Cuantificación de polifenoles totales	33
9.4 Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de cuerpos fructíferos frescos	33
9.4.1 Método 2,2-difenil-1-picrihidracilo (DPPH)	35
9.4.2 Método 2,2'-bis-azinoacido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)	37
10. Conclusión	41
11. Referencias	42

Índice de figuras

Figura		Página
1	Estructura molecular del ácido ascórbico	7
2	Estructura química de los tocoferoles y tocotrienoles	7
3	Estructura química de glutatión reducido y oxidado	8
4	Características de la melatotina y cómo actúa directamente sobre los radicales libres	9
5	Estructura química de los carotenoides	10
6	Cuerpo fructífero de <i>Pleurotus djamor</i>	16
7	Ciclo biológico de <i>Pleurotus</i> (Fr.) P. Kumm	17
8	Diagrama de la metodología	21
9	Elaboración de extracto del micelio	23
10	Semilla en incubación	24
11	Bolsas de sustratos inoculados	24
12	Cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus djamor</i> deshidratados	25
13	Extractos temperatura ambiente y térmicos de <i>Pleurotus djamor</i>	26
14	Características morfológicas del micelio de <i>Pleurotus djamor</i>	29
15	Velocidad de crecimiento de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) en los diferentes medios de cultivo.	30
16	Características ambientales (temperatura y humedad relativa) durante el periodo de fructificación	31
17	Cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus djamor</i> crecidos sobre diferentes combinaciones	31
18	Esporas de <i>Pleurotus djamor</i> crecido sobre diferentes combinaciones	32
19	Contenido de polifenoles totales de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) de extractos a temperatura ambiente	34
20	Contenido de polifenoles totales de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) de extractos térmicos	34
21	Porcentaje de inhibición del radicar ABTS de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) de extractos a temperatura ambiente	36
22	Porcentaje de inhibición del radicar ABTS de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) de extractos térmicos	36
23	Porcentaje de inhibición del radical DPPH de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) de extractos a temperatura ambiente	38
19	Porcentaje de inhibición del radical DPPH de <i>Pleurotus djamor</i> (HEMIM-137) de extractos térmicos	38

Índice de tablas

Tabla		Página
1	Principales familias de los compuestos fenólicos	11
2	Propiedades funcionales en especies comestibles de <i>Pleurotus</i>	14
3	Tratamientos utilizados para crecimiento de <i>Pleurotus djamor</i>	22
4	Características morfológicas a nivel micelial de la cepa (HEMIM-137)	28
5	Parámetros de producción de <i>Pleurotus djamor</i> en las combinaciones diferentes	32
6	Composición de algunos sustratos	41

RESUMEN

En el organismo se producen radicales libres (moléculas que tienen un electrón desapareado en su orbital más externo) debido a la mala alimentación y el estilo de vida, los cuales provocan estrés oxidativo provocando un desequilibrio en el organismo e incidiendo en enfermedades crónico-degenerativas, a pesar de que los organismos han diseñado estrategias para defenderse de los radicales libres, en ocasiones no es suficiente. Por lo que, es importante contrarrestar estos efectos con la ingesta dietética de antioxidantes externos, actualmente existen varios productos naturales, que pueden ser consumidos como fuente de antioxidantes naturales, entre los cuales están los hongos comestibles silvestres o cultivados. Los hongos son una fuente importante de moléculas bioactivas, que presentan propiedades antioxidantes, entre dichas moléculas están: polifenoles, polisacáridos, vitaminas, carotenoides y minerales. El género *Pleurotus* es uno de los principales hongos cultivados y consumidos a nivel mundial, y se la han atribuido ser una fuente de antioxidantes. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante de la fase micelial y cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* (Boedijn 1959) crecido sobre diferentes sustratos. La combinación que presentó una mayor velocidad de crecimiento fue el PDA y paja de avena (0.241 mm/h). La mayor eficiencia biológica (77%) fue en la mezcla de 50% de paja avena 50% hoja de maíz. El contenido de polifenoles totales, el extracto que se presentó mayor cantidad fue en el extracto de P/cascarilla de cacahuete de cuerpos fructíferos frescos de extractos a temperatura ambiente y térmicos. Con respecto a la actividad antioxidante utilizando el radical ABTS de extractos a temperatura ambiente se obtuvo que los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos secos presentaron mayor porcentaje de inhibición presentaron cantidades de 74.34 a 98.43 %, seguido de los extractos de cuerpos fructíferos frescos (32.61 a 66.88 %) y por últimos los extractos obtenidos de micelio presentando los porcentajes más bajos de inhibición con 5.37 a 43.44 %. Mientras que para los extractos térmicos se obtuvo que nuevamente los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos secos presentaron mayor porcentaje de inhibición hacia al radical (58.62 a 93.95 %), seguido de los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos frescos (22.02 a 44.55 %) y los más bajos fueron los extractos de micelio (21.23 a 41 %). Para el método DPPH de extractos a temperatura ambiente se obtuvo que las muestras secas mostraron una mayor actividad de eliminación de radicales DPPH (29.37-44.53 %), seguido de los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos frescos (11.44-23.145) y por último los extractos obtenidos de micelio (0.50-3.06 %). Mientras que para los extractos térmicos nuevamente se obtuvo mayor porcentaje de inhibición en extractos de cuerpos fructíferos secos (34.4 a 65.74 %), seguido de los extractos de cuerpos fructíferos frescos (8.24 a 21.79%) y micelio en donde se muestra que siguen teniendo muy bajo porcentaje de inhibición de (0.25 a 4.74 %). Estos resultados sugieren que en los cuerpos fructíferos secos de *Pleurotus djamor* presentan un mayor porcentaje de inhibición hacia los radicales, por lo cual son una alternativa para la obtención y utilización como antioxidante natural.

1. INTRODUCCIÓN

Cada vez existe más evidencias del daño causado por el estrés oxidativo, que se genera por el exceso de radicales libres en el organismo, que puede provocar diversas enfermedades crónicas, como el cáncer, cardiovasculares, Parkinson, entre otras (Díaz 2001). Por lo cual, es importante buscar fuentes alternativas de antioxidantes naturales para contrarrestar los efectos producidos por los radicales libres, entre los que podrían ser los hongos comestibles del género *Pleurotus*, que está representado varias especies de hongos, entre los que se encuentra *Pleurotus djamor* (Boedijin 1959) al cual, se le ha atribuido propiedades antioxidantes, además esta reportado el efecto que tienen los factores abióticos sobre las características de los organismos, se ha reportado que la composición química varía dependiendo del tipo nutrientes. Actualmente, en México existe un gran interés por el conocimiento de los aportes nutrimentales y medicinales que proporcionan los hongos comestibles. En países como China, Japón y Estados Unidos han mostrado gran interés por el desarrollo de nuevos productos elaborados con extractos o micelio de estos organismos, ya que se ha reportado que los hongos presentan compuestos bioactivos que son beneficiosos para la salud humana (Barrandas 2010). Por ello, los hongos son considerados como alimento funcional y fuente de sustancias biológicas útiles, especialmente el género *Pleurotus*, son reconocidos como excelentes antioxidantes debido a la capacidad de contrarrestar efectos causados por el estrés oxidativo (Kozarski et al. 2015), *Pleurotus* es un género de hongos ampliamente distribuido a nivel mundial e incluye especies comestibles de alto valor económico en muchos países, debido a la presencia de vitaminas, minerales, fibra dietética, beta glucanos, y compuestos con actividad antioxidante e hipocolesterolémico, por lo que, los hongos pertenecientes a este género pueden ser utilizados en la industria farmacéutica, alimentaria y en la medicina alternativa. Una especie en particular menos cultivada y conocida, es *Pleurotus djamor* conocida como seta rosa, seta salmón o seta del amor (Sierra et al. 2002), es capaz de desarrollarse a temperaturas cálidas de 28° C, se cultiva comercialmente en diversas regiones. El mencionado hongo ha sido estudiado principalmente con fines experimentales ya que se ha reportado que presenta propiedades nutraceuticas y biodegradativas. *Pleurotus djamor* presenta enzimas ligninocelulíticas que le permiten crecer en gran variedad de materiales agrícolas y forestales, esta especie es importante por presentar características nutrimentales y funcionales, son ricos en carbohidratos (32.7 a 48.3 %) en base seca, proteína (20.7 a 28%), fibra (9.1 a 22.4 %) y baja cantidad de grasas (0.11 a 2.09 %) (Salmones 2017), por lo que, en el presente trabajo se realizó el cultivo de *Pleurotus djamor* con diferentes tipos de sustratos de naturaleza lignocelulósica y se analizó si existe algún efecto sobre el contenido de antioxidantes.

2. MARCO TEÓRICO

El estilo de vida y la mala alimentación inadecuada moderna es alguna de las razones clave de la creciente incidencia de enfermedades en todo el mundo, debido a que conllevan a una gran variedad de trastornos asociadas al estrés oxidativo y a la generación de radicales libres.

2.1 Radical Libre

Desde el punto de vista químico los radicales libres también conocidos por especies reactivas de oxígeno (ROS) son átomos o moléculas que presentan uno o más electrones desapareados en su última orbita, estos son de gran inestabilidad y muy reactivos debido a que tienden a captar un electrón de moléculas estables y alcanzar su estabilidad. Una vez que el radical libre roba un electrón de una molécula estable, esta se convierte en un radical libre iniciándose así una reacción en cadena que destruye a las células. La vida media de un radical libre es de microsegundos, pero tiene la habilidad de reaccionar con todo lo que se encuentra alrededor provocando un gran daño a las moléculas y esto conlleva al estrés oxidativo (Zorrilla 2004).

2.2 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es el estado que debe existir entre la generación de moléculas conocidas como radicales libres oxidantes y los mecanismos encargados de eliminar dichas especies, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno, pueden alterar la función del organismo y provocar diversas enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer (Díaz 2002). Estos radicales libres son originados por la existencia de factores exógenos, como la radiación solar, toxinas fúngicas, pesticidas, contaminación atmosférica, humo de cigarros, mala alimentación entre otros, los cuales pueden incrementar el nivel de especies reactivas de oxígeno en el organismo (Avello y Suwalsky 2006).

Pero los radicales libres no solo obtienen de forma externa, si no también se producen mediante procesos celulares, entre los que se destaca la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones y en los cloroplastos, por lo que producen daño celular (oxidativo) al interactuar con las principales biomoléculas del organismo como son carbohidratos, proteínas, lípidos, nucleótidos y ADN.

2.2.3 Carbohidratos

Los carbohidratos son dañados por los radicales libres en menor proporción, dañan principalmente a azúcares como glucosa, manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con los radicales y producir sustancias reactivas, asimismo los polisacáridos pueden sufrir el ataque de los radicales libres y presentar una fragmentación en unidades

más sencillas como el caso de la despolimerización del ácido hialurónico (Quintanar y Calderón 2009).

2.2.4 Lípidos

En los lípidos se produce un daño mayor en un proceso que es conocido como peroxidación lipídica en donde afecta principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce muerte celular. La peroxidación lipídica representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno debido a que los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree que son importantes para su normal funcionamiento, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno (Venéreo 2002).

2.2.5 Proteínas

La oxidación de proteínas en la mayoría de los casos estos procesos pueden ser de extrema importancia debido a que presentan una alta dificultad de reparación de estas, por lo que una proteína oxidada puede perder su función en especial si las oxidaciones toman lugar en aminoácidos directamente involucrados con el correcto plegamiento tridimensional del péptido, o bien, si tienen papeles en las interacciones proteína-sustrato-producto, en el caso de enzimas y la pérdida de la función de las proteínas ya sea estructural o enzimática tiene como consecuencia un desequilibrio en el metabolismo celular (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández 2006).

2.2.6 Ácido desoxirribonucleico (ADN)

El exceso de radicales libres pueden dañar al ADN generando diversas mutaciones y carcinogénesis, en el caso de las mutaciones se pueden dar por varias razones como por una pérdida de síntesis de una proteína por daños a los genes que son específicos, modificaciones oxidativas que ocurren en las bases, fragmentaciones, interacciones estables de ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activen o inactiven genes. Mientras que para la carcinogénesis se pueden dar por la alteración (inactivación/perdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión o ambas de padecer cáncer (Díaz 2002). Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en nuestro cuerpo, pero para evitar que estos dañen a moléculas importantes para el buen funcionamiento del organismo este proceso debe ser controlado con una adecuada protección de antioxidantes.

2.3 Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia que puede prevenir, retrasar o anular la oxidación en el organismo causadas por los efectos nocivos de los radicales libres, esta relación se realiza mediante la reducción del agente oxidante, por ello los antioxidantes deben tener

una estructura química que permita la donación o la deslocalización de electrones y actuar de diferentes maneras para disminuir la concentración de oxidantes evitando la iniciación de la reacción en cadena de radicales libres (cubrir o detener una reactividad química muy alta) y deteniendo la propagación o neutralizar los efectos del aumento de radicales libres (Coronado et al. 2015).

2.4 Sistemas de defensa antioxidante

Los humanos presentamos un sistema de defensa antioxidante que está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas que se encuentran en las células vivas, como son proteínas, lípidos, carbohidratos y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres que con el resto de las moléculas presentes. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular ya que el antioxidante actúa donando electrones a los radicales libres para evitar alteraciones de moléculas importantes para el organismo como son los lípidos, proteínas, ADN, etc., que pueden actuar como eliminadoras con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante (Díaz 2002).

2.5 Tipos de antioxidantes

Existen dos tipos de antioxidantes que son los naturales y sintéticos.

2.5.1 Antioxidantes sintéticos

Los antioxidantes sintéticos son los más utilizados por la industria alimenticia debido a que son sustancias utilizadas en la conservación de los alimentos, provocando el retardo del deterioro y decoloración que resultan de la oxidación. Dentro de los antioxidantes sintéticos se encuentra el butilhidroxianisol (BHA), y el butilhidroxitolueno (BHT) son los antioxidantes sintéticos de mayor uso en la industria de alimentos y farmacéutica, sin embargo, se han encontrado efectos secundarios, como el aumento del colesterol, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, entre otras. Debido a esto, y a la creciente importancia de los antioxidantes en la industria farmacéutica y alimenticia es necesaria la búsqueda de moléculas alternativas de origen natural con gran actividad y que no tengan efectos citotóxicos (Gaviria et al. 2009).

2.5.2 Antioxidantes naturales

Los antioxidantes naturales son de origen vegetal principalmente y estos productos naturales con actividad antioxidante pueden ayudar al sistema de defensa endógeno. Por lo que los antioxidantes presentes en la dieta asumen una gran importancia como posibles agentes protectores que reducen el daño oxidativo. Los antioxidantes naturales ya han sido aislados de diferentes tipos de materiales vegetales como semillas

oleaginosas, cultivos de cereales, verduras, frutas, hojas, raíces, especias y hierbas. Los estudios epidemiológicos tienen demostrado que una alta ingesta dietética de frutas y verduras es fuertemente asociada con la reducción del riesgo de desarrollar enfermedades crónicas, como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Ferreira et al. 2009).

2.6 Clasificación de antioxidantes

Las células presentan mecanismos de protección de manera que los radicales libres pueden ser transformados a productos menos tóxicos o no tóxicos. La protección de las células contra los radicales libres comprende no solo la captura de estos intermediarios agresivos, sino también la prevención de su formación, la inhibición de su propagación y la reparación de las lesiones, por lo cual, los antioxidantes han sido la línea de defensa contra estos radicales libres y han sido clasificados de diferentes maneras, las cuales las más utilizadas establecen diferencias de acuerdo a la estructura química y la función biológica, dividiéndolos en enzimáticos (endógenos) y no enzimáticos (exógenos) (Hicks 2006).

2.6.1 Antioxidantes enzimáticos (endógenos)

Las enzimas antioxidantes o endógenas, están basados en un complejo enzimático de defensa que nuestro cuerpo los produce, previenen la formación de radicales libres convirtiéndolos en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas, sin embargo, de estos factores enzimáticos antioxidantes es importante destacar a ciertos oligoelementos cuya incorporación al organismo es necesaria por constituir parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes. Estos oligoelementos son: cobre, zinc, selenio, magnesio, es decir algunos de estos antioxidantes para que se produzcan en el organismo es necesario la presencia de los oligoelementos ya mencionados (Velázquez et al. 2004). Algunos ejemplos de los antioxidantes enzimáticos que podemos encontrar son:

- *Superóxido dismutasa*

Enzima intracelular o extracelular responsable de remover los radicales libres superóxidos en moléculas de oxígeno y peróxido de hidrógeno. Necesita la presencia de zinc, cobre, magnesio, hierro y manganeso (Velázquez et al. 2004).

- *Catalasa (CAT)*

Esta enzima tiene una amplia distribución en el organismo humano, una alta concentración en hígado, riñón y baja concentración en tejido conectivo como epitelios, nula en tejido nervioso y se localiza a nivel celular en mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos). La catalasa presenta dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa, la cual forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno (radicales libres) (Díaz 2002).

- *Glutación peroxidasa*

El metabolismo del glutatión es uno de los mecanismos de defensa antioxidante más importante presente en las células. Existen dos isoformas de esta enzima, una que depende del selenio (GPX) y otra que es independiente (GST). Sus propiedades antioxidantes permiten la eliminación de los peróxidos, que son una base potencias para las reacciones que producen los radicales libres. La deficiencia del selenio lleva a una disminución de la enzima selenio-dependiente, lo que provoca trastornos a nivel del musculo cardiaco, el esqueleto y el sistema circulatorio (Puzanowska et al. 2009).

2.6.2 Antioxidantes no enzimáticos (exógenos)

Los antioxidantes no enzimáticos (exógenos) son los que ingresan a través de la alimentación y son muy útiles cuando el sistema endógeno de antioxidantes se satura y es necesario que los antioxidantes exógenos actúen logrando retrasar la producción de los radicales libres por diferentes acciones una de ellas es capturar a los radicales libres evitando la reacción en cadena, pueden secuestrar radicales libres y desactivarlos, reponen hidrogeno a los antioxidantes enzimáticos y actúan como eliminadores de oxigeno (Avello y Suwalsky 2006), y dentro de este grupo se incluye a:

- *Vitamina C (ácido ascórbico)*

El ácido ascórbico (2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lactone-2,3-enediol) es una lactona de seis carbonos del ácido 2-ceto-L-glucónico, que tiene relación estructural con la glucosa y otras hexosas, posee una agrupación endiol (dos grupos hidroxilo en los extremos de un doble enlace C2 y C3) y actúa, al igual que todos los endioles, como reductor energético. Como posee dos carbonos asimétricos (C4 y C5) son posibles dos pares de isómeros ópticamente activos (Figura 1). La vitamina C como antioxidante es un poderoso inhibidor de la oxidación de lípidos trabaja conjuntamente con la vitamina E, coenzima Q y el betacaroteno (pro-vitamina A) protegiendo al organismo de los efectos del tabaco evitando la generación de los radicales libres. Cuando las tres están presentes su actividad antioxidante se complementa y es mayor que cuando lo hacen por separado. Al neutralizar los radicales libres se cree que contribuyen en disminuir el proceso de envejecimiento y degeneración de células. La forma oxidada del ácido dehidroascórbico, carece de poder antioxidante, pero mantiene su propiedad antiescorbuto (Xamma y Donnamaría 2006).

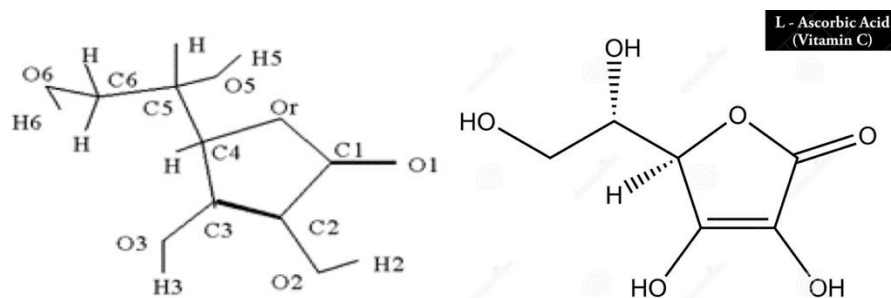


Figura 1. Estructura molecular del ácido ascórbico (Xammar y Donnamaría 2006).

- Vitamina E (tocoferol)

La vitamina E está formada por un grupo de 8 vitámeros. Su estructura consta de 2 partes primarias: un anillo complejo cromano y una larga cadena lateral. Estos 8 vitámeros se dividen en 2 grupos fundamentales: 4 tocoferoles y 4 tocotrienoles que se diferencian en la saturación de la cadena lateral; los tocoferoles tienen una cadena saturada y los tocotrienoles una insaturada con 3 dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11 (Figura 2a). Dentro de cada grupo, los vitámeros difieren en el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromano, designándose como α , β , γ y δ (Figura 2b). Es el principal antioxidante soluble en lípidos, previene la oxidación en grasas y aumenta su acción en presencia de zinc. Esta vitamina presenta ocho isoformas distintas, en los humanos el α -tocoferol es la isoforma más activa, siendo un poderoso antioxidante ligado a la membrana celular (Velázquez et al. 2004).

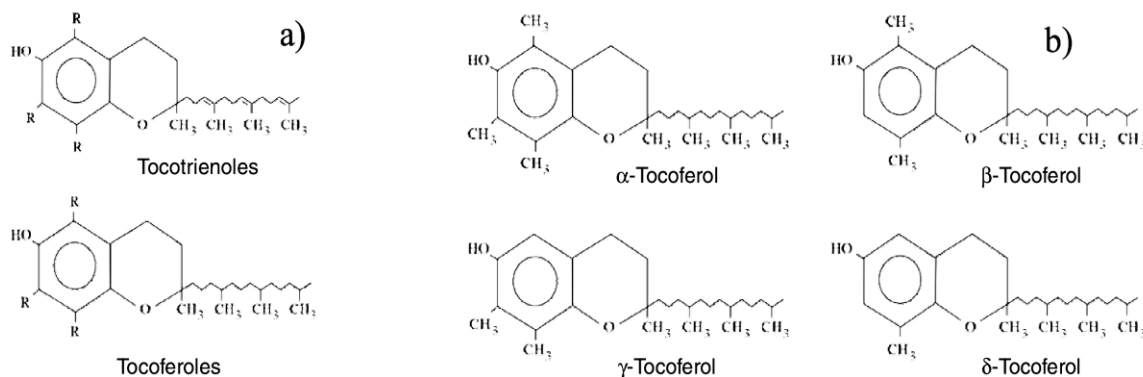


Figura 2. Estructura química de los tocoferoles y tocotrienoles (a) y estructura química de los tocoferoles (b) (Sayago et al. 2007).

- Glutación

El glutatión o GSH (L- γ -glutamil-cisteinil-glicina) es el tiol intracelular no proteico más abundante, tanto en eucariotas como procariotas e interviene en la regulación de numerosas rutas celulares. La oxidación del GSH para formar GSSG se produce por la interacción con radicales libres (debido a la presencia del enzima glutatión reductasa,

GR) o en mayor medida cuando el GSH actúa como cofactor para las GSH-peroxidasas, enzimas que se encargan de la detoxificación de los peróxidos generados en las membranas celulares, el GSSG está formado por unión de dos moléculas de GSH mediante un puente disulfuro entre las cisteínas (Figura 3). El glutatión se encuentra en concentraciones promedio de 12 Mm, en células de mamíferos. Presenta 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. Durante la detoxificación de los radicales libres el glutatión está involucrado en dos tipos de reacciones: la interacción no enzimática con radicales como el anión superóxido, óxido nítrico y radical hidroxilo, otra forma es proporcionando un electrón para la reducción de peróxidos en la reacción catalizada (Martínez-Sámano et al. 2011).

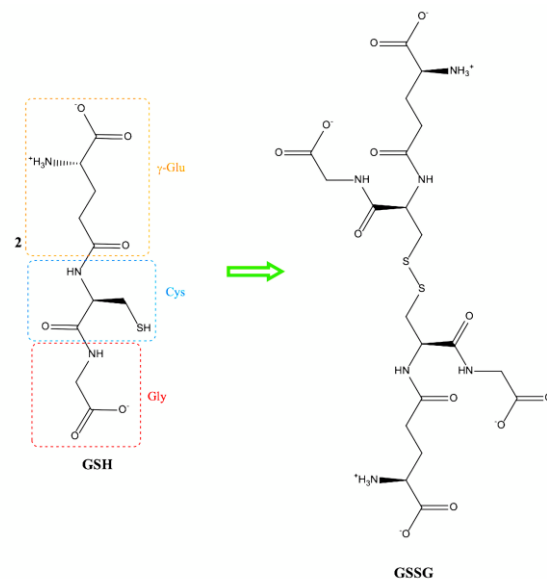


Figura 3. Estructura química del glutatión reducido y oxidado (Tormo et al. 2014).

- *Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina)*

Es una neurohormona endógena, se sabe que esta indolamina es el principal producto secretado por la glándula pineal en mamíferos, incluyendo el hombre tiene muchas funciones biológicas, pero, existe la función de la melatonina que es independiente de cualquier receptor o sitio de unión, y es la eficacia, de forma directa como removedor de radicales libres, e indirecta estimulando enzimas antioxidantes (Figura 4), favorece la síntesis de glutatión (un antioxidante intracelular esencial), lo que permite proteger las enzimas antioxidativas del daño oxidativo y su capacidad para incrementar la eficiencia de la cadena de transporte electrónico mitocondrial, lo que reduce la fuga de electrones y la generación de radicales libres (Velázquez et al. 2004; Romero et al. 2008).

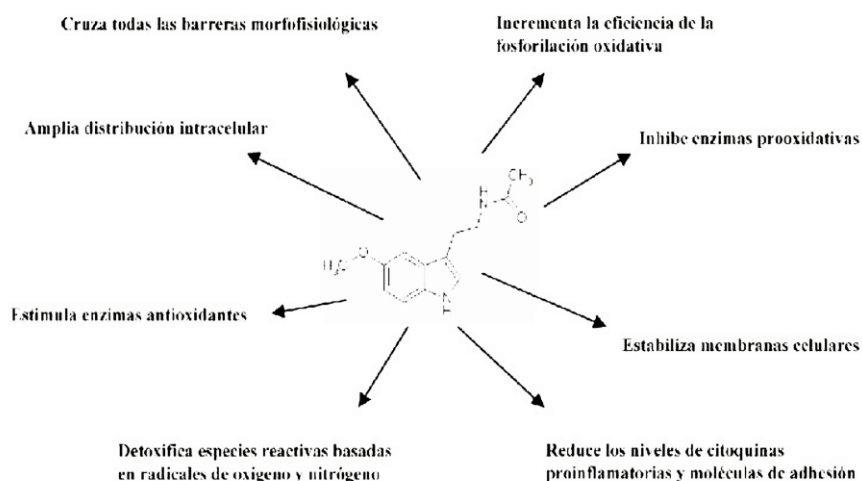


Figura 4. Características de la melatonina y como actúa directamente sobre los radicales libres (Romero et al. 2008).

- Zinc

La deficiencia de Zn ha sido asociada con altos niveles de daño oxidativo en tejidos que incluyen la oxidación a lípidos, proteínas y DNA. Pero el zinc posee la función de defensa antioxidante, debido a que el zinc actúa como protección para las proteínas, reparación de ADN y previene el ataque de radicales libres (Román et al. 2016).

- Carotenoides

Los carotenoides son tetraterpenoides que se encuentran en la naturaleza como pigmentos naturales liposolubles de numerosas frutas y verduras, los carotenoides están presentes en mayor cantidad en nuestra dieta son el β -caroteno, el licopeno, la luteína, la zeaxantina y la astaxantina, estos se caracterizan por poseer una larga cadena poliisoprénica y el consumo de una dieta rica en carotenoides se ha correlacionado con un menor riesgo de desarrollar varias enfermedades relacionadas con la edad. Los carotenoides contienen dobles enlaces conjugados, y su acción antioxidante se debe a su capacidad para deslocalizar los electrones desapareados (Vítale et al. 2010). Los β -carotenos y el licopeno son algunos de los carotenoides más importantes, además desactivan moléculas como el O_2 . Los β -carotenos disminuyen la tasa de formación de hidroperóxidos de linoleato de metilo y parecen poseer propiedades anticancerígenas (Torno et al. 2014).

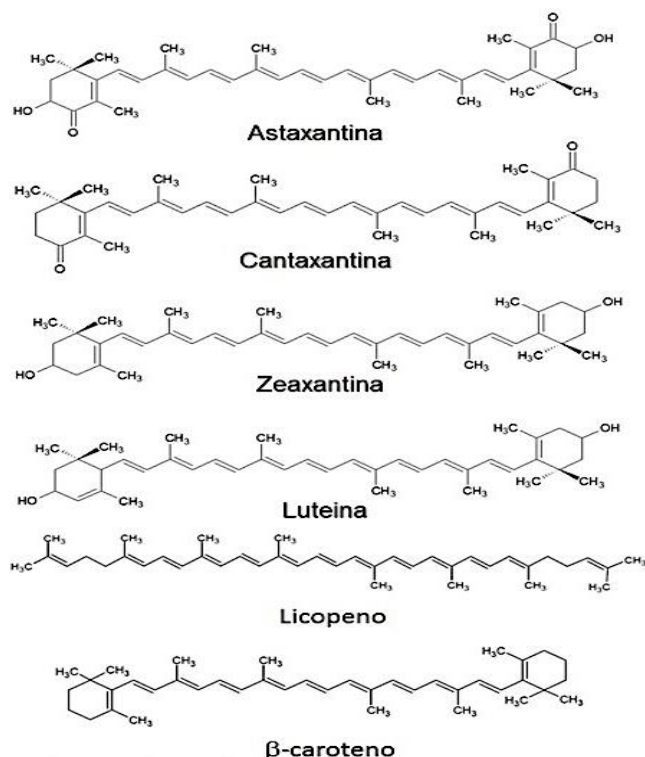


Figura 5. Estructura química de los carotenoides (Torno et al. 2014).

- Polifenoles

Los polifenoles pueden definirse como compuestos fenólicos, solubles en agua, que tienen masas moleculares entre 500 y 4000 Da, que poseen de 12 a 16 grupos fenol y entre 5 y 7 anillos aromáticos por cada 1000 Da de masa molecular relativa y que además de las reacciones típicas de los fenoles, tienen la capacidad de precipitar con alcaloides, gelatina y otras proteínas. Bajo esta definición, los taninos quedan comprendidos en el grupo de los polifenoles, pero no todos los polifenoles son taninos. Poseen características antioxidantes, propiedades quelantes y están asociados a la prevención de enfermedades crónicas producidas por los radicales libres, en los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares. Dentro de los polifenoles los principales grupos que se pueden encontrar son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Tabla 1.; Quiñones et al. 2012).

Tabla 1. Principales familias de los compuestos fenólicos

Estructura	Familia
C6	Fenoles simples
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Ácidos fenilacéticos y acetofenonas
C6-C3	Cumarinas y ácidos hidroxicinámicos
(C6-C3) ₂	Ligninas
(C6-C3) _n	Lignanós
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos y antraquinonas
C6-C2-C6	Flavonoides
(C6-C3-C6) _n	Taninos condensados
(C6-C1) _n	Taninos hidrolizables

2.7 Técnicas para la determinación de la actividad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante es importante para predecir el potencial antioxidante *in vitro* de un alimento nos permite determinar la protección frente a la oxidación y el deterioro del alimento que disminuye su calidad y valor nutricional. Los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en distintos sistemas generadores de radicales libres. Dichos radicales reaccionan con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de esta se inhibiría la generación de los radicales libres. Así, lo que se determina realmente es el efecto antioxidante ya que la actividad antioxidante no se puede medir de forma directa. Lo ideal sería medir la actividad antioxidante de cada componente de la muestra por separado, sin embargo, en el caso de muestras naturales, es muy difícil determinar el número y concentración de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra (Agudo 2010).

En la actualidad, debido a la complejidad de los procesos de oxidación, no existe un método que refleje de forma completa el perfil antioxidante de una muestra, por tanto, es bueno trabajar con varios métodos para facilitar la comparación e interpretación de los resultados, las características ideales que debe reunir un método de determinación de capacidad antioxidante son: sencillez, mecanismo químico definido y punto final fijo, reproducibilidad, adaptabilidad a sustancias antioxidantes hidrofílicas y lipofílicas y elevado rendimiento de análisis, por lo que los métodos de la determinación de actividad antioxidante son más utilizados los de la determinación directa (Sánchez 2002).

2.7.1 Determinación directa

El radical se emplea como un factor de cuantificación por lo tanto la adición del antioxidante antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical, las reacciones comienzan cuando se utilizan oxidantes como ABTS y DPPH, los cuales actúan como radicales libres artificiales (Agudo 2010).

- **Método ABTS (Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico)**

El radical ABTS se genera a partir de su precursor el ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) la solución del radical obtenido es de color verde-azulado estable y con un espectro de absorción en UV-visible. Es un radical libre artificial el cual, puede reducir su composición por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS, los cuales los compuestos fenólicos más bajos pueden reaccionar con el radical, así pues, el punto final de la reacción lo determina la sustancia antioxidante utilizada (Ronald et al. 2005).

- **Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)**

El método DPPH es un compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, es un polvo de color oscuro cristalina compuesta de radicales libres estables, el cual mide la captura de radicales libres en presencia de una sustancia antioxidante, midiendo el potencial de señalización de dicho radical en medio acuoso (Jiménez et al. 2012).

2.8 Técnica para la determinación de polifenoles totales

- **Método Folin-Ciocalteu**

La medida del contenido de fenoles totales se realiza utilizando el método de Folin–Ciocalteu que determina la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Mo(VI) a Mo (V), como resultado de tal reacción. El reactivo de Folin Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando fosmolibdico-fosfotungstico, este reactivo es de color amarillo, pero actuando adquiere un intenso color azul que se mide con el espectrofotómetro (Agudo 2010).

2.9 Los hongos como antioxidantes

En los últimos años, los hongos comestibles han llamado la atención como una fuente comercial de antioxidantes debido a que se pueden usar directamente en la mejora de las defensas antioxidantes a través de suplementos dietéticos para reducir el nivel de estrés oxidativo. Existe una gran cantidad de evidencia para respaldar la efectividad de dicha estrategia *in vitro*. Los hongos comestibles incluyen muchas especies de hongos que se cosechan de forma silvestre o se cultivan, a menudo estos están disponibles en

los mercados. El valor nutritivo de los hongos se ha conocido y reconocido rápidamente no solo por los investigadores y agricultores, sino también por los consumidores en general, además de su buen sabor, los hongos poseen una composición química favorable con altas cantidades de proteínas funcionales, un bajo nivel de grasa total y una alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados, lo que los hace muy adecuados para dietas bajas en calorías. Los hongos comestibles proporcionan un contenido nutricionalmente significativo de vitaminas (B1, B2, B12, C, D y E). Además, tienen un índice glucémico bajo y manitol alto, que es especialmente beneficioso para los diabéticos, presentan una concentración de sodio (Na) muy baja, que es beneficiosa para los pacientes hipertensos y un alto contenido de potasio (K) y fósforo (P).

En Asia, los hongos se utilizan como una fuente importante de remedios tradicionales contra diversas enfermedades provocadas por el estrés oxidativo, pero no existe una distinción fácil entre hongos comestibles y medicinales porque muchas de las especies comestibles comunes presentan propiedades terapéuticas, además de las propiedades antioxidantes. Los hongos han recibido una atención considerable por sus actividades biológicas, como las actividades antitumorales, antiviral, anticomplementaria, anticoagulante, antidiabética, hipolipidémica, hepatoprotectora, inmunoestimulante e inmunológica, lo que los hace adecuados para su uso en alimentos, cosméticos, biomedicina y la agricultura (Kozarski et al. 2015).

2.10 Género *Pleurotus*

El género *Pleurotus* pertenece a la división *Basidiomycota*, comprende especies comestibles de excelente gusto y sabor, generalmente estos hongos son de color blanco, amarillento o rosado, a veces grisáceo o de color oscuro, a los hongos de este género reciben nombres como hongo seta, hongos ostra, orejas blancas, orejas de palo, orejas de patancán, orejas de cazahuatle y orejas de izote. Estas especies poseen cuerpos fructíferos (carpóforos) con forma redondeada y abombada que se ensancha, el píleo es poco convexo y se aplana hasta presentar forma de concha de ostra, con textura lisa, el estípite de los carpóforos es lateral y corto, las laminillas pueden estar o no unidas entre sí en su base. El tamaño depende de la especie, edad y condiciones de cultivo, pueden medir desde 5 a 20 cm. Crecen formando repisas o racimos naturales, poseen consistencia blanda, correosa con aroma y sabores agradables (Oropeza 2017). Hasta ahora se han registrado aproximadamente 70 especies del género *Pleurotus* y se siguen descubriendo nuevas especies, sin embargo, al menos 12 especies han sido cultivadas, entre las que destaca *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii* y *P. djamor* son las de mayor importancia comercial, pero en los últimos años ha aumentado el interés por conocer las propiedades funcionales de cepas de *Pleurotus* mediante la cuantificación y caracterización de compuestos bioactivos con beneficios potenciales a la salud. Se ha reportado que estos hongos tienen propiedades, tales como: antiviral, antimutagénica,

antiinflamatoria, hepatoprotectora, antitumoral, antioxidante (Tabla 2) entre otras (Barrandas 2010).

Tabla 2. Propiedades funcionales en especies comestibles del género *Pleurotus*

Especie	Actividad
<i>P. eryngii</i>	Antiinflamatoria Hepatoprotector
<i>P. ostreatus</i>	Antioxidante Antitumoral Antiviral contra VIH
<i>P. pulmonarius</i>	Antioxidante Antiviral contra VIH
<i>P. sajor-caju</i>	Antibacterial, Antitumoral
<i>P. tuber-regium</i>	Antiviral contra herpes
<i>P. djamor</i>	Antibacterial, Anticancerígeno, Antioxidante

Los hongos del género *Pleurotus* son saprófitos, crecen de manera natural sobre troncos, ramas o árboles muertos y algunas veces se encuentra en el suelo sobre raíces podridas, gracias a estas características *Pleurotus* pueden crecer de manera controlada en diferentes materiales obtenidos como subproductos o desechos de las actividades agrícolas y agroindustriales, lo cual trae un beneficio ambiental, ya se puede utilizar desechos de este a que el manejo y el tratamiento adecuado de desechos orgánicos en el mundo cada día resulta más necesario (Piña-Guzmán et al. 2015). *Pleurotus* un grupo de organismos de gran importancia ecológica, médica y alimenticia, los cuales han sido reconocidos durante más de 2000 años por diversas culturas, en las últimas décadas se han cultivado y obtenido extractos a partir de los hongos, que son comercializados como nutraceuticos, suplementos nutricionales, dietéticos y antioxidantes para mantener o mejorar la salud (Mendoza 2016).

Estudios recientes han reportado la importancia de compuestos bioactivos obtenidos a partir de hongos, dentro del género *Pleurotus* se encuentra una especie en particular menos cultivada y conocida, *P. djamor* que se caracteriza por su coloración rosa, comúnmente llamada seta rosa, seta salmón o seta del amor (Sierra et al. 2002), es capaz de desarrollarse a temperaturas de 28° C, que se cultiva comercialmente en diversas regiones del mundo y en Latinoamérica, principalmente con fines experimentales presentando características de cultivo y propiedades nutraceuticas y biodegradativas de interés para los productores regionales. Dichos hongos presentan enzimas ligninoceluliticas que le permiten crecer en gran variedad de materiales agrícolas y forestales. Se reportado que es un hongo comestible medicinal, presenta compuestos

bioactivos entre los que se encuentran los polisacáridos que poseen múltiples actividades biológicas, incluidas actividades antioxidantes, antitumorales y de ajuste inmune (Huaping et al. 2019). *P. djamor* originalmente fue descrito por Fries en 1821, como *Agaricus djamor*, posteriormente, Boedijn en 1959 lo transfirió al género *Pleurotus* de la familia *Pleurotaceae* y fue nombrado como *P. djamor* por Karel Boedijn. De acuerdo con Pegler *Pleurotus djamor* es la especie pantropical más importante y abundante del género *Pleurotus*. Guzmán (2000) consideró que *P. djamor* es sinónimo de *P. flabellatus*, *P. eous* y *P. salmoneostramineus*.

2.12 *Pleurotus djamor*

Distribución geográfica

Esta especie se ha encontrado creciendo de forma silvestre en el continente americano en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Francia, Guatemala, Martinica, México, Panamá, Puerto Rico y Venezuela (Salmones, 2017). En México está registrado para los estados de Jalisco, Veracruz, Yucatán, Zacatecas y Morelos (Gutiérrez 2012).

Clasificación taxonómica de *Pleurotus djamor*

Reino Fungi

División *Basidiomycota*

Subdivisión *Agaricomycotina*

Clase *Agaricomycetes*

Sub-clase *Agaricomycetidae*

Orden *Agaricales*

Familia *Pleurotaceae*

Género *Pleurotus*

Especie *Pleurotus djamor*

(Index fungorum octubre 2021)

Descripción de *Pleurotus djamor*

- El cuerpo fructífero está formado por un estípite, píleo y por el himenóforo.
- El estípite es corto o mal definido, excéntrico que tiende a ser lateral en tonalidades rosas.
- El píleo se encuentra formado como expansión lateral del estípite de entre 5 y 15 cm de diámetro, convexo que se vuelve casi plano al madurar, liso y en tonos rosas.

- El himenóforo está formado por láminas estrechas, delgadas, decurrentes en tonos blancos (Figura 6).
- Las esporas miden de 2-12 x 3-4 micras, son lisas y de forma subcilíndrica.
- El contexto es rosa pálido (Figura 6). Además de tener un sabor y olor agradable (Gutiérrez 2012).



Figura 6. Cuerpo fructífero de *Pleurotus djamor* (Cardona 2019)

Ciclo biológico de *Pleurotus djamor*

En el proceso del ciclo biológico de *Pleurotus*, están presentes algunas fases de desarrollo micelial (Figura 7). El micelio primario está formado a partir de la germinación de una basidiospora produciendo el desarrollo de hifas filamentosas (septadas) estando en estado haploide que al ramificarse conforman el micelio, este mismo continua creciendo de forma monocariotica hasta que llega a formar la plasmogamia con otro micelio de manera que sea sexualmente compatible, posteriormente ambas células se fusionan , el septo se abre para que pueda ocurrir la migración nuclear y la formación de micelio dicariotico mediante la división conjugada simultanea de los dos núcleos iniciales y la distribución de los pares de núcleos hermanos compatibles o dicariontes en las células hijas. Una vez formado el cuerpo fructífero, a partir del micelio indiferenciado por el crecimiento vegetativo, se lleva a cabo el proceso de cariogamia o meiosis, en donde se obtiene como producto núcleos haploides (quienes poseen de manera aislada un factor de compatibilidad), que emigran a una tretada de esporas formadas en la parte externa del basidio y una vez allí, son liberadas durante el proceso de esporulación del basidiocarpo maduro. Si se encuentran condiciones ambientales apropiadas, estas basidiosporas germinan produciendo micelio monocariotico y comienza nuevamente el ciclo (Herrera y Ulloa 1998).

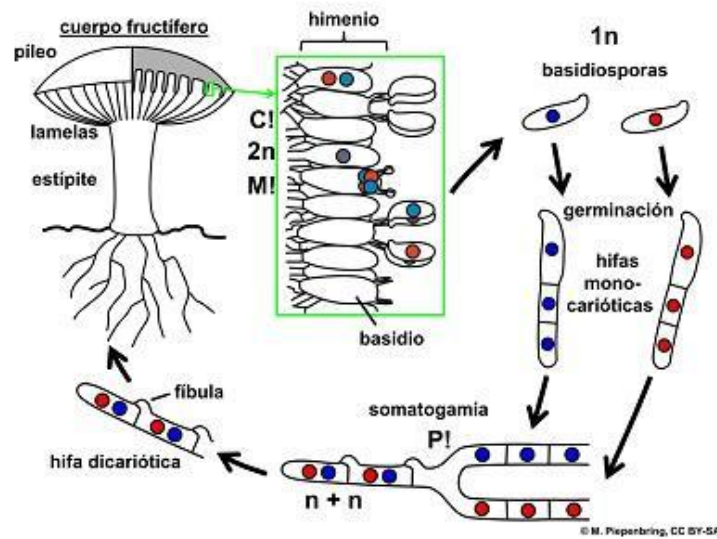


Figura 7. Ciclo biológico de *Pleurotus* (<https://www.lifeder.com/pleurotus>)

3. Antecedentes

Los hongos del género *Pleurotus* tienen la habilidad para crecer sobre residuos lignocelulósicos, como son gran variedad de desechos agrícolas teniendo la capacidad de degradar celulosa y lignina presentes en diversos esquilmos agrícolas (pajas, rastrojos), desechos agroindustriales (bagazos de caña de azúcar, maguey tequilero, henequén, pulpa de café y/o forestales (aserrín y viruta de diversas maderas) pero algunas veces es recomendable hacer una combinación de sustratos en diferentes porciones, para incrementar la producción de los hongos (Gaitán-Hernández et al. 2006). Por lo que existen varios trabajos en donde reportan las eficiencias biológicas obtenidas a partir de diferentes combinaciones de sustratos.

Salmones et al. (2004) obtuvieron micelios monospóricos de tres cepas de *P. djamor* y *P. salmoneostramineus*, determinaron sus tipos de apareamiento y seleccionaron monocariones de rápido y buen crecimiento micelial para realizar las cruzas interespecimen. Las cepas parentales y seis cruas fueron cultivadas sobre paja de cebada. En promedio se obtuvieron de 3 a 5 cosechas alcanzando eficiencias biológicas de 53.6 a 86.4 % en los parentales y de 73.6 a 114.4 % en las cruas, mientras que las tasas de producción fueron de 0.89 a 1.44% y de 1.22 a 1.9 %. El tamaño de los fructificaciones varió entre 2 a 20 cm de diámetro de píleo, predominando los menores de 10 cm. López et al. (2005) cultivaron a *P. djamor* en sustratos de rastrojo de maíz, bagazo de henequén y rastrojo de calabaza, la mejor eficiencia biológica correspondió al

rastrojo de maíz con un (83.9%), rastrojo de calabaza (47.6%) y bagazo de henequén (38.9%), el rastrojo de calaza y bagazo de henequén no logran superar la eficiencia biológica obtenida en el rastrojo de maíz.

En los últimos 30 años se viene desarrollando cada día un interés mayor por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres y los antioxidantes, todo esto dado por la importancia que poseen en la bioquímica, la biología y la medicina (Díaz 2002). Por lo que se están realizando trabajos de investigación para buscar posibles fuentes de obtención para contrarrestar los efectos producidos por el daño oxidativo. Sin embargo, los hongos se han relacionado con importantes propiedades antioxidantes debido a sus compuestos bioactivos, como polifenoles, polisacáridos, vitaminas, carotenoides y minerales, los beneficios antioxidantes observados en los hongos comestibles, parecen ser una razón adicional para su uso tradicional como un alimento funcional, por lo que existen muchos hongos de gran beneficio para la salud humana. En la actualidad se estudian muchos hongos en un esfuerzo por encontrar metabolitos de interés medicinal. Existen muchos escritos en donde se menciona el uso de diferentes variedades de hongos, como remedios para tratar un sinnúmero de enfermedades (Kozarski et al. 2015).

Hay pocos estudios sobre la actividad antioxidante de los extractos del hongo *Pleurotus djamor*. Uno de ellos fue realizado por Guzmán et al. (2009) evaluaron el extracto etanólico obtenido del hongo comestible *P. djamor* mediante los métodos de DPPH y ABTS encontrando valores IC_{50} (medida de la eficacia de una sustancia en la inhibición de una función biológica) de 115.5 $\mu\text{g/mL}$ y 29.37 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Los datos obtenidos sugieren que este hongo puede ser usado como una sustancia antioxidante natural. Jegadesh et al. (2014) determinaron las actividades antioxidantes *in vitro* de cinco fracciones diferentes (éter de petróleo, hexano, cloroformo, acetato de etilo y extracto de metanol fraccionado) del extracto metanólico crudo de un hongo comestible *P. djamor*, realizaron el ensayo de eliminación de radicales libres (DPPH) y cuantificación de polifenoles totales. Los resultados indicaron el porcentaje máximo de actividad antioxidante y el valor de CI_{50} fue de 86.89%, se observaron con 2.862 mg/mL en la fracción de metanol fraccionada seguida de la fracción de hexano 83.83% con 2.7 mg/mL, fracción de cloroformo 81.89% con 3.69 mg/mL y fracción de acetato de etilo 78.28% con 4.795 mg/mL respectivamente, el extracto de hexano exhibió una fuerte actividad. Para el contenido de compuestos fenólicos obtuvieron que el extracto metanólico fraccionado exhibió el mayor contenido fenólico (2.25 ± 0.04 mg/g de peso seco, expresado como equivalentes de ácido gálico), seguido de hexano (0.35 ± 0.013 mg/g), cloroformo (0.3 ± 0.015 mg/g), acetato de etilo (0.225 ± 0.01 mg / g) y fracción de éter de petróleo (0.05 ± 0.008).

Smith et al. (2015) Cultivaron en matraces nueve basidiomicetos hongos filamentosos: *Grifola frondosa*, *P. ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Monascus purpureus*, *P. citrinopileatus*,

P. eryngii, *P. salmoneo-stramineus* y *Trametes versicolor*, obtuvieron el micelio y realizaron tres extractos (acuoso y metanólico), se cuantificó el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante por el método ABTS. Los resultados indicaron que el extracto metanólico de cada hongo el más efectivo en propiedades antioxidantes por el método ABTS fue para, *P. citrinopileatus* (84%), seguido de *P. ostreatus* (66%) y *Monascus purpureus* (84%) tuvieron la mayor actividad antioxidante y el contenido fenólico fue entre 0.44-9.33 mg/g, siendo en mayor cantidad para *Grifola frondosa*, *Lentinula edodes*, *Monascus purpureus*, *P. citrinopileatus* y *Tremetes versicolor*.

También, Landa (2008) realizó trabajos de extractos de *P. djamor in vitro* de cinco fracciones (éter de petróleo, hexano, cloroformo, acetato de etilo y extracto de metanol en donde se realizó el ensayo de eliminación de radicales libre (DPPH), los resultados indicaron que las fracciones de metanol y hexano de *P. djamor* mayor actividad antioxidante. El extracto de hexano presentó un CI_{50} de 2.7 mg/mL, seguido de extracto de metanol (2.862 mg/mL). Las pruebas de FTC y TBA mostraron una fuerte inhibición de la oxidación de lípidos en la fracción de hexano evidente por su bajo valor de absorbancia en comparación con otras fracciones. El contenido fenólico total fue alto en el extracto de metanol (2.25 mg/g GAE) seguido de extractos de hexano (0.35 mg/g GAE). Por lo que, este hongo comestible puede ser una fuente potencial de antioxidantes naturales.

4. Justificación

La incidencia de ciertas enfermedades (crónico degenerativas) les ha atribuido al efecto del estrés oxidativo, el cual se incrementa debido a los malos hábitos alimenticios y el ritmo de vida estresante, por lo que, se recomienda consumir antioxidantes para contrarrestar los efectos de los radicales libres, los antioxidantes naturales son principalmente de origen vegetal, pero los hongos han mostrado actividad antioxidante, por lo que también se están considerando como una alternativa de obtención. El hongo *Pleurotus djamor* presenta actividad antioxidante, y se ha reportado, que el contenido de nutrientes y biomoléculas en el cuerpo fructífero varía dependiendo de los sustratos sobre el que crece, por lo que, en el presente trabajo se determinó la capacidad antioxidante y contenido de fenoles de extractos acuosos de micelio y el cuerpo fructífero crecidos sobre seis combinaciones de sustratos.

5. Objetivos

Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante de la fase micelial y cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* crecido sobre diferentes sustratos.

Objetivos específicos

- Describir el micelio de *Pleurotus djamor* crecido sobre agar dextrosa papa crecido sobre diferentes combinaciones de sustrato.
- Determinar de contenido de fenoles y actividad antioxidante de extractos acuosos de micelio crecido en caja Petri.
- Caracterizar la producción de cuerpos fructíferos sobre seis sustratos diferentes.
- Determinar el contenido de fenoles y la actividad antioxidante de extractos acuosos de los cuerpos fructíferos frescos y deshidratados.

6. Pregunta de investigación

¿Los extractos de *Pleurotus djamor* presentaran diferencias en la actividad antioxidante y contenido de fenoles dependiendo del sustrato sobre el que crece?

7. Materiales y métodos

El diagrama de la metodología del presente estudio está indicado en la figura 8, cada fase se describe a continuación.

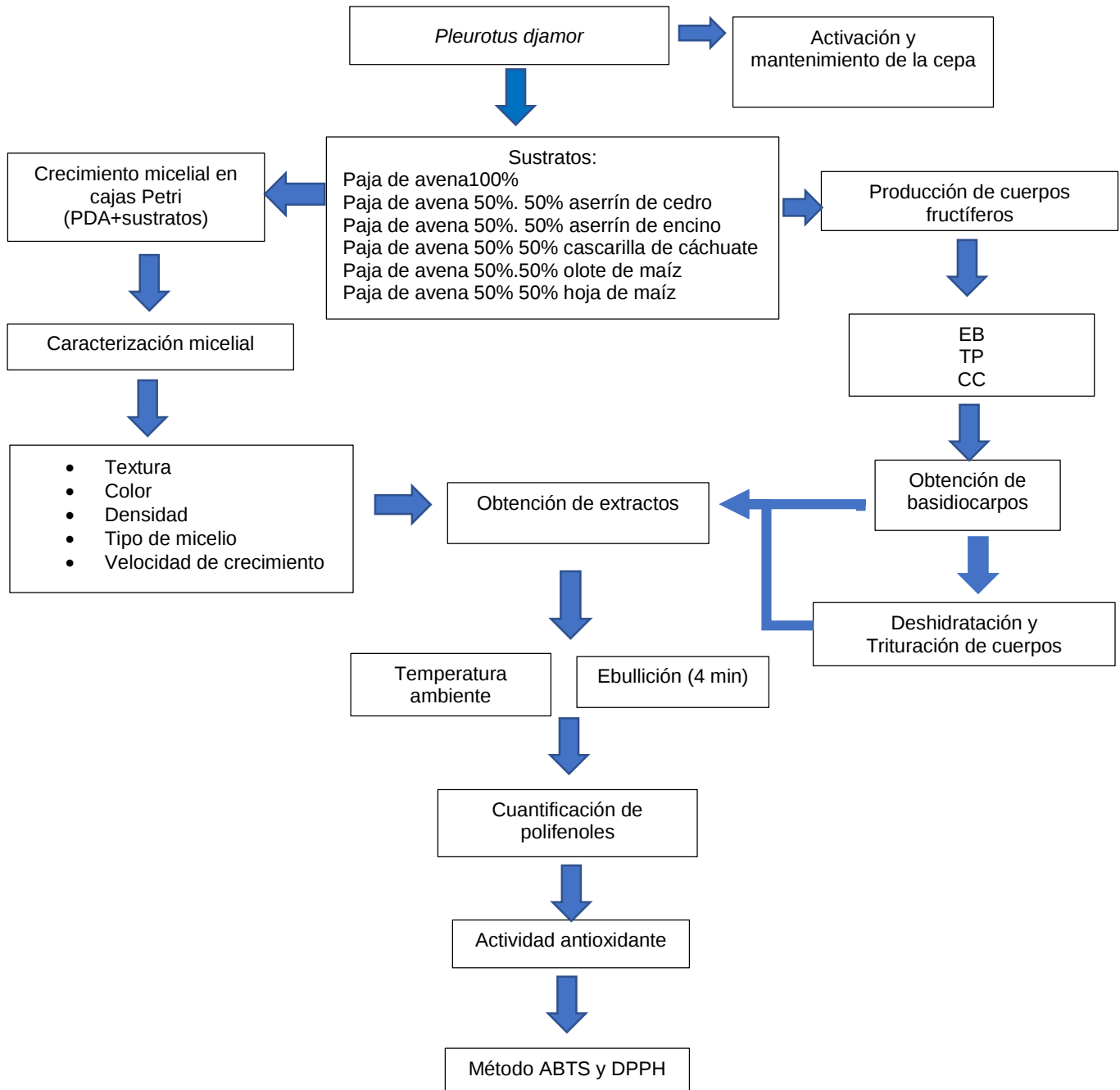


Figura 8. Diagrama de metodología

7.1 Material biológico

Para este trabajo se utilizó la cepa HEMIM-137 de *Pleurotus djamor* que se encuentra depositada en el Herbario Micológico de Morelos del Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

7.2 Cultivo en cajas Petri

7.2.1 Preparación de medios de cultivo

Se preparó medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) más sustratos (Tabla 3), los cuales se hicieron al 50%. Los medios se esterilizaron en una autoclave a 121°C por 20 min. Posteriormente, en una campana de flujo laminar se llevó a cabo el vaciado del medio de cultivo en cajas Petri, se dejaron reposar las cajas por un día y se les colocó un inóculo de 8 mm de diámetro del micelio de la cepa HEMIM-137, esta fue colocada en el centro de la caja del medio de cultivo. Estas cajas una vez sembradas se mantuvieron en una incubadora a una temperatura de 28°C (Agapito 2016).

Tabla 3. Tratamientos utilizados para crecimiento de *Pleurotus djamor*.

	TRATAMIENTOS	ABREVIATURA
1	PDA testigo	PDA
2	PDA/100%paja de avena	PDA/P
3	PDA/ 50%paja de avena/ 50% aserrín de cedro	PDA/P/C
4	PDA/ 50%paja de avena/ 50% aserrín de encino	PDA/P/E
5	PDA/ 50%paja de avena/ 50% cascarilla de cacahuete	PDA/P/CC
6	PDA/ 50%paja de avena/ 50% olote de maíz	PDA/P/O
7	PDA/ 50%paja de avena/ 50% hoja de maíz	PDA/P/H

7.2.2 Caracterización micelial de *Pleurotus djamor*

Se caracterizó el micelio crecido sobre las combinaciones (Tabla 3) en cajas Petri.

- Se registró la textura, densidad (abundante, regular o escasa), color y tipo de micelio (aéreo o rastrero) de cada tratamiento, estas características se evaluaron a los 10 días de crecimiento (Sobal et al. 2007).
- La velocidad de crecimiento micelial (Vc) se evaluó cada 24 h midiendo el radio de la colonia (mm/h) con la ayuda de un vernier el número de milímetros avanzados a partir del inóculo sembrado de 4 mm de diámetro colocado en la parte central de la caja Petri hasta su total colonización (Acosta-Urdapilleta et al. 2016).

7.2.4 Preparación de extractos miceliares

A los 10 días de crecimiento se realizaron los extractos del micelio (Figura 9). Se obtuvo el micelio, se pesó y realizó el extracto (por cada 0.1 g de micelio se agregaron 1000 µl de agua). Los extractos se realizaron con la ayuda de un macerador de tejidos, se obtuvo

un extracto a temperatura ambiente y otro térmico (ebullición por 4 min), los extractos se congelaron (20°C) hasta su uso (Urdapilleta et al. 2020).

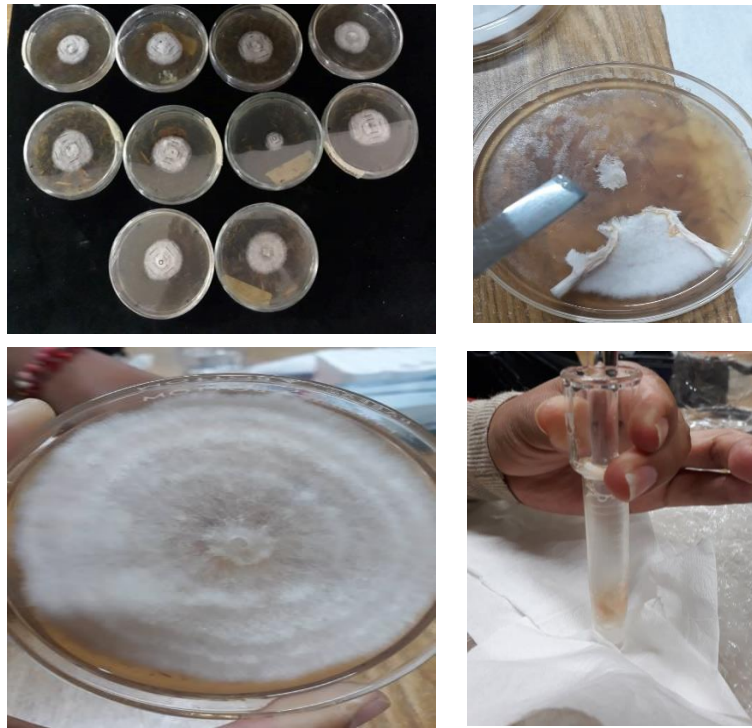


Figura 9. Elaboración de extracto del micelio.

7.3 Preparación de la semilla o inóculo

Para la preparación de la semilla se utilizó grano de trigo lavado y hervido en agua aproximadamente 20 min, esto fue para hidratar el grano y posteriormente se drenó el exceso de humedad para poder obtener una humedad en el grano de 50%. Posteriormente se le adicionó 0.5% de CaCO_3 y 2.0% de CaSO_4 , se colocó 250 g de semilla de trigo en frascos de boca ancha y se esterilizaron a 121° C por 120 min. Una vez esterilizados los frascos se inocularán con un fragmento de micelio de *Pleurotus djamor* y se incubaron a 28° C hasta que el micelio invadió completamente la semilla de trigo (Figura 10) (Gaitán-Hernández et al. 2006).



Figura 10. Semilla en incubación

7.4 Preparación de sustratos

Los sustratos se trituraron para reducir el tamaño de partícula de 10 a 15 cm, se hidrataron hasta obtener un 70% de humedad. Se colocó 1300 g de cada uno de los sustratos en bolsas de polipropileno-etileno, se cerraron y se esterilizaron (121°C/2 h), Los tratamientos fueron: 1) paja de avena 100% (testigo), 2) cedro:paja de avena (50:50%), 3) encino:paja de avena (50:50%), 4) cascarilla de cacahuate:paja de avena (50:50%), 5) hojas de maíz:paja de avena (50:50%) y 6) olote de maíz:paja de avena (50:50%). Posteriormente se inocularon con semilla de trigo invadido por *Pleurotus djamor* se incubaron hasta la invasión completa del sustrato y se colocaron en el cuarto de incubación (Figura 11) en donde se mantuvo una temperatura y humedad constante (Agapito 2016).



Figura 11. Bolsas de sustratos inoculadas

7.5 Patrón de producción

7.5.1 Parámetros evaluados en el área de incubación y fructificación

Se registró la temperatura máxima y mínima en grados Celcius (°C) hasta la aparición de los brotes, las variables evaluadas durante el fructificación de *Pleurotus djamor* fueron:

- Aparición de la primera, segunda, tercera y cuarta cosecha (según el caso).
- Periodo de cosecha
- Eficiencia biológica (Tschierpe y Hartmann 1997) determinada con la fórmula:

$$EB = \frac{\text{Peso fresco de los cuerpos fructíferos}}{\text{Peso seco del sustrato empleado al momento de la inoculación}} \times 100$$

- Tasa de producción (TP) se calculó de acuerdo con lo propuesto por Royse (1989) con la siguiente formula.

$$TP = \frac{EB}{CC}$$

Donde EB= Eficiencia biológica y CC= ciclo de cultivo (periodo de incubación del sustrato + periodo de fructificación en días).

- El ciclo de cultivo (CC) se determinó con la fórmula:

CC= Ciclo del cultivo (periodo de colonización del sustrato + periodo de fructificación en días).

7.6 Deshidratación y trituración de los cuerpos fructíferos

Los cuerpos fructíferos se deshidrataron (Figura 12) en un gabinete de secado y posteriormente se tritararon para reducir el tamaño y obtener el polvo de hongo, se mantuvieron protegidos de la luz hasta su uso (Agapito 2016).



Figura 12. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* deshidratados.

7.6.1 Obtención de extractos

De cada una de las muestras se obtuvo un extracto utilizando 25 mg/mL (W/V). Los extractos se realizaron uno a temperatura ambiente y otro térmico por ebullición. Los extractos se obtuvieron con la ayuda de un mortero, para los extractos acuosos térmicos se les adiciono 10 mL de agua a la muestra y se pusieron en ebullición por 4 min. Los extractos se guardaron en tubos Falcon (Figura 13) y se congelaron hasta su uso (Urdapilleta et al. 2020).



Figura 13. Extractos temperatura ambiente y térmico de *Pleurotus djamor*.

7.7 Cuantificación de polifenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Singleton y Rossi (1965) en un tubo de reacción se adicionaron 100 μ L de cada extracto, 800 μ L de carbonato de calcio Na_2CO_3 y 200 μ L de reactivo Folin Ciocalteu (grado analítico, Merck). Se agitó y luego se dejó en reposo por 8 minutos, dando como resultado una solución de color amarillo intenso, la contaminación de este reactivo con reductores le confiere un color verde. Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo bajo condiciones alcalinas, por lo que la disociación de protones fenólicos da lugar a un anión fenolato que es capaz de reducir al reactivo de Folin-Ciocalteu. Se forma un complejo azul entre el fenolato y el reactivo independientemente de la estructura del compuesto fenólico. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g y los valores se presentan como la media de los análisis realizados por triplicado $\pm$ desviación estándar (DE).

7.8 Evaluación de actividad antioxidante

7.8.1 Método 2,2-difenil-1-picrihidracilo (DPPH)

La actividad antioxidante de los extractos se evaluó mediante la capacidad captadora del radical DPPH $\cdot$ utilizando la metodología de Rojano et al. (2008). Un volumen de 790 μ L de metanol se mezcló con 132 μ L de las soluciones de extractos y 78 μ L del radical

DPPH. Las mezclas se dejaron en reposo y en ausencia de luz durante 45 min. Transcurrido este tiempo se leyó la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro. Los resultados fueron convertidos a porcentaje de inhibición y expresados como capacidad antioxidante

El porcentaje de inhibición se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs (t=0)} - \text{Abs (t=30)} \times 100}{\text{Abs (t=0)}}$$

Donde Abs (t=0) es la absorbancia del radical DPPH a tiempo cero Abs (t=30) es la absorbancia del DPPH y el extracto a tiempo de 30 minutos.

7.8.2 Método 2,2'-bis-azinoácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)

Se empleó el método propuesto por Aubad et al. (2007) el radical libre ABTS se obtuvo tras la reacción de ABTS (7Mm) con persulfato de potasio (2.45 mM concentración final). La solución se preparó mediante la mezcla de las dos soluciones stock en cantidades equitativas, seguidas por una reacción de 12 a 16 horas a temperatura ambiente (25° C) en la oscuridad, se llevó a cabo la reacción con 100 uL de muestra y 2900 uL del radical ABTS y se dejó actuar en la oscuridad a temperatura ambiente por 6 min. La disminución de la coloración se expresó como el porcentaje de inhibición del ABTS, la absorción se midió con la ayuda de un espectrofotómetro a 734 nm.

El porcentaje de inhibición se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs (t=0)} - \text{Abs (t=5)} \times 100}{\text{Abs (t=0)}}$$

Donde Abs (t=0) es la absorbancia del radical ABTS a tiempo cero Abs (t=6) es la absorbancia del ABTS y el extracto a tiempo de 5 minutos.

8. Análisis estadístico

Para cada uno de los análisis se realizaron cinco repeticiones, de las cuales se obtuvo el promedio y desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza ANOVA, con una prueba de comparación de medias (Tuckey), con un nivel de confianza de $p < 0.05$, esto se usó para determinar las diferencias entre las medias obtenidas (Massart 1997).

9. Resultados y discusión

9.1 Caracterización micelial

Las características de la cepa de *Pleurotus djamor* HEMIM-137) se registraron a los 10 días de crecimiento (tabla 4), el micelio presentó variaciones en su coloración dependiendo el medio de cultivo sobre el que creció, presentándose cuatro colores, el micelio fue aéreo con densidad abundante y se presentaron tres tipos de texturas (Figura 14).

Tabla 4. Características morfológicas a nivel micelial (HEMIM-137)

MEDIO	COLOR	TIPO DE MICELIO	TEXTURA	DENSIDAD	OBSERVACIONES
PDA	Blanco con tonos salmón y amarillo en el centro	Aéreo	Algodonosa ligeramente lanosa en el centro	Abundante	Presenta crecimiento con borde irregular y zonas de crecimiento
PDA/P (1:1)	Blanco con tonos cremas en el centro	Aéreo	Algodonosa	Abundante	Presenta borde periférico irregular y zonas concéntricas de crecimiento
PDA/P/C (1:1)	Blanco	Aéreo	Algodonosa	Abundante	Presenta zonas concéntricas de crecimiento con borde regular
PDA/P/E (1:1)	Blanco	Aéreo	Algodonosa	Abundante	Presenta zonas concéntricas de crecimiento con borde irregular
PDA/P/CC (1:1)	Blancos con tonos amarillos en el centro	Aéreo	Algodonosa/ ligeramente aterciopelada	Abundante	Presenta borde irregular, textura más densa aprox. 1 cm y zonas concéntricas de crecimiento
PDA/P/O (1:1)	Rosa	Aéreo	Algodonosa	Abundante	Presenta zonas concéntricas de crecimiento
PDA/P/H (1:1)	Rosa	Aéreo	Algodonosa	Abundante	Presenta zonas concéntricas de crecimiento

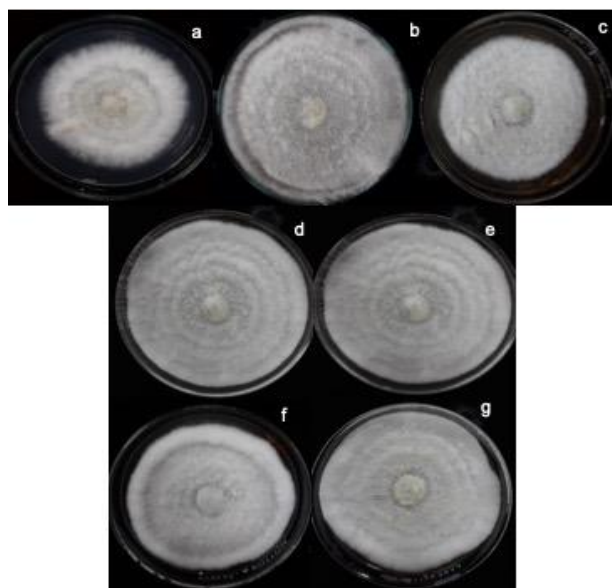


Figura 14. Características morfológicas del micelio de *Pleurotus djamor*: **a)** PDA **b)** PDA/P, **c)** PDA/P/C, **d)** PDA/P/E, **e)** PDA/P/C, **f)** PDA/P/H, **g)** PDA/P/O

Las características que presenta *P. djamor* concuerdan con lo reportado por Sobal et al. (2007), el micelio presentó una coloración blanca y blanca con tonos rosas, textura aterciopelada, algodonosa y micelio aéreo. García et al. (2014) informó que *P. djamor* en PDA el color del micelio fue blanco, blanco con tonos crema, textura alfieltrada, densidad muy alta y en algunas cepas encontraron presencia de agregaciones hifales. Agapito (2016) creció a *P. djamor* en medio PDA con infusión de lirio acuático, paja de trigo y paja de arroz e indica que el micelio presentó una coloración crema, blanco con tonos rosas, crema con tonos rosa, micelio rastrero, textura algodonosa y densidad alta, dichos resultados concuerdan con los obtenidos en este proyecto. Acosta-Urdapilleta et al. (2016) caracterizaron el crecimiento en cajas de Petri de *P. djamor* utilizando como medio de cultivo agar con harina integral de trigo, PDA, PDA más extracto de paja de trigo, PDA con extracto de paja de arroz. El micelio también presentó color crema, blanco con tonos rosa, crema con tonos rosas, micelio rastrero, textura lanosa, aterciopelada y algodonosa.

9.1.2 Velocidad de crecimiento

P. djamor (HEMIM-137) presentó mayor velocidad de crecimiento sobre el medio de PDA/P (0.241 mm/h), sin embargo, no presentó diferencias con los otros cuatro medios (Figura 15), en los medios que creció menos fue PDA/P/E (0.140 mm/h) y el PDA, que presentaron diferencias significativas con PDA/P.

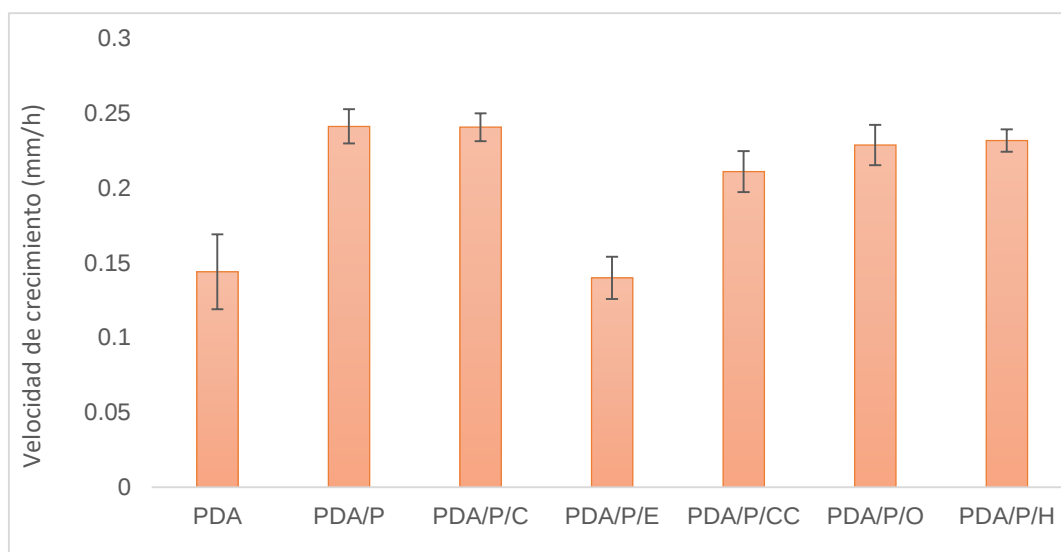


Figura 15. Velocidad de crecimiento de *Pleurotus djamor* (HEMIM-137) en los diferentes medios de cultivo.

Se ha reportado por varios autores que el crecimiento se ve influenciado por los nutrientes (medios de cultivo) y condiciones de cultivo (Martínez-Carrera 1984; Sobal et al., 1989; Hernández-Ibarra et al., 1995). Motato et al. (2006) evaluó el crecimiento micelial de *P. djamor* en residuos de plátano y sobre diferentes mezclas aserrín (100%), hojas (100%), tallo (100%), aserrín-hoja (50/50%), aserrín-tallo (50/50%), aserrín-fruto (50/50%), y una mezcla final de aserrín-hojas-tallo y fruto (25/25/25/25%), los cuales los sometió a tres diferentes temperaturas 15°C, 20°C y 26°C, hubo diferencias dependiendo de la temperatura de crecimiento micelial, fue menor la velocidad de crecimiento a 15°C, mientras que a 20°C y 26°C favorecieron el crecimiento micelial, y al utilizar hojas (100%) presentó una velocidad de crecimiento de 8.7 mm/día y en presencia de aserrín-tallo (50/50%) fue de 1.4 mm/día. Sobal et al. (2007) caracterizaron en medio de agar papa-dextrosa (PDA) reportaron velocidades de crecimiento para cepas de *P. djamor* de 0.052 mm/h, que se encuentran por debajo de los obtenidos en este trabajo para PDA. Gutiérrez (2012) evaluó la velocidad de crecimiento de una cepa comercial de la especie de *P. djamor*, que fue de 0.184 mm/h crecido sobre PDA, mayor a las reportadas en este trabajo y Acosta-Urdapilleta et al. (2016) reportaron el crecimiento micelial de *P. djamor* de 0.087 mm/h para el medio de PDA, de 0.154 mm/h para PDA con extracto de paja de trigo y 0.143 mm/h PDA con paja de arroz.

9.2 Patrón de producción

9.2.1 Parámetros evaluados en el área de fructificación

Durante el periodo de fructificación de los tratamientos la temperatura media osciló entre los 16°-17°C, la humedad relativa media fue de 75-80% (Figura 16), estos parámetros

ambientales no están alejados a los reportados por Agapito-Ocampo (2016), por lo que los parámetros ambientales en los que fue cultivada la cepa en este experimento fueron óptimos.

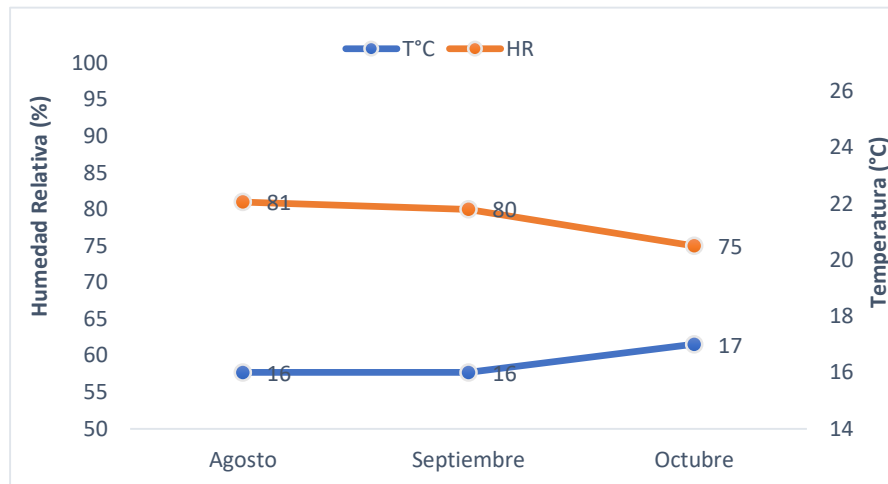


Figura 16. Características ambientales (temperatura y humedad relativa) durante el periodo de fructificación.

9.2.2 Eficiencia biológica, tasa de producción y número de cosechas

Se caracterizó el cultivo (Figura 17) y se obtuvo la esporada (Figura 18) para corroborar el color, todas presentaron esporadas rosadas, como se ha reportado para la especie.

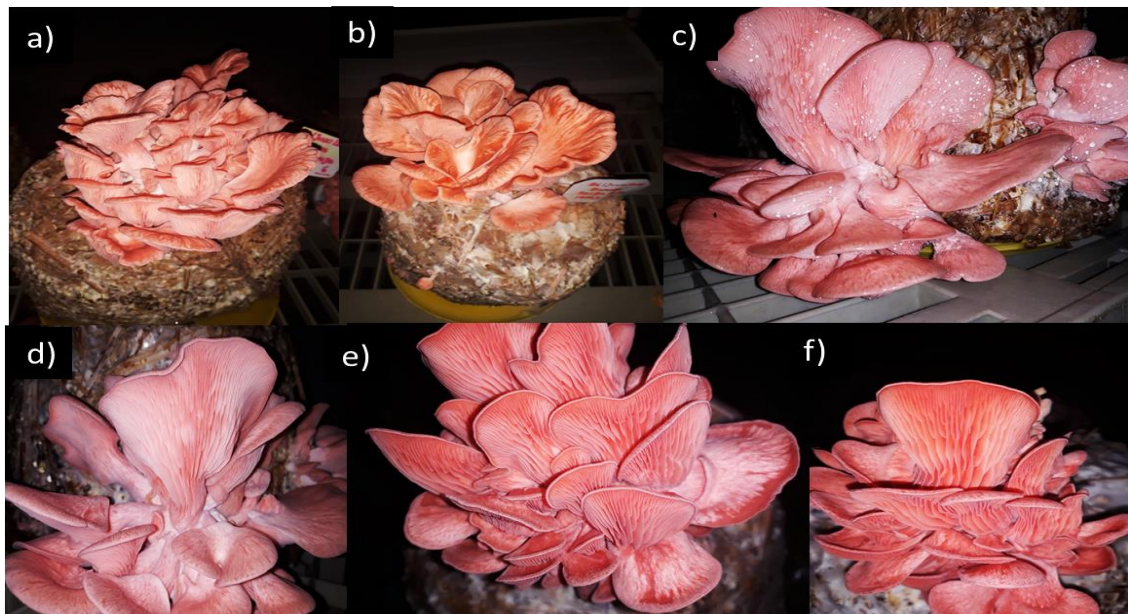


Figura 17. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* crecidos sobre diferentes combinaciones. **a)** Paja avena 100% **b)** paja avena/aserrín de cedro, **c)** paja avena/aserrín de encino, **d)** paja avena/cascarilla cacahuete, **e)** paja avena/olote maíz, **f)** paja avena/hoja maíz.

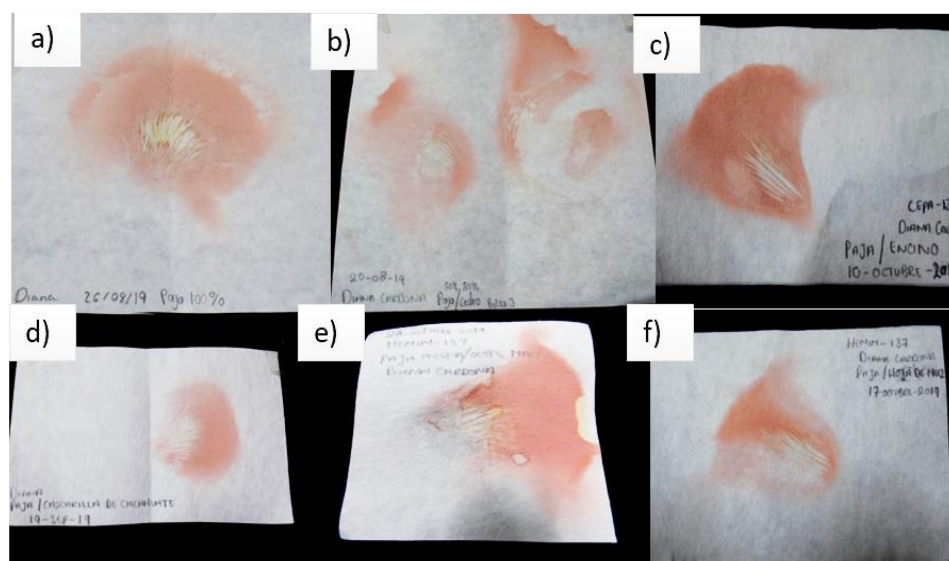


Figura 18. Esporadas de *Pleurotus djamor* crecido sobre diferentes combinaciones.
a) Paja avena 100% **b)** paja avena/aserrín de cedro, **c)** paja avena/aserrín de encino, **d)** paja avena/cascarilla cacahuete, **e)** paja avena/olote maíz, **f)** paja avena/hoja maíz.

El sustrato que presentó una mayor EB de 77% fue el que contenía 50% de paja avena 50%: hoja de maíz (Tabla 5) que fue diferente significativamente con las otras combinaciones y el de menor EB (38%) fue el que contenía 50% paja de avena 50% aserrín de encino.

Tabla 5. Parámetros de producción de *Pleurotus djamor* en las combinaciones diferentes

Tratamiento	EB	TP	CC	Tamaño de cuerpo fructífero (cm)
100% paja de avena	64.9 ±12.96	0.99±0.33	65 ±9.12	6.7±2.76 1.62±0.50
50% paja de avena 50% aserrín de cedro	61.06 ±18.24	0.85±0.34	71.6 ±10.43	4.25±1.9 1.60±0.82
50% paja de avena 50% aserrín de encino	34.57 ±8.44	0.69±0.17	49.57 ±4.07	4.55±1.77 1.09±0.27
50% paja de avena 50% cascarilla de cáhuete	62.17 ±10.68	1.40 ±0.16	44.14 ±4.37	5.99±1.8 1.19±0.38
50% paja de avena 50% olote de maíz	52.21 ±9.30	1.22 ±0.24	42.5 ±1.22	6.87±2.25 1.22±0.69
50% paja de avena 50% hoja de maíz	76.9 ±3.1	1.63 ±0.25	47 ±0	7.35±1.59 1.45±0.57

Donde **EB**: Eficiencia biológica, **TP**:Tasa de producción, **CC**:Ciclo del cultivo

Nevares (2012) realizó combinaciones bagazo de agave y aserrín de encino en diferentes proporciones y obtuvo EB de 52%, 61%, 62% y 72% en el cultivo de *Pleurotus* sp. superiores a las obtenidas en este trabajo para aserrín de encino. Otro trabajo, evaluó diferentes sustratos (paja de trigo, paja de arroz, paja avena, hojas de álamo, hojas de manzana y hojas de chinarr) para la producción de *P. djamor*, el sustrato de paja de arroz fue el más eficiente, en cuanto a producción obteniendo una EB de 77%, seguida de paja de avena con 51.95%, hojas de manzana 47.15%, hojas de álamo 45.59 y al final las hojas de chinarr con 27.20% (Paswall et al. 2017). Para el caso de *P. djamor* var. *roseus* han reportado EB de 120.07% sobre residuos agrícolas de paja de arroz, de 119.37% en paja de raji (*Eleusine coracana*), 12% en paja de sorgo, 55% medula de coco y 12% en bagazo de caña de azúcar (Jegadeesh et al. 2018). Sin embargo, cuando utilizaron fibra de coco y paja de arroz de *P. djamor* var. *roseus* reportaron una EB de 35 % en 47 días y una TP de 0.75, mientras que sobre la paja de arroz se presentó una EB de 39% en 52 días con una TP de 0.76 (Catarino et al. 2007), resultados que coinciden con la EB más baja reportada en este trabajo (50% paja de avena 50% aserrín de encino). La EB de una cepa nativa de panamá de *P. djamor* crecida sobre residuos de rastrojo de maíz (RM) y tuza de maíz (TM), indicaron que la TM fue el sustrato más eficiente (EB de 63% y TP de 1.16) comparado con RM (EB de 53% y TP de 0.89) (Vega y Franco 2013), por lo que los desechos del cultivo del maíz son óptimos para la producción de hongos comestibles. Ríos et al. (2010) indica que una EB aceptable es a partir del 40%, ya que es valor mínimo para que el cultivo sea considerando económicamente rentable, por lo que, en este trabajo se consideraría rentable las cinco combinaciones analizadas.

9.3 Cuantificación de polifenoles totales

En la figura 19 se muestra el contenido de polifenoles totales de todos los extractos a temperatura ambiente, los extractos de micelio presentaron de 6.02 a 11.27 mg AGE/g polifenoles, para los extractos de cuerpos fructíferos frescos fueron de 3.23 a 14.04 mg AGE/g y en cuerpos fructíferos secos fue de 7.02 a 9.77 mg AGE/g. El extracto en el que se presentó mayor cantidad de polifenoles fueron los cuerpos fructíferos frescos crecidos sobre P/cascarilla de cacahuete. En el caso de los polifenoles totales de extractos térmicos (Figura 20), también fue bajo en los extractos de micelio de 3.38 a 6.85 mg AGE/g, mientras que los extractos de cuerpos fructíferos frescos presentaron contenido de 1.38 a 11.97 mg AGE/g y los extractos de cuerpos fructíferos secos fue de 4.35 a 10.63 mg AGE/g, se observó que al someter los extractos a temperatura de ebullición disminuyó el contenido de polifenoles. El extracto de cuerpo fructífero fresco de P/cascarilla de cacahuete fue el más alto (11.97 mgAGE/g), seguido del extracto de cuerpos fructíferos secos de P/cedro (10.63 mg AGE/g).

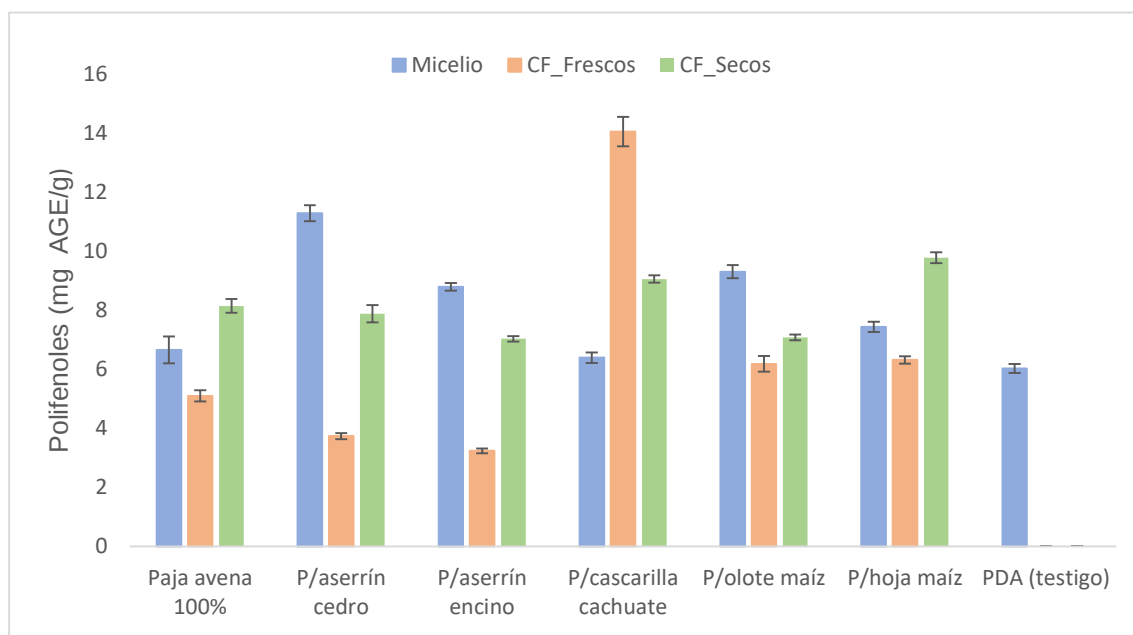


Figura 19. Contenido de polifenoles totales de *Pleurotus djamor* (HEMIM-137) de extractos a temperatura ambiente.

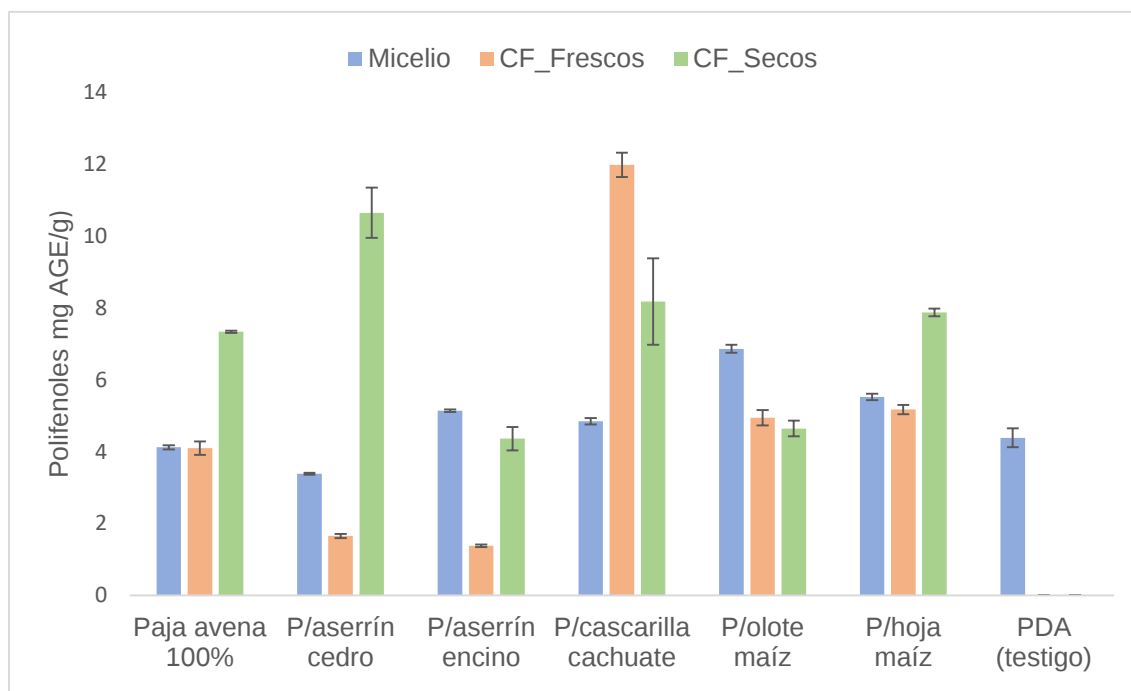


Figura 20. Contenido de polifenoles totales de *Pleurotus djamor* (HEMIM-137) de extractos térmicos

Kim et al. (2009) determinaron el contenido de fenoles totales de extractos metanólicos de cuerpo fructífero deshidratado de *P. cornucopiae* presentó mayor contenido de polifenoles (39.3 mg/g), seguida *P. salmoneostramineus* (30.1 mg/g) y *P. ostreatus* (21.2 mg/g). Kongkla y poeaim (2016) reportaron valores de fenoles totales de extractos metanólicos de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* (17.63 mg AGE/g), *P. sajor-caju* (15.75 mg AGE/g), *P. eryngii* (8.7 mg AGE/g) y *P. eous* (11.02 mg AGE/g). El contenido polifenoles de extractos metanólicos de micelio y cuerpos fructíferos secos de *Pleurotus* sp. fue de 4.62 mg AGE/g para extractos de cuerpo fructífero y 2.02 mg AGE/g para extractos de micelio, el contenido de compuestos fenólicos en cuerpos fructíferos fue dos veces mayor que en los extractos miceliales (Silistiany et al. 2016). Para *P. djamor* var. *roseus* reportaron 2.25 mg AGE/g de fenoles totales en extractos metanólicos (Jegadeesh et al. 2014). Acosta-Urdapilleta et al. (2020) evaluaron el contenido total de fenoles de cuerpos fructíferos deshidratados de *P. djamor* var. *roseus* en extractos acuosos (12 mg AGE/g), acuoso térmico (6 mg AGE/g) y extracto metanólico (2 mg AGE/g), el contenido de fenoles de este trabajo fue mayor a los dos últimos trabajos, sin embargo, se ve diferencias dependiendo del extracto y sobre que sustrato se creció. El extracto de micelio sin temperatura fue más alto en presencia de cedro, encino y olote de maíz, sin embargo, en los otros sustratos fue evidente el efecto de la temperatura sobre los extractos, lo que nos indica la presencia de moléculas que son termosensibles.

9.4 Método 2,2'-bis-azinoácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS)

En la figura 21 se presentan los resultados obtenidos de los porcentajes de inhibición del radical ABTS de los extractos a temperatura ambiente, mostrando que los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos secos presentaron mayor porcentaje de inhibición (74.34 a 98.43%), seguido de los extractos de cuerpos fructíferos frescos (32.61 a 66.88 %) y por últimos los extractos obtenidos de micelio presentando los porcentajes más bajos de inhibición con 5.37 a 43.44 %. Los resultados de inhibición del radical ABTS de los extractos térmicos (Figura 22), también los extractos de cuerpos fructíferos secos presentaron mayor porcentaje de inhibición (58.62 a 93.95%), seguido de los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos frescos (22.02 a 44.55%) y los más bajos fueron los extractos de micelio (21.23 a 41%), también se observó que al someter a los extractos a ebullición disminuyen porcentaje de inhibición hacia el radical.

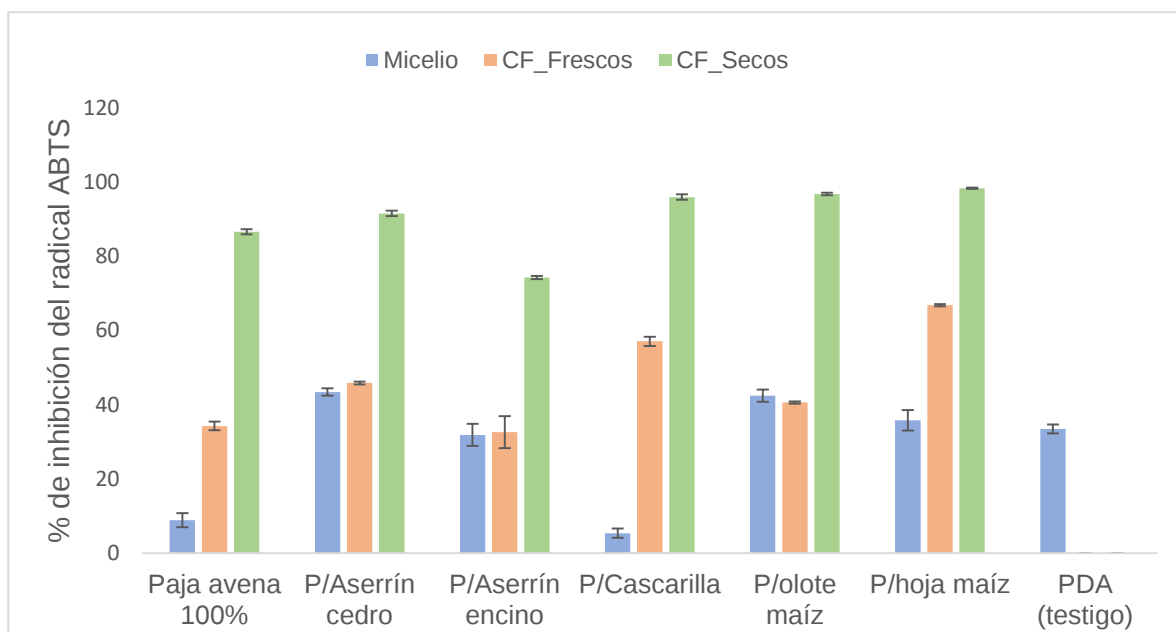


Figura 21. Porcentaje de inhibición del radical ABTS de *Pleurotus djamor* (HEMIM-137) de extractos a temperatura ambiente.

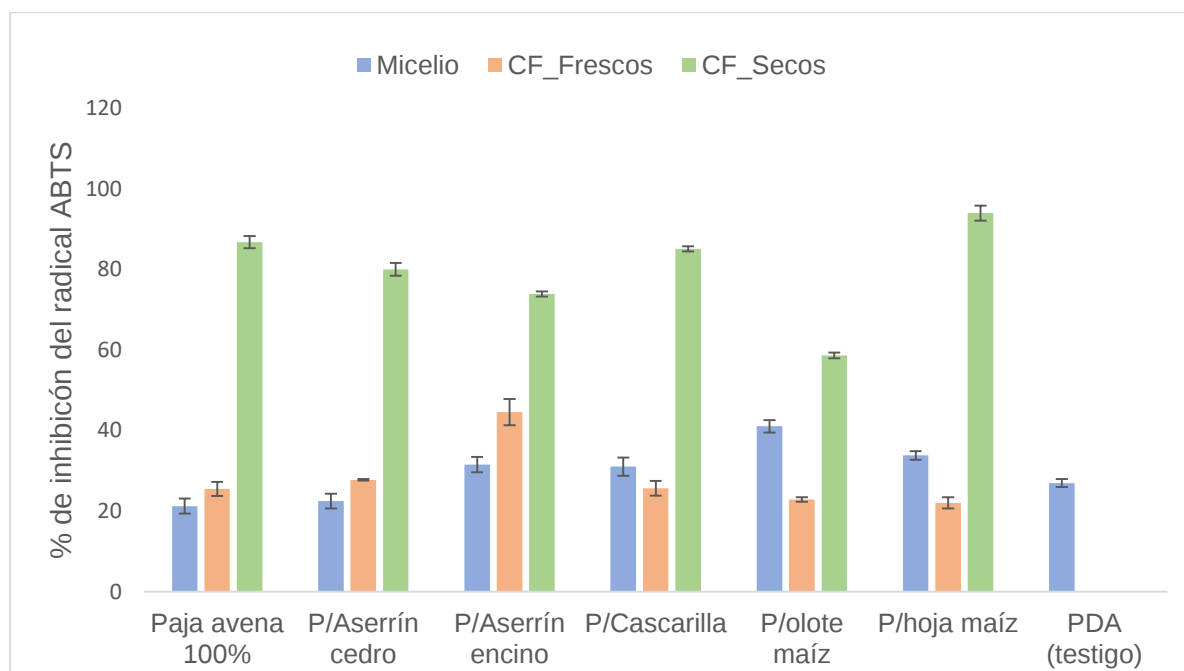


Figura 22. Porcentaje de inhibición del radical ABTS de *Pleurotus djamor* (HEMIM-137) de extractos térmicos.

Díaz-Godínez et al. (2015) evaluaron la actividad antioxidante micelial de *P. pulmonarius* crecido en un reactor airlift por el método ABTS de extractos acuosos obtenidos a partir de micelio fueron bajos, ya que el mayor porcentaje de inhibición fue de 43.4 %. Kongkla et al. (2016) evaluaron la actividad antioxidante por el método ABTS de cinco extractos metanólicos de cuerpos fructíferos secos de *P. eous* y *P. sajor-caju* que mostraron los mayores porcentajes de inhibición del radical ABTS con un 100%, seguido de *P. ostreatus* (93%), *P. cystidiosus* (65%) y *P. eryngii* (61%) comparando estos resultados con los obtenidos en el trabajo, presentaron mayor inhibición del radical (98.43%) los extractos de cuerpos fructíferos secos crecidos sobre Paja de avena/hoja de maíz. González-Palma et al. (2016) determinaron la actividad antioxidante de inhibición de ABTS en extractos acuosos y metanólicos obtenidos de micelio, primordios y cuerpo fructífero de *P. ostreatus* en fresco y seco, los extractos de muestras secas presentaron mayor actividad antioxidante que las muestras frescas, lo que coinciden con nuestros resultados. Morris et al. (2017) examinaron la actividad antioxidante *in vitro* de un extracto de agua caliente del micelio de *Pleurotus* spp. por el método ABTS, se obtuvo un porcentaje de inhibición del 55% (10 mg/mL), lo cual fue mayor a los resultados de extractos de micelio obtenidos en este trabajo, sin embargo, el micelio fue obtenido de las bolsas de cultivo y en este trabajo fue obtenido de crecimiento en caja de Petri, por lo que debe hacer diferencia en presencia y cantidad de moléculas con actividad antioxidante. Acosta-Urdapilleta et al. (2020) evaluaron la actividad antioxidante por el método ABTS de cuerpos fructíferos deshidratados de *P. djamor* var. *roseus* de extractos acuosos y metanólico, obteniendo como resultados que el extracto acuoso resultó ser el más eficiente en eliminar al radical ABTS con un 75%, seguido del extracto metanólico con un 70% y el extracto acuoso térmico con 59%, también al someter el extracto a temperatura pierde actividad antioxidante.

9.4.2 Método 2,2-difenil-1-picrihidracilo (DPPH)

En la figura 23 se observa la actividad de eliminación de radicales DPPH en extractos obtenidos a temperatura ambiente, en general los extractos obtenidos de muestras secas mostraron una mayor actividad de eliminación de radicales DPPH (29.37 - 44.53 %), seguido de los extractos obtenidos de cuerpos fructíferos frescos (11.44 - 23.15) y por último los extractos obtenidos de micelio (0.50 - 3.06 %). Con respecto a la actividad de eliminación de radicales DPPH de los extractos térmicos (Figura 24), los extractos que obtuvieron mayor porcentaje de inhibición, también fueron los extractos de cuerpos fructíferos secos (34.4 a 65.74 %), seguido de los extractos de cuerpos fructíferos frescos (8.24 a 21.79%) y micelio en donde se muestra que siguen teniendo muy bajo porcentaje de inhibición de (0.25 a 4.74 %).

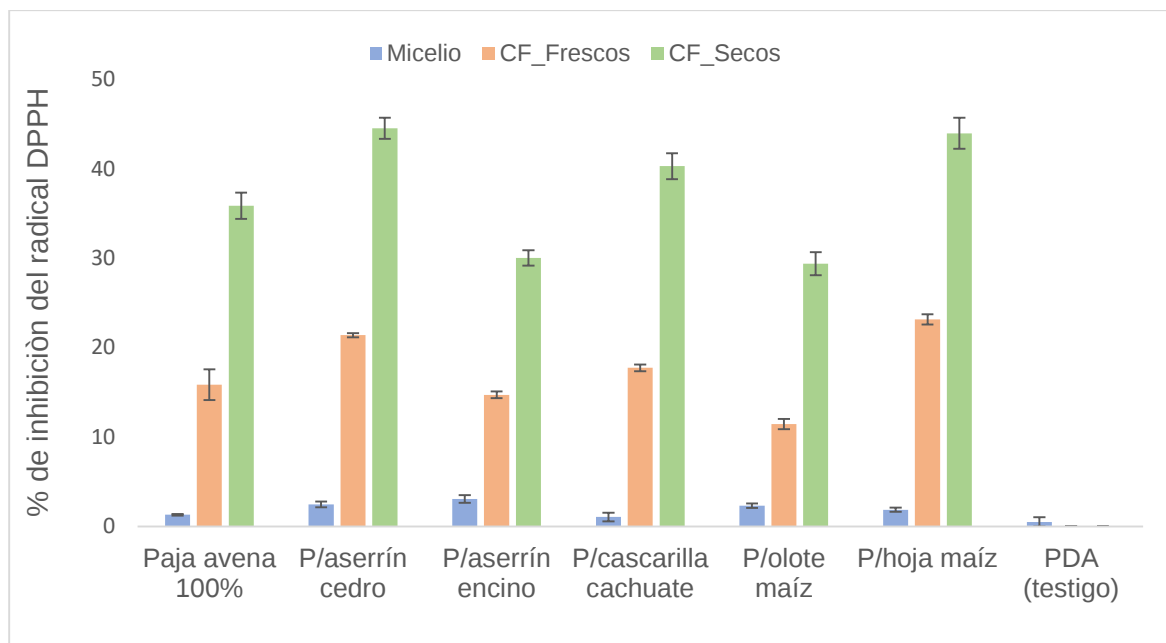


Figura 23. Porcentaje de inhibición del radical DPPH de *Pleurotus djamor* de extractos a temperatura ambiente.

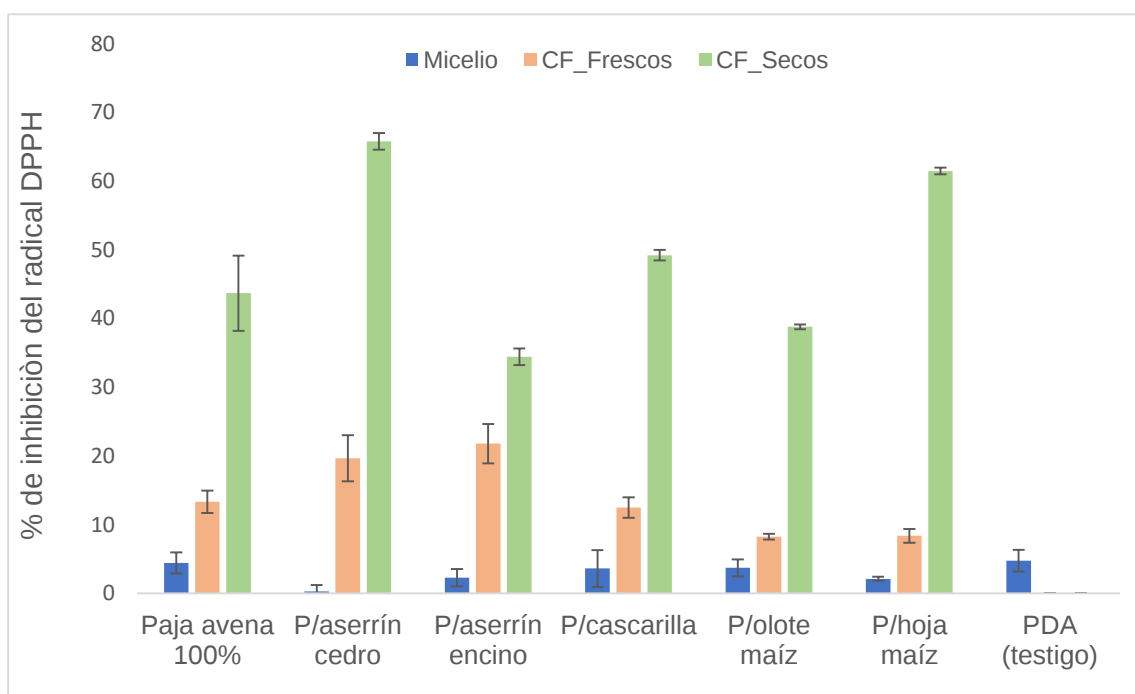


Figura 24. Porcentaje de inhibición del radical DPPH de *Pleurotus djamor* de extractos térmicos.

Alam et al. (2010) evaluaron la actividad antioxidante por el método de DPPH, el extracto de acetona presentó capacidad de inhibición (33.62 a 91.52%), seguida de metanol (49.33 a 85.13%) y el extracto acuoso a temperatura ambiente 36.35 a 82.81%) de *P. ostreatus*. En otro trabajo, se determinó la actividad antioxidante de hongos por el método DPPH de extractos metanólicos de hongos secos, *P. ostreatus* (cepa gris oscuro), *P. cornucopiae* (cepa amarilla) y *P. salmoneostramineus* (cepa rosa), la cepa amarilla mostró alta actividad antioxidante mediante la eliminación de radicales DPPH con 84.4%, seguida de la cepa rosa (54.5%) y cepa gris oscura (29%) (Kim et al. 2009). Vamanu et al. (2011) se centraron en la obtención de micelio de dos cepas de *P. ostreatus* (EVFB1 y EVFB4) por medio de fermentación sumergida para obtener biomasa, se liofilizó y se obtuvo extractos de etanol y metanol, el extracto de metanol de la cepa EVFB1 presentó mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH (89%), comparado con el extracto de la cepa EVFB4 que fue de 83 %, sin embargo en los extractos de etanol los resultados fueron cercanos, la cepa EVFB4 fue de 94.54% y EVFB1 con 92.3% de inhibición del radical DPPH.

Díaz-Godínez et al. (2015) evaluaron la actividad antioxidante micelial de *P. pulmonarius* crecido en un reactor airlift por el método DPPH, obteniendo aproximadamente un 30% de inhibición. Kongkla et al. (2016) evaluó la actividad antioxidante de cinco extractos metanólicos de cuerpos fructíferos secos de *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, *P. eryngii*, *P. cystidiosus* y *P. eous*, el extracto de *P. ostreatus* mostró el mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH con 98%, seguido de *P. sajor-caju* (89%), *P. eous* (80%), *P. eryngii* (62%) y *P. cystidiosus* (61%). Comparando estos resultados del autor mencionados anteriormente, en este proyecto en los extractos de cuerpos fructíferos secos son los que presentaron mayor porcentaje de inhibición, pero los extractos obtenidos a temperatura ambiente. González-Palma et al. (2016) reportaron que los extractos de muestras secas mostraron una mayor actividad antioxidante, que los extractos acuosos mostraron mayor actividad de eliminación de radicales DPPH que los extractos de metanol, tanto muestras secas como frescas y que el proceso térmico favoreció la actividad de eliminación del radical DPPH, ya que esos extractos mostraron una mayor actividad que los extractos obtenidos a temperatura ambiente, nuestros resultados también el mayor porcentaje de inhibición fue con cuerpos fructíferos secos. Silistiany et al. (2016) determinaron la actividad antioxidante por el método DPPH de *Pleurotus* spp. de extractos metanólicos de cuerpo fructífero y micelio seco, los extractos de cuerpo fructífero tenían una mayor actividad de captación de radicales DPPH comparado con los extractos de micelio (49.31 - 77.82%), sin embargo, estos resultados son más altos a los obtenidos en este trabajo para extractos de cuerpos fructíferos secos y micelio. Acosta-Urdapilleta et al. (2020) reportaron que el extracto metanólico de *P. djamor* var. *roseus* resultó ser el más eficiente en eliminar al radical DPPH con un 80%, seguido del extracto acuoso con un 60% y el extracto acuoso térmico con 39%.

Se evaluó el efecto de los suplementos de hongos seleccionados sobre la longevidad de la mosca de la fruta mexicana (*Anastrepha ludens*) y la capacidad antioxidante de 14 cepas del hongo *Pleurotus* spp. El porcentaje de inhibición del radical DPPH varió entre 32.6-85.7%, las cepas que presentaron mayor porcentaje de inhibición fueron *P. djamor* y la más baja *Pleurotus ostreatus*, se seleccionó la capacidad antioxidante para estudiar su efecto sobre la supervivencia, la esperanza de vida y la mortalidad de la mosca de la fruta mexicana *A. ludens*. Las moscas con la dieta con 1% de *P. djamor* ECS-0142 mostraron una supervivencia significativamente mayor comparada con dieta de control (Sánchez et al. 2015). Se ha reportado en varios trabajos, que, al enriquecer el consumo de antioxidantes en la dieta, se podría mejorar la condición de salud en los humanos, así como ayudar a prevenir algunas enfermedades, como es el caso de diabetes y algunos tipos de cáncer. En este trabajo se determinó el contenido de antioxidantes y compuestos fenólicos que no fue tan alto como se ha reportado en otros trabajos, sin embargo, puede ser considerado como un suplemento la harina de hongo, obtenida de cuerpo fructífero y/o micelio, además, se corroboró que el sustrato sobre el que crece el hongo tiene un efecto sobre el contenido y estabilidad del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

Los sustratos sobre que presentó mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante fue la combinación con cedro y cáscara de cacahuete, y solo en capacidad antioxidante fue la combinación con hojas de maíz. Según la tabla 6, se observa que el cedro y cacahuete son parecidos en el contenido celulosa, hemicelulosa y lignina (probablemente por eso presentaron valores semejantes de EB, ya que el proceso de rompimiento de las moléculas fue parecido), sin embargo, el desecho del maíz presenta valor más bajo y fue el que presentó mayor EB, pero debe haber moléculas que le favorecieron, por lo que, se debe conocer la composición completa de cada uno de los sustratos para poder correlacionarlo. El cedro presenta alto su contenido de fenoles y flavonoides, lo que pudo haber ayudado a mejorar el contenido en el cuerpo fructífero de *P. djamor*, sugerimos que pudo ser semejante en el caso de la cáscara de cacahuete (no hay reportes de fenoles y flavonoides), por lo que se podría mejorar el contenido de antioxidantes y fenólicos utilizando sustratos que sean ricos en dichos compuestos, la cáscara de cacahuete es una opción viable, ya que es un desecho que no tiene un uso hasta ahora, por lo que se consigue a precio muy accesible, lo cual no sucede con el cedro (una de las maderas preciosas de alto valor comercial).

Tabla 6. Composición de algunos sustratos

Componente	Composición (%)		
	Cedro	Cáscara Cacahuete	Planta de maíz
Holocelulosa	60-70		
Celulosa	38-27	45-35	26.67
Hemicelulosa	32	30-23	27.18
Lignina	31-33	33-27	9.48
Fenoles	355-211 (mgEAG/g)		
Flavonoides	178-81 (mgEAG/g)		
Bibliografía	Rosales-Castro (2016)	Gatani et al. (2010)	Galina et al. (2002)

10.Conclusiones

Dentro de los seis sustratos evaluados, el mejor en eficiencia biológica fue la combinación de hoja de maíz, para el establecimiento y desarrollo de *P. djamor*, esta alternativa es rentable, es una opción de uso de un residuo de la agricultura y a la vez se obtienen beneficios ambientales y socioeconómicos.

En general, los extractos a temperatura ambiente presentaron mayor contenido de fenoles y actividad antioxidante comparado con los que tuvieron tratamiento térmico, lo que sugiere que presentan componentes que son sensibles a la temperatura. Así como presentaron mejores resultados los extractos de cuerpo fructífero seco, comparado con cuerpo fructífero fresco y micelio.

El extracto que presentó mayor contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante, fue la combinación de cáscara de cáchuate y cedro, lo que se puede deber a que los sustratos presentan alto contenido de compuestos fenólicos y pueden incrementar el contenido en los cuerpos fructíferos crecidos en dichos sustratos.

Por último, los resultados muestran que no existió una correlación entre la cantidad de polifenoles y porcentaje de actividad antioxidante, por lo que la actividad antioxidante no solo está dada por polifenoles, si no puede deberse también a la presencia de diferentes moléculas o sustancias no determinadas en este trabajo pero que tienen actividad antioxidante. Por lo que, *P. djamor* es una gran alternativa para ser utilizado como suplemento de antioxidante natural y alimento funcional.

11. REFERENCIAS

- Acosta-Urdapilleta L., Téllez-Téllez M., Villegas E., Estrada A. Díaz-Godínez G. (2016). Caracterización de cinco especies de *Pleurotus* crecidas en cuatro medios de cultivo. Mexican Journal of Biotechnology. 1(1).
- Agapito, A. R. (2016). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor* var. *roseus* utilizando como sustrato A. *Erichhornia crassipes* (lirio acuático). Tesis de licenciatura, UAEM.
- Agudo L. (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes. Revista de Educación. 494.
- Aubad P, Rojano B, Lobo T. (2007) Actividad antioxidante en musgos. Scientia Et Technica.13 (033): 23-26.
- Avello M., Suwalsky M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. 494.
- Barradas J. (2010). Saberes compartidos. Revista de divulgación científica, tecnológica y humanística. 5 (1).
- Beltrán, Y., Morris, H., de la Cruz, E., Quevedo y Bermúdez, R. (2013). Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 32(2),121-129.
- Catarino, M., Mata, G., y González, T. (2007) Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor* sobre dos subproductos agrícolas en guerrero. El cultivo de setas *Pleurotus* spp. en México, 134.
- Coronado M., Vega S., Gutiérrez R., Vázquez M., Radilla C. (2015). Antioxidantes perspectiva actual para la salud humana. Revista chilena de nutrición. 42(2).
- De la Cruz, E. (2012). Determinación de las potencialidades antioxidantes de *Pleurotus* spp. *in vitro* a partir de extractos hidrosolubles.
- Díaz L. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina.
- Díaz, E., y Carvajal, E. (2010). Aprovechamiento de residuos provenientes de la palma de aceite para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.
- Díaz-Acosta A., Membrillo-Hernández J. (2006). Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. Revista Española de Ciencias. Quim-Biol. 9(1), 34-44.
- Díaz-Godínez, G., Téllez-Téllez, M., González-Palma, I., y Hernández-Pérez J. (2015) Actividad antioxidante de *Pleurotus pulmonarius* crecido en un reactor airlift.
- Ferreira I., Barros L. (2009). Antioxidants in wild mushrooms.
- Gaitán-Hernández R., Salmenes D., Pérez R., Mata G. (2006). Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción. Xalapa, Veracruz, México. Instituto de ecología.19-25.
- Galina, A., Ruiz, G., y Ortiz, A. (2002). Ceba de bovinos con punta de caña y planta de maíz suplementados con bloque proteico de urea o concentrado, 25(3).

- García, C., Hernández, G., Blanco, C., y Gil, R. (2014). Caracterización del crecimiento micelial *in vitro* de *Pleurotus albidus* Pegler 1983 y *Pleurotus djamor* Boedijn 1959, en tabasco, México. *Kuxulkab*, 19(37).
- Gatani, M., Argüello, R., y Sesín, S. (2010). Materiales compuestos de cáscaras de maní y cemento. Influencia de diferentes tratamientos químicos sobre las propiedades mecánicas. *Materiales de Construcción*, 137-147.
- Gavira C., Ochoa C., Sánchez N., Medina C., Lobo M., Galeana P., Mosquera A., Tamayo A., Lopera y Rojano B. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño. *Revista boliviana*. 8:6, 519-528.
- González-Palma, I., Escalona-Buendía, B., Ponce-Alquicira, E., Téllez-Téllez, M., Gupta, V. K., Díaz-Godínez, G., y Soriano-Santos, J. (2016). Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. *Frontiers in microbiology*, 1099.
- Gutiérrez H. (2012). Evaluación de residuo de papel y sus mezclas con paja de trigo para el cultivo de *Pleurotus djamor* var. *roseus*. Tesis de licenciatura, UAEM.
- Guzmán G. (2000). Genus *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (*Agaricomycetideae*): diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses. *International Journal of Medicinal Mushrooms*.
- Guzmán M., Zúñiga N., Gabriel G., Torres O., Angulo A. (2009). Actividad antioxidante y estudio químico del hongo *Pleurotus djamor* recolectado en Córdoba. Departamento de química, 64-67.
- Herrera T., Ulloa M. (1998). El reino de los hongos. Micología básica y aplicada.
- Hicks J., Torres-Ramos Y., Sierra-Vargas M. Estrés oxidante, concepto y clasificación. *Revista de Nutrición*, 223-226.
- Huaping L., Huajie Z., Zheng G., Xinling S., Wenshuai W., Frangfang Y., Yanbo F., Yiwen Z., Jianjun Z., Shuliang Z., Lee J. (2019). Los efectos antioxidantes y antienviejimiento de los polisacáridos de micelios acetilados de *Pleurotus djamor*. Academia de ciencias agrícolas de Dezhou, china.
- Jegadeesh R., Hariprasath L., Kumaresa K., Raaman N. (2014). In vitro Antioxidant and antibacterial Activities of Fractionized Extracts of Edible Mushroom *Pleurotus djamor* var. *roseus*, 2278-5213.
- Jegadeesh, R., Lakshmanan, H., Kab-Yeul, J. A. N. G., Sabaratnam, V., y Raaman, N. (2018) Cultivation of Pink Oyster mushroom *Pleurotus djamor* var. *roseus* on various agro-residues by low cost technique.
- Jiménez A., Sánchez M., Martínez M. (2012). Optimización del método de captación del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar la actividad antioxidante en bebida de café. *Revista Veterinaria*, 67-78.
- Kozarsky M., Klaus A., Jakovlievic D., Todorovic N., Vunduk J., Petrovic P., Niksic M., Uruic M., Griensven L. (2015). Antioxidantes de las setas comestibles. Departamento de química y bioquímica, 10-19489.
- Landa E. (2008). Aislamiento de esteroides a partir del hongo comestible *Pleurotus djamor* var. *djamor*. Tesis de maestría, Universidad Veracruzana.

- López Coba, E., Ancona Méndez y Medina Peralta S. (2005). Cultivo de *Pleurotus djamor* en condiciones de laboratorio y en una casa rural tropical. *Revista Mexicana de Micología*. 21: 93-97.
- Martínez-Carrera D. (1984). Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre desechos agrícolas. Obtención y caracterización de cepas nativas en diferentes medios de cultivo sólido en el laboratorio. *Biótica* 9: 243-248.
- Martínez-Sámano J., Torres-Duran P., Juárez-Oropeza M. (2011). El glutatión y su asociación con enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Revista de educación bioquímica*. 30 2:56-67.
- Massart, G., Vandeginste, C. Buydens, S. Lewi, J. (1997). Smeyers-Verbeke, "Handbook of Chemometrics and Qualimetrics.
- Mendoza M. (2016). Determinación de la actividad antioxidante de dos cepas de *Pycnoporus* spp. Crecidas en cultivo sólido. Tesis de licenciatura, UAEM.
- Motato E., y Mejía, A. (2006). Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (*Musa paradisíaca*) y aserrín de abarco (*Cariniana piriformes*) como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*, 13(1), 24-29.
- Oropeza M. (2017). Productividad y actividad de cepas silvestres reconstruidas e híbridas de *Pleurotus djamor*. Tesis de maestría. Universidad tecnológica de la mixteca.
- Paswall, S., Mughal, N., Bharti, V., Mahajan, S., y Majeed, M. (2017). Evaluation of locally available substrates for sporocarps production of pink *Pleurotus* [*Pleurotus djamor* (Rumph. ex. Fr.) Boedijn] mushroom. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 1677-1684.
- Piña-Guzmán A., Nieto-Monteros D., Robles-Martínez F. (2016). Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (*Pleurotus* spp). *Revista Internacional de Contaminación*. 32, 141-151.
- Puzanowska T., Kuzmicka L., Tarasiewicz M. (2009). Biological function of some elements and their compounds. II. Selenium, selenate, selenium organic compounds. *Pol merkur Lekarski* 27(159), 249-252.
- Quintar E., Calderon S. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*. 28:3 89-101.
- Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrition Hospitalaria*. 27:1. 76-89.
- Rojano B, Saez J, Schinella G, Quijano J, Vélez E, Gil A. (2008) Experimental and theoretical determination of the antioxidant properties of isoespintanol (2-isopropyl-3,6-dimethoxy-5-methylphenol). *Journal of molecular structure*. 2008; 877 (1-3): 1-6.
- Román M., Alva A., Pinzón A., Carvajal K. (2016). Papel inmunomodulador y antioxidante de zinc y el selenio en el tratamiento coadyuvante de infecciones respiratorias graves. *Revista de educación bioquímica*. 35:1.3-10.

- Romero, A., Cabaleiro, T., Caride, A., Y Lafuente, A. (2008). Posible papel protector de la melatonina frente a la toxicidad neuroendocrina inducida por cadmio. *Revista de Toxicología*, 25(1-3), 3-11.
- Ronald L. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant U.S. Department of agriculture, Arkansas children's nutrition center.
- Rosales-Castro, M., Honorato-Salazar, J. A., Santos-García, A. B., Pérez-López, M., Colotl-Hernández, G., Y Sánchez-Monsalvo, V. (2016). Composición química de las hojas y ramas de *Cedrela odorata* L. de dos plantaciones forestales como fuente de materia prima lignocelulósica. *Madera y bosques*, 22(2), 131-146.
- Royse, D. J., (1989). Factors influencing the productions rate of *shittake*. *Mushroom Journal for the tropics*. 9: 27-138.
- Salmones D. (2017). *Pleurotus djamor*, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. Instituto de ecología, Veracruz, Mexico. *Scientia Fungorum*, (46): 73-85.
- Salmones, D., L. Mestizo Valdéz y R. Gaitán-Hernández. (2004). Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedjin. *Revista Mexicana de Micología*. 18: 21-26.
- Sánchez M. (2002). Evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science thechnology international* 8(3), 121-137.
- Sayago, A., Marín, M. I., Aparicio López, R., Y Morales, M. T. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y aceites* 58 (1): 74-86.
- Singleton VL, Rossi JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- Smith H., Doyle S., Murphy R. (2015). Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food chemistry* 185:389-397.
- Sobal M., Martinez-Carrera D., Morales P., Roussos S. 2007. Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. *Micología Aplicada Internacional*. 19(1): 15-23.
- Sobal, M., Carrera, D. M., Morales, P., y Roussos, S. (2007). Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. *Micología Aplicada Internacional*, 19(1), 15-23.
- Tormo, S., Tormo, S., y Arigüel, E. (2014). Glutati6n en células cancerosas: Efecto de los polifenoles naturales y posibles aplicaciones terapéuticas. Tesis de doctorado, facultad de ciencias biológicas.
- Tschierpe, J. y Hartmann. (1997). Acomparision of different growing methods. *Mushrooms Journal* 60: 404-416.
- Vega, A., y Franco, H. (2013). Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. *Información tecnológica*, 24(1), 69-78.
- Velázquez P., Prieto G., Contreras P. (2004). Envejecimiento y los radicales libres. *Ciencias*. 36-43.

- Venéreo G. (2002). Daño oxidativo, radicales y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 3:2. 126-133.
- Vítale A., Bernabé E., Pomilio A. (2010). Carotenoides en quimio prevención: licopeno. *Acta bioquímica Clínica latinoamericana*. 44:2. 1995-238.
- Xammar Oro, D., y Donnamaría, C. (2006). Acción farmacológica, biofísicoquímica y estructura dinámica de la vitamina C. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 25(1): 145-54.
- Zorrilla A., Eirez M., Izquierdo M. (2004). Papel de los radicales libres sobre el ADN, carcinogénesis y terapia antioxidante. *Revista Cubana de Investigaciones biomédicas*. 23:1.

Cuernavaca, Morelos a 28 de octubre de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Cardona Pérez Diana Modesta**, con el título del trabajo: **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE *Pleurotus djamor* CULTIVADO EN SEIS COMBINACIONES DE SUSTRATO.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para contar con el **voto de calidad** y pueda optar por la Modalidad de **Titulación Profesional por Etapas** como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DRA. ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL

SECRETARIO: DRA. ROSA EMILIA PÉREZ PÉREZ

VOCAL: DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

SUPLENTE: BIÓL. RITA BARRETO GONZALEZ

SUPLENTE: BIÓL. NESTOR IRAI BAUTISTA GARCIA

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL | Fecha:2021-10-28 13:45:51 | Firmante

EXIXpRa/xilqTqKzYvg8rpGEZJpUvKGuOUh6S5Gmhtjpsp4lw2LxXjB9xzqe4qdleZkcqjS2vJGs55hSvKeialfozCj9gg1HxijTE+FOZ6alqivg2c8Cizbfa2Dy5czqs4AV1sC0po9cr3cwfK4NIAM5CHVRB12CHmM4rvy7ZHUYt8kUYsTYMmOxhUss30LYgxuwn/eig1pbGCKX3wThrRM8XTnpd5Udg+BgfBgKBC3avJPmWJAdFNN9TOJv89sj1fAw8X8CGMu3Yas2HP2kEfOk2P6PLl6sMMTbBtSBivTREvKSPykShk+Lc2wOFJWzLtl21zgNwvqgx9NqbW8ew==

NESTOR IRAI BAUTISTA GARCIA | Fecha:2021-10-28 15:09:21 | Firmante

d72mez++ctAkQbwF+U8wMZBQXPX1R+T0r4PxYV7BkwUCn0WTj2v6Adh9PS3AjdXp8R9IBHGMUcsh+1wLIUs+VZEAmURhZqsInY/tEijcgtVoZK1VqvH6SL8rqtLaE3Z0rFQFjRPxH3tMC6pdVghXlmkCYfLTac1Yh90MrEi4AopqV9HaS/pfi4DCAPnw41K7CUmmEz1Xsu4jPG5StblqqA2Su1KNS4bbqw4RvPEAE9iJTVhKtStNUQJOJY6Aza8rKCAWke5ZttvWVmosDd72WMvC2CkqsU2QzVYj67vBn0b1bRCDhMOhoQPRgrHqIHCA/4+2/CL1trxmWz78T5w==

MAURA TELLEZ TELLEZ | Fecha:2021-10-28 20:46:58 | Firmante

ALke4fJHfvdjcvEpPoJSM0zi7oqgPm5bXaSU5kU3hYteAznojnuh/cF7dac8iUVVgon8d4Rwwp16poVWqFs9kdvgc5huqdarLxm6mQo9qVRmfrVY15jy6qth7lpwjtLp39BWZxDaJuqrU//YnJw0sOjpJdfyQmUnwV9lo1lw3QL3+btaw/IPub/XGeB+n6tHHlnQQ1GNI7c4Q7+qPETLgMpO9EyNVnqTKacpikuK/Re6ra9kH5Ws0Fk9cBf1HnXFvfw3rhBrIt0EuuDqyoxgOr/0PNa5GnUUG3wWnxOAKClnMLbuLF+Qe05BwwwGfZpaOzSZ21Nv2trCp02HDQ==

RITA BARRETO GONZALEZ | Fecha:2021-11-04 19:44:13 | Firmante

h/WQlw9W73AScrY5s75jNAB4oSuADT3OJvc5quaCLgVb49yXkwEWA3GEvAUNqn92fLDL7Xcw9MQ3V6SgyR0rvomfiBS3bReM+9rptk/SYs8ydYB0vorJozKNqxztLRLChfCjMrhQPT+YPJNOKdEA8b1ojrOPyMHKylsGOSQVPRg3gBgZ4/edcK4MmcpoxN7TywlkK89e/mFh6ib4wTA7u5hx6NHmlf43yRGpDIMyb0XUQNmapD3DHSBEPV4tc/iX+QED5olAeM2lBh2npVcA1dgubKSUoF1cQ0NL8lHfWwhINS5F4DW07PM8Ov37WH8+RbPFADpG4IgvMu3XA==

ROSA EMILIA PEREZ PEREZ | Fecha:2021-11-05 17:17:56 | Firmante

UvbgEWvdgRyAUPJHqNRIpDvYn3FLGs4lniCwwkz5ajUQPAP20FNnGsvSva3dOaMCTrd2yhZlwMQG/GboOeQ90wMhijJr5Hn8/1XEY5rj45P3fc1V65Cm1pxTTJL6ZMEalGCJmkZ5JRzNJGf9WsGuJiGn5AVXCseIQ5PiJGQYIfD9HgXbHYPPvc0uVOzSzZv83SHlFOi+xfpCB38NH9mqUQBYhZXJhFwxkoGoyF6Taxn0o+jwz+5YZYalVomSHptH2VCASgNVKBcdCfxkgTjksrjWaoECikBfRx3mUdH/kE3cwLMAUGUbFuxqTK5H69MXaZAmFu4cReMDIz6RDzjOw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



p04AKkQrs

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8SAzUDgoVPUVHTaoZB1BWlwifslMKoEm>