

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATUARALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y NATURALES

**Macrohongos medicinales y comestibles como fuente de antioxidantes y antibióticos
naturales**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Biológicas

JORGE ANDRÉS FLORES ANCHATUÑA

Quito, 2015

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas del candidato Señor Jorge Andrés Flores Anchatuña ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dr. Carlos A. Soria

DIRECTOR DE LA DISERTACIÓN

Quito, 10 de noviembre de 2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, especialmente a mi Director de tesis Dr. Carlos A. Soria, por permitirme desarrollar la investigación en el laboratorio de Bioquímica 112, a la Dra. María Eugenia Ordoñez y Dra. Iliana Alcocer, por la oportuna guía que me ofrecieron en el transcurso de la investigación.

Agradezco a mi familia, Sixto, Georgina y María José, por brindarme herramientas, confianza y aliento siempre que fue necesario; a todos los investigadores sin los cuales mi trabajo de tesis no habría sido posible, Lic. Andrés Salazar, Lic. Andrea Rodríguez, Lic. Cristina Toapanta, Ing. Julio Sanchez, Ing. Cristian Moncayo, Carla Rubio, y a todos los que conforman el laboratorio de bioquímica 112 de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--------------------------------------|-----|
| CERTIFICACIÓN..... | III |
| AGRADECIMIENTOS..... | IV |
| TABLA DE CONTEADINOS..... | V |
| LISTA DE FIGURAS..... | VI |
| LISTA DE TABLA..... | VII |
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. ABSTRACT..... | 2 |
| 3. MANUSCRITO PARA PUBLICACIÓN | 3 |
| PUBLICACIÓN..... | 4 |
| INTRODUCCIÓN..... | 4 |
| MATERIALES YMÉTODOS..... | 5 |
| RESULTADOS..... | 8 |
| DISCUSIÓN..... | 8 |
| CONCLUISIONES..... | 12 |
| LITERARUTA CITADA..... | 13 |
| FIGURAS..... | 20 |
| TABLAS..... | 22 |
| ANEXOS..... | 34 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Curva de efectividad antioxidante para cada extracto de macrohongo. Controles positivos: ácido ascórbico, bisulfito de sodio; control negativo (medio de cultivo). Sobre el eje Y porcentaje de actividad antioxidante, sobre el eje X concentración de extractos utilizados.....20
- Figura 2.** Halos de inhibición de crecimiento de la bacteria *E. coli*. (A) extracto *Ganoderma* sp2, (B) extracto *Ganoderma* sp3, (C) extracto *Ganoderma* sp1.....21
- Figura 3.** Halos de inhibición de crecimiento de la bacteria *S. aureus*. (A) extracto *Ganoderma* sp1, (B) extracto *Ganoderma* sp3, (C) extracto *Ganoderma* sp2.....21

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Estimación EC50 para cada extracto calculada en base a la curva de efectividad | 22 |
| Tabla 2. Media calculada para el diámetro de los halos de inhibición (mm) obtenidos con los extractos para cada bacteria | 23 |
| Tabla 3. Promedio lecturas de absorbancia para cada extracto y cuatro repeticiones | 24 |
| Tabla 4. Cálculo de ANOVA de la efectividad antioxidante. | 29 |
| Tabla 5. Cálculo de DHS de Tuckey para la Actividad Antioxidante..... | 30 |
| Tabla 6. Medidas diámetro halos de inhibición de crecimiento de bacterias..... | 31 |
| Tabla 7. Cálculo de ANOVA de la actividad bactericida, variable dependiente: Diámetro. | 32 |
| Tabla 8. Cálculo de la prueba X2 para cada extracto..... | 33 |

1. RESUMEN

El objetivo del estudio fue analizar la actividad antioxidante y bactericida de extractos metanólicos obtenidos de siete especies de macro hongos de los géneros *Auricularia*, *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Pleurotus* y *Trametes*. La actividad antioxidante de los extractos se analizó mediante el método del radical libre 2,2-difenil1-picrilhidracilo (DPPH). Existen diferencias significativas entre las especies analizadas, el extracto de *Auricularia* sp. fue el más efectivo como antioxidante mientras que *Trametes* sp.1 posee el extracto con menor actividad. El efecto bactericida se analizó mediante el método “Agar well diffusion”; se usaron las bacterias *Escherichia coli* “American Type Culture Collection” (ATCC) 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Ganoderma* sp.2 y *Auricularia* sp. fueron las especies con mayor actividad bactericida. El estudio confirma la presencia de compuestos con función antioxidante y bactericida en las especies de hongos analizadas.

Palabras clave: *Auricularia*, ATCC, DPPH, extracto, *Ganoderma*.

2. ABSTRACT

Antioxidant and antimicrobial activity of methanolic extracts obtained from seven fungal species belonging to the genres *Auricularia*, *Fomitopsis*, *Ganoderma*, *Pleurotus* and *Trametes* were analyzed. Antioxidant properties of the extracts were determined by the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The extract obtained from *Auricularia* sp. was the most effective DPPH scavenger. Antimicrobial activity was determined using the agar well diffusion method against *Escherichia coli* American Type Culture Collection (ATCC) 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Ganoderma* sp.2 and *Auricularia* sp. were the most active species. This research confirms the presence of antioxidant and antimicrobial compounds in the extracts of the fungal species analyzed.

Key words: *Auricularia*, ATCC, DPPH, extracts, *Ganoderma*.

3. MANUSCRITO PARA PUBLICACIÓN

REVISTA

Mexicana de Micología

TÍTULO

Macrohongos medicinales y comestibles como fuente de antioxidantes y antibióticos naturales

AUTORES

Jorge Flores¹, Carlos A. Soria¹

jafa90s@gmail.com

casoria@puce.edu.ec

¹ Laboratorio de Bioquímica.112, Escuela de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Av. 12 de Octubre 1076 y Roca, Quito, Ecuador.

Introducción

Los hongos han estado ligados al ser humano desde hace siglos, usados principalmente como alimento y medicina (Li *et al.*, 2005; Solak *et al.*, 2006), se conoce que acumulan una variedad de metabolitos secundarios incluyendo policétidos, compuestos fenólicos, terpenos y esteroides (Cheung *et al.*, 2003). Debido a su condición de antioxidantes dichos metabolitos contribuyen a disminuir el riesgo de cáncer, reducir inflamaciones, combatir alergias, equilibrar el nivel de azúcar en la sangre y promover el buen funcionamiento del sistema inmune (Wasser y Weis, 1999; Ada *et al.*, 2005; John, 2005; Mallavadhani *et al.*, 2006; Turkoglu *et al.*, 2007; Tsai *et al.*, 2007). Los hongos producen antioxidantes y bactericidas para sobrevivir en sus ambientes naturales, dichos compuestos pueden ser extraídos de su fase vegetativa o micelio.

Enfermedades degenerativas vinculadas al envejecimiento celular están a su vez asociadas al estrés oxidativo; éste último es causado por un desequilibrio entre la producción de radicales libres y la capacidad de un sistema biológico para reducir los reactivos intermedios. Los radicales libres se definen como cualquier molécula o átomo con uno o más electrones desapareados (Yoshikawa *et al.*, 1997), estos son capaces de captar electrones y generar daño a macromoléculas importantes como ADN, lípidos y proteínas de membrana. El estrés oxidativo contribuye significativamente a la patogénesis de enfermedades inflamatorias, cardiovasculares, cáncer, diabetes, Alzheimer, cataratas, entre otras (Ames *et al.*, 1993; Halliwell, 1995; Geier *et al.*, 2009).

Ciertos antioxidantes sintéticos comúnmente utilizados en la industria alimenticia, entre ellos Butilhidroxianisol (BHA), Hidroxitoluenobutilado (BHT) e Hidroquinona terbutil (TBHQ)

están asociados con efectos tóxicos como urticaria, rinitis, asma, diaforesis y dermatitis (Fisherman, 1973; Juhlin, 1981; Tosti y Bardazzi, 1987; Kahl y Kappus, 1993; Orton y Shaw, 2001; Varuna *et al.*, 2014).

La resistencia bacteriana a los antibióticos conocidos representa una de las amenazas más serias a la salud mundial. Este escenario limita la capacidad que poseemos para combatir infecciones, especialmente en pacientes vulnerables como los que atraviesan diálisis y trasplante de órganos, en cuyo caso la necesidad de controlar infecciones secundarias es vital (Byarugaba, 2004). En este contexto resulta indispensable encontrar nuevos compuestos que nos permitan combatir amenazas a la salud mundial. Los macrohongos representan una alternativa como fuente para la obtención de nuevos antioxidantes y bactericidas con posibles aplicaciones en ciencia e industria. (Adams y Wermuth, 1999; Mattil *aet al.*, 2000; Mau *et al.*, 2004; Puttaraju *et al.*, 2006; Oyetayo, 2007; Liu *et al.*, 2013). El presente estudio evaluó la actividad antioxidante y bactericida de extractos obtenidos de cultivos “*in vitro*” de la fase miceliar de macrohongos comestibles y medicinales aislados localmente.

Materiales y Métodos

Se utilizaron un total de seis cepas: *Auricularia* sp, *Ganoderma* sp.2, *Ganoderma* sp.3, *Fomitopsis* sp, *Pleurotus* sp. y *Trametes* sp. Las cepas fueron colectadas por Andrés Salazar y Jorge Flores en la provincia de Orellana, Ecuador, en el año 2012. Se obtuvo micelio de cada cepa por separado en cultivo “*in vitro*” (caldo sabouraud pH 5,6). Los cultivos se mantuvieron a 28°C por tres meses para luego separar mediante filtrado al micelio del medio líquido. Los extractos fueron obtenidos a partir del medio de cultivo libre de micelio usando metanol como

solvente. Se retiró el metanol para obtener un extracto en polvo utilizando un Rotavapor BOECO RVO 400SD.

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AT) de los extractos fúngicos fue determinada usando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (Soler *et al.*, 2000). Se realizaron 15 diluciones en metanol (0-1500 µg) de cada extracto así como de los controles positivos (Ácido ascórbico, Bisulfito de Sodio). Por separado se mezcló cada dilución con 1ml de solución DPPH 1mM. El radical libre DPPH posee absorbancia estable a 517nm, los antioxidantes donan naturalmente protones a este radical y durante este proceso la absorbancia de DPPH decrece; estos valores de absorbancia fueron tomados como medida de AT. Se obtuvo una curva de efectividad a partir de cuatro lecturas por muestra y se las comparó con los controles positivos. Como control negativo se utilizó extracto del medio de cultivo sin crecimiento de hongo (Caldo sabouraud).

El porcentaje AT se calculó usando la siguiente ecuación:

$$(\%AT) = 100 \times (\text{Absorbancia blanco} - \text{Absorbancia muestra} / \text{Absorbancia blanco})$$

Se expresó %AT con valores de EC50, estos representan la concentración de cada muestra que inactiva el 50% de los radicales DPPH.

Efecto bactericida

Para el ensayo se utilizaron las bacterias *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y extracto de cinco cepas: *Auricularia* sp., *Pleurotus* sp., *Ganoderma* sp.1, *Ganoderma* sp.2 y *Ganoderma* sp.3. Las cepas de bacterias fueron obtenidas del laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. El efecto bactericida fue analizado mediante el método “agar well diffusion” (Magaldi *et al.*, 2004). Se preparó un inóculo de cada bacteria ajustado a una turbidez 0,5 McFarland, éste se distribuyó uniformemente en cajas Petri independientemente para cada bacteria.

Se añadió de forma independiente 50 mg de cada uno de los cinco extractos en orificios de 6mm de diámetro previamente hechos en el agar. Se incubaron las cajas Petri a 4 °C durante 2 horas para promover una difusión uniforme, posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se evaluó la actividad bactericida usando la medida del diámetro de la zona de inhibición observada en el agar. Como control negativo se utilizó extracto del medio de cultivo sin crecimiento de hongo.

Análisis Estadístico

Para determinar diferencias estadísticas de %AT se calculó utilizando el software SPS: EC50, ANOVA de una vía y test de Tuckey de cada extracto. Para la prueba de actividad bactericida de los extractos se calculó ANOVA de una vía y prueba de Tukey usando el mismo software.

Resultados

Efecto antioxidante

Se evaluó la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de micelio usando el método del radical libre DPPH, se obtuvo una curva de efectividad (Figura 1) y los valores de EC50 para cada extracto (Tabla 1).

Los extractos metanólicos presentan diferencias significativas: El extracto de *Auricularia sp.* mostró la mayor actividad antioxidante (EC50=163,171 µg/ml) seguido de *Ganodermasp.2*, *Pleurotus sp.*, *Ganodermasp.3*, *Fomitopsis sp.*, *Trametes sp.*, (Tabla 1). La curva de efectividad muestra los porcentajes de AT para cada extracto y controles usados en el ensayo (Figura 1).

Actividad bactericida

Todos los extractos analizados mostraron actividad bactericida. El diámetro de inhibición para cada extracto y bacteria está resumido en la Tabla 2. El valor máximo de inhibición fue obtenido con los extractos de *Ganoderma sp.2* (21,3 mm) y *Auriculariasp.* (15,9 mm) para las bacterias *S. aureus* y *E. coli* respectivamente.

Discusión

Los resultados confirman la presencia de compuestos con actividad antioxidante y bactericida en todas las especies analizadas y es por esta razón que todos los extractos poseen valores de EC50 inferiores a los obtenidos con el Bisulfito de sodio, es decir, se requiere una menor concentración de extracto que de Bisulfito de Sodio para eliminar la misma cantidad de

radicales libres, sin embargo existen diferencias significativas entre la actividad de los extractos.

Auricularia sp. fue la cepa más destacada por su actividad antioxidante, el extracto obtenido supera el 90% de AT a una concentración de 600 µg/ml (Figura 1) y el valor de EC50 (163,1 µg/ml) supera la capacidad antioxidante “in vitro” calculada para el ácido ascórbico (EC50= 367,1 µg/ml) (Tabla 1). *Fomitopsis* sp2 y *Pleurotus* sp. Superan también el 90% de AT a una concentración de 1400 µg/ml y 1200 µg/ml respectivamente (Figura 1), sin embargo, los valores de EC50 calculados indican una menor capacidad antioxidante con respecto al ácido ascórbico (Tabla 1).

Las especies analizadas en el presente estudio poseen mayor actividad antioxidante en comparación con especies usadas en estudios previos debido a que las concentraciones usadas para superar el 90% de AT son mucho menores. Huang *et al.* (1999) encontró que el extracto de *Agaricus blazei* posee 97,1% AT a una concentración de 2,5 mg/ml, *Antrodia camphorata* (97,1% AT) *Agaricus blazei* (98,8% AT) y *Agrocybe cylindracea* (93,8% AT) a una concentración de 5 mg/ml (Huang, 2000; Tsai *et al.*, 2006); mientras que en el presente estudio se usaron diluciones del orden de los microgramos y se obtuvieron porcentajes de AT superiores al 90% en más de una especie.

La presencia de potentes antioxidantes en hongos lignícolas podría ser explicada tomando en consideración sus procesos digestivos, en los que intervienen múltiples exoenzimas como ligninasas, celulasas, oxidasas y peroxidasas. Dichas enzimas producen radicales libres durante

la digestión extracelular (Shimada *et al.*, 1997), razón por la que se entiende la presencia de abundantes antioxidantes, que probablemente actúan como protectores de membrana.

Los extractos utilizados para el ensayo no están purificados, a diferencia de los controles positivos, por lo que su efecto puede inclusive verse incrementado una que vez se identifiquen y aislen los compuestos que poseen actividad antioxidante.

Se ha demostrado que polisacáridos y complejos polisacáridos-proteínas son responsables de la importante actividad antioxidante en algunos hongos medicinales (Wu y Wang, 2009; Tseng *et al.*, 2008); otros autores consideran que los compuestos fenólicos poseen aun mayor actividad antioxidante (Mau *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2007; Turkoglu *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008). Entre los compuestos que actúan como recicladores de radicales superóxido e hidroxilo encontramos: compuestos fenólicos como ácido benzóico, ácido p-coumárico, ácido vanillico, ácido transcinnámico y ácido protocatecuico (Liu *et al.*, 1977; Dubost *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008), β -caroteno, α -tocoferol, γ -tocoferol y flavonoides (Barros *et al.*, 2007; Elmastas *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2002; Jayakumar *et al.*, 2009).

Los hongos medicinales y comestibles de hábito lignícola, como los usados en el presente estudio, han mostrado gran capacidad antioxidante y más aún, la capacidad antioxidante se ha correlacionado positivamente con la capacidad bactericida (Barros *et al.*, 2007).

Efecto Bactericida

Los resultados obtenidos son consistentes con estudios previos en los que se reporta actividad bactericida en extractos de *Ganoderma* y *Lentinus* (Suay *et al.*, 2000; Rosa, *et al.*, 2003; Yamac y Bilgili, 2006).

El mecanismo de los compuestos antibióticos no está comprendido en su totalidad, los principales cambios que están involucrados en el efecto bactericida incluyen la ruptura de membrana, pérdida de permeabilidad, y coagulación del citoplasma. Las especies del género *Ganoderma* contienen Triterpenos y Ganomicinas (Shiao, 1992), compuestos capaces de inhibir el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (Mothana *et al.*, 2000; Ofodile *et al.*, 2005). Los compuestos fenólicos pueden actuar mediante la inactivación de proteínas de membrana, formando complejos lipofílicos inestables, causando desnaturalización de proteínas, pérdida de metabolitos y lisis celular (Karaman *et al.*, 2010).

En sus ambientes naturales los hongos deben pugnar por el substrato y su supervivencia con miles de microorganismos, entre ellos, las bacterias. La presencia de antibióticos en hongos podría explicarse en base a esta dinámica de competencia.

Conclusiones

El escenario mundial apunta al uso de biomoléculas potencialmente activas de origen natural. Los macro hongos analizados son fuente importante de antioxidantes y antibióticos naturales. Estudios detallados sobre caracterización y aislamiento de compuestos considerados como metabolitos secundarios deben continuar a fin de optimizar procesos bioquímicos que podrían ser de gran utilidad en la industria farmacológica y alimenticia.

Literatura citada

- Ada, M. A., H.K. Wong, B. Jiang, 2005. Fibrinolytic enzymes in Asian traditional fermented foods. *Food Res.* 38:243-250.
- Adams, A.K., E.O. Wermuth, 1999. Antioxidant vitamins and the prevention of coronary heart disease. *Am. Family Physician.* 60:895-905.
- Ames, B.N., M.K. Shigenaga, T.M. Hagen, 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci* 90:7915–22.
- Barros, L., R. Calhelha, J. Vaz, I. Ferreira, P. Baptista, L. Esteveinho, 2007. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur Food Res Technol.* 225:151–156.
- Barros, L., T. Cruz, P. Baptista, L.M. Esteveinho, I. Ferreir, 2008. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem Toxicol* 46:2742–2747.
- Byarugaba, D.K., 2004. A view on antimicrobial resistance in developing countries and responsible risk factors. *Int. J. Antimicrob. Agents* 24:105–110.
- Cheung, L.M., P.C. Cheung, V.E. Ooi, 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81:249–255.
- Dubost, N.J., B. Ou, R.B. Beelman, 2007. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chem* 105: 727–735.
- Elmastas, M., O. Isildak, I. Turkecul, N. Temur, 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J Food Comp Anal* 20:337–345.

- Engler, M., T. Anke, O. Sterner, 1998. Production of antibiotics by *Collybianivalis*, *Omphalotusolearius*, *Favolashia* and a *Pterula* species on natural substrates. *Naturforsch* 53:318–324.
- Fisherman, F., G. Cohen, 1973. Chemical intolerance to butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) and vascular response as an indicator and monitor of drug intolerance. *Ann Allergy*. 31:126-133.
- Frankel, E.N., 1991. Recent advances in lipid oxidation. *J Sci Food Agric*. 54:495–511.
- Geier, D.A., J.K. Kern, C.R. Garver, J.B. Adams, T. Audhya, R. Nataf, M.R. Geier, 2009. Biomarkers of environmental toxicity and susceptibility in autism. *J Neurol Sci*. 280.1-2.
- Gordon, M.H., 1990. The mechanism of the antioxidant action “*in vitro*”. In: *Food Antioxidants*. Elsevier, London. 1–18.
- Halliwell, B., 1995. Antioxidant characterization. *Biochemical Pharmacology* 49, 1341.
- Huang, S.J., L.C. Huang, C.C. Chen, J.L. Mau, 1999. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*. *Proceedings of the third international conference on mushroom biology and mushroom products*. 266- 274
- Huang, L.C., 2000. Antioxidant properties and polysaccharide composition analysis of *Antrodia camphorata* and *Agaricus blazei*. National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Jayakumar, T., P.A. Thomas, P. Geraldine, 2009. “*in vitro*” antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innov Food Sci Emerg Technol* 10:228–234.
- John, S., 2005. Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. *Med. Mushrooms Cancer*.

- Jones, S., K.K. Janardhanan, 2000. Antioxidant and antitumor activity of *Ganoderma lucidum* from south India. *Int J Med Mushrooms*; 2:195-200.
- Juhlin, L., 1981. Recurrent urticaria: clinical investigations of 330 patients. *Br J Dermatol*.104: 369-381.
- Kahl, R., H. Kappus, 1993. Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. 4:329-38.
- Karaman, M., E. Jovin, R. Malbaša, M. Matavuly, M. Popovic, 2010. Medicinal and Edible Lignicolous Fungi as Natural Sources of Antioxidative and Antibacterial Agents *Phytother Res*. 24:1473–1481.
- Khachatorians, G.G., 1998. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *Can Med Ass J* 159:1129–1136.
- Kim, M.Y., P. Seguin, J.K. Ahn, 2008. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *J Agric Food Chem*5: 7265–7270.
- Kitzberger C.S., Jr. Smania, A., R.C. Pedrosa, S.R. Ferreira, 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and superficial fluids. *J Food Eng* 80:631–638.
- Li, L., T.B. Ng, L. Zhao, 2005. Antioxidant activity with content of phenolics in extracts from the culinary-medicinal abalone mushroom *Pleurotus abalones*. *Int. J. Med. Mushrooms*. 237-242.
- Liu, J., L. Jia, J. Kan, C. Jin, 2013. “*in vitro*” and in vivo antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Chem Toxicol*.51:310–31.

- Liu, F., V. Ooi, S. Chang, 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Sci* 60:763–771.
- Magaldi, S., S. Mata-Essayag, C. Hartung de Capriles, C. Perez, M. Colellaa, O. Carolina, O. Yudith, 2004. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases*.8. 39-45.
- Mallavadhani, U., A. Sudhakar, K.V.S. Sathyanarayana, A. Mahapatra, B. Richard, 2006. Chemical and analytical screening of some edible mushrooms. *Food Chem.* 95:58-64.
- Mau, J.L., H.C. Lin, C.C. Chen, 2002. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *J Agric Food Chem* 50:6072– 6077
- Mattila, P., K. Sounpa, V. Piironen, 2000. Functional properties of edible mushrooms. *J. Nutr.* 16:7-8.6.
- Mau, J.L., C.N. Chang, S.J. Huang, C.C. Chen, 2004. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Grifolafrondosa*, *Morchella esculenta* and *Termitomyces albuminosus* mycelia. *Food Chemistry.* 87:111–118.
- Mothana, R.A., R. Jansen, W.D. Julich, U. Lindequist, 2000. Ganomycin A and B, new antimicrobial farnesyl hydroquinones from the Basidiomycete *Ganoderma pfeifferi*. *J Nat Prod* 63:416–418.
- Ofodile, L.N., N.U. Uma, T. Kokubun, R.J. Grayer, O.T. Ogundipe, M.S. Simmonds, 2005. Antimicrobial activity of some *Ganoderma* species from Nigeria. *Phytother Res* 19: 310–313.
- Orton, D.I., S. Shaw, 2001. Allergic contact dermatitis from pharmaceutical grade BHA in Timodine with no patch test reaction to analytical grade BHA. *Contact Dermatitis*; 44, 191.

- Oyetayo, F.L., 2007. Potential antioxidant properties of Nigerian edible mushrooms. *Agro-food Industry Hifeh.* 18:44-45 38.
- Puttaraju, N.G., S.U. Venkateshaiah, S.M. Dharmesh, R. Somasundaram, 2006. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms. *J Agric Food Chem.* 54: 9764-9772.
- Ribeiro, S., J. Queiroz, M. Queiroz, F. Campos, H. SantAna, 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Plant Foods Human Nutr.* 62:13-17.
- Rosa, L.E., K.M. Machado, C.C. Jacob, M. Capelari, C.A. Rosa, C.L. Zani, 2003. Screening of Brazilian Basidiomycetes for antimicrobial activity. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 98:967–974.
- Shimada, M., Y. Akamatsu, T. Tokimatsu, K. Mii, T. Hattori, 1997. Possible biochemical roles of oxalic acids as a low molecular weight compound involved in brown-rot and white-rot wood decay. *J Biotechnol* 53:103–113.
- Shiao, M.S., 1992. Triterpenoid Natural Products in the Fungus *Ganoderma lucidum*. *J Chin ChemSoc* 39:669–674.
- Soares, G., L.C. Figueiredo, M. Faveri, S.C. Cortelli, P.M. Duarte, M. Feres, 2011. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *J Appl Oral Sci.* 295. 20(3):295-309.
- Solak, M.H., E. Kalmis, H. Saglam, F. Kalyoncu, 2006. Antimicrobial activity of two wild mushrooms *Clitocybe alexandri* and *Rhizopogon roseolus* collected from Turkey. *Phytotherapy Research* 20:1085–1087.
- Soler-Rivas, C., J. Espin, H. Wichers, 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochem. Anal.* 11:330-338.

- Suay, I., F. Arenal, F.J. Asensio, A. Basilio, M.A. Cabello, M.T. Diez, J.B. García, A.G. Val, J. Gorrochategui, P. Hernandez, F. Pelaez, M.F. Vicente, 2000. Screening of Basidiomycetes for antimicrobial activities. *Anton Van Leeuwen*. 78:129–139.
- Tosti, A., F. Bardazzi, 1987. Contact dermatitis from butylated hydroxyanisole. *Contact Dermatitis*; 17:257-258.
- Tsai, S.Y., S.J. Huang, J.L. Mau, 2006. Antioxidant properties of hot water extracts from *Agrocybe cylindracea*. *Food Chem* 98:670-677.
- Tsai, S.Y., H.L. Tsai, J.L. Mau, 2007. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT*. 40:1392–1402.
- Tsai, S.Y., 2002. Antioxidant properties and their cytotoxic activities on tumor cells of *Ganoderma tsugae* and *Agrocybe cylindracea* and antimutagenic properties of *Agrocybe cylindracea*. National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Tseng, Y.H., J.H. Yang, J.L. Mau, 2008. Antioxidant properties of polysaccharides from *Ganoderma tsugae*. *Food Chem* 107:732–738.
- Turkoglu, A., M.E. Duru, N. Mercan, I. Kivrak, K. Gezer, 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus*. *Food Chem*. 101:267–273.
- Varuna, P., G. Sisilamma, K. Dhanush, 2014. Toxicity study of butylated hydroxyl toluene BHT in rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 8: 758-763.
- Wasser, S.P., A.L. Weis, 1999. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms. *Int. J. Med. Mushrooms* 1:31-62.
- Wu, Y., D. Wang, 2009. A new class of natural glycopeptides with sugar moiety-dependent antioxidant activities derived from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies. *J Proteome Res* 8: 436–442.

- Yoshikawa, T., Y. Naito, M. Kondo, 1997. Free radicals and disease. *Food and free radicals* .11–19.
- Yamac, M., F. Bilgili, 2006. Antimicrobial activities of fruit bodies and or mycelial cultures of some mushroom isolates. *Pharm Biol.* 44:660–667.
- Yang, J.H., H.C. Lin, J.L. Mau, 2002. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem* 77:229–235.

FIGURAS

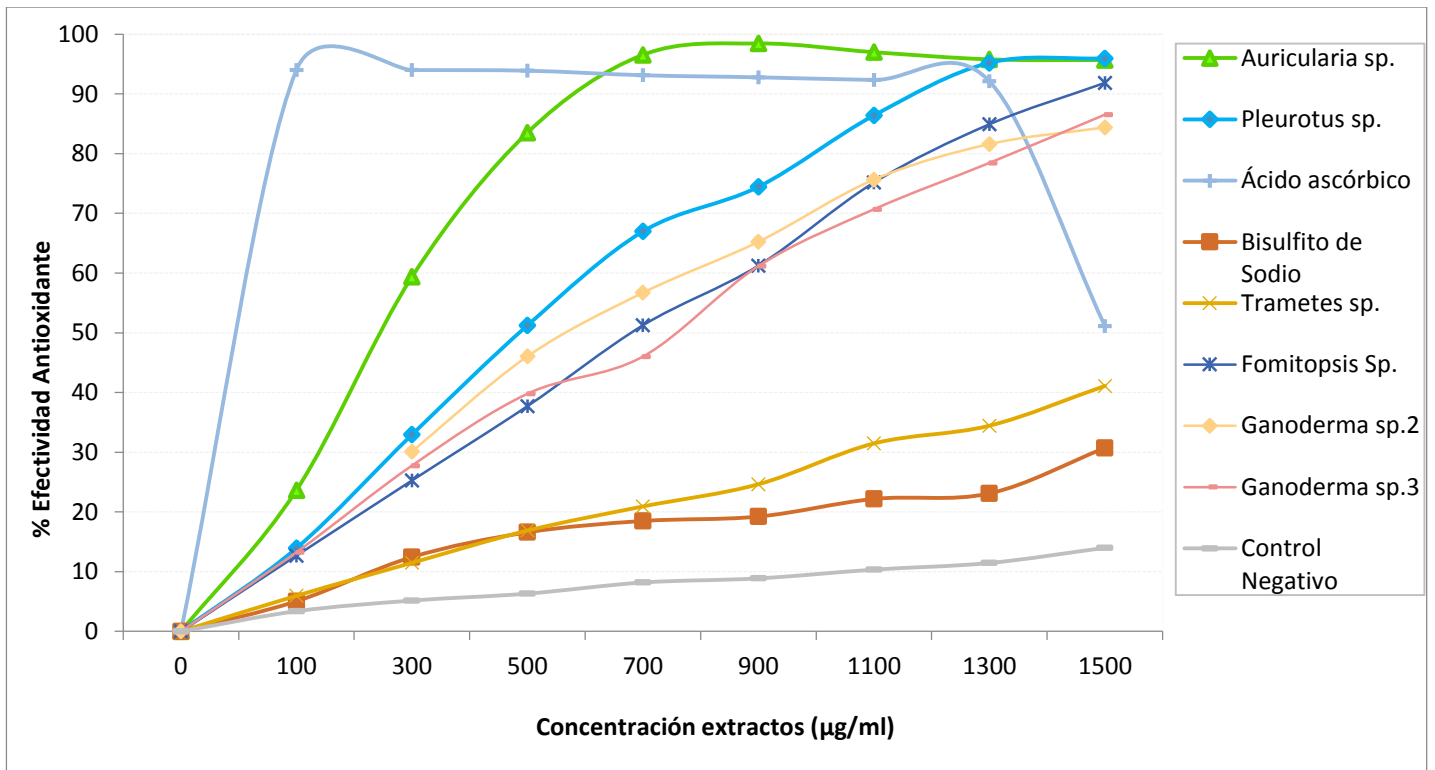


Figura 1. Curva de efectividad antioxidante para cada extracto de macrohongo. Controles positivos: ácido ascórbico, bisulfito de sodio; control negativo (medio de cultivo). Sobre el eje Y porcentaje de actividad antioxidante, sobre el eje X concentración de extractos utilizados.

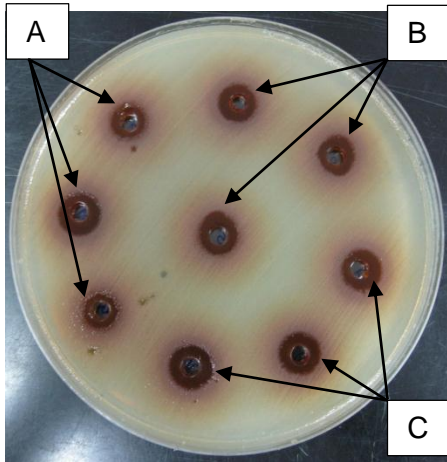


Figura 2. Halos de inhibición de crecimiento de la bacteria *E. coli*. (A) extracto *Ganoderma* sp2, (B) extracto *Ganoderma* sp3, (C) extracto *Ganoderma* sp1.

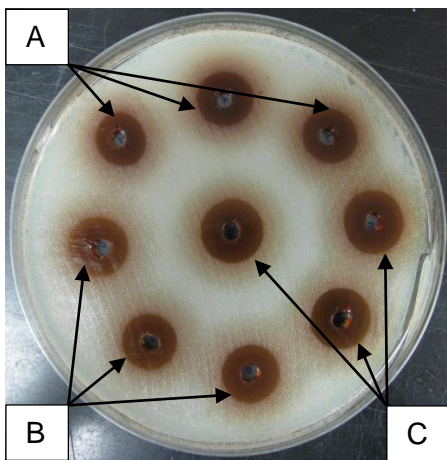


Figura 3. Halos de inhibición de crecimiento de la bacteria *S. aureus*. (A) extracto *Ganoderma* sp1, (B) extracto *Ganoderma* sp3, (C) extracto *Ganoderma* sp2.

TABLAS

Tabla 1. Estimación EC50 para cada extracto calculada en base a la curva de efectividad

| Extracto | Estimación EC50 ($\mu\text{g/ml}$) | Intervalo de confianza ($\mu\text{g/ml}$) | |
|-----------------------|--------------------------------------|---|-----------------|
| | | Límite inferior | Límite superior |
| <i>Auricularia</i> | 163,1 | 146,2 | 179,7 |
| <i>Fomitopsis</i> sp. | 468,4 | 428,2 | 508,4 |
| <i>Ganoderma</i> sp.2 | 277,2 | 250,0 | 303,6 |
| <i>Ganoderma</i> sp.3 | 372,5 | 342,8 | 401,6 |
| <i>Pleurotus</i> sp. | 363,7 | 335,3 | 391,4 |
| <i>Trametes</i> sp. | 2556,9 | 2151,2 | 3179,1 |
| Ácido Ascórbico | 367,1 | 332,3 | 401,0 |
| Bisulfito de Sodio | 11534,8 | 7039,6 | 24109,5 |

Tabla 2. Media calculada para el diámetro de los halos de inhibición (mm) obtenidos con los extractos para cada bacteria

| Extracto | Bacteria | Media (mm) | Intervalo de confianza (mm) | |
|------------------------|------------------|------------|-----------------------------|-------------|
| | | | Límite inf. | Límite sup. |
| <i>Pleurotus</i> sp. | <i>E. coli</i> | 13,6 | 12,6 | 14,7 |
| | <i>S. aureus</i> | 16,9 | 15,8 | 17,9 |
| <i>Auricularia</i> sp. | <i>E. coli</i> | 15,9 | 14,8 | 16,9 |
| | <i>S. aureus</i> | 19,9 | 18,9 | 21,1 |
| <i>Ganoderma</i> sp.1 | <i>E. coli</i> | 15,3 | 14,3 | 16,4 |
| | <i>S. aureus</i> | 18,4 | 17,4 | 19,5 |
| <i>Ganoderma</i> sp.2 | <i>E. coli</i> | 13,6 | 12,6 | 14,7 |
| | <i>S. aureus</i> | 21,3 | 20,2 | 22,3 |
| <i>Ganoderma</i> sp.3 | <i>E. coli</i> | 14,0 | 12,9 | 15,1 |
| | <i>S. aureus</i> | 19,4 | 18,3 | 20,4 |

Tabla 3. Promedio lecturas de absorbancia para cada extracto y cuatro repeticiones

| Concentración extracto ($\mu\text{g/ml}$) | Promedio | Repeticiones | | | |
|---|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| | Absorbancia (nm) | Absorbancia (nm) | | | |
| <i>Auriculariasp.</i> | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,285 | 1,285 | 1,285 | 1,287 | 1,284 |
| 200 | 0,961 | 0,960 | 0,961 | 0,962 | 0,962 |
| 300 | 0,684 | 0,672 | 0,687 | 0,688 | 0,689 |
| 400 | 0,400 | 0,401 | 0,402 | 0,400 | 0,402 |
| 500 | 0,278 | 0,277 | 0,276 | 0,279 | 0,279 |
| 600 | 0,137 | 0,136 | 0,134 | 0,138 | 0,138 |
| 700 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,058 | 0,059 |
| 800 | 0,021 | 0,019 | 0,020 | 0,022 | 0,023 |
| 900 | 0,026 | 0,026 | 0,024 | 0,024 | 0,031 |
| 1000 | 0,037 | 0,034 | 0,040 | 0,036 | 0,036 |
| 1100 | 0,051 | 0,049 | 0,051 | 0,052 | 0,051 |
| 1200 | 0,060 | 0,059 | 0,058 | 0,061 | 0,063 |
| 1300 | 0,071 | 0,071 | 0,065 | 0,069 | 0,079 |
| 1400 | 0,077 | 0,073 | 0,079 | 0,076 | 0,079 |
| 1500 | 0,073 | 0,009 | 0,094 | 0,095 | 0,094 |
| <i>Fomitopsis sp.</i> | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,575 | 1,560 | 1,552 | 1,593 | 1,593 |
| 200 | 1,477 | 1,433 | 1,521 | 1,477 | 1,477 |
| 300 | 1,348 | 1,301 | 1,408 | 1,334 | 1,347 |
| 400 | 1,234 | 1,197 | 1,284 | 1,224 | 1,229 |
| 500 | 1,123 | 1,067 | 1,221 | 1,100 | 1,104 |
| 600 | 0,939 | 0,929 | 0,923 | 0,950 | 0,953 |
| 700 | 0,879 | 0,837 | 0,991 | 0,843 | 0,845 |
| 800 | 0,781 | 0,746 | 0,865 | 0,756 | 0,757 |
| 900 | 0,699 | 0,646 | 0,824 | 0,666 | 0,659 |
| 1000 | 0,600 | 0,600 | 0,589 | 0,608 | 0,974 |
| 1100 | 0,448 | 0,448 | 0,590 | 0,467 | 0,477 |
| 1200 | 0,282 | 0,282 | 0,273 | 0,285 | 0,285 |
| 1300 | 0,272 | 0,272 | 0,273 | 0,272 | 0,274 |
| 1400 | 0,173 | 0,173 | 0,283 | 0,196 | 0,224 |
| 1500 | 0,147 | 0,147 | 0,157 | 0,181 | 0,157 |

Tabla 3. Promedio lecturas de absorbancia para cada extracto y cuatro repeticiones

| Concentración extracto ($\mu\text{g/ml}$) | Promedio | Repeticiones | | | |
|---|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| | Absorbancia (nm) | Absorbancia (nm) | | | |
| <i>Ganoderma</i> sp.1 | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,404 | 1,399 | 1,403 | 1,411 | 1,404 |
| 200 | 1,269 | 1,258 | 1,279 | 1,282 | 1,258 |
| 300 | 1,164 | 1,163 | 1,165 | 1,162 | 1,165 |
| 400 | 1,094 | 1,093 | 1,094 | 1,097 | 1,090 |
| 500 | 1,010 | 1,012 | 1,015 | 1,006 | 1,007 |
| 600 | 0,860 | 0,860 | 0,860 | 0,861 | 0,859 |
| 700 | 0,814 | 0,819 | 0,811 | 0,813 | 0,813 |
| 800 | 0,644 | 0,643 | 0,648 | 0,642 | 0,641 |
| 900 | 0,621 | 0,620 | 0,610 | 0,644 | 0,608 |
| 1000 | 0,561 | 0,560 | 0,560 | 0,562 | 0,563 |
| 1100 | 0,429 | 0,447 | 0,427 | 0,421 | 0,421 |
| 1200 | 0,422 | 0,419 | 0,430 | 0,420 | 0,420 |
| 1300 | 0,281 | 0,278 | 0,284 | 0,280 | 0,281 |
| 1400 | 0,210 | 0,206 | 0,212 | 0,211 | 0,209 |
| 1500 | 0,138 | 0,136 | 0,132 | 0,144 | 0,139 |
| <i>Ganoderma</i> sp.2 | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,074 | 1,056 | 1,086 | 1,066 | 1,086 |
| 200 | 1,184 | 1,184 | 1,182 | 1,186 | 1,182 |
| 300 | 1,071 | 1,069 | 1,074 | 1,073 | 1,068 |
| 400 | 0,955 | 0,965 | 0,947 | 0,952 | 0,955 |
| 500 | 0,827 | 0,826 | 0,832 | 0,825 | 0,823 |
| 600 | 0,779 | 0,776 | 0,775 | 0,780 | 0,785 |
| 700 | 0,663 | 0,662 | 0,665 | 0,662 | 0,664 |
| 800 | 0,608 | 0,624 | 0,598 | 0,602 | 0,606 |
| 900 | 0,533 | 0,535 | 0,527 | 0,528 | 0,540 |
| 1000 | 0,456 | 0,453 | 0,461 | 0,455 | 0,454 |
| 1100 | 0,373 | 0,369 | 0,376 | 0,368 | 0,379 |
| 1200 | 0,388 | 0,389 | 0,389 | 0,386 | 0,386 |
| 1300 | 0,282 | 0,280 | 0,286 | 0,279 | 0,283 |
| 1400 | 0,286 | 0,285 | 0,284 | 0,284 | 0,292 |
| 1500 | 0,239 | 0,233 | 0,233 | 0,242 | 0,248 |
| <i>Ganoderma</i> sp.3 | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,399 | 1,392 | 1,394 | 1,416 | 1,392 |
| 200 | 1,277 | 1,276 | 1,274 | 1,275 | 1,284 |
| 300 | 1,165 | 1,163 | 1,157 | 1,173 | 1,166 |
| 400 | 1,047 | 1,048 | 1,043 | 1,047 | 1,051 |
| 500 | 0,971 | 0,984 | 0,940 | 0,979 | 0,980 |
| 600 | 0,857 | 0,860 | 0,853 | 0,854 | 0,859 |

Tabla 3. Promedio lecturas de absorbancia para cada extracto y cuatro repeticiones

| Concentración extracto ($\mu\text{g/ml}$) | Promedio | Repeticiones | | | |
|---|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| | Absorbancia (nm) | Absorbancia (nm) | | | |
| 700 | 0,870 | 0,867 | 0,879 | 0,863 | 0,872 |
| 800 | 0,698 | 0,696 | 0,701 | 0,699 | 0,697 |
| 900 | 0,626 | 0,623 | 0,621 | 0,631 | 0,629 |
| 1000 | 0,565 | 0,569 | 0,566 | 0,560 | 0,564 |
| 1100 | 0,473 | 0,475 | 0,470 | 0,473 | 0,473 |
| 1200 | 0,432 | 0,436 | 0,432 | 0,427 | 0,431 |
| 1300 | 0,348 | 0,341 | 0,343 | 0,361 | 0,345 |
| 1400 | 0,311 | 0,309 | 0,310 | 0,313 | 0,310 |
| 1500 | 0,217 | 0,219 | 0,219 | 0,216 | 0,215 |
| <i>Pleurotus</i> sp. | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,576 | 1,573 | 1,572 | 1,579 | 1,579 |
| 200 | 1,388 | 1,388 | 1,385 | 1,389 | 1,391 |
| 300 | 1,228 | 1,226 | 1,226 | 1,228 | 1,232 |
| 400 | 1,063 | 1,061 | 1,061 | 1,063 | 1,066 |
| 500 | 0,893 | 0,893 | 0,893 | 0,893 | 0,893 |
| 600 | 0,847 | 0,909 | 0,852 | 0,813 | 0,813 |
| 700 | 0,605 | 0,603 | 0,603 | 0,608 | 0,605 |
| 800 | 0,595 | 0,593 | 0,593 | 0,594 | 0,598 |
| 900 | 0,468 | 0,467 | 0,468 | 0,468 | 0,469 |
| 1000 | 0,293 | 0,289 | 0,289 | 0,299 | 0,295 |
| 1100 | 0,249 | 0,243 | 0,241 | 0,256 | 0,256 |
| 1200 | 0,151 | 0,151 | 0,150 | 0,151 | 0,152 |
| 1300 | 0,088 | 0,085 | 0,087 | 0,088 | 0,091 |
| 1400 | 0,087 | 0,083 | 0,083 | 0,096 | 0,085 |
| 1500 | 0,084 | 0,078 | 0,084 | 0,080 | 0,092 |
| <i>Trametes</i> sp. | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,684 | 1,683 | 1,685 | 1,684 | 1,684 |
| 200 | 1,654 | 1,652 | 1,654 | 1,654 | 1,654 |
| 300 | 1,585 | 1,586 | 1,587 | 1,583 | 1,585 |
| 400 | 1,557 | 1,555 | 1,558 | 1,552 | 1,562 |
| 500 | 1,489 | 1,491 | 1,491 | 1,485 | 1,487 |
| 600 | 1,452 | 1,460 | 1,452 | 1,446 | 1,449 |
| 700 | 1,416 | 1,412 | 1,423 | 1,414 | 1,416 |
| 800 | 1,361 | 1,363 | 1,360 | 1,360 | 1,361 |
| 900 | 1,350 | 1,349 | 1,350 | 1,347 | 1,352 |
| 1000 | 1,258 | 1,259 | 1,258 | 1,257 | 1,256 |
| 1100 | 1,227 | 1,227 | 1,228 | 1,228 | 1,226 |
| 1200 | 1,245 | 1,244 | 1,244 | 1,244 | 1,247 |
| 1300 | 1,174 | 1,176 | 1,172 | 1,174 | 1,174 |
| 1400 | 1,106 | 1,105 | 1,105 | 1,109 | 1,104 |
| 1500 | 1,055 | 1,055 | 1,055 | 1,055 | 1,054 |

Tabla 3. Promedio lecturas de absorbancia para cada extracto y cuatro repeticiones

| Concentración extracto ($\mu\text{g/ml}$) | Promedio | Repeticiones | | | |
|---|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| | Absorbancia (nm) | Absorbancia (nm) | | | |
| Bisulfito de Sodio | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,747 | 1,746 | 1,749 | 1,743 | 1,748 |
| 200 | 1,686 | 1,684 | 1,692 | 1,682 | 1,687 |
| 300 | 1,611 | 1,610 | 1,609 | 1,611 | 1,612 |
| 400 | 1,551 | 1,554 | 1,551 | 1,546 | 1,552 |
| 500 | 1,534 | 1,530 | 1,533 | 1,535 | 1,539 |
| 600 | 1,535 | 1,547 | 1,530 | 1,530 | 1,534 |
| 700 | 1,499 | 1,492 | 1,510 | 1,498 | 1,497 |
| 800 | 1,500 | 1,501 | 1,493 | 1,508 | 1,497 |
| 900 | 1,486 | 1,484 | 1,491 | 1,483 | 1,485 |
| 1000 | 1,466 | 1,464 | 1,462 | 1,467 | 1,470 |
| 1100 | 1,507 | 1,510 | 1,503 | 1,508 | 1,506 |
| 1200 | 1,434 | 1,432 | 1,429 | 1,436 | 1,437 |
| 1300 | 1,415 | 1,412 | 1,411 | 1,423 | 1,412 |
| 1400 | 1,356 | 1,357 | 1,357 | 1,352 | 1,357 |
| 1500 | 1,275 | 1,270 | 1,282 | 1,274 | 1,272 |
| Ácido ascórbico | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 0,095 | 0,096 | 0,094 | 0,094 | 0,094 |
| 200 | 0,098 | 0,097 | 0,099 | 0,098 | 0,099 |
| 300 | 0,095 | 0,095 | 0,096 | 0,095 | 0,094 |
| 400 | 0,087 | 0,111 | 0,112 | 0,112 | 0,011 |
| 500 | 0,097 | 0,097 | 0,096 | 0,099 | 0,095 |
| 600 | 0,097 | 0,097 | 0,096 | 0,097 | 0,097 |
| 700 | 0,109 | 0,109 | 0,108 | 0,109 | 0,109 |
| 800 | 0,101 | 0,101 | 0,101 | 0,102 | 0,101 |
| 900 | 0,114 | 0,110 | 0,116 | 0,115 | 0,116 |
| 1000 | 0,112 | 0,113 | 0,110 | 0,112 | 0,111 |
| 1100 | 0,121 | 0,121 | 0,121 | 0,122 | 0,121 |
| 1200 | 0,110 | 0,110 | 0,106 | 0,115 | 0,110 |
| 1300 | 0,125 | 0,126 | 0,124 | 0,124 | 0,125 |
| 1400 | 0,578 | 0,576 | 0,580 | 0,577 | 0,580 |
| 1500 | 0,773 | 0,770 | 0,776 | 0,775 | 0,770 |
| Control Negativo | | | | | |
| 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 100 | 1,516 | 1,511 | 1,517 | 1,518 | 1,518 |
| 200 | 1,507 | 1,513 | 1,498 | 1,508 | 1,510 |
| 300 | 1,488 | 1,486 | 1,488 | 1,490 | 1,488 |
| 400 | 1,449 | 1,451 | 1,446 | 1,448 | 1,450 |
| 500 | 1,470 | 1,470 | 1,472 | 1,467 | 1,470 |
| 600 | 1,471 | 1,467 | 1,473 | 1,472 | 1,473 |

Tabla 3. Promedio lecturas de absorbancia para cada extracto y cuatro repeticiones

| Concentración extracto ($\mu\text{g/ml}$) | Promedio | Repeticiones | | | |
|---|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| | Absorbancia (nm) | Absorbancia (nm) | | | |
| 700 | 1,441 | 1,436 | 1,452 | 1,435 | 1,439 |
| 800 | 1,425 | 1,426 | 1,426 | 1,421 | 1,428 |
| 900 | 1,430 | 1,427 | 1,431 | 1,430 | 1,431 |
| 1000 | 1,412 | 1,412 | 1,411 | 1,414 | 1,412 |
| 1100 | 1,407 | 1,408 | 1,409 | 1,404 | 1,406 |
| 1200 | 1,390 | 1,389 | 1,390 | 1,392 | 1,390 |
| 1300 | 1,389 | 1,386 | 1,392 | 1,390 | 1,389 |
| 1400 | 1,392 | 1,394 | 1,389 | 1,394 | 1,390 |
| 1500 | 1,350 | 1,349 | 1,347 | 1,354 | 1,348 |

Tabla 4. Cálculo de ANOVA para la efectividad antioxidante

| Origen | Suma de cuadrados tipo II | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|---------------------------|-----|------------------|-------------|------|
| Modelo corregido | 386622,444 | 134 | 2885,242 | 1995,463 | ,000 |
| Intersección | 2042352,270 | 1 | 2042352,270 | 1412512,025 | ,000 |
| Tratamientos | 229036,620 | 8 | 28629,577 | 19800,513 | ,000 |
| Concentraciones | 105357,091 | 14 | 7525,507 | 5204,718 | ,000 |
| Tratamientos * | 52228,733 | 112 | 466,328 | 322,517 | ,000 |
| Concentraciones | | | | | |
| Error | 585,590 | 405 | 1,446 | | |
| Total corregida | 387208,034 | 539 | | | |

Tabla 5. Cálculo de DHS de Tuckey para la Actividad Antioxidante

| Efectividad | | | | | | | | | | |
|------------------------|----|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Tratamientos | N | Subconjunto | | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Bisulfito de Sodio | 60 | 24,6700 | | | | | | | | |
| Trametes | 60 | | 31,2983 | | | | | | | |
| Fomitopsis | 60 | | | 59,4175 | | | | | | |
| <i>Ganoderma</i> sp.2 | 60 | | | | 62,4875 | | | | | |
| <i>Ganoderma</i> sp.1 | 60 | | | | | 63,6025 | | | | |
| <i>Ganoderma</i> sp.3 | 60 | | | | | | 67,1583 | | | |
| <i>Pleurotus</i> sp. | 60 | | | | | | | 67,9575 | | |
| <i>Auricularia</i> sp. | 60 | | | | | | | | 85,9356 | |
| Ácido ascórbico | 60 | | | | | | | | | 90,9641 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Tabla 6. Medidas diámetro halos de inhibición de crecimiento de bacterias

| Extracto crudo 50 mg | Diámetro halo de inhibición (mm) | | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|-------|-------|------------------|-------|-------|
| | <i>E. coli</i> | | | <i>S. aureus</i> | | |
| <i>Auriculariasp.</i> | 16,40 | 15,90 | 15,50 | 20,20 | 19,50 | 20,24 |
| <i>Pleurotus</i> sp. | 15,00 | 12,21 | 13,85 | 18,15 | 16,85 | 15,72 |
| <i>Ganodermasp.1</i> | 16,07 | 15,25 | 14,78 | 17,38 | 18,88 | 19,21 |
| <i>Ganodermasp.2</i> | 14,54 | 12,72 | 13,80 | 21,75 | 20,88 | 21,25 |
| <i>Ganodermasp.3</i> | 12,95 | 14,07 | 15,04 | 19,87 | 18,59 | 19,75 |

Tabla 7. Cálculo de ANOVA de la actividad bactericida, variable dependiente: Diámetro

| Origen | Suma de cuadrados tipo III | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|---------------|----------------------------|----|------------------|----------|------|
| Modelo | 8754,388 | 10 | 875,439 | 1118,371 | ,000 |
| Tratamientos | 24,414 | 4 | 6,104 | 7,797 | ,001 |
| Bacteria | 163,941 | 1 | 163,941 | 209,434 | ,000 |
| Tratamientos* | 21,039 | 4 | 5,260 | 6,719 | ,001 |
| Bacteria | | | | | |
| Error | 15,656 | 20 | 0,783 | | |
| Total | 8770,044 | 30 | | | |

Tabla 8. Cálculo de la prueba χ^2 para cada extracto.

| Tratamientos | Chi-cuadrado | gl. | Sig. |
|-----------------------|--------------|-----|-------|
| <i>Auriculariasp</i> | 115,845 | 58 | 0,000 |
| <i>Fomitopsis</i> sp. | 192,205 | 58 | 0,000 |
| <i>Ganoderma</i> sp.1 | 390,954 | 58 | 0,000 |
| <i>Ganoderma</i> sp.2 | 71,799 | 58 | 0,105 |
| <i>Ganoderma</i> sp.3 | 81,067 | 58 | 0,024 |
| <i>Pleurotus</i> sp | 159,773 | 58 | 0,000 |
| <i>Trametes</i> sp. | 20,131 | 58 | 1,000 |
| Bisulfito de Sodio | 9,949 | 58 | 1,000 |
| Ácido ascórbico | 130,098 | 58 | 0,000 |

ANEXOS

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES REVISTA MEXICANA DE MICOLOGÍA

La Revista Mexicana de Micología, órgano oficial de difusión de la Sociedad Mexicana de Micología (SMM), es una revista científica, de edición semestral, especializada en el estudio de los hongos, cuyo objetivo principal es publicar información científica inédita en forma de artículos científicos, notas cortas y revisiones originales, que cubran las diferentes áreas de la Micología. En ocasiones especiales se publican semblanzas y reseñas del trabajo de micólogos distinguidos. El idioma oficial de la revista es el español, aunque también se reciben trabajos en inglés.

Instrucciones para los autores

Los trabajos sometidos a evaluación en la Revista Mexicana de Micología (RMM) deberán ser enviados únicamente por vía electrónica a:

Dr. Gerardo Mata, Editor: gerardo.mata@inecol.mx

Con copia a cualquiera de las siguientes direcciones:

Dra. Dulce Salmones, Editora Asociada: dulce.salmones@inecol.mx

Dr. Rigoberto Gaitán, Editor Asociado: rigoberto.gaitan@inecol.mx

Dra. Rosario Medel, Editora Asociada: medel.rosario@gmail.com

Solamente en los casos en que no sea posible enviar las contribuciones por correo electrónico, los manuscritos impresos se enviarán por duplicado y con una copia del archivo electrónico en disco compacto a la siguiente dirección y con atención al Editor de la Revista:

Instituto de Ecología, Carretera antigua a Coatepec No. 351, El Haya, C.P. 91070, Xalapa, Veracruz, México, con atención al editor de la revista.

Autor responsable: Los manuscritos deberán acompañarse de una carta de presentación del autor responsable, quien actuará en representación de todos los demás autores en todo lo concerniente a la evaluación y publicación del manuscrito. Queda por entendido que todos los autores deberán responsabilizarse de su contenido y haber acordado su envío a la RMM. Además, con el envío del artículo, los autores garantizan que el contenido del manuscrito no ha sido publicado previamente, ni está siendo evaluado en otra revista, por lo que la Revista Mexicana de Micología adquiere los derechos de copia (copyright) una vez publicado el manuscrito.

Tipos de contribución: Artículo científico original, nota corta, revisión.

Proceso de revisión. Todos los manuscritos serán revisados inicialmente por el Comité Editorial para determinar si el tema, la presentación y el estilo de la contribución son acordes a los lineamientos de la revista, de lo contrario se le informará al autor responsable el rechazo del

trabajo. Si el manuscrito es viable de publicarse en la RMM, éste será sometido a un sistema de arbitraje para su aceptación definitiva. En el referéndum participarán dos especialistas en el tema, cuyas opiniones serán consideradas para la aceptación del trabajo. En caso de divergencia entre los árbitros, el manuscrito será revisado por un tercer revisor. La decisión final sobre la aceptación de un trabajo corresponderá al propio Comité Editorial o al Editor en Jefe, tomando en cuenta las opiniones de los revisores. En casos excepcionales el Consejo Consultivo de la RMM emitirá el veredicto final, el cuál será inapelable.

Pago por publicación: El costo de publicación por página será de \$300.00 MN para los residentes en México y de \$30.00 US para los residentes fuera del país.

Pruebas de galeras: El autor responsable recibirá las pruebas de imprenta, vía electrónica, las cuáles después de ser revisadas deberán ser enviadas al editor, acompañadas de un correo donde expresa su consentimiento del contenido y presentación del trabajo, y del formato de cesión de derechos de copia (copyright) firmado a nombre de todos los autores. Sólo se aceptarán correcciones ortográficas, cambios en datos incorrectos o la actualización en citas bibliográficas previamente en prensa.

Preparación del manuscrito: Las contribuciones pueden ser escritas en español o en inglés, utilizando el procesador de textos Word (versión 1997 en adelante) a doble espacio, usando tipo de letra Times New Roman 12 puntos y un tamaño de página de 28 x 21.5 cm. Dejar margen izquierdo de 3, derecho e inferior de 2 y superior de 4 cm. Numerar las páginas en el margen inferior derecho. Escribir en cursiva únicamente los nombres científicos de los organismos, las palabras en latín y los nombres de los colectores de hongos y sus números en las listas de material estudiado. Todo trabajo de tipo taxonómico deberá ajustarse a la última edición del Código Internacional de Nomenclatura Botánica y de preferencia incluir un documento que avale la incorporación del material del artículo al herbario citado.

Los **artículos científicos originales** estarán compuestos de los siguientes apartados: Título, Resumen, Palabras Clave Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Agradecimientos y Literatura citada. Cuando el autor considere pertinente, los apartados de Resultados y Discusión podrán presentarse juntos. En las **notas cortas** el texto no estará dividido en apartados ni deberá sobrepasar las 1500 palabras. El número de figuras y tablas debe ser reducido al mínimo. Las **revisiones** se consideran trabajos sobre temas relevantes en el área de la Micología que muestran la experiencia de los autores en una temática particular. Por lo tanto, las revisiones serán consideradas únicamente por invitación expresa del Comité Editorial.

Organización del trabajo: El título del trabajo deberá ser breve y centrado. Después del título se anotarán los nombres completos de los autores con los datos de las instituciones de adscripción de los mismos. A continuación se escribirá el resumen (con un máximo de 200 palabras para artículos científicos y revisiones y 150 palabras para notas cortas) en un sólo párrafo, incluyendo objetivos, metodología y resultados concretos, sin referencias bibliográficas ni nombres de autores de las especies. Al final del resumen incluir de 3 a 5 palabras clave, que no estén incluidas en el título. Después del resumen incluir la traducción del título, el resumen y las palabras clave en el idioma diferente al que está redactado el trabajo (inglés o español). Para los artículos originales y revisiones los títulos de los apartados y subtítulos estarán en el margen izquierdo, en minúsculas y en negritas. Se recomienda limitar el texto del manuscrito a un máximo de 20 cuartillas, a doble espacio e incluyendo referencias, figuras y tablas.

Colocar al final del trabajo la bibliografía, bajo el nombre de **Literatura citada**. Arreglar las citas alfabéticamente observando cuidadosamente la puntuación. Todas las referencias deben ser citadas en el texto (entre paréntesis). En las citas de uno o dos autores se colocarán ambos

nombres seguidos del año de publicación (Herrera y Guzmán, 2000), en el caso de que la cita cuente con tres autores o más se colocará únicamente el nombre del primer autor seguido de et al y el año de publicación (Cifuentes et al., 2005). En caso de que haya más de dos trabajos de un mismo autor, citar primero los que firma el autor solo y después los hechos en colaboración con coautores. Los nombres de las revistas se deben citar completos. No señalar el número de la revista en caso de tratarse de un volumen con varios números anuales y con paginación progresiva. Evitar citar trabajos de tesis y trabajos en congresos, únicamente se aceptarán este tipo de citas en caso de que no exista otra alternativa. En esta sección no se aceptarán citas de comunicaciones personales, dichas citas se deberán incluir en el texto y únicamente cuando no sea posible omitirlas. Cuando el trabajo de referencia bibliográfica esté en prensa, indicar el nombre de la revista y el volumen en que aparecerá. Ejemplos:

a) Revistas periódicas:

Guzmán, G., T. Herrera, 1972. Especies de macromicetos citadas de México, II. Fistulinaceae y Polyporaceae. Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología 5: 57-77.

Heredia, G., R.M. Arias, J. Mena-Portales, A. Mercado-Sierra, 2005. Contribución al conocimiento de los hongos anamorfos saprobios del Estado de Tabasco I. Revista Mexicana de Micología 77:15-30.

b) Libros: anotar la editorial y la ciudad (no el país) en donde se publicó, escrita en el idioma en que se presenta el manuscrito.

Eriksson, K.E., R.A. Blanchette, P. Ander, 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components. SpringerVerlag, Berlin.

Herrera, T., M. Ulloa, 1998. El Reino de los Hongos. Micología Básica y Aplicada. UNAM-FCE, México, D.F.

c) Capítulos de libro:

Huppert, M., 1982. Antigens used for measuring immunological activity. In: Howard, D.H. (ed.), Fungi Pathogenic for Humans and Animals, Part B. Pathogenicity and Detection. Marcel Dekker, Nueva York. pp. 305-340.

d) Tesis y trabajos en congreso: Incluir la ciudad y el país en donde se realizó el congreso.

Pedroza-Serés, M., M.L. Taylor, 1991. Histoplasmosis in Mexico. XI Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Montreal, Canadá, junio 24-28, p.117.

Villarruel-Ordaz, J .L., 1991. Contribución al conocimiento del género Collybia (Tricholomataceae) en el centro y sur de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F.

Símbolos y unidades: Utilizar unidades del Sistema Métrico Decimal y abreviarlas según la Conferencia General de Pesos y Medidas (1960, 1971), por ejemplo: m, cm, g, kg, mol, etc. Usar para tiempos h, min, s y para litro L. Las abreviaturas que no comprenda dicha Conferencia, como máx., mín., diám., Méx., etc., deberán ir con punto y acentuadas en su caso.

La temperatura debe expresarse en grados centígrados (°C). En ciertos casos en los cuales es necesario anotar otras unidades, éstas deberán añadirse entre paréntesis. Cuando se abrevien los nombres de compuestos químicos, utilizar las siglas internacionalmente establecidas (ATP, DNA, etc.) o indicar su significado. Evitar usar anglicismos o galicismos. Acentuar las mayúsculas según las reglas gramaticales y las normas establecidas por el Diccionario de la Lengua Española.

Tablas y figuras: Deberán enviarse en archivos separados, numeradas progresivamente (Figura 1, Figura 2, Tabla 1, Tabla 2) y con sus leyendas respectivas. Las tablas deberán estar escritas en el mismo programa que el texto (Word). Las figuras (fotografías, gráficas o dibujos) deberán ser de alta calidad y en algún formato compatible con programas Microsoft (pcx, bmp, gif o tif). Sólo se aceptarán fotografías en blanco y negro. La impresión de figuras a color deberá justificarse plenamente y correrá por cuenta del autor, su costo dependerá del material a publicar en cada volumen. Para el caso de listados de especies, se debe evitar la duplicidad de información en las tablas.