

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

T E S I S

**Análisis micoquímico de *Amanita
hayalyuy* D. Arora & G.H. Shepard,
hongo comestible de Los Altos de
Chiapas**

PRESENTA

ELIZA VALERIA RESADO SUART

DIRECTOR

DR. IVÁN DE LA CRUZ CHACÓN

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. UNICACH

ASESORA

DRA. CHRISTIAN ANABÍ RILEY SALDAÑA

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. UNICACH



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Octubre de 2025



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
Fecha: 30 de octubre de 2025

C. **Eliza Valeria Resado Suart**

Pasante del Programa Educativo de: **Licenciatura en Biología**

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

Análisis micoquímico de *Amanita hayalyuy* D. Arora & G.H. Shepard, hongo

comestible de Los Altos de Chiapas.

En la modalidad de: **Tesis Profesional**

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dra. Alma Rosa González Esquinca

Mtra. Erika Cecilia Pérez Ovando

Dr. Iván de la Cruz Chacón

Firmas:

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Iván de la Cruz Chacón** por la paciencia y el apoyo incansable, por la pasión que me infundió desde el primer día y por creer en esta tesis, en los hongos y en mí. Gracias por guiarme con tanto compromiso, cariño y comprensión por este camino lleno de aprendizajes.

A la **Dra. Christian Anabí Riley Saldaña** por compartirme sus conocimientos sobre los microhonguitos, por la experiencia brindada y la calidez de su trato.

A la **Mtra. Erika Cecilia Pérez Ovando** porque sin ella esta tesis nunca hubiera visto la luz del día. Gracias por el cariño, la experiencia y por enseñar siempre desde el amor hacia los hongos.

A la **Dra. Alma Rosa González Esquinca** por iniciarme en el camino del metabolismo secundario y por compartir la experiencia y conocimientos que enriquecieron significativamente esta tesis.

Al **Dr. Felipe Ruan Soto** por considerarme en sus proyectos, por su constante ánimo y por las pláticas amenas que hicieron más grato este proceso.

Al **Biól. Alejandro Estrada Avendaño** por compartirme sus conocimientos sobre las *Amanitas* y por la atención y el tiempo dedicado a resolver mis dudas.

A los miembros del **Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal** por su acompañamiento y por enseñarme con paciencia y dedicación a lo largo de este proceso.

A los miembros del **Laboratorio Taller de Procesos Bioculturales, Educación y Sustentabilidad** por el espacio compartido, por su amabilidad y por la calidez con la que siempre me recibieron.

A la **Agencia Digital Tecnológica del Estado de Chiapas** el apoyo otorgado para la realización de esta tesis.

DEDICATORIA

A **Dios**, por iluminar mi camino y bendecirme con amor y fortaleza cada día de mi vida. Gracias, gracias, gracias.

A mi familia, a mis amigos y confidentes. A quienes hicieron este viaje de aprendizajes más sencillo y más feliz...

A **Anamay Suart** y **Juan Resado**, que han sido el pilar de mi existencia. Gracias ma y pa por sostenerme, apoyarme y amarme. No estaría aquí sin ustedes. Este logro también es suyo.

A **Ceci** y **Juanito**, por estar conmigo aún en la distancia, por ser como son y por quererme como me quieren. Los pienso, siempre.

A mi **Koko**, por ser mi acompañante de desvelos, mi peluche y mi lugar seguro.

A mi **Quetzita**, porque siempre estuvo allí para mí. Gracias por todo el cariño, el apoyo y la hospitalidad. Te quiero montones.

A **Jennifer, Vale, Citla** y **Mario**, por escucharme, aconsejarme y acompañarme en mis alegrías y penas. A **Angeles, Diana, Edsel** y **Esme** por su amistad invaluable. Los llevo en mi corazón.

Infinitas gracias. Soy afortunada porque los tengo a ustedes.

Y a todos aquellos que me compartieron un pedacito de sí mismos...

Gracias a **Citlali y su familia** y a **Quetzi y su familia** por recibirme en sus hogares y por ser siempre tan cálidos conmigo.

A todos los que estuvieron conmigo durante la carrera y que me regalaron un poco de su experiencia. A los profes que me enseñaron tantísimo: al **Dr. Iván**, la **profa Erika**, **Felipe Ruan**, **Manu**, la **profa Ana**, la **Dra. Riley**, la **Dra. Alma Rosa**, la **Dra. Marisol**, la **Dra. Claudia**, el **profe Manuelito**, la **Dra. Miceli** y la **Dra. Alma Verdugo**. A mis **compañeros de clase**, gracias por hacer estos años más divertidos.

Y a los honguitos bonitos, a las *Amanitas* y al yuyo por existir. ¡Que maravillosos que son!

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Descripción de la especie de estudio	3
2.1.1. Ubicación y generalidades del género <i>Amanita</i>	3
2.1.2. <i>Amanita hayalyuy</i> D. Arora y GH Shepard	6
2.2. Metabolitos secundarios en hongos	7
2.3. Hongos fitopatógenos	13
2.3.1. <i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn.....	14
2.3.2. <i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>lycopersici</i> Sacc.	15
2.3.3. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. & Sac.	16
III. ANTECEDENTES	18
3.1. Análisis antimicrobianos de <i>Amanita rubescens</i> Pers.	18
3.2. Metabolitos secundarios del género <i>Amanita</i>	19
IV. OBJETIVOS	20
4.1. Objetivo general.....	20
4.2. Objetivos específicos	20
V. ZONA DE RECOLECTA	21
VI. MÉTODO	23
6.1. Obtención del material fúngico	23
6.2. Obtención de extractos de metabolitos fúngicos	23
6.3. Identificación de grupos funcionales	24
6.3.1. Detección de cumarinas	24
6.3.2. Detección de quinonas	24
6.3.3. Detección de saponinas.....	25

6.3.4. Detección de flavonoides	25
6.3.5. Detección de glucósidos	25
6.3.6. Detección de terpenoides	25
6.3.7. Detección de alcaloides	25
6.4. Análisis de composición química	25
6.5. Ensayos de la actividad antifúngica.	26
6.6. Prueba de toxicidad en <i>Artemia salina</i>	27
6.7. Análisis estadísticos.....	28
VII. RESULTADOS	29
7.1. Rendimiento de extractos crudos y fracciones de <i>Amanita hayalyuy</i>	29
7.2. Tipos de metabolitos secundarios en los extractos	31
7.3. Composición cromatográfica de extractos y fracciones de <i>A. hayalyuy</i> ,.....	31
7.3.1. Perfil de composición cromatográfica del extracto hexánico de <i>A. hayalyuy</i> y sus fracciones.....	32
7.3.2. Perfil de composición cromatográfica del extracto metanólico de <i>A.</i> <i>hayalyuy</i> y sus fracciones	34
7.4. Índices de quimiodiversidad de los extractos y fracciones de <i>A. hayalyuy</i>	38
7.4.1. Quimiodiversidad del extracto hexánico y fracciones de <i>A. hayalyuy</i>	39
7.4.2. Quimiodiversidad del extracto metanólico y fracciones de <i>A. hayalyuy</i>	40
7.5. Actividad antifúngica de extractos de <i>Amanita hayalyuy</i>	42
7.6. Comparación de la actividad antifúngica sobre cada fitopatógeno	47
7.7. Relación de actividad antifúngica contra quimiodiversidad.....	47
7.8. Ensayo de toxicidad en <i>Artemia salina</i>	48
VIII. DISCUSIÓN.....	50
IX. CONCLUSIONES	57
X. RECOMENDACIONES.....	58
XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	29
Cuadro 2. Rendimiento de las fracciones del extracto hexánico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	30
Cuadro 3. Rendimiento de las fracciones del extracto metanólico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	30
Cuadro 4. Rendimiento de las fracciones hexánicas con respecto al extracto nativo de <i>Amanita hayalyuy</i>	30
Cuadro 5. Rendimiento de las fracciones metanólicos con respecto al extracto nativo de <i>Amanita hayalyuy</i>	30
Cuadro 6. Intensidad de reacción de las pruebas bioquímicas para la detección de metabolitos secundarios en los extractos de <i>Amanita hayalyuy</i>	31
Cuadro 7. Índices de quimiodiversidad del extracto hexánico de <i>Amanita hayalyuy</i>	40
Cuadro 8. Índices de quimiodiversidad del aceite del extracto hexánico de <i>Amanita hayalyuy</i>	40
Cuadro 9. Índices de quimiodiversidad del precipitado del extracto hexánico de <i>Amanita hayalyuy</i>	40
Cuadro 10. Índices de quimiodiversidad del extracto metanólico de <i>Amanita hayalyuy</i>	41
Cuadro 11. Índices de quimiodiversidad de la fracción MeOH del extracto metanólico de <i>Amanita hayalyuy</i>	41
Cuadro 12. Índices de quimiodiversidad de la fracción CHCl ₃ del extracto metanólico de <i>Amanita hayalyuy</i>	42
Cuadro 13. Índices de quimiodiversidad de la fracción Hex del extracto metanólico de <i>Amanita hayalyuy</i>	42
Cuadro 14. Actividad inhibitoria del extracto hexánico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	43
Cuadro 15. Actividad inhibitoria de las fracciones del extracto hexánico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	43
Cuadro 16. Actividad inhibitoria (expresada en % de inhibición) del extracto metanólico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	44
Cuadro 17. Actividad inhibitoria de las fracciones del extracto metanólico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	44
Cuadro 18. Comparación de extractos y fracciones más activas de <i>Amanita hayalyuy</i>	47
Cuadro 19. Índices de correlación (coeficiente de Pearson) entre la quimiodiversidad y la potencia antifúngica de extractos y fracciones de <i>Amanita hayalyuy</i>	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i> .	7
Figura 2. Estructura química de los metabolitos secundarios del género <i>Amanita</i> .	13
Figura 3. Morfología e implicaciones de <i>Curvularia lunata</i> en el cultivo agrícola.	15
Figura 4. Morfología e implicaciones de <i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>lycopersici</i> en el cultivo agrícola.	16
Figura 5. Morfología e implicaciones de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> en el cultivo agrícola.	17
Figura 6. Región de Los Altos de Chiapas	21
Figura 7. Perfiles de composición cromatográfica del extracto hexánico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	32
Figura 8. Perfiles cromatográficos del aceite del extracto hexánico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i> .	33
Figura 9. Perfiles cromatográficos del precipitado del extracto hexánico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	34
Figura 10. Perfiles de composición cromatográfica del extracto metanólico de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i> .	35
Figura 11. Perfiles cromatográficos de la fracción metanólica del extracto metanólico (FMeOH:MeOH) de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	36
Figura 12. Perfiles cromatográficos de la fracción clorofórmica del extracto metanólico (FCHCl ₃ :MeOH) de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	37
Figura 13. Perfiles cromatográficos de la fracción hexánica del extracto metanólico (FHex:MeOH) de los esporomas de <i>Amanita hayalyuy</i>	38
Figura 14. Efecto en el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de extractos crudos de <i>Amanita hayalyuy</i> .	45
Figura 15. Efecto en el crecimiento micelial de las fracciones de <i>Amanita hayalyuy</i> .	46
Figura 16. Estrategia y resultados del primer estudio microquímico de <i>Amanita hayalyuy</i> .	49

RESUMEN

Amanita hayalyuy es un hongo de importancia gastronómica, cultural y económica en la Región de Los Altos de Chiapas; es conocido como yuyo y se comercializa frecuentemente en los mercados de la región proveniente de recolectas en bosques de pino-encino de los alrededores.

Este es el primer estudio que explora la micoquímica del yuyo con la tentativa de conocer su capacidad metabólica secundaria y sus propiedades antifúngicas. Para ello, los metabolitos secundarios (MS) se obtuvieron mediante extracciones de baja y alta polaridad. El conjunto de metabolitos se determinó con técnicas colorimétricas y de cromatografía de capa fina. En tanto que la capacidad antifúngica se evaluó *in vitro* sobre tres fitopatógenos de relevancia agrícola. De forma preliminar, también se determinó la toxicidad general de los extractos. Los esporomas se adquirieron en los mercados de San Cristóbal de Las Casas, una vez deshidratados y molidos, se obtuvieron extractos hexánicos y metanólicos mediante maceración en frío; una muestra del extracto hexánico fue utilizada para obtener dos fracciones mediante centrifugación (fracción aceite y fracción precipitado), mientras que el extracto metanólico fue separado por afinidad de polaridad en tres fracciones (fracción MeOH, fracción CHCl₃ y fracción Hex).

El conjunto de metabolitos reunidos en el extracto metanólico es más abundante en masa (21% de rendimiento) que los metabolitos del extracto hexánico (8%). Se detectaron seis tipos de MS en el yuyo; son comunes en ambos extractos los flavonoides y alcaloides, mientras que las quinonas y flavonoides distinguen al extracto hexánico, los terpenoides y los glucósidos son exclusivos del extracto metanólico. Las cromatografías en capa fina revelaron que hay un mayor número de compuestos en el extracto hexánico que en el extracto metanólico (13 vs 6 compuestos). Ello significa que el extracto metanólico contiene menor número de compuestos, pero mayor diversidad estructural de MS.

Los extractos hexánico y metanólico del yuyo mostraron la mayor inhibición sobre *C. gloeosporioides* (80 y 85% de inhibición micelial respectivamente); que sobre *C. lunata* (19 y 42%, respectivamente) y *F. oxysporum* (45 y 19%, respectivamente).

Existe una ligera asociación entre la diversidad química de los extractos y su actividad antifúngica.

El ensayo de toxicidad con nauplios de *Artemia salina* indica que el extracto metanólico ($18135 \mu\text{g.mL}^{-1}$) no es tóxico, pero que el extracto hexánico es de toxicidad moderada a alta ($135 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

El fraccionamiento permitió ampliar la visualización del número de compuestos en los extractos, aunque la potencia no sobrepasó la exhibida por los extractos generales.

Este estudio determina que *Amanita hayalyuy* produce metabolitos secundarios polares y no polares con capacidad para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos. Los MS del extracto metanólico son los de mayor potencia antifúngica, en particular sobre *C. gloesporoides*; esta actividad está acompañada de aparentemente una nula toxicidad.

Estas características químicas y biológicas podrían proporcionar una herramienta útil para la conservación de la especie.

ABSTRACT

Amanita hayalyuy is a mushroom of gastronomic, cultural, and economic importance in the Altos de Chiapas region; it is known as yuyo. It is frequently sold in the markets of San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, after being harvested in the region's pine-oak forests.

This is the first study to explore the secondary microchemistry of yuyo in an attempt to understand its metabolic capacity and antifungal properties. To this end, secondary metabolites were obtained through low- and high-polarity extractions. The set of metabolites was determined using thin-layer chromatography techniques and colorimetric tests. Meanwhile, the antifungal capacity was evaluated in vitro on three phytopathogens of agricultural relevance. The general toxicity of the extracts was also preliminarily determined. The spores were purchased in the markets of San Cristóbal de Las Casas. Once dehydrated and ground, hexane and methanol extracts were obtained by cold maceration. A sample of the crude extracts was partitioned by centrifugation and polarity affinity, resulting in two fractions for the hexane extract (oil fraction and precipitate fraction) and three for the methanol extract (MeOH fraction, CHCl₃ fraction, and Hex fraction).

The set of polar metabolites found in the methanolic extract is more abundant (21%) than the non-polar metabolites in the hexane extract (8%). Flavonoids and alkaloids were common in both extracts, while quinones and flavonoids are distinctive of the hexane extract and terpenoids and glycosides are exclusive to the methanolic extract. Thin-layer chromatography revealed that there are more compounds in the crude hexane extract (13 compounds) than in the crude methanol extract (6 compounds).

Antifungal activity against *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, and *Colletotrichum gloeosporioides*. Both the crude methanolic and hexane extracts showed the greatest antifungal inhibition against *C. gloeosporioides* (85% and 80% mycelial inhibition, respectively); in contrast, the activity against *C. lunata* and *F. oxysporum* is low (up to 40% and 19%, respectively). The toxicity test with *Artemia salina* nauplii indicates that the methanolic extract (18135 µg.mL⁻¹) is not toxic, while the hexane extract has moderate toxicity (135 µg.mL⁻¹) with *Amanita hayalyuy*.

This study represents the first chemical approach to *Amanita hayalyuy* and provides a useful tool for the conservation of the species.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Amanita* es un taxón fúngico numeroso, se divide en dos subgéneros y siete secciones de acuerdo a la clasificación conservadora de la taxonomía moderna (Gálvez-Sagastume, 2011), no obstante, aún posee un extenso número de especies sin caracterizar, por lo cual es difícil conocer puntualmente su taxonomía. Es un grupo conocido por su amplia variedad de formas, colores y usos humanos; posee especies comestibles, como *Amanita rubescens*; tóxicas como *Amanita phalloides*, y psicotrópicas y medicinales como *Amanita muscaria* (Dueñas-Rivera, 2008). Varias de estas propiedades están asociadas a la presencia de pequeñas moléculas llamadas metabolitos secundarios o especializados.

Los metabolitos secundarios son compuestos derivados del metabolismo primario que permiten a los organismos que los producen comunicarse con su ambiente, ya que son moléculas de defensa o de atracción de enemigos naturales u organismos benéficos respectivamente (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

Las propiedades biológicas que poseen los metabolitos secundarios han sido trasladadas a diversos usos como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Una de sus aplicaciones más valiosas es la obtención de compuestos activos como agentes de control de fitopatógenos en cultivos de importancia económica. Las plantas son quizá la fuente más utilizada para ello, debido a la facilidad que supone obtener un gran volumen de biomasa para el aislamiento de metabolitos (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Dueñas-Rivera, 2008). Sin embargo, el metabolismo secundario también puede producirse en animales, bacterias y hongos (Almaraz-Abarca *et al.*, 2006).

En particular, la relación entre seres humanos y hongos para el aprovechamiento de sus metabolitos secundarios (MS) bioactivos data desde las civilizaciones antiguas en campos como la medicina tradicional y las ceremonias religiosas (Dueñas-Rivera, 2008). Los hongos poseen un metabolismo secundario bien desarrollado, la diversidad de especies fúngicas y la diversificación de los grupos de genes biosintéticos son un potencial casi ilimitado de variación metabólica y constituyen un recurso sin explorar para el descubrimiento de fármacos y agroquímicos vitales (Bills y Gloer, 2016).

Parte del éxito ecológico de los hongos filamentosos se debe a su capacidad para desplegar sus metabolitos secundarios en consonancia con su modo de vida penetrante y absorbente. Los metabolitos fúngicos pueden ser tóxicos y afectar los alimentos y los ambientes, siendo determinantes de las enfermedades fúngicas en humanos, animales y plantas. Pero también varios MS son fármacos relevantes, entre ellos los antibióticos penicilina y estreptomicina (Bills y Gloer, 2016).

El hongo comestible *Amanita hayalyuy* es de importancia en la gastronomía y economía de Los Altos de Chiapas, México. Algunos estudios previos indican a las especies del género *Amanita* como una potencial fuente de metabolitos secundarios con características antifúngicas (Martínez-Escobedo *et al.*, 2021; Narváez-Montaña *et al.*, 2023).

No obstante, el estudio de la química de macromicetos es escaso en el continente americano y la búsqueda se ha realizado principalmente en especies euro-asiáticas y sin considerar que las características del suelo y la composición de la vegetación del territorio hacen que los MS que produce una especie, puedan diferir en presencia o concentración.

En el presente estudio se evaluó la diversidad química y la actividad antifúngica de *Amanita hayalyuy* como una primera aproximación al conocimiento de la micoquímica de este macromiceto. Para ello, se obtuvieron metabolitos mediante extracciones hexánicas y metanólicas que permitieron en un principio determinar la riqueza y tipificación de MS, para posteriormente evaluar su capacidad antifúngica y de forma preliminar determinar su posible toxicidad.

Los resultados de esta investigación contribuyen al conocimiento del metabolismo secundario de *A. hayalyuy*, y establecen la base para estudios como fuente potencial de compuestos antifúngicos contra enfermedades en cultivos agrícolas de importancia económica como una alternativa natural a los productos antifúngicos sintéticos convencionales. Al mismo tiempo representan argumentos para la conservación de la fungidiversidad chiapaneca.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción de la especie de estudio

2.1.1. Ubicación y generalidades del género *Amanita*

El reino Fungi agrupa a una diversidad de organismos eucarióticos y heterótrofos, con reproducción sexual o asexual y una pared celular conformada, en su mayoría, por quitina (Aguirre-Acosta *et al.*, 2014). Se estima un total de 2.2 y 3.8 millones de especies a escala global, de las cuales 120,000 especies han sido descritas y aceptadas (Hawksworth y Lücking, 2017).

Los hongos son organismos poseedores de un núcleo definido y con características similares a las plantas y los animales; sin embargo, su conformación interna, externa y su comportamiento los hace diferentes a cualquier grupo. Sus células son alargadas y al alinearse unas con otras forman filamentos denominados hifas, estas se entrelazan para formar una estructura llamada micelio, como ocurre en las especies filamentosas; no obstante, algunos hongos son unicelulares, como las levaduras. La diversidad fúngica se manifiesta en las numerosas formas, colores y comportamientos (Cuevas-Moreno, 2016).

Este reino surgió entre los últimos 660 millones y 2.15 billones de años, y existen evidencias que demuestran que fue el primero en emerger de los mares para conquistar tierra firme. Los hongos fueron clasificados erróneamente en el reino Plantae, debido a que son organismos inmóviles y son similares a las plantas. Sin embargo, su diferencia es bastante clara, debido a que no tienen raíces, tallos y semillas; los hongos comparten una conformación de un micelio formado por hifas y, en el caso de los macromicetos, un cuerpo fructífero destinado a la producción de esporas para su reproducción. Se ha demostrado que son más cercanos al reino Animalia, ya que comparten la condición heterótrofa, mientras que las plantas son autótrofas (Montes *et al.*, 2003; Cuevas-Moreno, 2016).

Son organismos simbioses, saprófitos y parásitos. Establecieron relaciones simbióticas con las plantas hace aproximadamente 500 millones de años dando lugar a las micorrizas. Las asociaciones micorrizógenas se forman cuando las hifas se ramifican en el suelo y crean una red, que se interconectan con las raíces de las plantas. Este proceso ocurre dentro del suelo y proporciona nutrientes a los hongos,

mientras que la planta obtiene minerales y nitrógeno. Actualmente se conoce que cerca del 90% de las plantas vasculares poseen micorrizas. También han establecido relaciones simbióticas con animales, en donde son mutualistas, parásitos y comensales (Gálvez-Sagastume, 2011; Cuevas-Moreno, 2016).

El reino Fungi incluye diversos phyla, entre ellos, Ascomycota y Basidiomycota. En este último se caracterizan por poseer esporas sexuales llamadas basidiosporas, contenidas en estructuras especializadas que llevan por nombre basidios. A este grupo pertenecen los hongos más conocidos por la sociedad, los cuales, generalmente, están formados por un esporoma píleo-estipitado; el píleo puede variar en su forma (cónica, convexa, plana o campanulada). Estos macrohongos poseen variedad de colores (Kuhar *et al.*, 2013).

En la clasificación actual el phylum Basidiomycota comprende cuatro subfilos: Agaricomycotina, Pucciniomycotina, Ustilaginomycotina y Wallemiomycotina. El subphylum Agaricomycotina es el grupo más grande, contiene aproximadamente dos tercios de los Basidiomycota descritos. Este subphylum comprende a las clases Agaricomycetes, Bartheletiomycetes, Dacrymycetes y Tremellomycetes. El grupo presenta una extensa variedad morfológica, sin embargo, la característica unificadora es la presencia de septos doliporos, poros que se encuentran entre células adyacentes y rodeados del mismo material del que están formadas las paredes celulares. (Rúa-Giraldo, 2023; Wijayawardene *et al.*, 2024).

La clase Agaricomycetes contiene aproximadamente 21,000 especies, lo cual representa un quinto dentro de todo el reino Fungi. Esta clase es descomponedora de materia, patógenos, parásitos y simbiontes; tienen la capacidad de formar ectomicorrizas con árboles como piños, robles y eucaliptos. Se encuentra principalmente en el medio terrestre y son capaces de formar compuestos a partir del metabolismo primario, llamados metabolitos secundarios, que les confieren características que producen su aprovechamiento. En Agaricomycetes se encuentran la mayoría de los hongos comestibles por el ser humano; no obstante, también existen especies que producen compuestos tóxicos o alucinógenos (Hibbett *et al.*, 2011; Gálvez-Sagastume, 2007).

La mayoría posee homobasidios (basidios no divididos por septos), existen otros que producen basidios septados. En cada basidio se producen de dos a ocho basidiosporas, aunque generalmente son cuatro. Los cuerpos fructíferos son de formas diversas, incluyendo formas coraloides, formas de repisa, bejines y cortezas. En la clasificación más actual se distinguen 19 clados mayores en la clase de los Agaricomycetes, pero únicamente 12 han sido aceptados como taxones formales: Agaricomycetidae, Russulales, Polypolares, Thelephorales, Gloeophyllales, Corticiales, Hymenochaetales, Phallomycetidae, Trechisporales, Cantharellales, Sebaciniales y Auriculariales. En Agaricomycetidae están incluidos los órdenes Agaricales, Boletales y Atheliales (Hibbett *et al.*, 2007).

El orden Agaricales, llamada también euagáricos, son un grupo monofilético que contiene aproximadamente 8,500 especies de hongos. Conforman el clado más prominente; junto con los Boletales y Atheliales, forman la subclase Agaricomycetidae. Sus especies son cosmopolitas. Actualmente, este orden se divide formalmente en cinco clados mayores: Agaricoide, Tricholomatoide, Marasmioide, Pluteoide, Hygrophoroide y Plicaturopsidoide. En el clado Pluteoide se encuentran cuatro familias: Pluteaceae, Amanitaceae, Pleurotaceae, Limnoperdonaceae, y varios géneros que presentan láminas que no se encuentran incluidos dentro de estas clasificaciones (Matheny *et al.*, 2006).

La familia Amanitaceae posee cuatro células terminales infladas (acrofisalidas) en la trama, además de, láminas libres, trama lamelar bilateral, basidiosporas lisas de pared delgada e incoloras, células subglobosas infladas en el subhimenio y pilipelis gelatinizada. Se han establecido tres subgéneros con análisis filogenéticos, *Amanita*, *Catatrama* y *Limacella* (Estrada-Avendaño, 2023).

El género *Amanita* contiene a todos los individuos capaces de producir un cuerpo fructífero (basidioma) y que presentan un crecimiento esquizohiménial, en el cual el desarrollo del primordio llamado botón o huevo tiene bien diferenciada cada parte (píleo, láminas y estípites) sin espacios entre cada uno de ellos, los tejidos que dividen las partes del cuerpo fructífero se mueren para permitir la expansión sin obstáculos del hongo en su maduración. El desarrollo esquizohiménial es único para el género (Estrada-Avendaño, 2023).

Este género está dividido en dos subgéneros, definidos tanto morfológicamente como molecularmente, y siete secciones de acuerdo a la clasificación conservadora de la taxonomía moderna (Gálvez-Sagastume, 2011).

Amanita es un género ampliamente distribuido alrededor del mundo; no obstante, la mayoría de las especies forman ectomicorrizas, ocupantes de áreas limitadas. El género ha sido estudiado por su importancia tóxicas o comestibles y porque se ha reportado que posee propiedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antitumorales, anti-inflamatorias y citotóxicas, entre otras (Cepero de García *et al.*, 2012; Sevindik *et al.*, 2019).

2.1.2. *Amanita hayalyuy* D. Arora y GH Shepard

A. hayalyuy es una especie llamada comúnmente como *yuy* que puede ser encontrada en pequeños grupos o solitaria (Figura 1). Es una especie ectomicorrizógena y crece en el suelo, cerca o bajo árboles de robles (*Quercus* sp.) en elevaciones de 2000 metros sobre nivel del mar (msnm) o más. Se distribuye en las montañas que rodean San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México, especialmente en bosques de roble en la periferia de pequeños pueblos de los municipios de San Juan Chamula y Teopisca. El cuerpo fructífero emerge en los meses de junio hasta septiembre, pero es más común encontrarlo en junio y julio (Shepard *et al.*, 2008).

Debido a su importancia gastronómica en la zona Maya tsotsil y tseltal de Los Altos de Chiapas, *A. hayalyuy* es comercializada en los mercados de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. Las especies del género *Amanita* son conocidas por la población local como *yuy* (*Yuy*, *K'anal yuy* del maya tsotsil) o *yuyo* (Ruan-Soto *et al.*, 2021; Ruan-Soto y Ordaz-Velázquez, 2015).

2.1.2.1. Características de la especie

El píleo es convexo a ampliamente convexo y plano, mide de 80 a 180 mm de diámetro y es típicamente café-dorado o amarillo brillante-marrón, visto de lejos es amarillo brillante marrón, pero en realidad marrón oscuro (a veces de color verde oliva o rojizo) en el disco; es más brillante en la porción media y más pálido hacia el margen. El tamaño del estípite es de 150 a 300 mm x 10 a 15 mm, mientras que la ornamentación del estípite es decorada debajo del anillo con una capa fibrillosa

marrón-anaranjado oscuro a ligeramente rojizo que se rompe formando zonas en forma de zigzag; estas zonas se decoloran con la edad y con el maltrato se vuelve más pálido y café. Sus esporas son elipsoides, apiculadas o lisas. Los basidios son clavados, la mayoría con cuatro esterigmas, base con fíbulas. Las capas y el tipo de subhimenio son células infladas y 1 a 2 capas de células (Deloya-Olvera, 2017).



Figura 1. Esporomas de *Amanita hayalyuy*. Por Estrada-Avendaño, 2023.

2.2. Metabolitos secundarios en hongos

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que las células de los seres vivos realizan con el fin de biosintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o bien, degradan las complejas para la obtención de moléculas simples.

Todos los organismos dependen del metabolismo para biosintetizar o degradar moléculas que componen los compuestos primarios para la subsistencia del individuo, como son la generación de macromoléculas y energía; esto, en su conjunto, es llamado metabolismo primario. Por otro lado, además del metabolismo primario, algunos organismos poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular otro tipo de compuestos denominados metabolitos secundarios, también llamados, metabolitos especializados o productos naturales. Estos son de vital importancia debido a que desempeñan funciones biológicas y ecológicas dentro del organismo, y se relacionan estrechamente con la sobrevivencia en el medio natural de este (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

Para el humano, los metabolitos secundarios representan un área de oportunidad debido a sus usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes. Una de sus aplicaciones más valiosas es la síntesis de nuevos fármacos (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Dueñas-Rivera, 2008).

Dentro del campo biotecnológico, la extracción de compuestos bioactivos de los hongos ha sido relevante. La utilización de los hongos microscópicos y macroscópicos para la obtención de metabolitos secundarios, tiene una larga historia que data, en el caso de los macromicetos, desde las antiguas civilizaciones, como la mesopotámica y azteca, en las cuales eran utilizados con fines medicinales y ceremoniales (Dueñas-Rivera, 2008).

Sin embargo, encontrar compuestos naturales puros con alguna actividad biológica particular no es simple, es necesario extraerlos de su fuente natural, lo que representa un problema experimental debido a que los metabolitos secundarios de interés están mezclados con muchos metabolitos con otras funciones biológicas, o bien, cuando están aislados no son activos ya que muestran sinergia junto a otros compuestos; para el aislamiento de moléculas es necesario realizar fraccionamiento de extractos y la utilización de técnicas químicas variadas como la cromatografía (Dueñas-Rivera, 2008).

Los metabolitos secundarios se clasifican generalmente en dos grandes grupos, los metabolitos nitrogenados y no nitrogenados, que abarcan distintos subgrupos

según su composición química y la ruta de la que se derivan (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Sepúlveda *et al.*, 2003; Harun y Mohamed-Hussein, 2024):

Metabolitos no nitrogenados.

- Terpenos: a él pertenecen pigmentos carotenoides y la mayoría de las moléculas que dan origen al aroma y a los aceites esenciales.
- Compuestos fenólicos: por ejemplo, cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- Glicósidos: metabolitos de otros grupos unidos a moléculas de azúcares, entre ellos saponinas y glicósidos cardiacos.

Metabolitos nitrogenados.

- Alcaloides: metabolitos que contienen uno o más átomos de nitrógenos, usualmente en un anillo heterocíclico.
- Aminoácidos no protéicos: son aminoácidos no ribosomales inusuales que no participan en la síntesis de proteínas.
- Glucósidos cianogénicos y glucosinolatos: forman parte de los glicósidos y se agrupan en los metabolitos nitrogenados debido a que derivan de aminoácidos con nitrógeno en su estructura.
- Betalainas: pigmentos nitrogenados derivados del ácido betalámico.

Los **terpenos o terpenoides**, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios ya que contienen más de 40,000 moléculas. Son insolubles en agua y derivan del isopreno; debido a esto se clasifican según el número de sus unidades en monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos. Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico y la del metileritritol fosfato (MEP). Estas moléculas tienen importancia en el área de la alimentación y cosmética debido a su uso como aromas y fragancias, sin embargo, son de interés medicinal debido a sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalariales, antimicrobianas (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

El metabolismo secundario de los basidiomicetos es rico en terpenoides. Además de encontrarse en amplio número, muchos sesquiterpenos poseen estructuras que

sólo se conocen en este phylum. Algunos géneros que biosintetizan sesquiterpenos y derivados son *Merulius*, *Marasmius*, *Naematoloma*, *Pleurotellus*, *Lentinelus* y *Panaelus*, los cuales incluyen compuestos como merulidial, naematolina, naematolon, hynophilina, leianafulveno, pleurotelol (Figura 2D), ácido pleurotético, omphalona y fulvoferruginina. El género *Amanita* produce muscarufina, un sesquiterpeno que provoca el pigmento rojo-anaranjado y es aislado del píleo de *A. muscaria* (Figura 2A). Estos compuestos tienen propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antivirales, citotóxicas y mutagénicas. En cuanto a los diterpenoides, algunos son producidos por géneros como *Cyathus* y *Crinipellis*, y algunos ejemplos son estriatina, pleuromutilina, y cavipetina con actividades citotóxicas, antifúngicas y antibacterianas (Brizuela *et al.*, 1998).

Los hongos también biosintetizan policétidos o **compuestos fenólicos**, polifenoles o fenilpropanoides que derivan del fenol. Este grupo incluye desde moléculas sencillas como los flavonoides hasta polímeros complejos como los taninos y la lignina. Las dos rutas implicadas en su biosíntesis, son la ruta del ácido siquímico y la del ácido malónico. Este grupo confiere algunas características organolépticas, como el color y varios tienen importancia para la industria médica (Ávalos García y Pérez-Urria, 2009).

Se han encontrado flavonoides, saponinas, taninos, quinonas y cumarinas en hongos comestibles del centro de México (*Amanita rubescens*, *Flammulina mexicana*, *Floccularia* aff. *luteovirens*, *Gyromitra* sp., *Morchella* sp., *Turbinellus floccosus*). En el género *Amanita* han sido aislados el ácido cinámico, catequina, epicatequina, ácido p-cumárico y ácido ferúlico de la especie *A. caesarea* (Figura 2C). Estos metabolitos son reconocidos por su capacidad antioxidante y su importancia para combatir enfermedades producidas por el estrés oxidativo, como cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, deterioro del sistema inmunológico, enfermedades hepáticas, diabetes mellitus, inflamación, entre otras (González-Morales *et al.*, 2021)

Los **glicósidos** son metabolitos que deben su nombre al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Los glicósidos más estudiados son las saponinas, los glicósidos cardíacos,

glicósidos cianogénicos y glucosinolatos. Estos son responsables del olor, color y sabor de algunos alimentos, y algunos son principios activos de relevancia médica (Ávalos García y Pérez-Urria, 2009).

Los **alcaloides** son metabolitos heterocíclicos en su mayoría que contienen al menos un átomo de nitrógeno y que exhiben una pronunciada actividad biológica. Se clasifican según su origen, que puede ser a partir de aminoácidos como la lisina, tirosina y triptófano. Los alcaloides presentan interacción con neurotransmisores, por lo cual, a dosis altas, son tóxicos; no obstante, en dosis bajas pueden ser usados como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos o analgésicos (Ávalos García y Pérez-Urria, 2009).

Los alcaloides de los hongos proporcionan principios activos con aplicaciones usadas desde las civilizaciones precolombinas en diversos ámbitos, como son la medicina tradicional y la espiritualidad. Algunos alcaloides poseen efectos psicotrópicos y tóxicos. La mayoría de los hongos con alcaloides psicotrópicos pertenecen a dos grupos: los hongos psilocibios y los agáricos. Mientras que los hongos psilocibios contienen los alcaloides psilocibina (Figura 2E) y psilocina, los agáricos contienen alcaloides como el ácido iboténico, el muscimol, la muscazona y el ácido estizolóbico. De igual manera, hay hongos que poseen actividad antimicrobiana por su alta cantidad de alcaloides, un ejemplo de ello es el basidiomiceto *Pleorotus ostreus* (Burillo-Putze *et al.*, 2013; Carrillo-Lara *et al.*, 2017).

Los alcaloides confieren la toxicidad y psicoactividad característica de algunas especies del género *Amanita*; la ingesta de *Amanita muscaria* provoca malestar gastrointestinal, excitación y depresión del sistema nervioso central producida por compuestos como el ácido iboténico y el muscimol (Figura 2B) (Moss y Hendrickson, 2018).

Los **aminoácidos no proteicos** son compuestos que contienen grupos amino (NH_2) y grupos carboxilo (COOH), y se diferencian de los aminoácidos protéicos debido a que no se incorporan a las proteínas de los organismos que las sintetizan. Estos compuestos son producidos a partir de rutas metabólicas especializadas, donde ocurren transformaciones biosintéticas como la isomerización de los enlaces C-H. Estos compuestos pueden ser integrados en productos naturales más complejos y

superan en cantidad a los 22 aminoácidos proteicos conocidos (Bell *et al.*, 2008; Hedges y Ryan, 2019; Ladaniya, 2008).

Los aminoácidos no proteicos se encuentran en distintos organismos vivos, incluyendo a los hongos. Tienen un rol importante en la defensa contra depredadores y uno de sus mecanismos típicos es que funcionan mimetizándose como alguno de los 22 aminoácidos proteicos para incorporarse en la proteína, llevando a la producción de proteínas inusuales disfuncionales. Estos compuestos suelen exhibir actividad antifúngica y antibacteriana, y en algunos casos, pueden llegar a presentar actividad citotóxica significativa. Algunos aminoácidos no proteicos encontrados en hongos son 3-ciclopropilalanina, en *Amanita virgineoides*; ácido 2-amino-3-ciclopropilbutanoico, en *Amanita castanopsidis* y *Amanita cokeri*; trichorzina HA1, atroviridinas y cyclosporinas en *Trichoderma* sp.; y neofrapeptinas, aisladas de *Geotrichum candidum* (Brackmann y de Meijere, 2007; Yamane *et al.*, 2010; Yoganathan y Vederas, 2010).

Las **betalainas** son pigmentos nitrogenados solubles en agua, que resultan a partir de la síntesis del ácido betalámico. La mayoría de estos compuestos son antioxidantes y tienen propiedades colorantes. Se han encontrado betalainas en el género *Amanita*, específicamente en *Amanita muscaria*, que corresponden a muscaurinas naranjas I-VII, muscaflavina amarilla, muscapurpurina rojo-violeta y muscarubrina roja (Döpp *et al.*, 1971; Döpp y Musso, 1973; Stintzing y Schliemann, 2007).

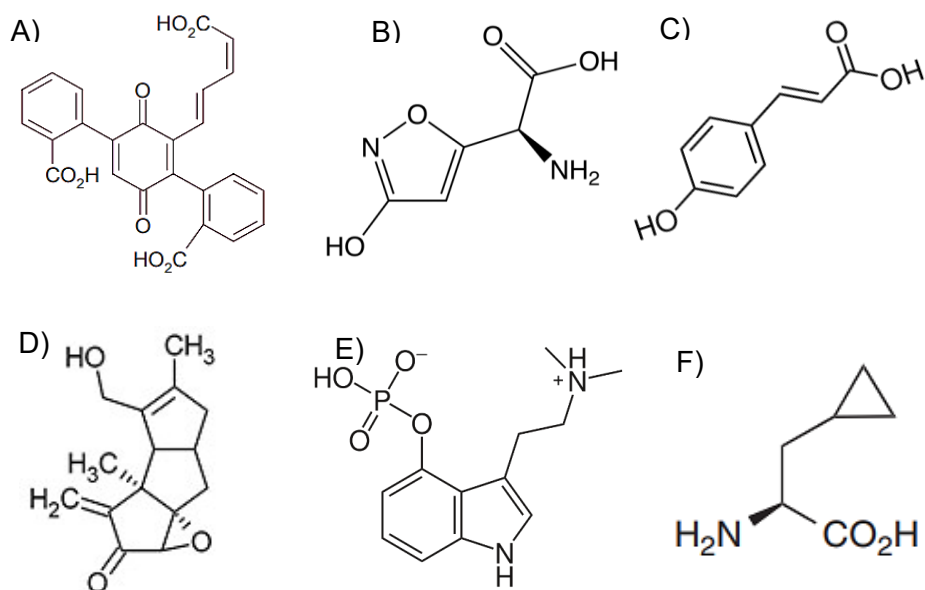


Figura 2. Estructura química de los metabolitos secundarios del género *Amanita*. A) Muscarufina, sesquiterpeno aislado de *A. muscaria*; B) Ácido iboténico, alcaloide aislado de *A. muscaria*; C) Ácido p-cumárico, compuesto fenólico aislado de *A. caesarea*; D) Pleurotelol, sesquiterpeno aislado de *Pleurotellus hypnophilus*; E) Psilocibina, alcaloide aislado de *Psilocybe* sp.; F) 3-Cyclopropylalanina, aminoácido no proteico aislado de *A. virgineoides*. Elaboración propia.

2.3. Hongos fitopatógenos

Dentro del reino Fungi existen hongos patógenos en una variedad de grupos de seres vivos, entre los cuales se encuentran los fitopatógenos. Estos hongos infectan o parasitan plantas sanas y provocan patologías que afectan su desarrollo, supervivencia o rendimiento, lo cual afecta ciertas actividades y aspectos de vital importancia para el ser humano, como lo son la agricultura y la disponibilidad de alimento (Ormeño-Villajos, 2024).

Los hongos fitopatógenos provocan pérdidas que ascienden hasta miles de millones de dólares al año, lo cual impacta negativamente en la economía mundial. Esto se debe a la extensa distribución que poseen algunos géneros y especies, ocasionada por su gran capacidad de adaptación. Sin embargo, algunos hongos presentan limitaciones en su adaptación, o bien, son especializados. Esta especialización está condicionada a la relación del hongo con la planta hospedera, es decir, si son parásitos obligados, parásitos facultativos o saprófitos facultativos. Aun

con todas estas variaciones de hábito, se han implementado medidas de control contra hongos fitopatógenos, como son los fungicidas y el control biológico (Del Pilar-González, 2001).

2.3.1. *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn

Curvularia lunata es una especie de hongo fitopatógeno dentro del phylum Ascomycota y el género *Curvularia*.

Este micromiceto presenta colonias de apariencia algodonosa y coloración negra grisácea, y en el reverso se observa un pigmento oscuro posee hifas vegetativas tabicadas, ramificadas, subhialinas a pardas, lisas a asperuladas, con un tamaño aproximado de 1.5 a 5 μm de ancho; conidioforos (39-430 μm de largo, 4-9 μm de ancho en la base y 2.5-6 μm de ancho hacia el centro) septados, simples o ramificados, a menudo con una base bulbosa y geniculados o doblados en el ápice, de color marrón claro a oscuro, con paredes celulares más gruesas que las de las hifas vegetativas; células conidiógenas (4-20 por 3-13 μm) terminales e intercalares, politreéticas, subcilíndricas y subglobosas o de forma irregular; conidios casi siempre de cuatro células, lisos a asperulados, a menudo curvados en la tercera célula desde la base, que es más grande que las otras, células intermedias de color marrón a marrón oscuro, células terminales subhialinas a marrón claro, de 21-31 por 9-13 μm ; hilio no sobresaliente, plano, oscurecido y engrosado, 1.5-3 μm de ancho. Rara vez se observan conidias atípicas, bifurcadas y conidiación microcíclica (Manamgoda *et al.*, 2012; Rocha dos Santos *et al.*, 2018).

Es un patógeno facultativo que inhibe en la germinación de semillas de cereales y otros cultivos monocotiledóneos, así como la enfermedad de la mancha foliar en el maíz (Figura 3); por otro lado, en el trigo provoca pudrición de la corona (enfermedad que ataca la base del tallo de las plantas, justo donde se junta con las raíces), tizón de la plántula, tizón de la cabeza y punta negra (Sivanesan, 1987; Gao *et al.*, 2014; Zillinsky, 1983; Mishra *et al.*, 2001).

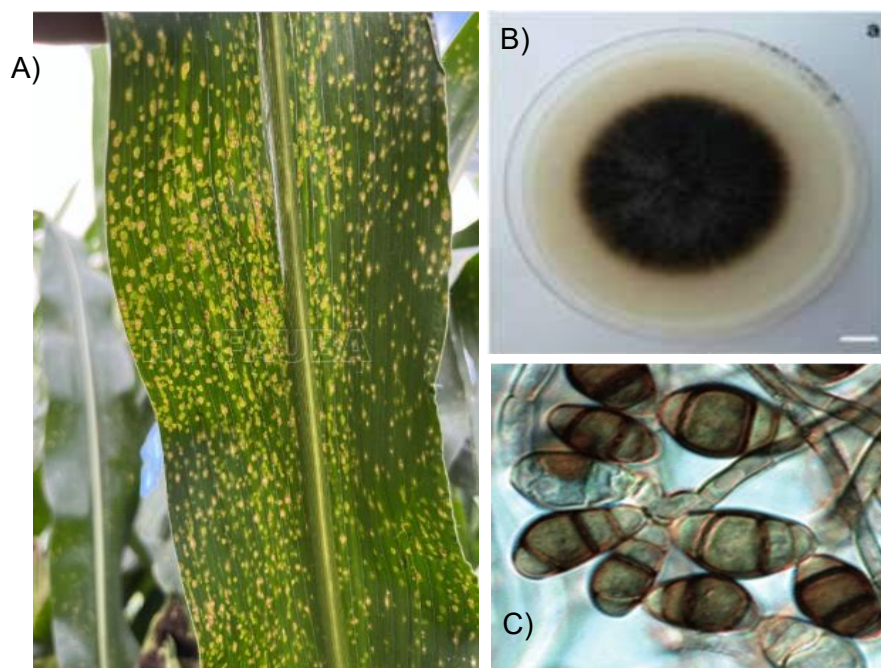


Figura 3. Morfología e implicaciones de *Curvularia lunata* en el cultivo agrícola. A) Mancha en maíz; B) *C. lunata* en medio de cultivo; C) Conidios de *C. lunata*. Por Agro.uba.ar, 2016; Piontelli, 2015; Manamgoda et al., 2012.

2.3.2. *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici* Sacc.

Fusarium oxysporum var. *lycopersici* es una especie del phylum Ascomycota y el género *Fusarium* (Zhou et al., 2020).

La colonia presenta un crecimiento rápido, alcanza 50 mm de diámetro en una semana. Al principio es lisa y algodonosa, y posteriormente es de color blanco o salmón pálido, tiñéndose de púrpura en su zona central. El reverso es púrpura o azul oscuro. Las microconidias son ovoides o en forma de riñón, con un tamaño de 5-12 x 2,3-3,5 μm con uno o dos tabiques. Nacen de monofiálides laterales, cortas y anchas, afiladas hacia la punta, con collaretes poco definidos, solitarias o ramificadas. Las microconidias pueden formar masas, nunca cadenas. Las macroconidias tienen de uno a cinco septos. Su tamaño es de 23-54 x 3-4,5 μm . Tienen forma de media luna, ligeramente curvadas, con pared fina y delicada. Su célula apical es afilada y la célula basal con forma de pie, pero pueden tener ambos extremos afilados. En la mayoría de los cultivos las clamidosporas son abundantes. Son grandes, hialinas, de pared lisa o rugosa y pueden observarse aisladas o en parejas, intercalares o terminales (Monzón y Tudela, 2000).

Es un hongo que provoca marchitez en el jitomate (*Solanum lycopersicum*) (Figura 4). Los síntomas iniciales de dicha enfermedad aparecen gradualmente en las hojas inferiores, seguidos del marchitamiento de las plantas.

F. oxysporum var. *lycopersici* penetra en la planta de jitomate, en donde coloniza y provoca una coloración en el tejido vascular de color marrón oscuro, la cual se extiende hasta el ápice, provocando marchitamiento, colapso y finalmente, la muerte de la planta (Hernández-Martínez *et al.*, 2014; Srinivas *et al.*, 2019).

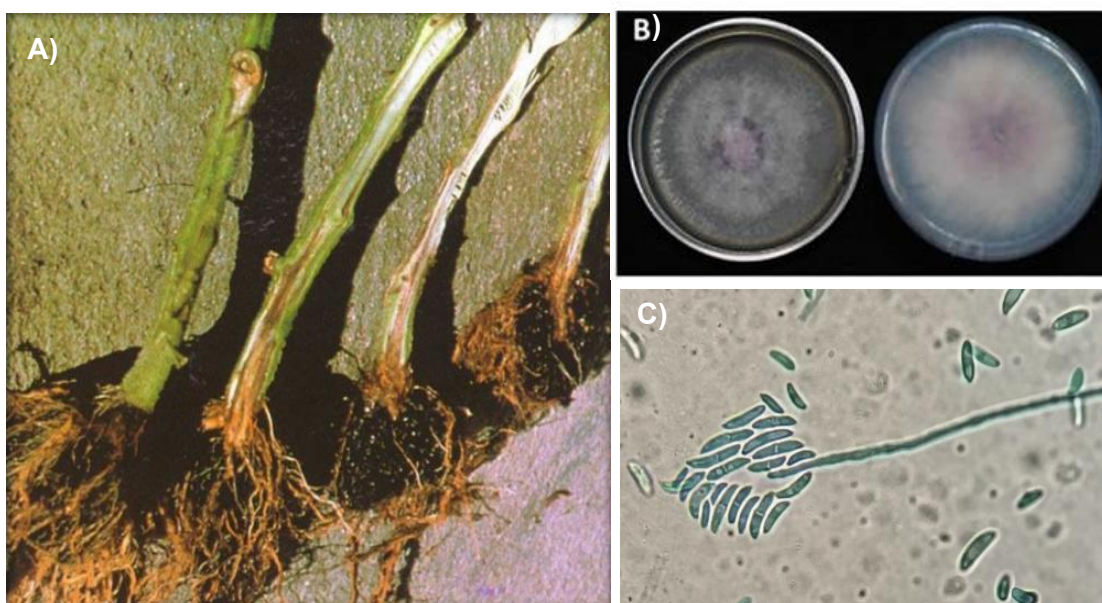


Figura 4. Morfología e implicaciones de *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici* en el cultivo agrícola. A) Marchitez del jitomate; B) *F. oxysporum* en medio de cultivo; C) Conidios de *F. oxysporum*. Por Fertilidad de Suelos S. de R.L., 2022; Armenta-López *et al.*, 2021; Rodríguez-Grimaldo *et al.*, 2022.

2.3.3. *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sac.

Colletotrichum gloeosporioides es un hongo fitopatógeno que pertenece al phylum Ascomycota y al género *Colletotrichum* (Kumar-Gautam, 2014).

Produce colonias circulares, lanudas o algodonosas que presentan un blanco grisáceo. Se caracteriza por presentar conidias hialinas, unicelulares, ovoides a oblongas, ligeramente curvadas o en forma de mancuerna, con un tamaño que varía entre 7-8 micras y 3-4 micras de ancho. Sin embargo, hay una variación en tamaño y forma de los conidios de *C. gloeosporioides* dependiendo del huésped y el área de origen. Los acérvulos céreos producidos en los tejidos infectados son subepidérmicos,

típicamente con setas, y conidióforos simples, cortos y erectos (Pérez-Castro *et al.*, 2003; Kumar-Gautam, 2014).

Colletotrichum gloeosporioides provoca la enfermedad de la antracnosis (Figura 5), la cual se caracteriza por presentar hojas, pecíolos, frutos y/o tallos con puntos rojizos, estas las lesiones crecen en forma irregular y se unen entre sí ocasionando necrosis total de la hoja. *C. gloeosporioides* afecta cultivos como papaya (*Carica papaya*), aguacate (*Persea americana*), café (*Coffea* spp.), mango (*Mangifera* spp.), uva (*Vitis vinifera*), guanábana (*Annona muricata*), jitomate (*Solanum lycopersicum*), fresa (*Fragaria × ananassa*) y cítricos (*Citrus* spp.) (Trinidad-Ángel, 2017).

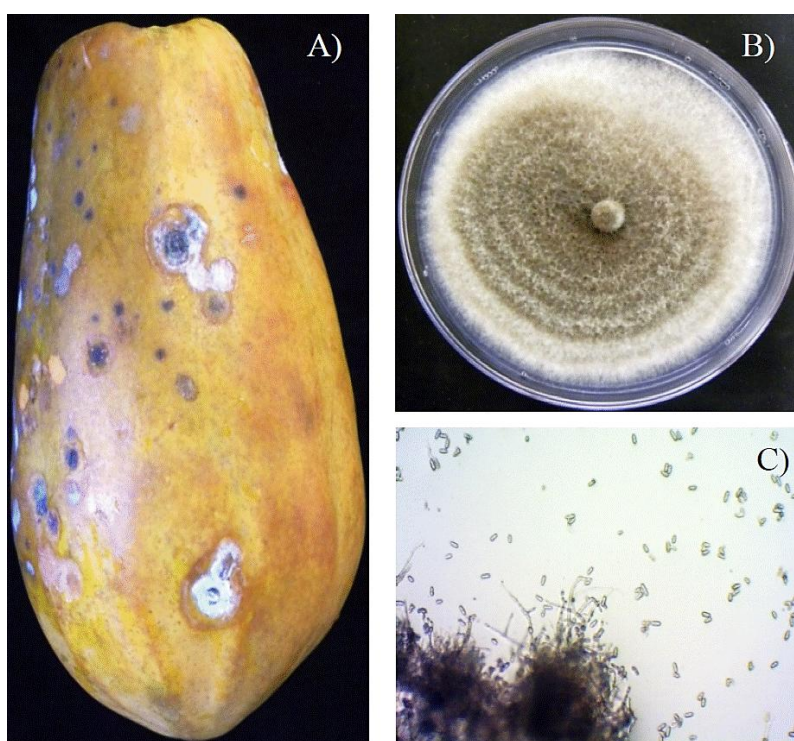


Figura 5. Morfología e implicaciones de *Colletotrichum gloeosporioides* en el cultivo agrícola. A) Antracnosis en papaya; B) *C. gloeosporioides* en medio de cultivo; C) Esporas de *C. gloeosporioides*. Por Landero-Valenzuela et al., 2016.

III. ANTECEDENTES

No se encontraron estudios químicos o biológicos para *Amanita hayalyuy*; no obstante, se detectaron algunas investigaciones con especies cercanas del género que proveen una aproximación para el entendimiento de su micoquímica.

3.1. Análisis antimicrobianos de *Amanita rubescens* Pers.

Martínez-Escobedo *et al.*, (2021) evaluaron el contenido de compuestos fenólicos junto a la actividad antimicrobiana y antioxidante de cuatro especies de hongos comestibles, entre ellos *Amanita rubescens*. El hongo fue obtenido en los mercados de Xalapa, Veracruz. A los cuerpos fructíferos se le realizaron extractos etanólicos y metanólicos y su actividad biológica fue probada a partir del método de difusión en disco sobre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Candida albicans*. Sin embargo, los extractos de *A. rubescens* no mostraron inhibición sobre el crecimiento de los microorganismos. El estudio expone que al tener *A. rubescens* un contenido alto de fenoles totales, su escasa actividad antimicrobiana pudo deberse a la existencia de compuestos ligados a los fenoles que los hacen más hidrofóbicos, lo cual complica su dilución en el método de cultivo y por tanto su valoración queda subestimada con los métodos de difusión como la difusión en disco.

Narváez-Montaña *et al.*, (2023) evaluaron la actividad antifúngica de extractos hidroalcohólicos (etanólicos y metanólicos) de *A. rubescens* cuya capacidad antifúngica se evaluó contra el fitopatógeno *Rhizoctonia solani* por medio de las técnicas de difusión de pozos, difusión en discos y dilución en placa. En el método de difusión en disco, se observó que el extracto etanólico en la dilución 3:7 de etanol-agua provocó un crecimiento más lento y menos abundante que el tratamiento control. La tasa de inhibición varió entre un 5 a 20% dependiendo del extracto y la dilución. En el método de difusión en disco no se observaron efectos inhibitorios; los autores infieren que puede deberse al alto peso molecular de los compuestos presentes en el extracto.

3.2. Metabolitos secundarios del género *Amanita*

Las especies de *Amanita* poseen una variedad de actividades biológicas antitumorales, pesticidas, citotóxicas, antioxidantes, anticancerígenas, antibacterianas, acetilcolinesterasa, esterolíticas, antivirales, anti larvicidas, antifúngicas y antiinflamatorias (Bhrambri *et al.*, 2022).

Dentro del género *Amanita*, se han reportado metabolitos secundarios de extractos etanólicos y fraccionados que actúan como toxinas, como la amatoxina, phalotoxina y virotoxina (Dueñas-Rivera, 2008).

De igual manera, Chilton y Ott (1976) reportaron ácido iboténico y muscimol en extractos crudos de *Amanita cothurnata*, *A. gemmata*, *A. muscaria* y *A. pantherina*. Además, se encontraron ácido estizolóbico y ácido estizobínico. En *A. muscaria*, *A. pantherina* y en *A. gemmata* se detectaron ácido aminohexadienoico y clorocrotilglicina en *A. smithiana*.

Vargas *et al.* (2011) caracterizaron químicamente las especies *A. bisporigera*, *A. brunneolocularis*, *A. citrina*, *A. colombiana*, *A. flavoconia*, *A. fuligineodisca*, *A. humboldtii*, *A. muscaria*, *A. porphyria*, *A. rubescens*, *A. sororcula* y *A. xylinvolve* mediante un análisis de su composición utilizando HPLC. Los resultados mostraron la presencia de α -amanitina en concentraciones de 50 a 6000 ppm. De igual manera, pudo encontrarse phalloidina y phalloidicina en *A. bisporigera*.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar el perfil químico y la actividad antifúngica de extractos hexánicos y metanólicos de *Amanita hayalyuy*.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar las diferencias químicas entre los extractos polares y no polares en la especie.
- Determinar la actividad antifúngica de los extractos de *A. hayalyuy* sobre hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*, *Curvularia lunata* y *Colletotrichum gloeosporioides*).
- Evaluar la toxicidad de los extractos de *A. hayalyuy* a partir de ensayos en *Artemia salina*.

V. ZONA DE RECOLECTA

La obtención de ejemplares tuvo lugar en la región fisiográfica de Los Altos de Chiapas. Los esporomas de *Amanita hayalyuy* fueron adquiridos en el Mercado Municipal José Castillo Tielemans, en San Cristóbal de las Casas. Al preguntar la procedencia de los ejemplares, los vendedores señalaron el origen de las recolectas en el municipio de Teopisca, Chiapas.

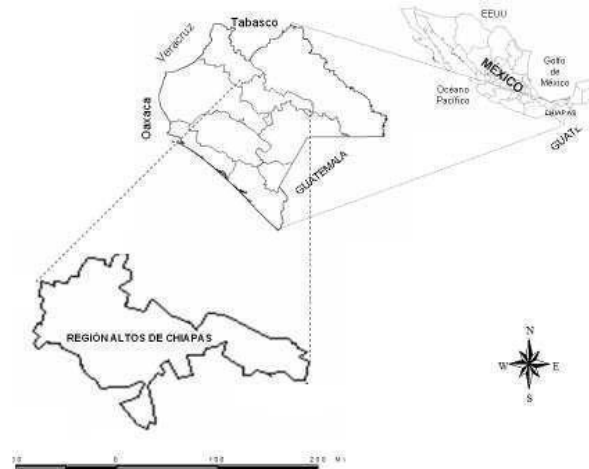


Figura 6. Región de Los Altos de Chiapas. Por García-Chong, 2010.

La región de Los Altos de Chiapas está conformada por 17 municipios y posee una extensión territorial de 3,717.08 Km². Es un sistema montañoso con altitudes de 1,200 con elevaciones hasta 2,880 msnm. La temperatura promedio anual es de 14.8°C, con una precipitación promedio anual de 1,227 mm. Los ecosistemas predominantes son bosque de Quercus, bosque mixto de Pinus-Quercus, bosque mixto de Pinus-Quercus-Liquidámbar, bosque de Pinus y bosque mesófilo de montaña (Duarte-Martins, 2010; Secretaría de Hacienda, s.d.)

Las actividades económicas con mayor incidencia dentro de Los Altos de Chiapas son la agricultura y el pastoreo de ovinos; esto, en conjunto con el establecimiento de nuevos centros de población han cambiado la estructura forestal de la región con el paso de los años. Los grupos étnicos más importantes dentro de la región son los tsotsiles y los tseltales, los cuales son de origen maya desde tiempos precoloniales. La ciudad de San Cristóbal es la cabecera del municipio del sitio y es el

centro geopolítico del mismo; en él se llevan a cabo la mayoría de las actividades económicas de las comunidades indígenas circundantes (Nigh, 2001; Duarte-Martins, 2010).

Los ejemplares recolectados fueron trasladados y procesados para la extracción de metabolitos secundarios al Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas de la UNICACH, ubicada en el Libramiento Norte Poniente 1150, Colonia Lajas Maciel, con las coordenadas 16°46'33"N 93°07'21"O.

VI. MÉTODO

El estudio implicó la exploración micoquímica de *A. hayalyuy*. Para ello, los metabolitos secundarios se obtuvieron mediante extracciones de baja y alta polaridad. Estos extractos permitieron conocer el conjunto de metabolitos y su potencial antifúngico. Lo primero se determinó con técnicas de cromatografía de capa fina y pruebas colorimétricas. En tanto que, el espectro y la potencia antifúngica de los extractos con metabolitos secundarios se evaluaron en cultivos sólidos sobre tres fitopatógenos de relevancia agrícola (Figura 7).

6.1. Obtención del material fúngico

Se reunieron muestras de cuerpos fructíferos de *Amanita hayalyuy* hasta alcanzar 500 gramos de masa fresca. Los ejemplares de la especie fueron adquiridos en los mercados locales de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. La identificación de la especie fue realizada por el Biólogo Alejandro Estrada Avendaño y la M. en C Erika Cecilia Pérez Ovando integrantes de la Colección de Hongos del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

6.2. Obtención de extractos de metabolitos fúngicos

Secado y preparación. Los ejemplares fueron deshidratados a 65°C por 72 h (González-Morales *et al.*, 2021) y se obtuvo 70 g de material deshidratado. Este se trituró en licuadora hasta obtener un polvo fino, el cual se empleó para la obtención de extractos.

Extracto hexánico. La primera etapa de extracción consistió en macerar 70 g de material fúngico molido seco con 700 mL de hexano (proporción 1:10) a temperatura ambiente y a oscuras, durante 96 h y con agitación ocasional. Posteriormente, el extracto se filtró para separar el material fúngico del disolvente, el sobrenadante dió origen al extracto hexánico. La extracción se realizó tres veces para intentar obtener la mayor cantidad de metabolitos. El material fúngico se recuperó para la próxima fase de extracción.

Extracto metanólico. El material fúngico extraído con hexano se secó en una campana de extracción para eliminar cualquier residuo del disolvente, después se le añadió 700 mL de metanol para realizar la maceración con las mismas condiciones anteriores. El extracto se filtró y dio como resultado los extractos metanólicos de la especie.

Los extractos se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador a 65°C y se transfirieron a frascos previamente pesados, los cuales se colocaron en una campana de extracción para que el resto del disolvente se volatilizara. Se obtuvo la cantidad de extracto por diferencia de peso. Los extractos se guardaron a 4°C y a oscuridad hasta su utilización.

6.3. Identificación de grupos funcionales

La identificación de metabolitos secundarios hasta tipo de moléculas se realizó con pruebas colorimétricas que identifican grupos funcionales en las estructuras química. Cada una de las pruebas químicas se realizará con cinco mg de los extractos (Dueñas-Rivera, 2008).

6.3.1. Detección de cumarinas

El extracto (5 mg) se diluyó con un mL de etanol al 96% en un tubo de ensayo. El tubo se cubrió con papel filtro impregnado previamente con una disolución de NaOH al 10%, para posteriormente llevarlo a baño maría a temperatura de ebullición y para que el vapor haga contacto con el papel filtro. Finalmente se removió el papel filtro y se observó si emite fluorescencia azul bajo luz UV de longitud de onda larga (Dueñas-Rivera, 2008).

6.3.2. Detección de quinonas

A cinco mg extracto se le adicionó una dilución de metanol y hexano (1/10), y se alcalinizó la muestra adicionando 200 µL de una disolución de NaOH al 5%. Una gama de coloraciones que oscilan entre el amarillo, el rojo y el violeta indican las quinonas α - y β - hidroxiladas (Dueñas-Rivera, 2008).

6.3.3. Detección de saponinas

Se utilizó la prueba de Rosenthaler, en la que al extracto (5 mg) se diluyó con 1 mL de etanol al 96% y se adicionaron 0.5mL del reactivo de Rosenthaler y 0.5mL de ácido sulfúrico concentrado. La prueba fue positiva si hubo una coloración violeta (Dueñas-Rivera, 2008; Guerrero-Macedonio, 2023).

6.3.4. Detección de flavonoides

Se agregó 1 cm de cinta de magnesio y 1 mL de la dilución de extracto crudo (5 mg.mL⁻¹) en etanol (1:5), para después adicionar 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado. Esta prueba fue considerada positiva para flavonoides ante la presencia de una coloración anaranjada o amarilla en la mezcla de la reacción (Dueñas-Rivera, 2008; Colina-Ramos, 2016).

6.3.5. Detección de glucósidos

El extracto crudo (5 mg) se diluyó con 1 mL de etanol al 96%. Se adicionó 1 mL de H₂SO₄ a 2M y se calentó hasta 100 °C. Se añadió 2 mL de reactivo de antrona frío, y se agitó y colocó en baño termostático durante 10 minutos. Se enfrió a temperatura ambiente. La prueba es positiva si se forma un anillo color violeta en la interfase (Dueñas-Rivera, 2008; Díaz-Trujillo, 2022).

6.3.6. Detección de terpenoides

Al extracto crudo se le agregó 1mL de cloroformo y 1mL del reactivo Liebermann-Buchard. Las coloraciones azules o azul verde indican la presencia de esteroides y las coloraciones rojo, rosa o violeta indican presencia de terpenos (Díaz-Trujillo, 2022).

6.3.7. Detección de alcaloides

El extracto crudo se diluyó con 1 mL de etanol al 96% y se le agregó 1 mL de reactivo de Dragendorff. La prueba de Dragendorff se considera positiva si presenta un precipitado color marrón o anaranjado marrón (Dueñas-Rivera, 2008; Díaz-Trujillo, 2022).

6.4. Análisis de composición química

La detección del número y abundancia de compuestos de los extractos se exploró mediante cromatografía de capa delgada. Para ello se aplicaron alícuotas de 10 µL de

los extractos a 10 mg. mL⁻¹ a placas de cromatografía de capa fina de sílica-gel 60 F254 que corresponden a cada extracto obtenido. Para la fase móvil se probaron distintas mezclas disolventes hasta obtener la mejor resolución de bandas para cada uno de los extractos probados. El extracto hexánico y sus fracciones (aceite y precipitado) emplearon como fase móvil una solución de hexano y acetato de etilo en proporción 9:1. La fase móvil del extracto metanólico se conformó por metanol, acetato de etilo y cloroformo en proporción 2:1:1; para las fracciones metanólica, clorofórmica y hexánica se emplearon fases móviles de metanol-acetato de etilo (9:1), cloroformo-metanol (9:1) y hexano-acetato de etilo (3:4), respectivamente. La detección de compuestos se realizó por fluorescencia bajo luz ultravioleta (365 nm) y por tinción con reactivos para detección de tipos estructurales. Se utilizaron dos reveladores genéricos (sulfato cérico y ácido fosfomolibdico) y específicos, el reactivo de Dragendorff para alcaloides (siempre y cuando aparezcan manchas de color rojiza, naranja o marrón) y el reactivo de vanillina en ácido sulfúrico para estimar terpenos, siempre y cuando se observen manchas color moradas y rosas, sino se considera como un relevador general (Jork *et al.*, 1990).

El perfil de composición química se reportó en número de compuestos (identificados por el factor de retención) y abundancia cromatográfica en cm². Para ello, las cromatografías se digitalizaron y se analizaron con el programa de procesamiento digital de imagen ImageJ, de dominio público programado en Java y desarrollado en la agencia *National Institutes of Health* (NIH por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de Norteamérica (Sowers *et al.*, 2022). Con el fin de conocer la quimiodiversidad obtenida en la cromatografía de capa fina, se estimaron los índices de Margalef, Shannon y Dominancia D.

6.5. Ensayos de la actividad antifúngica.

La capacidad antifúngica de los extractos hexánicos y metanólicos se evaluó sobre los fitopatógenos *Fusarium oxysporum* var. *lycopersici*, *Curvularia lunata* y *Colletotrichum gloeosporioides*. El bioensayo antifúngico empleado fue descrito por Ventura-Lima (2023).

Método del agar envenenado. Para la realización de las pruebas antifúngicas se utilizaron cuatro concentraciones de cada extracto que corresponden a 1, 10, 100 y 1000 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. Los extractos se agregaron a un medio de cultivo sólido (Agar de papa y dextrosa, ADP) esterilizado con anterioridad. Posteriormente, se incorporó al medio de cultivo, en la parte central de la caja Petri, un explante de 0.5 cm de diámetro del micelio de los hongos fitopatógenos cultivados con antelación. Para cada extracto se realizaron cinco réplicas.

El crecimiento micelial se monitoreó cada 48 horas, dando como terminada la prueba cuando el control (medio sin extracto inoculado con el hongo) cubrió la totalidad de la superficie del medio de cultivo. Este control incluyó los disolventes DMSO o MeOH al 4% tal como fueron disueltos los extractos, además se incluyó un control de crecimiento (medio inoculado con el hongo, sin extracto y sin disolvente), para monitorear algún posible impacto del disolvente en el crecimiento del hongo.

Se realizó la prueba con cada una de las fracciones de los extractos crudos. Para ello solo se consideró la concentración intermedia de 100 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ con el fin de optimizar el uso del extracto y dado que todos los extractos mostraron actividad en esa dosis.

6.6. Prueba de toxicidad en *Artemia salina*

Preparación de la muestra. El ensayo se realizó disolviendo 50 mg del extracto en 5 mL de metanol, lo cual constituyó la solución A. La solución B se preparó diluyendo 0.5 mL de la solución A en 10 mL de metanol. A partir de esta última se prepararon cuatro concentraciones de los extractos que corresponden a 1000, 100, 10, y 1 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. Se realizaron cinco réplicas por dilución (Fernández-Calienes *et al.*, 2009).

Preparación de los nauplios de *Artemia salina*. Los huevos del crustáceo se colocaron en un recipiente rectangular con agua de sal de mar comercial al 30% con agua destilada. Se colocó un divisor de plástico para formar dos compartimentos desiguales, la división tenía varios orificios a 2 mm de la base. Los huevos se esparcieron en el compartimento más grande en condiciones de oscuridad, mientras que el más pequeño se encontraba iluminado. Después de 48 h, las larvas con

fototropismo positivo se extrajeron con una pipeta desde el lado iluminado (Fernández-Calienes *et al.*, 2009).

Ensayo de toxicidad. Diez individuos se trasladaron a cada una de las muestras de extractos a 1000, 100, 10, y 1 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$, utilizando una pipeta pasteur, y se agregó disolución de sal de mar hasta obtener 5 mL de la muestra. Una gota de suspensión de levadura seca a 0.6 mg mL^{-1} en agua de mar artificial fue agregada como alimento. Los tratamientos se mantuvieron en condiciones iluminadas. Los sobrevivientes fueron contados con la ayuda de una lupa después de 24 horas y el porcentaje de muertes de cada dosis fue determinado (Fernández-Calienes *et al.*, 2009). Se utilizó un control negativo agregando únicamente solución salina y un control positivo de permanganato de potasio a 1000, 100, 10, y 1 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$.

Determinación de la concentración letal media (LC_{50}). La LC_{50} fue calculada a partir del conteo de 24 h y fue determinada por el método de Probit, un modelo de regresión donde la variable dependiente toman solo dos valores: artemias muertas o artemias vivas (Bliss, 1935; Castro de la Matal y Martínez-Vargas, 1998). Para confirmar CL_{50} de los extractos se realizaron tres evaluaciones por triplicado.

El criterio de toxicidad se consideró según valores de toxicidad aguda y actividad mutagénica sugerida por Clarkson *et al.* (2004) y Déciga-Campos *et al.* (2007). Clarkson *et al.* (2004) clasifican los extractos no tóxicos con CL_{50} superior a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ los extractos con CL_{50} de 500 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ son poco tóxicos, con CL_{50} de 100 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ son de toxicidad media, y los extractos con CL_{50} de 0 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ son altamente tóxicos. A su vez los criterios de toxicidad de Déciga-Campos *et al.* (2007) considera que los extractos son no tóxicos con $\text{CL}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, toxicidad débil con $\text{CL}_{50} \geq 500 \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ y tóxicos con $\text{CL}_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$.

6.7. Análisis estadísticos

Para analizar capacidad antifúngica, los datos se presentaron como media $\pm$ error estándar. Para las evaluaciones antifúngicas, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Mann Whitney. La significación estadística se establecerá en $p < 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa de uso libre PAST (Hammer *et al.*, 2001).

VII. RESULTADOS

7.1. Rendimiento de extractos crudos y fracciones de *Amanita hayalyuy*

El extracto metanólico de los esporomas de *A. hayalyuy* proporcionó un rendimiento mayor (~21%) que el extracto hexánico (~8%), esto significa que el conjunto de metabolitos polares es casi tres veces más abundante que el de los metabolitos no polares (Cuadro 1). Ambos extractos presentaron precipitados heterogéneos, en el extracto hexánico se observó un aceite de color amarillo que se separó a temperatura ambiente y se limpió por centrifugación. A su vez el extracto metanólico presentó un precipitado de carácter gelatinoso de color naranja, poco soluble en metanol, aunque no fue posible su separación por filtración o precipitación.

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos de los esporomas de *Amanita hayalyuy*.

Tipo de extracto	Masa del material fúngico seco	Masa del extracto	Rendimiento (%)
Hexánico	70 g	5.4 g	8.0 %
Metanólico	70 g	14.8 g	21.0 %

Una muestra del extracto hexánico inicial (4.3 g) fue separada por centrifugación para dar origen a una fracción de aceite (2.7 g) y un precipitado (1.6 g). En tanto que, una muestra del extracto metanólico nativo (13 g) se fraccionó mediante una extracción líquida-sólida con un gradiente de polaridad creciente empleando hexano (fracción Hex-MeOH), cloroformo (fracción CHCl₃-MeOH) y metanol (fracción MeOH-MeOH) secuencialmente.

Las tres fracciones derivadas del extracto metanólico crudo mostraron un rendimiento mayor (~4%, 6% y 8% respectivamente) que las dos fracciones del extracto hexánico (aceite: 3.9% y precipitado 2.3%).

Al contrastar los rendimientos, la fracción metanólica (fracción MeOH-MeOH) y clorofórmica (fracción CHCl₃-MeOH) resultaron las de rendimiento mayor; en tanto que la fracción hexánica del extracto metanólico (fracción Hex-MeOH) y el aceite del extracto hexánico mostraron rendimientos similares; el precipitado del extracto hexánico fue el de menor proporción (Cuadro 2 y Cuadro 3).

El rendimiento de las fracciones con respecto a los extractos crudos muestra que en el extracto hexánico, el aceite (~63%) es casi dos veces más abundante que el precipitado (~37%). En las fracciones del extracto metanólico, la fracción MeOH-MeOH (45.38%) es 1.4 veces más alta que la fracción CHCl₃-MeOH (32.31%) y dos veces más que la fracción Hex-MeOH (22.31%) (Cuadro 4 y Cuadro 5).

Cuadro 2. Rendimiento de las fracciones del extracto hexánico de los esporomas de *Amanita hayalyuy*.

Fracciones hexánicas	Masa del material fúngico seco	Masa de la fracción	Rendimiento (%)
Aceite	55.7 g	2.7 g	4.9%
Precipitado	55.7 g	1.6 g	2.9%

Cuadro 3. Rendimiento de las fracciones del extracto metanólico de los esporomas de *Amanita hayalyuy*.

Fracciones metanolicas	Masa del material fúngico seco	Masa de la fracción	Rendimiento (%)
Fracción Hex:MeOH	61.5 g	2.9 g	4.7%
Fracción CHCl ₃ -MeOH	61.5 g	4.2 g	6.8%
Fracción MeOH-MeOH	61.5 g	5.9 g	9.6%

Cuadro 4. Rendimiento de las fracciones hexánicas con respecto al extracto crudo de *Amanita hayalyuy*.

Fracciones hexánicas	Masa del extracto crudo	Masa de la fracción	Rendimiento (%)
Aceite	4.3 g	2.7 g	62.8%
Precipitado	4.3 g	1.6 g	37.2%

Cuadro 5. Rendimiento de las fracciones metanólicas con respecto al extracto crudo de *Amanita hayalyuy*.

Fracciones metanolicas	Masa del extracto crudo	Masa de la fracción	Rendimiento (%)
Fracción Hex:MeOH	13 g	2.9 g	22.3%
Fracción CHCl ₃ -MeOH	13 g	4.2 g	32.3%
Fracción MeOH-MeOH	13 g	5.9 g	45.4%

7.2. Tipos de metabolitos secundarios en los extractos

Se identificaron seis tipos de metabolitos secundarios mediante sus grupos funcionales con reacciones químico-colorimétricas (Cuadro 6). El extracto hexánico dio positivo a cuatro pruebas, señalando la presencia de cumarinas, quinonas, flavonoides y alcaloides; mientras que el extracto metanólico fue positivo a cinco reacciones, indicando la presencia de cumarinas, flavonoides, glucósidos, terpenoides y alcaloides. Esto sugiere en principio, que la extracción por polaridad, permite separar la quimiodiversidad contenida en los esporomas de *Amanita hayalyuy* y que el extracto metanólico contiene una mayor diversidad de tipos de metabolitos.

Fueron comunes entre extractos, los flavonoides y alcaloides; en tanto que, las quinonas y flavonoides distinguen al extracto hexánico; y los terpenoides y los glucósidos son exclusivos del extracto metanólico.

Cuadro 6. Intensidad de reacción de las pruebas bioquímicas para la detección de metabolitos secundarios en los extractos de *Amanita hayalyuy*.

Metabolito secundario	Extracto hexánico	Extracto metanólico	Método químico
Cumarinas	Escaso	Moderado	Prueba de fluorescencia
Quinonas	Abundante	Ausente	Prueba de Bornträger modificada
Saponinas	Ausente	Ausente	Prueba de Rosenthaler
Flavonoides	Moderado	Muy abundante	Prueba de Shinoda
Glucósidos	Ausente	Muy abundante	Prueba de antrona
Terpenoides	Ausente	Abundante	Prueba de Liebermann-Burchard
Alcaloides	Escaso	Escaso	Prueba de Dragendorff

La abundancia de los tipos de MS, fue asociada a la intensidad de reacción detectada en los extractos. La escala de intensidad considerada fue: reacción intensa (muy abundante), reacción media (abundante), reacción ligera (moderado), reacción escasa (escasa), reacción nula (ausente).

7.3. Composición cromatográfica de extractos y fracciones de *A. hayalyuy*,

El número de compuestos en los extractos se estimó mediante cromatografías en capa fina con cuatro reveladores químicos; las fracciones se revelaron además con luz UV-A de 365 nm para detectar compuestos fluorescentes (con dobles enlaces conjugados). Cada mancha cromatográfica fue considerada un compuesto único.

7.3.1. Perfil de composición cromatográfica del extracto hexánico de *A. hayalyuy* y sus fracciones

El mayor número de compuestos en el extracto hexánico fue visible con el revelador ácido fosfomolibdico, con el que se visualizaron 13 compuestos; los reactivos de sulfato cérico y vainilina permitieron observar siete compuestos. El reactivo de Dragendorff permitió detectar un solo compuesto positivo para alcaloides (Figura 7).

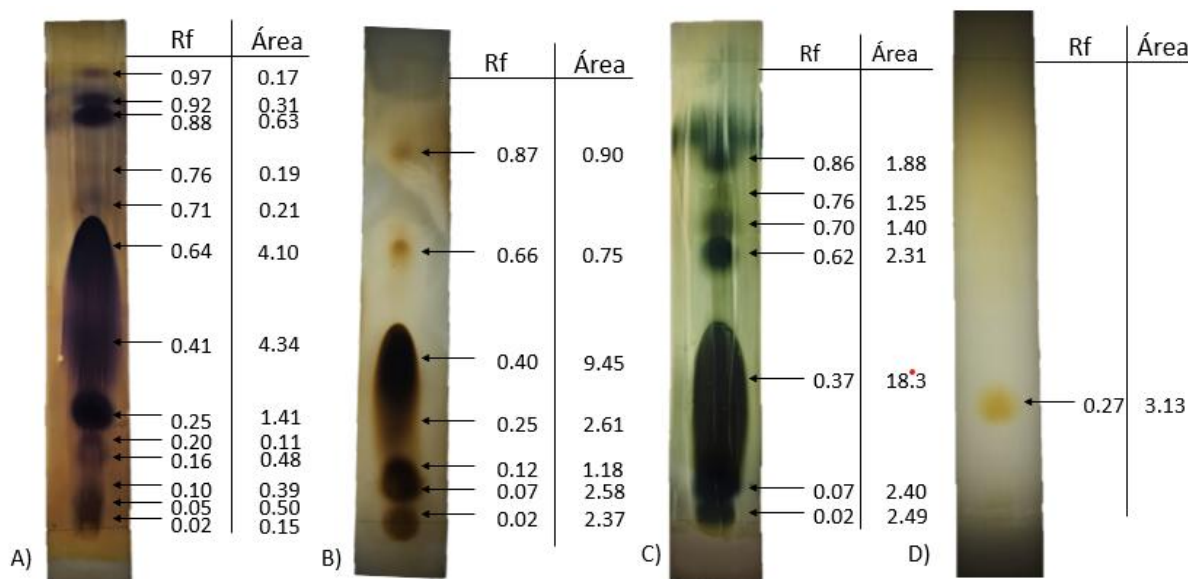


Figura 7. Perfiles de composición cromatográfica del extracto hexánico de los esporomas de *Amanita hayalyuy*. Las cromatografías en capa fina se visualizaron con los reveladores químicos de: A) Vainilina, B) Sulfato cérico, C) Ácido fosfomolibdico, D) Dragendorff. Se señalan los factores de retención cromatográfica calculados y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

Fracciones hexánicas. En el aceite, el mayor número de compuestos fue visualizado con el revelador vainilina (ocho compuestos), seguido del Dragendorff con siete compuestos, solo dos de ellos fueron considerados de reacción positiva a alcaloides. Los reactivos sulfato cérico y ácido fosfomolibdico revelaron seis compuestos; cinco compuestos fueron fluorescentes bajo la luz UV-A (Figura 8).

En el precipitado hexánico se detectaron ocho compuestos con el ácido fosfomolibdico, siete compuestos con vainilina y cinco compuestos con sulfato sérico y dos compuestos positivos a la reacción de alcaloides de Dragendorff. Tres compuestos emitieron fluorescencia con luz UV-A (Figura 9).

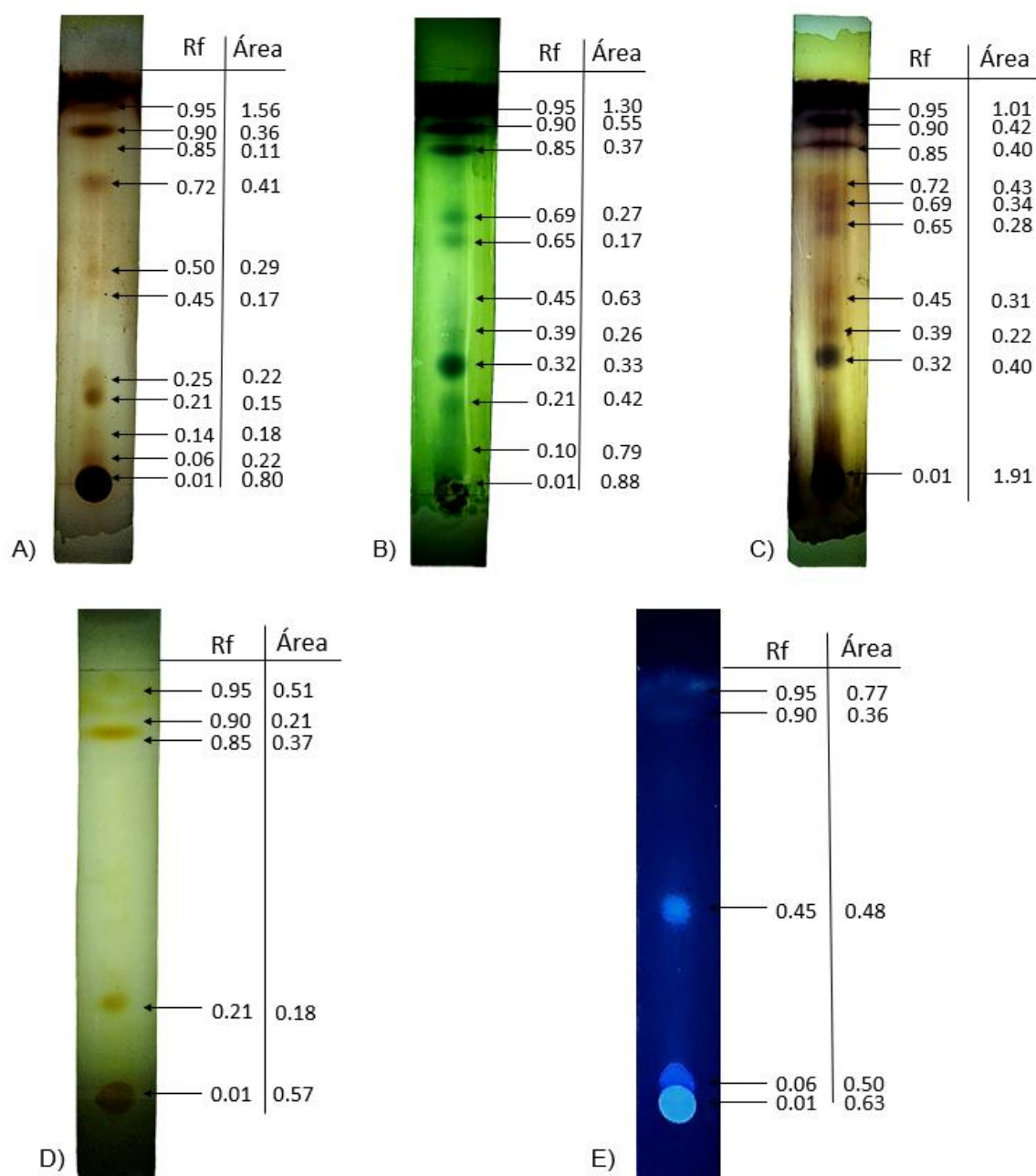


Figura 8. Perfiles cromatográficos del aceite del extracto hexánico de los esporomas de *Amanita hayalyuy*. Cromatografías con A) Sulfato sérico, B) Ácido fosfomolibdico, C) Vainilina, D) Dragendorff, E) Luz ultravioleta. Se señalan los factores de retención cromatográfica calculados y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

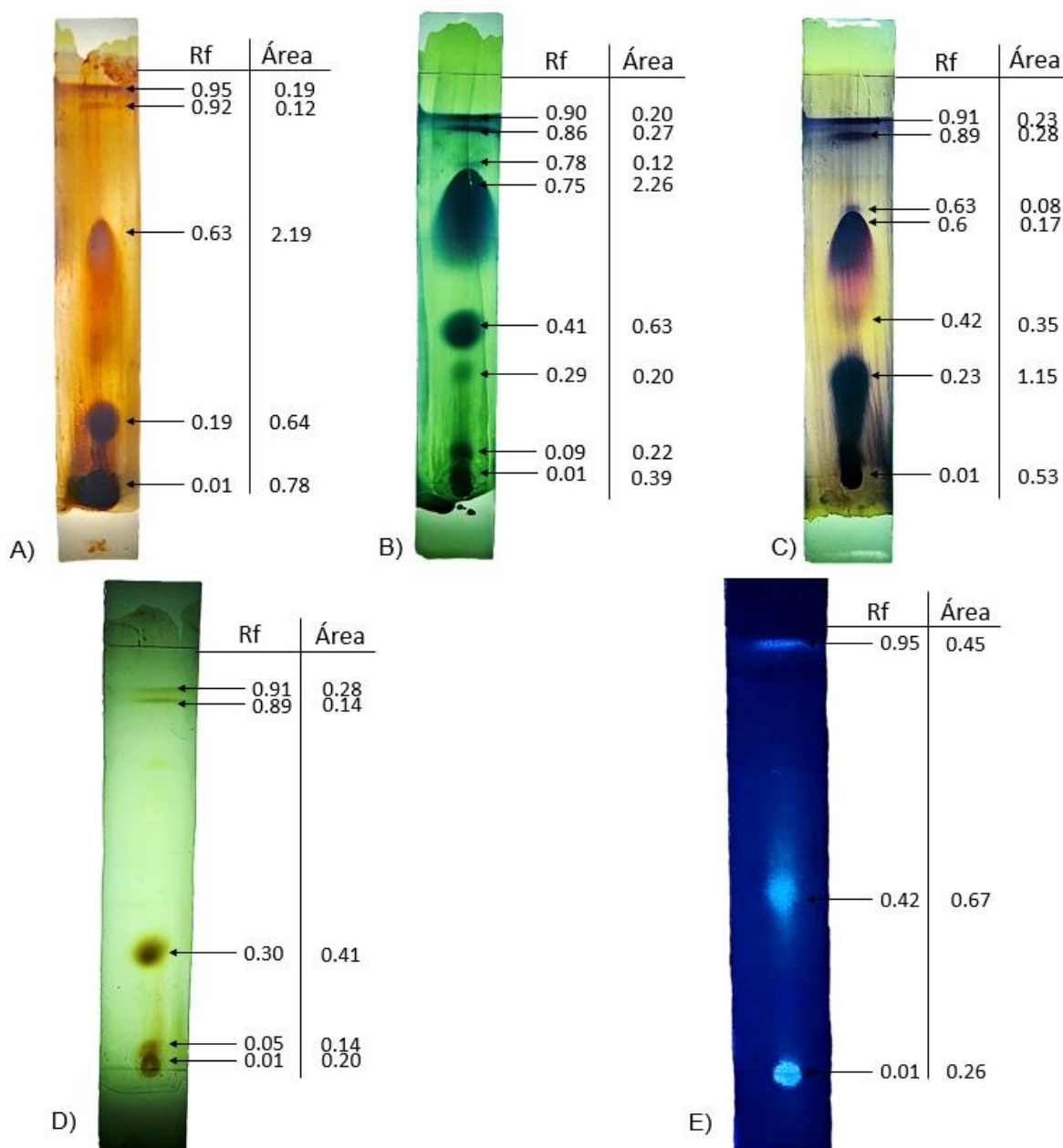


Figura 9. Perfiles cromatográficos del precipitado del extracto hexánico de los esporomas de *Amanita hayaluy*. Cromatografías con A) Sulfato sérico, B) Ácido fosfomolibdico, C) Vainilina, D) Dragendorff, E) Luz ultravioleta. Se señalan los factores de retención cromatográfica calculados y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

7.3.2. Perfil de composición cromatográfica del extracto metánolico de *A. hayaluy* y sus fracciones

En el extracto metanólico, el mayor número de compuestos fue detectado por el ácido fosfomolibdico y vainilina (seis compuestos por cada reactivo), seguido del perfil con

sulfato cérico (cinco compuestos). El reactivo de Dragendorff logró identificar dos compuestos alcaloides (Figura 10).

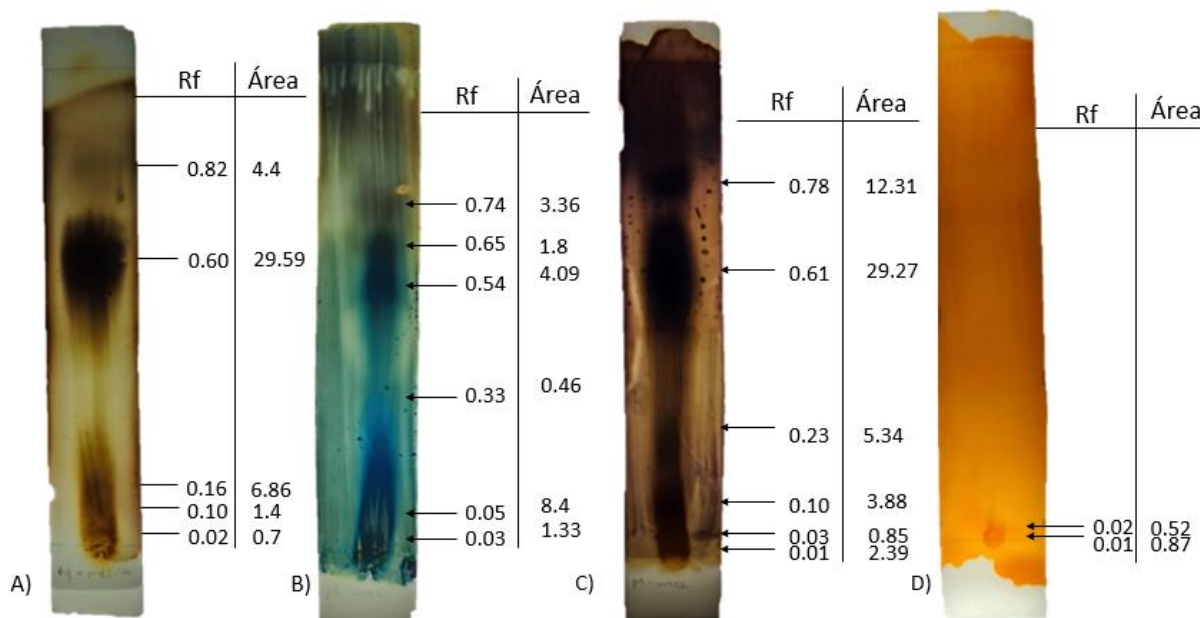


Figura 10. Perfiles de composición cromatográfica del extracto metanólico de los esporomas de *Amanita hayalyuy*. Las cromatografías en capa fina se visualizaron con los reveladores químicos de: A) Vainilina, B) Sulfato cérico, C) Ácido fosfomolibdico, D) Dragendorff. Se señalan los factores de retención cromatográfica calculados y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

Fracciones metanólicas. En las fracciones metanólicas se detectaron un mayor número de compuestos que en las derivadas del extracto hexánico. En la fracción metanólica (FMeOH-MeOH), el ácidofosfomolibdico reveló 12 compuestos, el sulfato cérico y la vainillina seis compuestos, y de los cinco compuestos visibles con el reactivo de Draggendorff ninguno de ellos fue considerado con respuesta positiva. Solo un compuesto mostró fluorescencia bajo luz UV-A (Figura 11). En la fracción cloroformica (FCHCl₃-MeOH) los reactivos vainillina, sulfato cérico y ácido fosfomolibdico visualizaron el mismo número de compuestos (nueve). Bajo la luz UV-A se detectaron cinco compuestos fluorescentes y cuatro dieron positivos para alcaloides con el revelador de Draggendorff (Figura 12). En la fracción hexánica (FHex-MeOH) se observaron 11 compuestos con el sulfato cérico y ácido fosfomolibdico, 10 con la

vainillina y solo dos dieron positivos para alcaloides. Se observaron cinco compuestos fluorescentes bajo la luz UV-A (Figura 13).

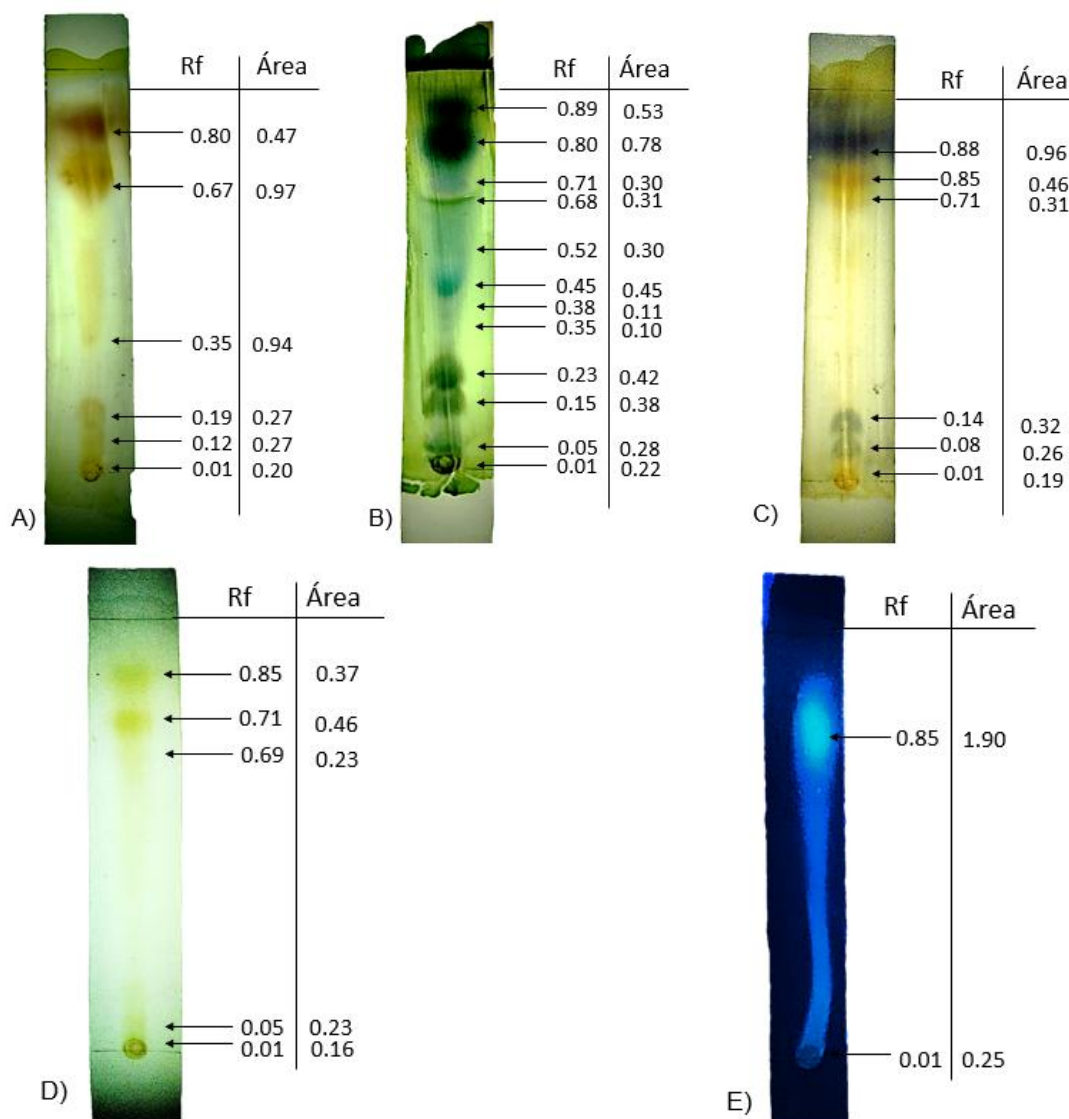


Figura 11. Perfiles cromatográficos de la fracción metanólica del extracto metanólico (FMeOH:MeOH) de los esporomas de *Amanita hayaluy*. Las cromatografías se visualizaron con A) Vainillina, B) Sulfato cérico, C) Ácido fosfomolibdico, D) Dragendorff. E) Luz ultravioleta. Se señalan los factores de retención cromatográfica calculados y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

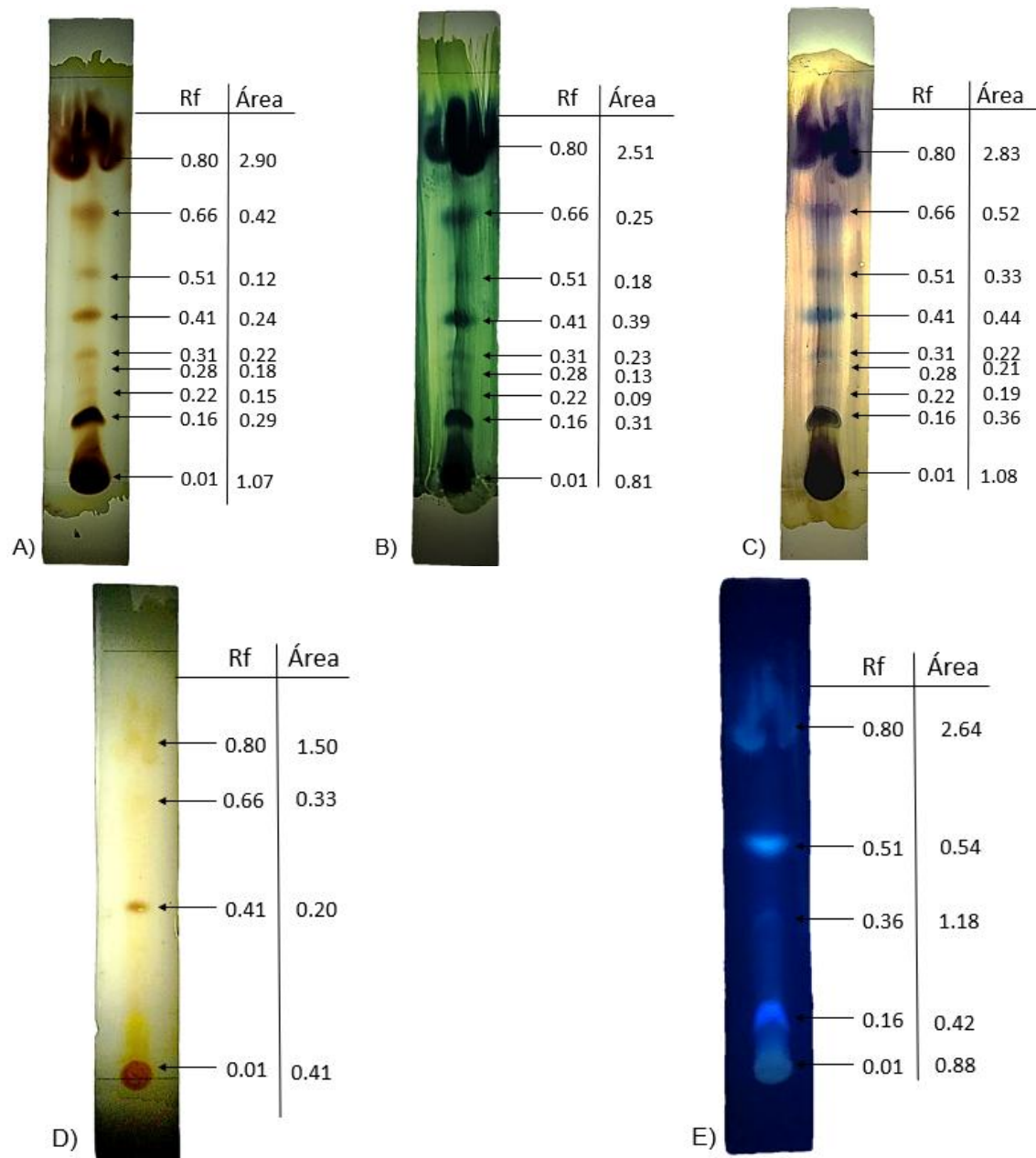


Figura 12. Perfiles cromatográficos de la fracción clorofórmica del extracto metanólico ($\text{FCHCl}_3:\text{MeOH}$) de los esporomas de *Amanita hayalyuy*. Las cromatografías se visualizaron con: A) Vainilina, B) Sulfato cérico, C) Ácido fosfomolibdico, D) Dragendorff. E) Luz ultravioleta. Se señalan los factores de retención cromatográficas y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

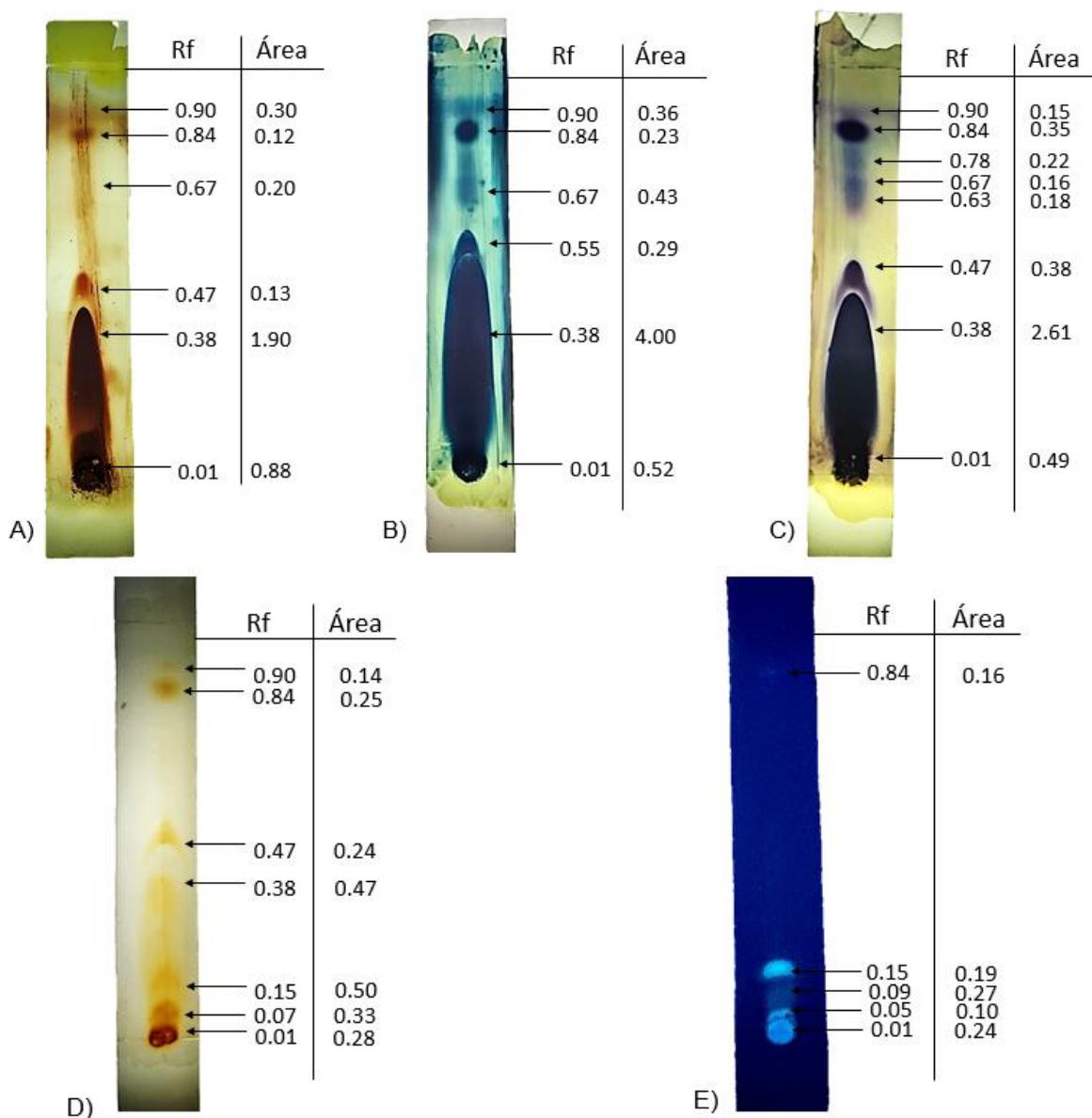


Figura 13. Perfiles cromatográficos de la fracción hexánica del extracto metanólico (FHex:MeOH) de los esporomas de *Amanita hayalyuy*. Las cromatografías se visualizaron con: A) Vainilina, B) Sulfato cérico, C) Ácido fosfomolibdico, D) Dragendorff. E) Luz ultravioleta. Se señalan los factores de retención cromatográficos y las abundancias cromatográficas estimadas en imageJ®.

7.4. Índices de quimiodiversidad de los extractos y fracciones de *A. hayalyuy*

El análisis de quimiodiversidad traduce los índices de diversidad ecológica en diversidad de compuestos químicos. Se calcularon los índices de quimiodiversidad

para cada revelador químico y fueron considerados de forma similar a las ciencias ecológicas, como un método de medición de biodiversidad.

7.4.1. Quimiodiversidad del extracto hexánico y fracciones de *A. hayalyuy*.

Diversidad química en el extracto hexánico. El índice de dominancia pondera la abundancia de los compuestos en la composición de los extractos, por lo que un número alto denota que algún compuesto es muy abundante con respecto a los demás y se interpretó como un extracto con baja quimiodiversidad. El extracto hexánico (Cuadro 7) mostró índices bajos con el reactivo de vainilina, sulfato cérico y ácido fosfomolibdico (0.2305, 0.2823 y 0.3983, respectivamente) y un valor alto con el revelador de Dragendorff (1.0), lo que indica una mayor quimiodiversidad con reveladores generales que con reveladores de metabolitos particulares.

El índice de Shannon estima la quimiodiversidad considerando la riqueza de compuestos y la uniformidad de las áreas cromatográficas en el perfil. De tal manera que al solo haber un compuesto positivo al reactivo de Dragendorff, el índice fue 0, es decir nula quimiodiversidad de alcaloides. En contraste la mayor diversidad se refleja con el reactivo de vainilina (1.837) y algo menor con sulfato cérico y ácido fosfomolibdico (1.571 y 1.356, respectivamente).

El índice de Margalef estima la quimiodiversidad específica al relativizar el número de compuestos en relación a la suma de todas las áreas cromatográficas. El valor mínimo que adoptar es cero y ocurre cuando solo hay un compuesto en la muestra, por ello, el perfil del extracto con el reactivo para alcaloides da ese valor. En tanto que el reactivo de vainilina visualizó la mayor quimiodiversidad (1.267), seguido de sulfato cérico (0.6063) y ácido fosfomolibdico (0.582).

Quimiodiversidad de fracciones del extracto hexánico. El perfil del aceite con el reactivo de Dragendorff mostró la mayor quimiodiversidad con los tres índices (Cuadro 8); la vainillina también dió un índice de Shannon alto (0.8313). En tanto que, el precipitado hexánico (Cuadro 9) mostró mayor quimiodiversidad con el índice de dominancia con los reactivos de Dragendorff (0.2373) y vainillina (0.2429) y menor quimiodiversidad con sulfato cérico (0.3815); la diversidad con el índice de Shannon fue alta con vainilina (1.651), ácido fosfomolibdico (1.550) y Dragendorff (1.521). El

índice de Margalef reflejó la mayor diversidad química con el ácido fosfomolibdico (0.8369) y vainilina (0.7563); diversidad media con el reactivo de Draggendorf (0.5662) y sulfato cérico (0.4835) y menor con luz UV-A (0.2766).

Cuadro 7. Índices de quimiodiversidad del extracto hexánico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de diversidad	Vainilina	Sulfato cérico	Ácido fosfomolibdico	Draggendorf
Dominancia D	0.2305	0.2823	0.3983	1
Shannon	1.837	1.571	1.356	0
Margalef	1.267	0.6063	0.582	0

Cuadro 8. Índices de quimiodiversidad del aceite del extracto hexánico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de diversidad	Vainilina	Draggendorf	Sulfato cérico	Ácido fosfomolibdico	UV-A
Dominancia D	0.3612	0.163	0.3646	0.4919	0.2186
Shannon	1.470	1.875	1.289	1.116	1.560
Margalef	0.8313	0.7791	0.6121	0.5766	0.5825

Cuadro 9. Índices de quimiodiversidad del precipitado del extracto hexánico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de diversidad	Ácido fosfomolibdico	Vainilina	Sulfato cérico	Draggendorf	UV-A
Dominancia D	0.3189	0.2429	0.3815	0.2373	0.3771
Shannon	1.550	1.651	1.196	1.521	1.031
Margalef	0.8369	0.7563	0.4835	0.5662	0.2766

7.4.2. Quimiodiversidad del extracto metanólico y fracciones de *A. hayalyuy*.

En el extracto metanólico, el índice de dominancia más bajo fue con el reactivo de Draggendorff y el más alto con el sulfato cérico (0.5003) (Cuadro 10). El índice de Shannon mostró una quimiodiversidad más alta con el ácido fosfomolibdico (1.615), valores medios con vanilina y Draggendorff (1.336 y 1.021 respectivamente) y menor diversidad con sulfato cérico (1.008). El índice de Margalef visualizo la mayor diversidad con el ácido fosfomolibdico (1.765), seguido de vanilina y sulfato cérico (1.272 y 1.084) y menor riqueza con Draggendorff (0).

En las fracciones, la fracción FMeOH:MeOH mostró la mayor diversidad con los tres índices con el ácido fosfomolibdico (Cuadro 11), diversidad media con Dragendorff, vanillina y sulfato sérico; y menor diversidad con luz UV-A (Cuadro 11).

La fracción FCHCl₃:MeOH (Cuadro 12) obtuvo los índices más bajos de dominancia con el ácido fosfomolibdico (0.2445), la vanillina (0.2619) y la luz UV-A (0.2997). La mayor diversidad con el índice de Shannon fue con la vanillina (1.722) y ácido fosfomolibdico (1.715). La mayor riqueza con el índice de Margalef fue con el sulfato cérico (0.9271), ácido fosfomolibdico (0.9184) y vanillina (0.9165).

En la fracción Hex:MeOH (Cuadro 13), el índice de dominancia con mayor quimiodiversidad fue visto con el ácido fosfomolibdico (0.1227) y dominancias medias con los otros reactivos (0.1737-0.2354). El índice de Shannon mostró mayor diversidad con el ácido fosfomolibdico (2.237), sulfato cérico (2.031) y vanillina (2.030). La mayor riqueza con el índice de Margalef fue expresada con sulfato cérico (1.190), ácido fosfomolibdico (1.150) y vanillina (1.040).

Cuadro 10. Índices de quimiodiversidad del extracto metanólico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de quimiodiversidad	Vanillina	Sulfato cérico	Ácido fosfomolibdico	Dragendorff
Dominancia	0.3504	0.5003	0.2353	0
Shannon	1.336	1.008	1.615	1.021
Margalef	1.272	1.084	1.765	0

Cuadro 11. Índices de quimiodiversidad de la fracción MeOH del extracto metanólico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de diversidad	Ácido fosfomolibdico	Vanillina	Sulfato cérico	Draggendorff	UV-A
Dominancia	0.105	0.2294	0.2290	0.2277	0.7944
Shannon	2.357	1.633	1.610	1.541	0.3597
Margalef	1.319	0.6391	0.6215	0.5495	0.1303

Cuadro 12. Índices de quimiodiversidad de la fracción CHCl₃ del extracto metanólico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de diversidad	Vanillina	Sulfato cérico	Ácido fosfomolibdico	UV-A	Draggendorf
Dominancia	0.2619	0.3196	0.2455	0.2997	0.4309
Shannon	1.722	1.558	1.715	1.390	1.075
Margalef	0.9165	0.9271	0.9184	0.4629	0.3846

Cuadro 13. Índices de quimiodiversidad de la fracción Hex del extracto metanólico de *Amanita hayalyuy*.

Índices de diversidad	Sulfato cérico	Ácido fosfomolibdico	Vainilina	Draggendorf	UV-A
Dominancia	0.1824	0.1227	0.1737	0.2354	0.2128
Shannon	2.031	2.237	2.030	1.517	1.578
Margalef	1.190	1.150	1.040	0.5321	0.5053

7.5. Actividad antifúngica de extractos de *Amanita hayalyuy*

Los extractos hexánicos y metanólicos crudos de *A. hayalyuy* inhibieron el crecimiento de las tres especies de hongos fitopatógenos. Ambos tipos de extractos demostraron una mayor capacidad antifúngica sobre *C. gloeosporioides* que sobre *C. lunata* y *F. oxysporum*. Varios de los extractos presentaron diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas ($p < 0.05$), a excepción del extracto hexánico sobre *C. lunata* y *C. gloeosporioides*.

Una situación particular, se observó con la concentración menor del extracto hexánico, ya que estimuló un mayor crecimiento de *F. oxysporum* que el control, lo cual indicaría un efecto de inducción del crecimiento.

Las fracciones hexánicas y las fracciones metanólicas también mostraron capacidad antifúngica sobre el crecimiento de las tres especies de hongos. La potencia inhibitoria fue menor o igual al 50% con respecto al control. Todas las fracciones mostraron el mayor potencial antifúngico contra *C. lunata*, mientras que para *F. oxysporum* el mayor porcentaje de inhibición se registró por debajo del 20%.

7.5.1 Actividad del extracto hexánico y sus fracciones.

Actividad inhibitoria sobre *F. oxysporum*. La potencia inhibitoria más alta del extracto hexánico se detectó en las concentraciones más altas (10 a 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) con tasas inhibitorias de 13 a 19%, sin diferencias significativas entre las concentraciones (Cuadro 14, figura 14). Ambas fracciones (aceite y precipitado) mostraron porcentajes de inhibición menores al del extracto crudo (~6%).

Actividad inhibitoria sobre *C. lunata*. Las tasas inhibitorias más altas del extracto hexánico (Cuadro 14) se observaron con 1 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (41-45% de tasa de inhibición). El aceite y el precipitado hexánico presentaron potencias inhibitorias similares (~40 y ~39%) a los del extracto hexánico crudo (41%).

Actividad inhibitoria sobre *C. gloeosporioides*. Las tasas inhibitorias más altas del extracto hexánico crudo fueron a 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (hasta 84% de inhibición) (Cuadro 15). El precipitado y el aceite (~33 y 30%) respectivamente mostraron casi dos veces menos potencia que el extracto crudo.

Cuadro 14. Actividad inhibitoria del extracto hexánico de los esporomas de *A. hayalyuy*.

% de inhibición del crecimiento micelial			
Concentraciones	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	19% a	37% b	80% b
100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	16% ab	41% a	67% c
10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	13% ab	44% a	69% c
1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	7% b	45% a	84% a
p (KruskalWallis)	0.0452	0.04901	0.0087

Cuadro 15. Actividad inhibitoria de las fracciones del extracto hexánico de los esporomas de *A. hayalyuy*.

% de inhibición del crecimiento micelial			
100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Extracto hexánico	19% a	41% a	67% a
Fracción aceite	6% b	40% a	30% b
Precipitado	6% b	39% a	33% b
p (Kruskal-Wallis)	0.02375	0.8172	0.01027

7.5.2. Actividad del extracto metanólico y sus fracciones.

Actividad inhibitoria sobre *F. oxysporum*. El extracto metanólico alcanzó su potencia más alta a 1 µg mL⁻¹ (hasta 19% de inhibición) mientras que a 1000 µg.mL⁻¹ mostró una inducción del crecimiento (Cuadro 16). Las fracciones MeOH:MeOH (~9%), CHCl₃:MeOH (~2%), y Hex:MeOH (~7%) tuvieron poder antifúngico entre dos y hasta diez veces menor que el extracto crudo (Cuadro 17).

Actividad inhibitoria sobre *C. lunata*. La tasa inhibitoria más alta del extracto metanólico fue a 1 g.mL⁻¹ (42% de inhibición) y con relación inversa entre la potencia y la concentración (Cuadro 16). Las fracciones MeOH (~29%), CHCl₃ (~38%), y Hex (~40%) fueron ligeramente menos activas que el extracto general (Cuadro 17).

Actividad inhibitoria sobre *C. gloeosporioides*. La potencia inhibitoria más alta de *A. hayalyuy* fue la del extracto metanólico frente a este fitopatógeno a 1000 µg.mL⁻¹ (85% de inhibición), mientras que sus fracciones (MeOH, CHCl₃ y Hex) fueron entre dos y cuatro veces menores (~21%, 28% y 30%) (Cuadro 24).

Cuadro 16. Actividad inhibitoria (expresada en % de inhibición) del extracto metanólico de los esporomas de *A. hayalyuy*.

% de inhibición del crecimiento micelial			
Concentraciones	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
1000 µg.mL ⁻¹	-8% c	27% b	85% a
100 µg.mL ⁻¹	9% b	30% b	72% ab
10 µg.mL ⁻¹	15% a	36% b	62% c
1 µg.mL ⁻¹	19% a	42% a	67% bc
p (Kruskal-Wallis)	0.002087	0.004706	0.01273

Cuadro 17. Actividad inhibitoria de las fracciones del extracto metanólico de los esporomas de *A. hayalyuy*.

% de inhibición del crecimiento micelial			
100 µg.mL ⁻¹	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Extracto metanólico	9% a	30% b	72% a
Fracción MeOH	9% a	29% b	21% b
Fracción CHCl ₃	2% b	38% a	28% b
Fracción Hex	7% a	40% a	30% b
p (Kruskal-Wallis)	0.02886	0.00778	0.0723

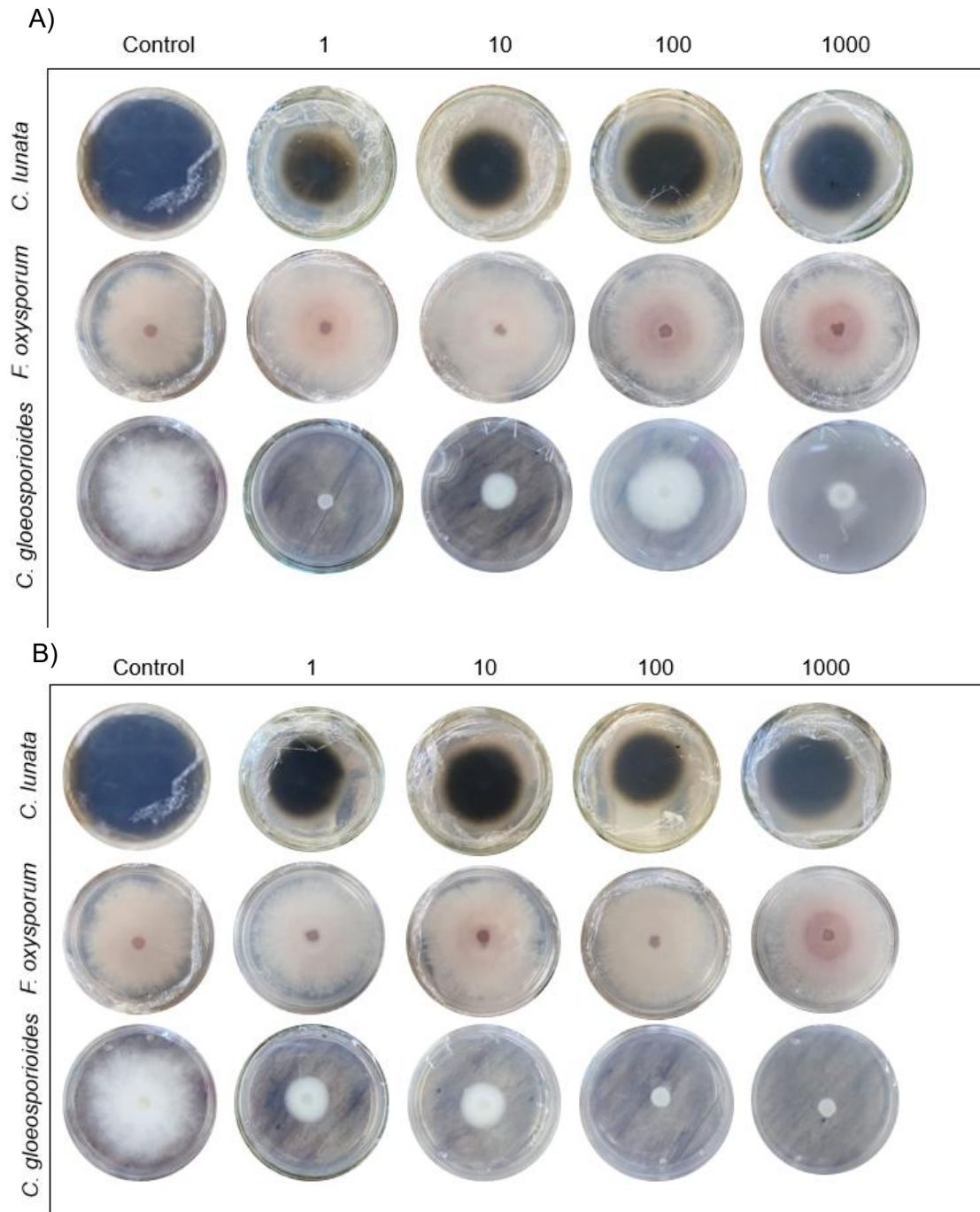


Figura 14. Efecto en el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de extractos crudos de *Amanita hayalyuy*. A) Actividad del extracto hexánico, B) Actividad del extracto metanólico.

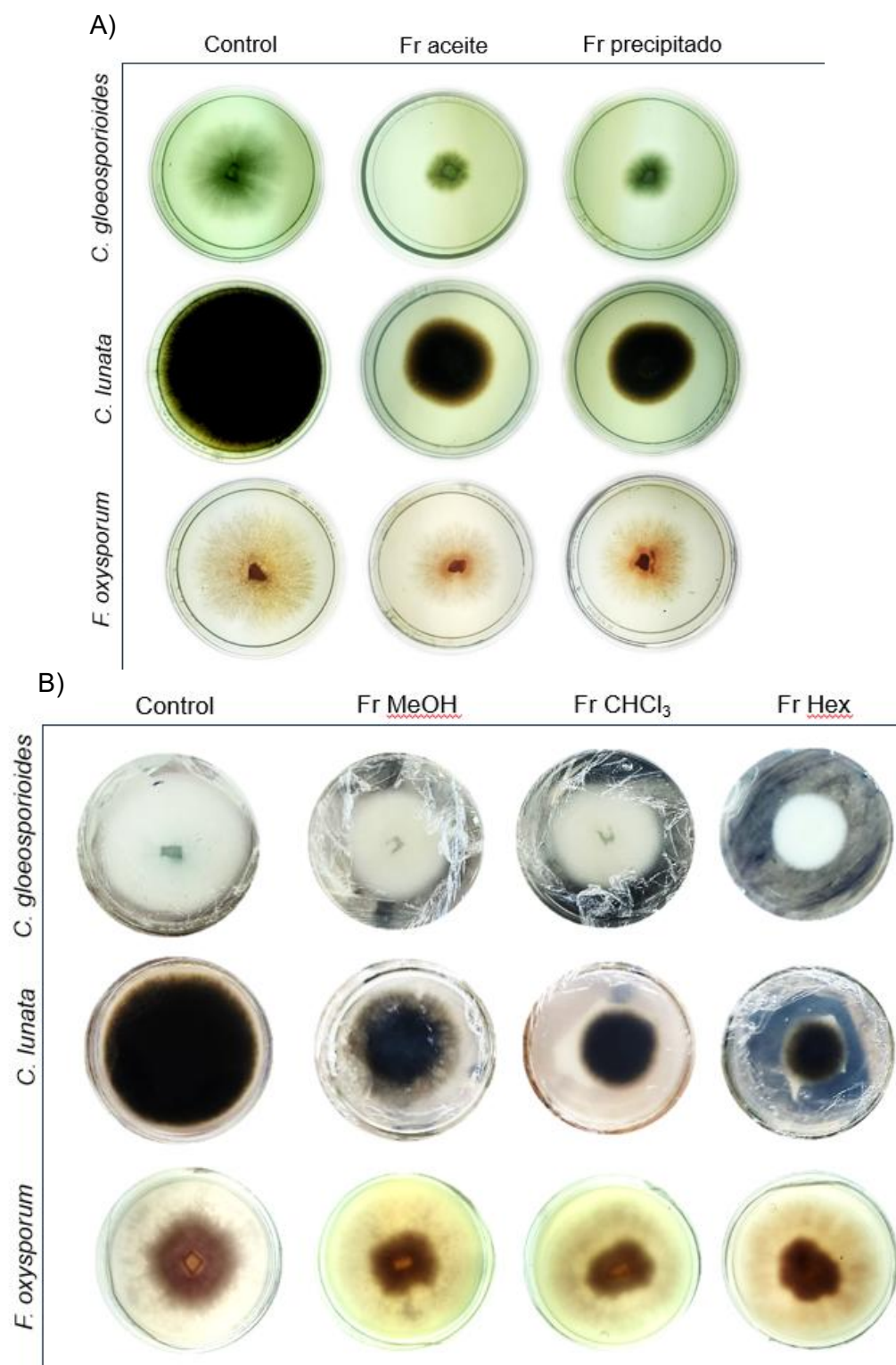


Figura 15. Efecto en el crecimiento micelial de las fracciones de *Amanita hayalyuy*. A) Actividad de las fracciones hexánicas, B) Actividad de las fracciones metanólicas.

7.6. Comparación de la actividad antifúngica sobre cada fitopatógeno

La mayor inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* fue dado por el extracto metanólico a 1000 µg.mL⁻¹ (~85%), mientras que para *Fusarium oxysporum* la fracción aceite del extracto hexánico y la fracción Hex:MeOH (~40%) fueron los más potentes y para *Curvularia lunata* fue dado por el extracto hexánico a 1000 µg.mL⁻¹ (~19%) (Cuadro 18). Considerando los porcentajes de inhibición más altos, el hongo con una mayor sensibilidad ante los extractos y fracciones de *Amanita hayalyuy* fue *Colletotrichum gloeosporioides* (Cuadro 18).

Cuadro 18. Comparación de la actividad antifúngica extractos y fracciones más activas de *Amanita hayalyuy*.

% de inhibición del crecimiento micelial				
Extracto o fracción	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	p Kruskal-Wallis
Hexánico	19% aC	37% aB	80% aA	0.001846
Hexánico Aceite	6% bC	40% aA	30% bB	0.004301
Hexánico Precipitado	6% bC	39% aA	33% bB	0.009133
Metanólico	-8% cC	27% bB	85% aA	0.001606
F Hex:MeOH	7% bC	40% aA	30% bB	0.002903
F CHCl ₃ :MeOH	2% bC	38% aA	28% bB	0.003516
F MeOH:MeOH	9% bB	29% bA	21% cB	0.002933
p Kruskal-Wallis	0.0002239	0.008616	0.0002503	

7.7. Relación de actividad antifúngica contra quimiodiversidad

Se calculó el coeficiente de Pearson para conocer la correlación entre la capacidad antifúngica y los índices de quimiodiversidad. Para *F. oxysporum* la actividad estuvo mayor asociada a la quimiodiversidad de Shannon (0.62); en *Curvularia lunata* hubo correlaciones altas con el índice de dominancia (0.9) y la diversidad de Shannon (0.82); en *Colletotrichum gloeosporioides* la diversidad de Margaleff tuvo una asociación relativamente alta con la actividad sobre el fitopatógeno (0.68).

En resumen, hay una ligera tendencia que a mayor diversidad de metabolitos secundarios en el extracto mayor potencia antifúngica, aunque para *Curvularia lunata*

también es importante la presencia de algún compuesto que domine el perfil (Cuadro 19).

Cuadro 19. Índices de correlación (coeficiente de Pearson) entre la quimiodiversidad y la potencia antifúngica de extractos y fracciones de *Amanita hayalyuy*.

	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Curvularia lunata</i>	<i>Colletotrichum gloesporioides</i>
Índice de dominancia	0.39911	0.9	0.25114
Índice de Shannon	0.62318	0.82804	0.41734
Índice de Margaleff	0.44387	0.018834	0.6812

7.8. Ensayo de toxicidad en *Artemia salina*

La toxicidad de *A. hayalyuy* empleando el modelo biológico de *Artemia salina* indicó una CL₅₀ de 18135 µg.mL⁻¹ para el extracto metanólico, mientras que el hexánico presentó una CL₅₀ de 135 µg mL⁻¹.

El criterio de clasificación de la toxicidad de Clarkson para extractos de moléculas es: extractos con una CL₅₀ superior a 1000 µg mL⁻¹ no son tóxicos, extractos con CL₅₀ de 500 a 1000 µg mL⁻¹ son poco tóxicos, los extractos con CL₅₀ de 100 a 500 µg mL⁻¹ son de toxicidad media, y los extractos CL₅₀ de 0 a 100 µg mL⁻¹ son altamente tóxicos (Clarkson et al., 2004). A su vez los criterios de toxicidad establecidos por Déciga-Campos *et al.* (2007) sugieren que los extractos se considerarán no tóxicos cuando tengan CL₅₀ > 1000 µg/mL, toxicidad débil con CL₅₀ ≥ 500 ≤1000 µg/mL y tóxicos con CL₅₀ < 500 µg/mL

Bajo estos criterios el extracto metanólico debe ser considerado no tóxico en ambas clasificaciones, mientras que el extracto hexánico es considerado de toxicidad media según Clarkson *et al.* (2004) o tóxico por Déciga-Campos *et al.* (2007).

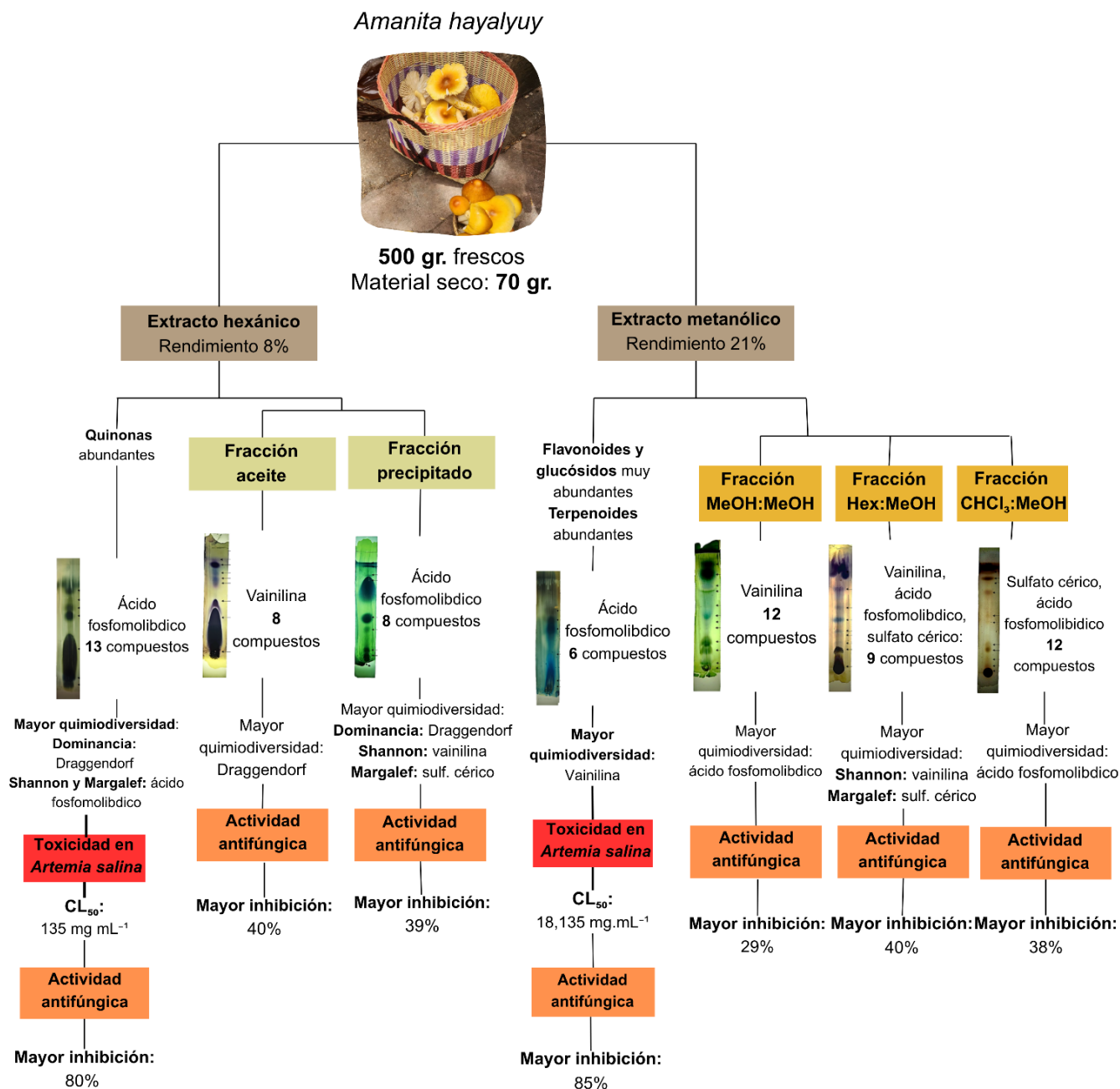


Figura 16. Estrategia y resultados del primer estudio microquímico de *Amanita hayalyuy*.

VIII. DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios biosintetizados por las especies del género *Amanita* han sido objeto de estudio. No obstante, la información sobre la composición química de especies presentes en México es reducida. Este estudio constituye el primer acercamiento químico de *Amanita hayalyuy*, un hongo comestible de importancia gastronómica en la Región de Los Altos de Chiapas.

8.1. Rendimiento del extracto crudo y fracciones de *A. hayalyuy*.

La extracción del material fúngico con hexano y metanol fue una estrategia química con el fin de separar por grupos el tipo de compuestos de *A. hayalyuy*. El rendimiento del extracto metanólico de esporomas fue significativamente mayor que el del extracto hexánico, esto indica una predominancia de compuestos polares sobre los no polares. El hexano es un disolvente no polar, permite obtener metabolitos de polaridad baja (lipofílicos) generalmente terpenos, policétidos (entre ellos ácidos grasos) y esteroides (Barbade y Datar, 2015); mientras que el metanol prioriza compuestos polares, comúnmente fenoles, compuestos nitrogenados y glucósidos (Lee *et al.*, 2024). Estas generalidades tienen sus excepciones, porque hay terpenos que pueden disolverse en alcoholes y alcaloides poco polares (Addo *et al.*, 2022; González-Hernández, 2024). Por consecuencia, el presente estudio permitió conocer la capacidad metabólica de *Amanita hayalyuy* para biosintetizar metabolitos secundarios polares y no polares con actividad antifúngica.

A su vez, el fraccionamiento permitió una segunda separación al interior de los extractos, lo cual condujo a explorar mejor la diversidad química de los metabolitos fúngicos, ya que ambos extractos generales presentaron precipitados; el extracto hexánico se separó en un aceite color amarillo mucho menos polar que el precipitado restante; en tanto que el metanólico presentó un precipitado viscoso con un olor dulce. En todo caso, las fracciones del extracto metanólico siempre fueron más altas que las hexánicas.

Malacara (2019) reportó rendimientos de 0.83, 0.83 y 1.08% de extractos metanólicos de *Amanita rubescens*, *A. caesarea* y *A. vaginata* recolectadas en

Amenanencia, Estado de México, muy por debajo del 21% del extracto metanólico en *A. hayalyuy*, esto supone una variabilidad significativa en la cantidad de metabolitos secundarios encontrados para cada especie. No obstante, la variabilidad entre rendimientos y la eficacia de la extracción depende de la composición química de la especie, lugar de desarrollo, parte del esporoma analizado, tamaño de partícula de la muestra, el tiempo de extracción, la temperatura, el pH, la relación soluto-disolvente y la polaridad del disolvente (Robles-García *et al.*, 2019).

Swamy *et al.* (2017) reporta un mayor rendimiento del extracto metanólico (4.0%) en contraste con el extracto hexánico (1.32%) para *Plectranthus amboinicus* y sugiere que podría atribuirse a su alta polaridad, además de su capacidad de extracción de compuestos primarios como proteínas, carbohidratos y no solo metabolitos secundarios como terpenos. Varios autores sugieren el uso de metanol como el mejor disolvente para la extracción, dado que inclusive por fenómeno de “arrastré” puede obtener metabolitos no polares cuando el material biológico no ha sido extraído previamente con disolventes de baja polaridad (Vinayagam *et al.*, 2025), sin embargo, esto depende de la capacidad bioquímica del organismo y de los tejidos a estudiar (Sultana *et al.*, 2009; Swamy *et al.*, 2017). Por ejemplo, en plantas, las semillas son ricas en aceites y MS de baja polaridad (Sanyal y Decocq, 2016).

Además, la predominancia del extracto metanólico y sus fracciones podría atribuirse a polisacáridos y proteínas documentados en una alta concentración en hongos que son extraídos principalmente por metanol. Costa *et al.* (2024) establecen el porcentaje de los polisacáridos en la composición de la biomasa fúngica seca en un 80%, mientras que las proteínas constituyen del 3% al 20% y los lípidos alcanzan del 1% al 10%, estos últimos pudiendo ser acumulados en forma de triglicéridos, ácidos grasos libres, lípidos polares, esteroides y pigmentos que pueden ser extraídos con hexano.

8.2. Composición química de extractos.

Los ensayos colorimétricos y las cromatografías en capa fina permiten la detección preliminar de compuestos a un bajo costo con resultados que pueden ser concluyentes en un breve periodo de tiempo (Kowalska y Sajewicz, 2022; Martínez-Cano *et al.*,

2017). No existe bibliografía documentada de la composición química previa de *Amanita hayalyuy*, por lo cual este estudio podría considerarse el primer acercamiento a la micoquímica de la especie.

Las pruebas colorimétricas indicaron que las extracciones por polaridad permitieron separar la quimiodiversidad contenida en los esporomas de *A. hayalyuy*, ya que hubieron grupos de metabolitos comunes y exclusivos entre los extractos, de tal manera que el extracto metanólico contiene una mayor diversidad de tipos de metabolitos (cumarinas, flavonoides, glucósidos, terpenoides y alcaloides) que el extracto hexánico (cumarinas, quinonas, flavonoides y alcaloides), esto implica que alcaloides, cumarinas y flavonoides, tendrían mayor diversidad estructural al tener moléculas de naturaleza no polar y polar. A pesar de no existir un estudio previo de los grupos de metabolitos secundarios encontrados en *A. hayalyuy*, algunos autores reportan la composición química de especies dentro del género. Malacara (2019) detectó alcaloides y flavonoides en el extracto metanólico de *Amanita caesarea* mediante pruebas colorimétricas y cromatografía. No obstante, el extracto dio negativo a cumarinas, lo que contrasta con la composición química de *A. hayalyuy*. Esta diferencia puede atribuirse al perfil químico que caracteriza a cada especie, aunque se encuentren dentro del mismo complejo *Amanita caesarea*, y a las variables ambientales e interacciones ecológicas asociadas al lugar de recolecta, que influyen directamente en la producción de metabolitos secundarios (Enjalbert, 1989).

8.3. Actividad antifúngica de extractos crudos y fracciones de *A. hayalyuy*

Se ha reportado diversa actividad biológica dentro de las especies comestibles del género *Amanita* (Bhrambri *et al.*, 2022; Narváez-Montaña *et al.*, 2023; Tapan *et al.*, 2024). El presente estudio también constituye el primer reporte del potencial antifúngico de *A. hayalyuy* frente a *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata* y *Colletotrichum gloeosporioides*, especies que causan plagas en cultivos de interés económico y agrícola (Ramírez-Olier, 2019).

La mayor potencia antifúngica de los extractos crudos y sus fracciones se presentó sobre *C. gloeosporioides*, en el cual se inhibió hasta el 85% empleando el extracto metanólico crudo a 1000 µg.mL⁻¹. Menikpurage *et al.* (2008) reportaron una

inhibición máxima (22%) a partir de una fracción acetónica (C_3H_6O) de *Pleurotus cystidiosus* y Gurudevan *et al.* (2011) indicaron porcentaje de inhibición mayor a partir de fracciones obtenidas del solvente éter de etilo de *Ganoderma lucidum* (70%) y *Lentinus edodes* (68.2%) sobre *C. gloeosporioides*, ambos empleando la prueba agar envenenado. En comparación a tales extractos, el extracto metanólico crudo de *A. hayalyuy* exhibió entre 1.2 a cuatro veces mayor potencia antifúngica *in vitro* contra *C. gloeosporioides*. No obstante, la bibliografía encontrada se centró en especies saprobias, mientras que *A. hayalyuy* es ectomicorrizógena; actualmente, no hay registros de inhibición de *C. gloeosporioides* a partir de extractos de especies micorrizógenas.

Dutta *et al.* (2018) registraron una inhibición máxima *in vitro* de 60% empleando schizostatina contra *C. gloeosporioides*, un diterpeno fúngico inicialmente extraído con acetona de *Schizophyllum commune*; adicionalmente complementaron el estudio mediante una aplicación *in situ* del compuesto aislado, el cual proporcionó un porcentaje de inhibición de 92.4% sobre el fitopatógeno. Estas variaciones en el método de aplicación y el aislamiento del compuesto tienen relevancia en la eficacia de la prueba antifúngica, debido a que las pruebas *in vitro* con extractos crudos son utilizadas como una detección inicial de compuestos bioactivos contra agentes patógenos en condiciones controladas (Kaur *et al.*, 2015; Van-Dijck *et al.*, 2018) que en condiciones de campo pueden mostrar potencia distinta, en ese estudio a favor de la actividad. Por tanto, la actividad *in vitro* (85 %) del extracto metanólico del yuyo, es un buen indicativo de que contiene metabolitos antifúngicos potentes, que pudieran ser útiles para su aplicación en campo.

Por otro lado, el mismo extracto metanólico ($1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) obtuvo la menor actividad registrada en *Fusarium oxysporum*, en el cual puede observarse incluso una inducción del crecimiento del fitopatógeno. Zhao *et al.*, reportan la proliferación de *F. oxysporum* en las raíces de *Panax notoginseng* a partir de la aplicación de un compuesto fenólico (ácido *p*-hidroxibenzoico) y mencionan que los compuestos fenólicos en hongos patógenos pueden inducir la proliferación, así como promover la secreción de metabolitos secundarios. El extracto metanólico dio positivo para flavonoides, por lo que pudiera haber la posibilidad de contener compuestos fenólicos

tipo flavonoides, capaces de inducir el crecimiento de *F. oxysporum* (Lee *et al.*, 2024). A su vez ello indicaría que el extracto metanólico contiene tantos metabolitos inhibidores contra *C. gloeosporioides* y *C. lunata* como compuestos estimuladores para *F. oxysporum*.

8.4. Ensayo de toxicidad en *Artemia salina*

El ensayo de toxicidad en *A. salina* representa un análisis preliminar relativamente confiable y rápido para evaluar la presencia de metabolitos fúngicos tóxicos en los extractos; aunque el ensayo también se ha utilizado históricamente para predecir la actividad anticancerígena, sus resultados sólo indican una citotoxicidad general, no un mecanismo de acción específico. Por tanto, un resultado positivo en este ensayo sugiere que el extracto podría ser un candidato prometedor para investigaciones citotóxicas más profundas (Meyer *et al.*, 1982; Banti y Hadjikakou, 2021).

Bajo los criterios de toxicidad conocidos, el extracto metanólico crudo de *A. hayalyuy* es considerado como no tóxico, mientras que el hexánico es considerado de toxicidad media (Clarkson *et al.*, 2004) a tóxico (Déciga-Campos *et al.*, 2007).

Esto inicialmente establece que el extracto metanólico con buena actividad sobre los fitopatógenos, tiene la ventaja de no ser tóxico por amplio margen, ya que la potencia antifúngica a 1000 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ de 85% sobre *C. gloesporioides* está 18 veces alejada de la tasa de toxicidad (CL_{50} de 18135 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$) o 180 veces alejada de la tasa de inhibición a 100 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ (72%).

Por otro lado, la toxicidad del extracto hexánico es controversial debido a que *Amanita hayalyuy* es un hongo de importancia gastronómica en la zona de Los Altos de Chiapas y es distribuido en los mercados de la región. No hay registro de intoxicaciones por *yuyo* y los micetismos reportados se deben a la confusión de las especies comestibles con las especies tóxicas de la región (Ruan-Soto, 2018). Sin embargo, estudios previos sugieren que hongos comestibles con actividad tóxica pueden presentar compuestos bioactivos que, aunque no provocan micetismos, pueden ser potenciales anticancerígenos, antioxidantes o antimicrobianos (Brizuela *et al.*, 1998; Ruiz-González, 2014). Es importante también resaltar que los extractos hexánicos y metanólicos fueron extraídos de material seco pero crudos, en tanto que

el yuyo se consume después de procesos de cocción a altas temperaturas, muchos MS tóxicos son termosensibles, por lo que dejan de ser tóxicos cuando se exponen a calor, ejemplo de ello son los glucósidos cianogénicos en almendras y yucas que son destruidos ante su cocción (Tunçel *et al.*, 1995; Padmaja y Steinkraus, 1995), mientras que algunos hongos del género *Morchella* provocan hemólisis y toxicidad gastrointestinal asociados a toxinas termolábiles que se previenen con su correcta cocción (Rodríguez *et al.*, 2017). Además, la toxicidad media de CL₅₀ de 135 µg mL⁻¹ es del extracto y no directamente del esporoma, por lo que, considerando que todo el extracto es absorbido, una persona con 60 kg tendría que consumir aproximadamente 8.1 g de extracto y en todo caso casi dos kilogramos de *yuyo* fresco. Tales especulaciones, deberían ser resueltas con mayor número de estudios y con pruebas de toxicidad y citotoxicidad de esporomas crudos y cocidos para eliminar cualquier sospecha de ello.

Otro criterio a considerar es la capacidad de los hongos comestibles de absorber y acumular elementos presentes en los suelos, como metales pesados que pudieran ser tóxicos (Domínguez-Zúñiga *et al.*, 2021; Ruan-Soto, 2018). Demirbaş (2001) reporta la presencia de metales pesados en esporomas de *Amanita vaginata* y *A. rubescens*. Este análisis es menos probable ya que la especie se adquirió en el mercado de San Cristóbal de Las Casas, en donde es ampliamente consumida por habitantes locales; además los metales o sus sales no son liposolubles (Koroleva *et al.*, 2019), por tanto, es difícil que de haber metales estos fueran extraídos con el hexano.

Se ha registrado el uso de especies ectomicorrizógenas en estudios de toxicidad con *Artemia*. Ruiz-González *et al.* (2017) evaluaron el efecto de extractos acuosos de basidiomicetos en la eclosión de quistes de *Artemia franciscana*, obteniendo un CL₅₀ mayor para las especies ectomicorrizógenas *Tylopilus violatinctus* (51 ± 12), *Hygrophorus russula* (81 ± 31), *Cantharellus cibarius* (105 ± 43), *Amanita muscaria* (154 ± 80) y *Amanita virosa* (169 ± 25). En este estudio fueron evaluadas dos especies comestibles (*Hygrophorus russula* y *Cantharellus cibarius*), las cuales presentaron una toxicidad moderada. Por otro lado, Fernandez-Armendáriz (2024) empleó extractos de metanol-cloroformo de la especie ectomicorrizógena comestible

Tricholoma equestre para probar la toxicidad en *A. salina*, los cuales resultaron altamente tóxicos (inferiores a 100 µg/mL) e indica que para determinar la toxicidad en el ser humano debe considerarse el uso de modelos animales más parecidos a este y, al tratarse de especies comestibles que se someten a una cocción previa antes del consumo, se sugiere replicar las condiciones de temperatura óptima para el consumo de hongos comestibles con componentes tóxicos en crudo. Aunque el uso de *Artemia* como organismo modelo para la detección de metabolitos con potencial citotóxico es eficaz, es necesario profundizar en las estrategias para la detección de compuestos tóxicos.

Finalmente, de acuerdo a la asociación del bioensayo de *Artemia* con la actividad citotóxica de líneas cancerígenas, permite pensar en la posibilidad de este tipo de actividad para el extracto hexánico del yuyo (Meyer *et al.*, 1982; Banti y Hadjikakou, 2021).

8.5. Correlación entre los índices de diversidad y la potencia antifúngica

El coeficiente de Pearson es el índice numérico más común para medir la relación entre dos variables (Fiallos, 2021). En este trabajo, se calculó el coeficiente de Pearson entre los índices de diversidad y la capacidad antifúngica para cada hongo fitopatógeno, con el fin de conocer si la potencia antifúngica era correspondiente a la diversidad de metabolitos secundarios presentes. Los mayores coeficientes fueron encontrados para *Curvularia lunata* (0.9 y 0.82804) en las que la actividad baja y relativamente media con la especie en la que se observó la mayor actividad antifúngica (*Colletotrichum gloeosporioides*), por lo cual se puede inferir que, en general, una mayor diversidad influye directamente sobre la actividad antifúngica resultante. De igual manera, que la correlación más alta en *Curvularia lunata* sea haya asociada al índice de dominancia, podrían deberse a que existen ciertos compuestos dentro del conjunto que no presentan actividad antifúngica, o compuestos que presenten antagonismos entre ellos, lo cual genera un efecto negativo o anulación de sus efectos (Zhang *et al.*, 2007).

IX. CONCLUSIONES

Los esporomas de *Amanita hayalyuy* presentan una diversidad de metabolitos secundarios que puede ser extraído con disolventes de naturaleza no polar y polar. Es más abundante en rendimiento el conjunto de compuestos polares que el de metabolitos no polares. Aunque el extracto hexánico contiene mayor número de compuestos, el extracto polar tiene mayor diversidad estructural de MS.

A. hayalyuy produce flavonoides, terpenoides, cumarinas, quinonas, glucósidos y alcaloides. Algunos pueden ser extraídos con ambos disolventes, y otros son exclusivos a cada tipo de extracto, por tanto, la diversidad de MS del *yuyo* no se limita a la polaridad de la extracción, ni puede ser extraída con un solo disolvente.

Los extractos de MS del *yuyo* despliegan actividad antifúngica de forma diferencial, son más potentes contra *Colletotrichum gloeosporioides* (80- 85% de inhibición) que sobre *Curvularia lunata* (19 y 42%) y *F. oxysporum* (45 y 19%, respectivamente)

Las fracciones de los extractos no fueron más potentes que los extractos de donde provinieron, indicando que el sinergismo de metabolitos es un factor relevante que propicia una mejor potencia antifúngica. Esto último, también se ve reflejado en las asociaciones entre los índices de quimiodiversidad y potencia, en la que hay evidencias de que a mayor quimiodiversidad mayor potencia antifúngica

El ensayo en *Artemia salina* señala una baja toxicidad en el extracto metanólico, mientras que el hexánico fue catalogado con toxicidad moderada a alta. Se requiere un estudio a mayor profundidad, dado la generalidad del ensayo, para señalar si se trata de una toxicidad sobre células normales o es un indicio de citotoxicidad sobre líneas cancerígenas.

Finalmente, este trabajo representa el primer acercamiento a la micoquímica de *Amanita hayalyuy* y establece una base para investigaciones posteriores de la especie y del género *Amanita*. Asimismo, puede ser una herramienta para su conservación.

X. RECOMENDACIONES

Es importante que se complemente con la realización de pruebas bioquímicas y de toxicidad de mayor precisión y fineza para las fracciones resultantes de cada extracto crudo con el fin de identificar compuestos bioactivos de interés y profundizar en el conocimiento de la actividad biológica de *Amanita hayalyuy*.

También, analizar la química de la especie en distintas localidades para evaluar las diferencias entre perfiles de metabolitos secundarios y si varían según las características del suelo y la altitud.

Realizar pruebas de citotoxicidad para verificar el valor preliminar determinado en el bioensayo general de *A. salina*, para determinar si es por la presencia de compuestos tóxicos o con actividad citotóxica asociadas a líneas celulares cancerígenas.

Finalmente, la realización de estudios donde se comparen las distintas partes del esporoma de *Amanita hayalyuy* para conocer la distribución y concentración de sus metabolitos secundarios.

Dado la proporción de aceite generado en el extracto hexánico, es conveniente profundizar en el tipo de lípidos que lo están constituyendo.

XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Addo, P., Sagili, S., Bilodeau, S., Gladu-Gallant, F., MacKenzie, D., Bates, J., McRae, G., MacPherson, S., Paris, M., Raghavan, V., Orsat, V. y Lefsrud, M. 2022. Cold Ethanol Extraction of Cannabinoids and Terpenes from Cannabis Using Response Surface Methodology: Optimization and Comparative Study. *Molecules*. 27 (24): 8780. doi: 10.3390/molecules27248780.
- Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., y Valenzuela, R. 2014. Biodiversidad de hongos en México. *Revista mexicana de Biodiversidad*. 85: 76-81.
- Agro.uba.ar. 2016. Mancha por *Curvularia* en Maiz (*Curvularia* spp). Herbario Virtual Fitopatología. https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=6668. Consultado el 14 de septiembre del 2024.
- Almaraz-Abarca, N., Ávila-Reyes, J., Delgado-Alvarado, E., Naranjo-Jiménez, N. y Herrera-Corral, J. 2006. El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto. *Vidsupra*. 1 (2): 39-50.
- Armenta-López, S., Valenzuela-Solano, C., y Hernández-Martínez, R. 2021. Identificación y análisis molecular de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* aisladas de jitomate en Baja California, México. *Revista mexicana de fitopatología*. 39 (2): 266-288. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2103-4>
- Ávalos-García, A. y Pérez-Urria, E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA*. 2 (3): 119-145.
- Banti, C. y Hadjikakou, S. 2021. Evaluation of Toxicity with Brine Shrimp Assay. *Bio Protocol*. 11 (2). doi: 10.21769/BioProtoc.3895.
- Barbade, K. y Datar, A. 2015. Extraction, bioactivities, phytochemical investigation and *in-vivo* toxicity studies of *mesua ferrea* L. Stamens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 7 (4): 93-07.
- Bell, E., Watson, A. y Nash, R. 2008. Non-Protein Amino Acids: A Review of the Biosynthesis and Taxonomic Significance. *Natural Product Communications*. 3 (1). doi:10.1177/1934578X0800300117

- Bhrambri, A., Srivastava, M., Mahale, V., Mahale, S. y Karn, S. 2022. Mushrooms as potential sources of active metabolites and medicines. *Frontiers of Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.837266>
- Bills, G. y Gloer, J. 2016. Biologically Active Secondary Metabolites from the Fungi. *Microbiology spectrum*. 4 (6). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0009-2016>
- Bliss, C. I. 1935. The calculation of the dosage-mortality curve. *Annals of Applied Biology*. 22 (1): 134-167.
- Brackmann, F. y de Meijere, A. 2007. Natural occurrence, syntheses, and applications of cyclopropyl-group-containing alpha-amino acids. 2. 3,4- and 4,5-methanoamino acids. *Chemical Review*. 107 (11): 4538-83. doi: 10.1021/cr0784083.
- Brizuela, M., García, L., Pérez, L. y Mansur, M. 1998. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. *Revista Iberoamericana de Micología*. 15: 69-74.
- Burillo-Putze, G., López-Briz, E., Climent-Díaz, B., Munné Mas, P., Nogue Xarau, S., Pinillos, S. y Hoffman, R. 2013. Drogas emergentes (III): plantas y hongos alucinógenos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. 36 (3): 505-518.
- Carrillo-Lara, J., Méndez-Márquez, R., Gutiérrez-Hernández, R. y Reyes Estrada, C. 2017. Actividad antibacteriana de *Pleorotus ostreaus*. *Academia Journals*. 1: 990-995.
- Castro de la Matal, R. y Martínez-Vargas, A. 1998. Programa en Basic para el cálculo de DL50 por el método de Probits. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 15 (1-2): 45-54
- Cepero de García, M., Restrepo-Restrepo, S., Franco-Molano, A., Cárdena-Toquica, M. y Vargas-Estupiñán, N. 2012. Biología de hongos. Ediciones Uniandes. Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia. 520 pp.
- Chilton, W. y Ott, J. 1976. Toxic metabolites of *Amanita pantherina*, *A. cothurnata*, *A. muscaria* and other *Amanita* species. *Lloydia*. 39 (2-3): 150-7.
- Clarkson, C., Maharaj, V.J., Crouch, N.R., Grace, O.M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P.J., Folb, P.I., 2004. In vitro antiplasmodial activity of

- medicinal plants native to or naturalized in South Africa. *J Ethnopharm.* 92, 177-191.
- Cuevas-Moreno, J. 2016. Los hongos: héroes y villanos de la prosperidad humana. *Revista Digital Universitaria UNAM.* 17 (09). <https://www.revista.unam.mx/vol.17/num9/art69/>
- Colina-Ramos, A. 2016. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco). Tesis de Licenciatura. Facultad de química e ingeniería química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Costa, G., Martinez-Burgos, W., Reis, G., Puche, Y., Vega, F., Rodrigues, C., Serra, J., Campos, S. and Soccol, C. 2024. Advances in Biomass and Microbial Lipids Production: Trends and Prospects. *Processes.* 12 (12): 2903–2903. <https://doi.org/10.3390/pr12122903>.
- Déciga-Campos, M., Rivero-Cruz, I. y Arriaga-Alba, M. 2007. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol.* 110 (2): 334–342.
- Deloya-Olvera, M. 2017. Importancia biocultural de seis especies de hongos silvestres de los géneros *Amanita*, *Calostoma* y *Psilocybe* en el estado de Oaxaca. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México.
- Del Pilar-González, M. 2001. Biodiversidad de hongos fitopatógenos del suelo de México. *Acta Zoológica Mexicana.* 1: 53-58.
- Demirbaş, A. 2001. Heavy metal bioaccumulation by mushrooms from artificially fortified soils. *Food Chemistry.* 74 (3): 293–301. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(01\)00155-8](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(01)00155-8).
- Díaz-Trujillo, F. 2022. *Diphyssa americana* (Mill.) M. Sousa (Fabaceae): Árbol mesoamericano con potencial antimicrobiano. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, México.
- Domínguez-Zúñiga, L., Puente-Valenzuela, C., Estrada-Arellano, J., Aguirre-Acosta, E. y Aguillón-Gutiérrez, D. 2021. Concentración de metales pesados en hongos

- de la zona metropolitana de la Comarca Lagunera, México. *Scientia Fungorum*. 52: 1389–e1389. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.52.1389>.
- Döpp, H. y Musso, H. 1973. Isolierung und Chromo-phore der Farbstoffe aus *Amanita muscaria*. *Chemische Berichte*. 106.
- Döpp, H., Grob, W., and Musso, H. 1971. Über die Farb-stoffe des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria*). *Natur-wissenschaften*. 58: 566.
- Duarte-Martins, A. 2010. Manejo forestal comunitario y biodiversidad en Los Altos de Chiapas. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur. San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México.
- Dueñas-Rivera, W. 2008. Extracción y caracterización química de metabolitos secundarios de *Amanita muscaria* con actividad antifúngica frente a hongos causantes de dermatomicosis. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Dutta, S., Woo, E., Yu, S. Nagendran, R., Yun, B. y Lee, Y. 2019. Control of Anthracnose and Gray Mold in Pepper Plants Using Culture Extract of White-Rot Fungus and Active Compound Schizostatin. *Mycobiology*. 47 (1): 87-96. doi: 10.1080/12298093.2018.1551833.
- Enjalbert, F., Cassanas, G. y Andary, C. 1989. Variación en las cantidades de las principales falotoxinas en *Amanita phalloides*. *Micología*. 81 (2): 266–271. <https://doi.org/10.1080/00275514.1989.12025655>
- Enríquez, P., y Rangel, J. L. 2009. La reserva ecológica Huitepec. *Biodiversitas*. 85: 6-10.
- Estrada-Avendaño, A. 2023. Las especies del género *Amanita* subgénero *Amanitina* en bosques templados de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, México.
- Fernandez-Armendáriz, Q. 2024. Diversidad, Taxonomía y Toxicología de las especies del complejo *Tricholoma equestre* (Agaricomycetes) en México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México. Ciudad de México.

- Fernández-Calienes, A., Mendiola-Martínez, J., Monzote-Fidalgo, L., García-Parra, M., Sariego-Ramos, I., Acuña-Rodríguez, D., Scull-Lizama, R. y Gutiérrez-Gaitén, Y. 2009. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 61 (3): 254-258.
- Fiallos, G. 2021. La Correlación de Pearson y el proceso de regresión por el Método de Mínimos Cuadrados. *Ciencia latina*. 5 (3): 2491-2509. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i3.466.
- Gálvez-Sagastume, C. 2011. Descripción de especies del género *Amanita* pers. (Amanitaceae, Agaricales, Basidiomycota) de las secciones *Amanita*, *Caesareae* y *Vaginatae* recolectadas en Guatemala. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Gao, S., Li, Y., Gao, J., Suo, Y., Fu, K. y Chen, J. 2014. Genome sequence and virulence variation-related transcriptome profiles of *Curvularia lunata*, an important maize pathogenic fungus. *BMC Genomics*. 15: 627.
- García-Chong, N. & Salvatierra, Benito & Olivera, Laura & Marlene, Zúñiga-Cabrera. 2010. Mortalidad infantil, pobreza y marginación en indígenas de los altos de Chiapas, México. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*. 6 (1): 115-130.
- González-Hernández, R., Valdez-Cruz, N. y Trujillo-Roldán, M. 2024. Factores que influyen en los métodos de extracción de terpenos de fuentes naturales. *Chemical Papers*. 78: 2783–2810. <https://doi.org/10.1007/s11696-024-03339-z>
- González-Morales, A., Ribas-Aparicio, R., y Burrola-Aguilar, C. 2021. Actividad antioxidante de hongos silvestres consumidos tradicionalmente en el centro de México. *Scientia fungorum*. 52. <https://doi.org/10.33885/sf.2021.52.1410>
- Guerrero-Macedonio, J. 2023. Análisis fitoquímico de plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional mexicana. Informe final de Servicio Social. División De Ciencias Biológicas Y De La Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/40301>.

- Gurudevan, T., Prakasam, V., Chandrasekar, G., Sakthivel K. and Kalaiselvi, G. 2011. Biodiversity, conservation and utilisation of mushroom flora from the western ghats region of india. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. India.
- Hammer, Ø., Harper, D. y Ryan, P. 2001. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electrónica*. 4 (1): 1-9.
- Hawksworth, D. L., y Lücking, R. 2017. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology spectrum*. 5 (4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016>
- Harun, S. y Mohamed-Hussein, Z. 2024. Glucosinolates and Cyanogenic Glycosides, Biosynthesis and Mechanism of Action Leading to Plant Defense. Plant Specialized Metabolites. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-30037-0_53-1.
- Hedges, J. y Ryan, K. 2019. Biosynthetic Pathways to Nonproteinogenic α -Amino Acids. *Chemical Reviews*. 120 (6): 3161–3209. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00408>
- Hernández-Martínez, R., López-Benítez, A., Borrego Escalante, F., Espinoza-Velázquez, J., Sánchez, D., Maldonado-Mendoza, I. y López-Ochoa, L. 2014. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 5 (7): 1169-1178.
- Hernández-Torres, E. 2012. Evaluación de la actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios detectados en la fermentación líquida de una cepa nativa de *Penicillium* sp. spg 64 aislada del páramo de Guasca, Cundinamarca. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Hibbett, D., Binder, M., Bischoff, J., Blackwell, M., Cannon, P., Eriksson, O., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P., Lücking, L., Lumbsch, T., Lutzoni, F., Matheny, P., McLaughlin, D., Powell, M., Redhead, S., Schoch, C., Spatafora, J., Stalpers, J. y Zhang, N. 2007. A higher-lever phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*. 111: 509-547.
- Iloki-Assanga, S., Lewis-Luján, L., Lara-Espinoza, C., Gil-Salido, A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J. and Haines, D. (2015). Solvent effects on

- phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Research Notes*. 8 (1). <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1388-1>.
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W., Wimmer, H., y Burns, D. T. 1990. Thin-layer chromatography. Reagents and detection methods. Physical and chemical detection methods: fundamentals, reagents I. *Analytica Chimica Acta*. 237: 511-512.
- Kashfi, R., Kelsey, C., Gang, D., Call, D. y Gang, D. 2020. Metabolomic Diversity and Identification of Antibacterial Activities of Bacteria Isolated From Marine Sediments in Hawai'i and Puerto Rico. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 25 (7): 23. doi: 10.3389/fmolb.2020.00023.
- Kaur, H., Jemima, G., Sharma, V. and Arora, D.S. 2015. Isolation, purification and characterization of novel antimicrobial compound 7-methoxy-2,2-dimethyl-4-octa-4',6'-dienyl-2H-naphthalene-1-one from *Penicillium* sp. and its cytotoxicity studies. *AMB Express*. 5 (1). <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0120-9>.
- Koroleva, S., Korchak, P., Enders, S., Dobryakov, Y., and Victorov, A. 2019. Solubility of n-Hexane and Setchenov's Constants in Aqueous Solutions of KCl, NaCl, NaBr, and NaNO₃. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 64 (10): 4314-4318. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.9b00384>
- Kosanic, M., Rankovic, B., y Dasic, M. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of mushrooms. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 19 (5): 1040-1046.
- Kowalska, T. y Sajewicz, M. 2022. Thin-Layer Chromatography (TLC) in the Screening of Botanicals—Its Versatile Potential and Selected Applications. *Molecules*. 27 (19): 6607. doi.org/10.3390/molecules27196607.
- Kuhar, F., Castiglia, V. y Papinutti, N. 2013. Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos. *Revista Boletín Biológica*. 28 (7): 11-18.
- Kumar-Gautam, A. 2014. *Colletotrichum gloeosporioides*: Biology, Pathogenicity and Management in India. *Journal of Plant Physiology & Pathology*. 2:2. doi:10.4172/2329-955X.1000125

- Ladaniya, M. 2008. Fruit Biochemistry. *Citrus Fruit*. 125–190 pp. <https://doi.org/10.1016/b978-012374130-1.50008-5>.
- Landero-Valenzuela, N., Lara-Viveros, F., Andrade-Hoyos, P., Aguilar-Pérez, L. y Aguado-Rodríguez, G. 2016. Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7 (5): 1189-1198.
- Lee, J.E., Jayakody, J., Kim, J.I., Jeong, J.W., Choi, K.-M., Kim, T.S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J. and Ryu, B. 2024. The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods*. 13 (19): 3151. <https://doi.org/10.3390/foods13193151>.
- Malacara, C. 2019. Caracterización química, farmacológica y evaluación del potencial antioxidante de los hongos comestibles silvestres: yema (*Amanita caesaria*), venado (*Amanita vaginata* var. *punctata*), Juan Diego (*Amanita rubescens*), oreja (*Clitocybe gibba*), xocoyotl (*Laccaria laccata*) y escobeta (*Ramaria apiculata*). Tesis de licenciatura. Colegio de Ciencias y Humanidades. Universidad Autónoma de la Ciudad de México. Ciudad de México.
- Manamgoda, D., Cai, L., Crous, P., Madri, H., Chukeatirote, E. y Shivas, R. 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris-Cochliobolus-Curvularia* Complex. *Fungal diversity*. 56: 131-144.
- Martínez-Cano, E. Martínez-Cano, S. Avalos-López, K. and González-Simental, J. 2017. Preliminary phytochemical study and TLC analysis of the fruit, leaves and flowers of *Citrus limetta* Risso. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6 (5): 594–599.
- Martínez-Escobedo, N., Vázquez-González, F., Valero-Galván, J., Álvarez-Parrilla, E., Garza-Ocañas, F., Najera-Medellín, J. y Quiñónez-Martínez, M. 2021. Actividad antimicrobiana, contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de cuatro hongos macromicetos comestibles de Chihuahua, México. *Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas*. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.318>.
- Matheny, P., Curtis, J., Hofstetter, V., Aime, M., Moncalvo, J., Ge, Z., Slot, J., Ammirati, J., Baroni, T., Bougher, N., Hughes, K., Lodge, D., Kerrigan, R., Seidl, M., Aanen, D., DeNitis, M., Daniele, G., Desjardin, D., Kropp, B., Norvell, L., Parker, A.,

- Vellinga, E., Vilgalys, R. y Hibbett, D. S. 2006. Major clades of Agaricales: a multilocus phylogenetic overview. *Mycologia*. 98 (6): 982–995. <https://doi.org/10.3852/mycologia.98.6.982>
- Menikpurage, I., Abeytunga, D., Jacobsen, N. and Wijesundara, R. 2008. An Oxidized Ergosterol from *Pleurotus cystidiosus* Active Against Anthracnose Causing *Colletotrichum gloeosporioides*. *Mycopathologia*. 167 (3): 155–162. <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9158-4>.
- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D. y McLaughlin, J. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta médica*. 45 (5): 31-4.
- Mishra, S., Jyot, J., Kuhad, R. y Lal, B. 2001. Evaluation of inoculum addition to stimulate *in situ* bioremediation of oily-sludge-contaminated soil. *Applied and environmental microbiology*. 67 (4): 1675-1681.
- Monzón, A. y Tudela, L. 2000. Infecciones causadas por el género *Fusarium*. Tercera Edición. Centro de Investigaciones Microbiológicas. España.
- Moss, M. y Hendrickson, R. 2018. Toxicity of muscimol and ibotenic acid containing mushrooms reported to a regional poison control center from 2002-2016. *Clinical Toxicology*. 57 (2): 99-103. doi: 10.1080/15563650.2018.1497169.
- Montes, B., Restrepo, A. y McEwen, J.G. 2003. Nuevos aspectos sobre la clasificación de los hongos y su posible aplicación médica. *Biomédica*. 23 (2): 213. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v23i2.1214>.
- Narváez-Montaño, M., Mendoza-López, M., Sánchez-Viveros, G., Almaraz-Suarez, J. y Argumedo-Delira, R. 2023. Actividad inhibitoria de extractos alcohólicos de hongos comestibles contra *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 14 (4): 615-625.
- Nigh, R. 2001. Tzeltales y tzotziles de Chiapas. <https://www.aacademica.org/salomon.nahmad.sitton/51.pdf>. Consultado el 03 de septiembre del 2024.
- Niño, F. 2010. Evaluación de metabolitos secundarios del hongo *Ganoderma lucidum* con actividad antifúngica frente a *Fusarium spp.* de interés clínico. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

- Ormeño-Villajos, S. 2024. Introducción a los hongos fitopatógenos. Madrid, España. 203 pp.
- Pacheco Hernández, Y., Villa-Ruano N., Lozoya-Gloria, E., Terán-Sánchez, E. y Becerra-Martínez, E. 2024. Revealing the ¹H NMR profiling of six edible mushrooms consumed in the northeastern highlands of Puebla, Mexico. *Chemistry and Biodiversity*. doi: 10.1002/cbdv.202301851
- Padmaja, G. y Steinkraus, K. 1995. Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35 (4): 299–339. <https://doi.org/10.1080/10408399509527703>
- Pérez-Castro, L., Saquero, M. y Beltrán-Herrera, J. 2003. Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp. como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 1: 24-35.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P. y Pantosti, A. 2015. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog Glob Health*. 109 (7): 309-18.
- Piontelli, E. 2015. Especies oportunistas de importancia clínica de los géneros *Bipolaris* Shoemaker y *Curvularia* Boedijn: su caracterización bajo los nuevos criterios taxonómicos. *Boletín Micológico*. 30. 10.22370/bolmicol.2015.30.2.348.
- Ramírez-Olier, J., Trujillo-Salazar, J., Osorio-Echeverri, V., Jaramillo-Ciro, M. y Botero-Botero, L. 2019. Antagonismo in vitro de *Trichoderma asperellum* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata*, y *Fusarium oxysporum*. *Revista UIS Ingenierías*. 18 (2): 159-166.
- Robles-García, M., Aguilar, J., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., MoralesDel-Rí, J., Guerrero-Medín, P., Madrigal-Pulido, J. y Del-Toro-Sánchez, C. 2016. Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri* PITTIER). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 8 (3): 3-8.
- Rocha dos Santos, P., Urzêdo-Leão, E., Wagner, R., Pereira, M. y Rodrigues, G. 2018. Morphological and molecular characterization of *Curvularia lunata* pathogenic to andropogon grass. *Bragantia*. 77 (2). <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2017258>

- Rodríguez-Grimaldo, J., González, G., y Montoya, A. 2023. *Fusarium*: un fitopatógeno que amenaza la salud humana. *Revista CienciaUANL*. 25 (114): 37-43. <https://doi.org/10.29105/cienciauanl25.114-1>
- Rodríguez, S., Ávalos, P., Gómez, J., Zapata, C. y Caballero, M. 2017. La borrachera de la *Morchella*. *Semergen*. 43.
- Rúa-Giraldo, A. 2023. Taxonomía de los hongos: un rompecabezas al que le faltan muchas piezas. *Revista biomédica*. 43 (1): 288-311.
- Ruan-Soto, F. 2018. Intoxicaciones por consumo de hongos silvestres entre los tsotsiles de Chamula, Chiapas, México. *Sociedad y Ambiente*. (17): 7–31. <https://doi.org/10.31840/sya.v0i17.1838>
- Ruan-soto, F., Cifuentes, J., Pérez-Ramírez, L., Ordaz-Velázquez, M. y Caballero, J. 2021. Hongos macroscópicos de interés cultural en los Altos de Chiapas y la selva Lacandona, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 92. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2021.92.3525>.
- Ruan-soto, F. y Ordaz-Velázquez, M. 2015. Aproximaciones a la etnomicología Maya. *Revista pueblos y fronteras digital*. 10 (20): 44-69. <https://doi.org/10.22201/cimsur.18704115e.2015.20.32>
- Ruiz-González, L. 2014. Evaluación de la toxicidad de algunos Basidiomycetes del estado de Jalisco sobre *Artemia franciscana*. Tesis de maestría. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco.
- Ruiz-González, L., Vázquez-Zea, J., Vega-Villasante, F., Guzmán-Dávalos, L. y Guerrero-Galván, S. 2017. Evaluación del efecto tóxico de hongos Basidiomycota en la eclosión de quistes de *Artemia franciscana*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 34 (4): 220–224. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2017.03.007>.
- Sanyal, A. y Decocq, G. 2016. Adaptive evolution of seed oil content in angiosperms: accounting for the global patterns of seed oils. *BMC Evol Biol*. 16 (187). <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0752-7>
- Secretaría de Hacienda. S.d. Programa regional de desarrollo. Región V Altos Tsotsil-Tseltal. <http://www.haciendachiapas.gob.mx/planeacion/informacion/programa-regional/prog-regionales/ALTOS.pdf>. Consultado el 03 de septiembre del 2024.

- Sepúlveda, G., Porta, H. y Rocha-Sosa, M. 2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21 (3): 355-363.
- Sevindik, M., Bal, C., Baba, H., Akgül, H. y Zelandoglu, Z. 2019. Biological activity potentials of amanita species. Memoria del II Congreso Euroasiático Internacional de Micología. Konya, Turquía. Pp. 80-85.
- Shepard, G., Arora, D. y Lampman, A. 2008. The grace of the flood: classification and use of wild mushrooms among the highland maya of Chiapas. *Economic botany*. 62 (3): 437–470.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *bipolaris*, *curvularia*, *drechslera*, *exserohilum* and their teleomorphs. *Mycol*. 158: 1–261.
- Sowers, M. E., Ambrose, R., Bethea, E., Harmon, C., y Jenkins, D. 2022. Quantitative thin layer chromatography for the determination of medroxyprogesterone acetate using a smartphone and open-source image analysis. *Journal of Chromatography*. Doi: 10.1016/j.chroma.2022.462942.
- Srinivas, C., Devi, D., Murthy, K., Mohan, C., Lakshmeesha, T., Singh, B., Naveen, S., Niranjana, A., Alqarawi, A., Tabassum, B., Elsayed, A., Chandra, N. y Srivastava, R. 2019. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26 (7): 1315–1324. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.002>.
- Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M. 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*. 14 (6): 2167–2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>.
- Štefániková, J., Martišová, P., Šnirc, M., Kunca, V. y Árvay, J. 2021. The Effect of *Amanita rubescens* Pers Developmental Stages on Aroma Profile. *J Fungi (Basel)*. 7 (8): 611.
- Stintzing, F. y Schliemann, W. 2007. Pigments of Fly Agaric (*Amanita muscaria*). *Zeitschrift für Naturforschung*. 62 (11-12): 779–785. <https://doi.org/10.1515/znc-2007-11-1201>.

- Swamy, M., Arumugam, G., Kaur, R., Ghasemzadeh, A., Mazina, Y. and Uma, R. 2017. GC-MS Based Metabolite Profiling, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Different Solvent Extracts of Malaysian *Plectranthus amboinicus* Leaves. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. doi.org/10.1155/2017/1517683.
- Tapan, E., Süfer, Ö., Taşkin, H., Assyov, B. and Bozok, F. 2024. Antioxidant Activities of Some Edible and Poisonous *Amanita* Species from Türkiye. *Biology Bulletin*. 51 (6): 1662–1670. <https://doi.org/10.1134/s1062359023603105>.
- Trinidad-Ángel, E., Ascencio-Valle, F., Ulloa, J., Ramírez-Ramírez, J., Ragazzo-Sánchez, J., Calderón-Santoyo, M., y Bautista-Rosales, P. 2017. Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. Causante de antracnosis en aguacate Nayarit, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 8(19): 3953-3964.
- Tunçel, G., Nout, M. and Brimer, L. 1995. The effects of grinding, soaking and cooking on the degradation of amygdalin of bitter apricot seeds. *Food Chemistry*. 53 (4): 447–451. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)99841-m](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)99841-m).
- Van-Dijck, P., Jelmer, S., Cammue, B., Lagrou, K., Berman, J., d'Enfert, C., Andes, D.R., Arendrup, M.C., Brakhage, A.A., Calderone, R., Cantón, E., Coenye, T., Cos, P., Cowen, L.E., Edgerton, M., Espinel-Ingroff, A., Filler, S.G., Mahmoud, G., Gow, N., Haas, H., Jabra-Rizk MA, Johnson EM, Lockhart SR, Lopez-Ribot JL, Maertens J, Munro CA, Nett JE, Nobile CJ, Pfaller MA, Ramage G, Sanglard D, Sanguinetti M, Spriet I, Verweij PE, Warris A, Wauters J, Yeaman MR, Zaat SAJ, Thevissen K. 2018. Methodologies for in vitro and in vivo evaluation of efficacy of antifungal and antibiofilm agents and surface coatings against fungal biofilms. *Microbial Cell*. 5 (7): 300–326. <https://doi.org/10.15698/mic2018.07.638>.
- Vargas, N., Bernal, A., Sarria, V., Franco-Molano, A. y Restrepo, S. 2011. Amatoxin and phalloxin composition in species of the genus *Amanita* in Colombia: A taxonomic perspective. *Toxicon*. 58 (6-7): 583-590.
- Ventura-Lima, C. 2023. Estudio fitoquímico estacional de la resina de *Bursera bipinnata* (Moc. & Sessé ex DC.) Engl. (Burseraceae Kunth.). Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, México.

- Vinayagam, V., Thirugnanasambandam, A., Ragupathy, S., Sneha, R. y Newmaster, S. 2025. Optimization of Extraction Methods for NMR and LC-MS Metabolite Fingerprint Profiling of Botanical Ingredients in Food and Natural Health Products (NHPs). *Molecules*. 30 (16): 3379. doi: 10.3390/molecules30163379.
- Wijayawardene, N., Hyde, K., Mikhailov, K., Gábor, P., Aptroot, C., Goto, B., Tokarev, Y., Haelewaters, D., Karunarathna, S.C., Kirk, P., Santiago, A., Saxena, R., Schoutteten, N., Wimalasena, M., Aleoshin, V., Abdullah, Kahandawa G., Ariyawansa, A., Assunção, A., Bamunuarachchige, T., Baral, H., Bhat, D., Blaszkowski, J., Boekhout, T. y Karpov, S. 2024. Classes and phyla of the kingdom Fungi. *Fungal Diversity*. 128 (1): 1–165. <https://doi.org/10.1007/s13225-024-00540-z>.
- Yamane, H., Konno, K., Sabelis, M., Takabayashi, J., Sassa, T. y Hideaki Oikawa. 2010. Chemical Defence and Toxins of Plants. *Chemistry, Molecular Science and Chemical Engineering*. Volumen 4. 339–385 pp. <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00099-X>.
- Yoganathan, S. y Vederas, J. 2010. Nonprotein I-Amino Acids. *Chemistry, Molecular Science and Chemical Engineering*. Volumen 5. 5–70 pp. <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00111-8>
- Zhang, L., Yan, K., Zhang, Y., Huang, R., Bian, J., Zheng, C., Sun, H., Chen, Z., Sun, N., An, R., Min, F., Zhao, W., Zhuo, Y., You, J., Song, Y., Yu, Z., Liu, Z., Yang, K., Gao, H., Dai, H., Zhang, X., Wang, J., Fu, C., Pei, G., Liu, J., Zhang, S., Goodfellow, M., Jiang, Y., Kuai, J., Zhou, G., Chen, X. 2007. High-throughput synergy screening identifies microbial metabolites as combination agents for the treatment of fungal infections. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104 (11):4606-11. doi: 10.1073/pnas.0609370104.
- Zhao, J., Wang, Z., Jiao, R., Wan, Q., Wang, L., Li, L., Yang, Y. y Munir, S. 2024. P-hydroxybenzoic acid positively affect the *Fusarium oxysporum* to stimulate root rot in *Panax notoginseng*. *J Ginseng Res*. 48 (2): 229-235. doi: 10.1016/j.jgr.2023.11.005.
- Zhou, X., Wang, J., Wang, W., Tsui, C. y Cai, L. 2020. Changes in Bacterial and Fungal Microbiomes Associated with Tomatoes of Healthy and Infected by *Fusarium*

oxysporum f. sp. *lycopersici*. *Microbial Ecology*. 81 (4): 1004–1017.
<https://doi.org/10.1007/s00248-020-01535-4>.

Zillinsky, F. 1983. Common diseases of small grain cereals: a guide to identification. CIMMYT, Mexico. 141 pp.