



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO  
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATORIO EN GENÉTICA Y ECOFISIOLOGÍA



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN  
DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* Y  
*Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE  
INMUNOESTIMULACIÓN EN  
*Oreochromis niloticus***

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A:

**DANIELA LÓPEZ GARCÍA  
(D.L.G)**

**DIRECTORES DE TESIS:**

LENIN ARIAS RODRIGUEZ  
DRA. SILVIA CAPPELLO GARCÍA

CIUDAD DE VILLAHERMOSA, TABASCO A OCTUBRE DEL 2024.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**LABORATORIO EN GENÉTICA Y ECOFISIOLOGÍA**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA  
EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE  
*Ganoderma multipileum* Y *Pycnoporus sanguineus*  
PARA PRUEBAS DE  
INMUNOESTIMULACIÓN EN  
*Oreochromis niloticus***

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

**EST. LIC. EN BIOL. DANIELA LÓPEZ GARCÍA  
(D.L.G)**

**DIRECTORES DE TESIS:**

LENIN ARIAS RODRIGUEZ  
DRA. SILVIA CAPPELLO GARCÍA

**CIUDAD DE VILLAHERMOSA, TABASCO A OCTUBRE DEL 2024.**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, Tabasco, el día 07 del mes de octubre del año 2024, el que suscribe **Daniela López García** alumna del Programa de **Biología** con número de matrícula **182G22014** adscrito a la **División Académica de Ciencias Biológicas** de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la **Tesis** presentada para la obtención del título de **Licenciatura en Biología** y titulada “**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* y *Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE INMUNOESTIMULACIÓN EN *Oreochromis niloticus***” dirigido por el **Dr. Lenin Arias Rodríguez** y la **Dra. Silvia Cappello García**.

### DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente

Villahermosa, Tabasco a 07 de octubre 2024.



---

Daniela López García



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**2024**  
**Felipe Carrillo**  
**PUERTO**  
GOBIERNO DEL ESTADO DE TABASCO  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN  
MEXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

Villahermosa, Tab., a 04 de Octubre de 2024

**ASUNTO:** Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON**  
**JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION**  
**DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. DANIELA LÓPEZ GARCÍA** egresada de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: "**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* Y *Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE INMUNOESTIMULACIÓN EN *Oreochromis niloticus***".

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E

**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADEMICA**  
**DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**U.J.A.T.**  
**DIVISIÓN ACADÉMICA**  
**DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**DIRECCIÓN**

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica  
C.c.p.- Interesado



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE



2024  
Felipe Carrillo  
PUERTO  
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

OCTUBRE 04 DE 2024

**C. DANIELA LÓPEZ GARCÍA**  
**PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA**  
**PRESENTE**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* Y *Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE INMUNOESTIMULACIÓN EN *Oreochromis niloticus*"**, asesorado por Dr. Lenin Arias Rodríguez y Dra. Silvia Cappello García, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. Magdiel Torres de la Cruz, MCA. Alejandro Mcdonal Vera, Dr. Lenin Arias Rodríguez, Dr. José Edmundo Rosique Gil y MCA. Ma. Guadalupe Rivas Acuña.

**ATENTAMENTE**  
**ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

  
**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR**

U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



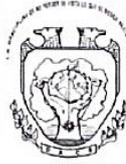
DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.  
Archivo.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**2024**  
**Felipe Carrillo  
PUERTO**  
GOBIERNO DE  
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

04 de octubre de 2024

**C. Daniela López García**  
Pasante de la Lic. en Biología  
**PRESENTE**

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (Tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su documento de tesis "ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* y *Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE INMUNOESTIMULACIÓN EN *Oreochromis niloticus*".

OBSERVACIONES:

Se incluyó citas, se excluyeron bibliografía y fuentes pequeñas (o palabras), y se limitó el tamaño de coincidencias a 16 palabras.

<b>RESULTADO DE SIMILITUD</b>	<b>4 %</b>
	<b>12725 palabras, 15 coincidencias y 14 fuentes</b>

Finalmente, se le solicita a la **C. Daniela López García**, integrar en la versión final del trabajo recepcional (Tesis), este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
DIRECTOR



C.c.p. Dr. Lenin Arias Rodriguez. Director de trabajo recepcional.  
C.c.p. Dra. Silvia Cappello García.  
C.c.p. Archivo



KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA  
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx

# ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* y *Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE INMUNOESTIMULACIÓN EN *Oreochromis niloticus*

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

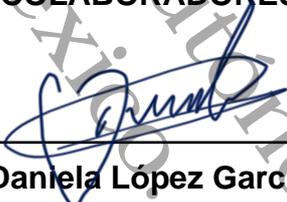
1	<a href="https://justmel.blog.rendez-vous.be">justmel.blog.rendez-vous.be</a> Internet	54 palabras — 1%
2	<a href="https://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet	50 palabras — < 1%
3	<a href="https://repositorio.unicach.mx">repositorio.unicach.mx</a> Internet	31 palabras — < 1%
4	<a href="https://www.revista.unam.mx">www.revista.unam.mx</a> Internet	29 palabras — < 1%
5	<a href="https://ijsoc.goacademica.com">ijsoc.goacademica.com</a> Internet	28 palabras — < 1%
6	<a href="https://bioresources.cnr.ncsu.edu">bioresources.cnr.ncsu.edu</a> Internet	25 palabras — < 1%
7	Silva, Ana Rita Marques. "Avaliação do Potencial Nutracêutico do Bagaço de Azeitona em Dietas Para Cães", Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (Portugal), 2024 ProQuest	23 palabras — < 1%
8	<a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov">pubmed.ncbi.nlm.nih.gov</a> Internet	21 palabras — < 1%
9	<a href="https://revistas.ucr.ac.cr">revistas.ucr.ac.cr</a> Internet	21 palabras — < 1%
10	Francisco Pozo Miranda. "Exploration of Virulence Factors in <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> in <i>Penaeus Vannamei</i> Shrimp: A Bibliometric Analysis", <i>Academic Journal of Interdisciplinary Studies</i> , 2024 Crossref	20 palabras — < 1%
11	<a href="https://cibnor.repositorioinstitucional.mx">cibnor.repositorioinstitucional.mx</a> Internet	20 palabras — < 1%
12	<a href="https://riaa.uaem.mx">riaa.uaem.mx</a> Internet	19 palabras — < 1%
13	<a href="https://m2.mtmt.hu">m2.mtmt.hu</a> Internet	17 palabras — < 1%
14	<a href="https://repositorio.puce.edu.ec">repositorio.puce.edu.ec</a> Internet	16 palabras — < 1%

## Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 07 de octubre 2024.

Por medio de la presente manifiesto haber colaborado como AUTOR(A) y/o AUTORES(RAS) en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXTRACCIÓN DE METABOLITOS DE *Ganoderma multipileum* y *Pycnoporus sanguineus* PARA PRUEBAS DE INMUNOESTIMULACIÓN EN *Oreochromis niloticus*”** Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

### COLABORADORES



---

Daniela López García



---

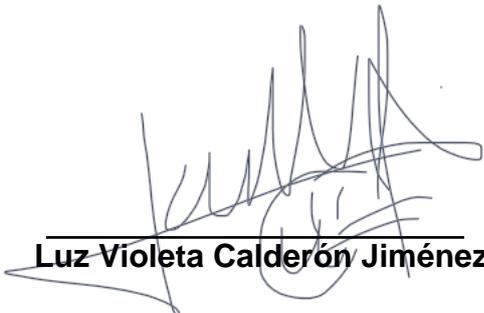
Dr. Lenin Arias Rodríguez  
Director



---

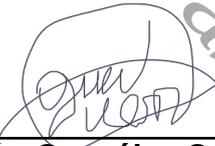
Dra. Silvia Cappello García  
Codirectora

### TESTIGOS



---

Luz Violeta Calderón Jiménez



---

Isidro Iván González González

## DEDICATORIA

*Con todo el amor, a mi madre*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis el Dr. Lenin, por alentarme cada vez a creer en mí y alcanzar mis metas, por ser una principal fuente de inspiración y admiración en cada aspecto de la Biología, tanto en la docencia como en la investigación, donde me contagié de su pasión por grupos biológicos diferentes a los hongos. Agradezco que me brindara su valioso tiempo, apoyo y paciencia en el desarrollo de esta investigación, a través de la cual, contribuyó fundamentalmente a mi formación académica y profesional.

A mi madre Rafaela, por todo lo que soy y todo lo que seré, por ser mi refugio y principal motivación para continuar cada día a pesar de los obstáculos, todos sus esfuerzos y sacrificios han sido reconocidos.

A mi padre, por su cariño y guía. También agradezco a mi hermano Rafael, por ser como un padre para mí, por su confianza, que al igual que mi hermana Blanca me ha dado su apoyo y amor sin medidas, siempre motivándome y cuidando de mí.

A mi querido Pedro, mi gran amigo y compañero, por su cariño, paciencia y soporte en esta etapa de mi vida.

A mis incondicionales amigos Lizbeth, Nicole y Rubén, por acompañarme con una sonrisa, siempre presentes aún en la distancia.

A mis compañeros y amigos del Herbario y el Laboratorio en Genética y Ecofisiología.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

*Los sentidos perciben en la naturaleza a través del velo del alma*

Edgar Allan Poe

# CONTENIDOS

ÍNDICE	PÁG.
<b>I.- INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II.- ANTECEDENTES</b> .....	4
2.1.- El Reino Fungi o el de los Hongos.....	4
2.1.1.- Propiedades Inmunoestimulantes de los Hongos.....	7
2.1.2.- Biología de los Hongos del Género <i>Ganoderma</i> .....	8
2.1.3.- Biología de los Hongos del Género <i>Pycnoporus</i> .....	11
2.2.- Los Peces y Cíclidos.....	13
2.2.1.- Biología de la Tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> .....	14
2.2.2.- La Inmunoestimulación en los Peces del Género <i>Oreochromis</i> .....	16
2.3.- El Sistema Inmunológico en Vertebrados.....	17
2.3.1.- La Inmunidad en los Peces.....	17
<b>III.- JUSTIFICACIÓN</b> .....	18
<b>IV.-OBJETIVOS</b> .....	19
4.1.- Objetivo General.....	19
4.2.- Objetivos Específicos.....	19
<b>V.-MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
5.1.- Aprobación Bioética, Origen de los Especímenes de Hongos y Conservación	20
5.2.- Origen de los Especímenes de Tilapia <i>O. niloticus</i> .....	22
5.3.- Procedimiento para la Extracción de Metabolitos y Conservación.....	22
5.4.- Determinación de la Concentración Espectrofotométrica de Metabolitos...	24
5.5.- Bioensayos de los Extractos Fúngicos en <i>O. niloticus</i> y Frotis Sanguíneo...	24
5.6.- Análisis de los Frotis Sanguíneos por Microscopia Óptica de Alta Resolución.....	26
5.7.- Plataformas de Datos y Análisis Estadísticos.....	29
<b>VI.- RESULTADOS</b> .....	30
<b>VII.- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b> .....	42
<b>VIII.- LITERATURA CITADA</b> .....	46

<b>Fig. 1.</b>	Diversidad de macrohongos tropicales del Sureste mexicano en el municipio del Centro Tabasco, México; como ejemplo se muestran a <i>U. maydis</i> (A); hongo Agarical (B); <i>Trametes sp.</i> creciendo sobre un tronco en descomposición de <i>Delonix regia</i> (C). Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.....	3
<b>Fig. 2.</b>	Bioproductos elaborados a base de hongos como el Bioinsecticida METARRIZIN® con el hongo entomopatógeno <i>Metarhizium anisopliae</i> como ingrediente activo (A) y los extractos fúngicos de <i>G. lucidum</i> como suplemento alimenticio (B). Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.....	6
<b>Fig. 3.</b>	Espécimen adulto representativo de un basidioma maduro o cuerpo fructífero del hongo chocolate <i>G. multipileum</i> . Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.....	10
<b>Fig. 4.</b>	Espécimen adulto característico de un basidioma maduro o cuerpo fructífero del hongo colorado <i>P. sanguineus</i> . Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.....	12
<b>Fig. 5.</b>	Espécimen adulto macho, representativo de la mojarra tilapia <i>O. niloticus</i> . Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.....	15
<b>Fig. 6.</b>	Ejemplares del hongo <i>P. sanguineus</i> colectados en la reserva biológica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco en la División Académica de Ciencias Biológicas en el municipio de Centro Tabasco, México. Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.....	21
<b>Fig. 7.</b>	Elaboración de los extractos fúngicos de los hongos poliporales <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> , pesaje de biomasa fúngica (A) y medición de solventes (B); Aspecto de los extractos de los hongos poliporales <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> (C). Imágenes o tomas fotográficas originales por el autor: D.L.G.....	23
<b>Fig. 8.</b>	En el marcaje de los especímenes de la Tilapia <i>O. niloticus</i> , la numeración se estableció de acuerdo con el orden de las espinas	

	dorsales, por ejemplo, la espina dorsal <b>I</b> , fue correspondiente al espécimen número 1 y así sucesivamente hasta la espina <b>XII</b> . Imagen o toma fotográfica original por el auto: D.L.G.....	26
<b>Fig. 9.</b>	Microfotografía de alta resolución que muestra el panorama típico de las células hematopoyéticas de un espécimen adulto de la mojarra tilapia <i>O. niloticus</i> . Flechas con líneas continua, muestran las células eritrocitarias típicas y las flechas con líneas discontinuas las leucocitarias. Microfotografía a 10X+1.25X del optovar original por el autor: D.L.G.....	32
<b>Fig. 10.</b>	Microfotografías de alta resolución que muestran el panorama de las células hematopoyéticas de un espécimen adulto de la mojarra tilapia <i>O. niloticus</i> , antes (A) y (B) 24 horas después del tratamiento con extractos de <i>G. multipileum</i> . Las flechas con líneas continuas muestran las células eritrocitarias típicas y las flechas con líneas discontinuas, las leucocitarias. Microfotografías a 40X+1.25X originales por el autor: D.L.G.....	33
<b>Fig. 11.</b>	Microfotografías de alta resolución que muestran el panorama de las células hematopoyéticas de un espécimen adulto de la mojarra tilapia <i>O. niloticus</i> , antes (A) y (B) 24 horas después del tratamiento con extractos de <i>P. sanguineus</i> . Las flechas con líneas continuas muestran las células eritrocitarias típicas y las flechas con líneas discontinuas, las leucocitarias. Microfotografías a 40X+1.25X del optovar originales por el autor: D.L.G.....	34
<b>Fig. 12.</b>	Análisis comparativo de los porcentajes leucocitarios promedio, en doce especímenes adultos de <i>O. niloticus</i> previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo <i>G. multipileum</i> . Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.....	35
<b>Fig. 13.</b>	Análisis comparativo de los porcentajes eritrocitarios promedio, en doce especímenes adultos de <i>O. niloticus</i> previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo <i>G. multipileum</i> . Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que	36

	no existen diferencias significativas con valor de $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.....	
<b>Fig. 14.</b>	Análisis comparativo de los porcentajes leucocitarios promedio, en doce especímenes adultos de <i>O. niloticus</i> previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo <i>P. sanguineus</i> . Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.....	37
<b>Fig. 15.</b>	Análisis comparativo de los porcentajes eritrocitarios promedio, en doce especímenes adultos de <i>O. niloticus</i> previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo <i>P. sanguineus</i> . Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.....	38
<b>Fig. 16.</b>	Análisis comparativo de los porcentajes leucocitarios promedio, en doce especímenes adultos de <i>O. niloticus</i> posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo <i>P. sanguineus</i> y <i>G. multipileum</i> . Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.....	39

<b>CONTENIDO DE TABLAS</b>	<b>PÁG.</b>
----------------------------	-------------

<b>Tabla 1.</b>	Resultados en miligramos de metabolitos extraídos/gramo de biomasa a partir del empleo de cinco solventes en <i>G. multipileum</i> y <i>P. sanguineus</i> .....	29
-----------------	---	----

## I.- INTRODUCCIÓN

Se estima que existen alrededor de 3.5 a 5.1 millones de especies de hongos en el mundo, de las cuales se han descrito cerca de 97, 861, México posee el 6% a nivel mundial, con 4, 500 especies macroscópicas y 2, 000 de microscópicas registradas (Aguirre *et al.* 2014; Guzmán, 1995) (**Fig. 1**). Los macrohongos o también llamados macromicetos, se caracterizan por la capacidad micelial de formar cuerpos fructíferos notables, estructuras que constituyen la parte fértil del hongo y se encuentran clasificados en Ascomicetos y Basidiomicetos. Lo anterior, principalmente por la organización de las esporas en esporangios, las estructuras denominadas ascas que contienen ascosporas o basidios que contienen basidiosporas en el caso de los basidiomicetos (Quiroga y Supelano, 2019; Souza and Rocha, 2017).

La biomasa o cuerpo fructífero de los hongos, así como sus bioproductos han sido consumidos por la humanidad a lo largo de su historia evolutiva y el registro de su uso en distintas civilizaciones han aportado conocimientos acerca de sus propiedades nutraceuticas y terapéuticas (Dubovoy, 1968). Se estima que el inicio de su ingesta data a la época primitiva, donde compuestos psicoactivos como la psilocibina de hongos alucinógenos pudieron actuar como promotores en el desarrollo neurocognoscitivo de los homínidos (Rodríguez and Winkelman, 2021).

En el mundo, México representa uno de los países con mayor diversidad biológica y patrimonio biocultural, en el que, han habitado civilizaciones conocidas localmente como mesoamericanas (Aguirre *et al.* 2014). Tales culturas, han convivido a lo largo de su historia con la gran biodiversidad que alberga el territorio mexicano y en las cuales fueron observando y experimentando con las propiedades de distintas especies generando un cúmulo de conocimientos, que les han permitido utilizarlos para satisfacer necesidades como la alimentación, el vestido y la salud (Ruan-Soto y Ordaz-Velázquez, 2015).

Tal es el caso de los hongos, en las prácticas de medicina tradicional que actualmente continúan siendo muy importantes en diferentes grupos étnicos del país, un ejemplo de ello incide en los pueblos nativos nahuatlacas, al consumir Teonanácatl “carne de Dios” refiriéndose al hongo alucinógeno *Psilocybe mexicana* (CONABIO, 2020; Dubovoy, 1968; Velázquez, 2005). Entre las más de 70 especies, de hongos usadas a lo largo del territorio mexicano se encuentran algunos ascomicetos como *Daldinia concentrica*, *D. eschscholzii*, *Elaphomyces granulatus*, *E. reticulatus*, *Hypomyces lactifluorum* y otros tantos

basidiomicetos como *Ustilago maydis*, *Ganoderma multipileum*, *Clavicornia pyxidata*, *Clavulina cinerea*, *Pycnoporus sanguineus*, *Schizophyllum commune*, *Thelephora cervicornis*, *Trametes versicolor*, *Lactarius deliciosus*, *L. indigo*, *Lentinus crinitus*, *Pleurotus albidus*, *P. djamor* y *P. zapotecorum*. Además de varias especies del género *Amanita* y órdenes, como Auriculariales, Boletales y Tremellales, que se utilizan para tratar más de 40 tipos de enfermedades o problemas de salud, como ansiedad, asma, resfriados, conjuntivitis, diarrea, epilepsia, dolor de cabeza, indigestión, inflamación, dolores intestinales, úlceras, parásitos, reumatismo, erisipela, laxantes, etcétera (Bautista-González, 2013; García *et al.* 2020; Guzmán, 2008). Sin embargo, a pesar de la popularidad del Reino Fungi entre ciertas comunidades, aún son muy pocos los estudios científicos relacionados con las propiedades medicinales, puesto que la diversidad existente rebasa los registros actuales (Aguirre *et al.* 2014). En dicho sentido, el empleo de las propiedades de los hongos nativos del sureste mexicano, han sido el foco de muy pocos estudios, principalmente por la falta de interés en desarrollar metodologías de laboratorio que permitan la obtención de componentes bioquímicos de las hifas y cuerpo fructífero para el caso de los hongos macroscópicos; que de acuerdo con los estudios de Cappello-García *et al.* (2023), son muy diversos y abundantes en el territorio Tabasqueño. Así también, la carencia de modelos biológicos animales, para la puesta en marcha de experimentos “*in vivo*” que den la posibilidad de estudiar y evaluar el empleo de los extractos fúngicos; con énfasis en su utilidad alimenticia, antibiótica, antiviral e inmunoestimulante. Por lo anterior, en el presente estudio, se evaluó por primera ocasión la capacidad de extracción de metabolitos a partir de biomasa de *G. multipileum* y *P. sanguineus*, demostrando “*in vivo*” sus efectos inmunoestimulantes en especímenes adultos de la mojarra tilapia *O. niloticus*.



**Fig. 1.** Diversidad de macrohongos tropicales del Sureste mexicano en el municipio del Centro Tabasco, México; como ejemplo se muestran a *U. maydis* (A); hongo Agarical (B); *Trametes* sp. creciendo sobre un tronco en descomposición de *Delonix regia* (C). Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.

## II.- ANTECEDENTES

### 2.1.- El Reino Fungi o el de los Hongos

El Reino Fungi o el de los hongos, se caracteriza por la variada complejidad biológica estructural y taxonómica que muestran los especímenes del grupo, lo que ha dificultado su estudio (Rúa-Giraldo, 2023). Los hongos, pueden ser unicelulares como las levaduras o multicelulares como las hifas, unidades fundamentales de los hongos filamentosos. Al conjunto de hifas se les denomina micelio y su agrupamiento forma la colonia del hongo. Se reproducen de forma sexuada y asexuada. Además, pueden producir estructuras reproductivas denominadas esporas y conidios (Herrera y Ulloa, 2013). Son considerados aeróbicos estrictos o anaeróbicos facultativos y heterótrofos, porque dependen de la materia orgánica sintetizada por otros organismos ricos en energía como los hidratos de carbono, lípidos y grasas (Cepero *et al.* 2012). Las condiciones para su desarrollo se basan en variables fisicoquímicas como humedad, temperatura, altitud, luz, aireación, pH, iones de nitrógeno, hidratos de carbono, etc. Cada especie, tiene requerimientos específicos, con nichos ecológicos independientes y una maquinaria enzimática que les brinda la capacidad de vivir en diferentes ambientes (Cepero *et al.* 2012; Herrera y Ulloa, 2013; Prats, 2005).

El metabolismo de los hongos, puede clasificarse en dos amplias categorías: primario y secundario, que, si bien no existe una verdadera divergencia entre ambos, son catalogados de acuerdo con la función de los compuestos resultantes a lo largo de su vida. Los metabolitos primarios, son esenciales para la existencia misma del hongo, siendo muy importantes para las funciones y crecimiento. Algunos de estos productos y enzimas, son exclusivas del Reino Fungi; mientras otra gran mayoría son comunes en otros organismos como bacterias y plantas (Lustre, 2022).

El metabolismo secundario, corresponde a la biosíntesis de compuestos orgánicos, que pueden ser secretados al medio en altas cantidades y aunque no son imprescindibles para la vida del hongo como los primarios, sí juegan un papel importante en la adaptación al estrés ambiental, en la defensa frente a potenciales predadores y patógenos. Además de proporcionarles características fecundativas o de estética; tienden a ser específicos de algunos géneros, especies o aislamientos (Cepero *et al.* 2012). Así, también en años recientes, se ha reportado la presencia de metabolitos intermediarios (que se forman en las diferentes vías del metabolismo primario) ya que se procesan por rutas enzimáticas

diferentes, codificadas por genes específicos y se producen al final de la fase de crecimiento o cuando el crecimiento es limitado por el sustrato (Cepero *et al.* 2012). Algunos ejemplos conocidos van desde antibióticos, pigmentos, toxinas, efectores de competencia ecológicos, de simbiosis, feromonas, inhibidores de enzimas, agentes inmunomoduladores, receptores antagonistas y agonistas, pesticidas, agentes antitumorales, hasta promotores del crecimiento animal y vegetal (Shmuel, 2022) (**Fig. 2**).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



**Fig. 2.** Bioproductos elaborados a base de hongos como el Bioinsecticida METARRIZIN® con el hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* como ingrediente activo (A) y los extractos fúngicos de *G. lucidum* como suplemento alimenticio (B). Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.

### 2.1.1.- Propiedades Inmunoestimulantes de los Hongos

Actualmente se usan alrededor de 300 metabolitos secundarios de origen fúngico, con actividad terapéutica aparente en diversas industrias (Ruan-Soto y Ordaz-Velázquez, 2015), como proteínas, aminoácidos, lectinas, terpenos y otros que estimulan el sistema inmunológico (Ruiz-González *et al.* 2018).

En vertebrados, el sistema inmune funciona como un método de protección ante microorganismos infecciosos del medio y tanto en mamíferos como en peces, se conforma por dos tipos de respuestas que actúan simultáneamente; la primera en accionarse es la innata y la segunda es la adaptativa, aunque inicialmente es un poco tardía, puede estimularse para un mayor efecto de reconocimiento y defensa (Olabuenaga, 2000). Entre las especies de hongos empleadas como inmunoestimulantes, se encuentran los macroscópicos y microscópicos, ambos usados en la industria alimentaria como productos o subproductos. Siendo algunos de los más populares en la última década, los derivados en probióticos, prebióticos y simbióticos para la prevención y control de enfermedades en peces y otros grupos biológicos (López y Torres, 2022).

Entre los estudios más recientes, se encuentran el realizado por Licona (2022), que analizó la respuesta inmunoestimulante en el camarón blanco *Penaeus vannamei* con las levaduras marinas *Yarrowia lipolytica* y *Debaryomyces hansenii*. Además, evaluó la protección contra la bacteria *Vibrio parahaemolyticus* conferida por ambos microhongos marinos, encontrando que promueven la expresión de genes inmunes y de actividad antibacteriana. Por otro lado, Medina (2018), usando *D. hansenii* como agente biocontrolador de hongos patógenos del maíz, demostró funciones inmunomoduladoras en leucocitos de sangre periférica de caprinos, potenciándolo como probiótico.

Mientras tanto, un ejemplo de prebiótico muy conocido y usado son los  $\beta$ -glucanos, polisacáridos presentes en gran cantidad en la pared celular del micelio y cuerpo fructífero de los hongos que, disponen de propiedades inmunoestimulantes, antitumorales, antivirales y anti angiogénicas en muchos grupos biológicos, cualidades que varían al depender de su composición química y origen, así como del método de extracción del compuesto (Akramiene *et al.* 2007). En el estudio realizado en *Pleurotus ostreatus* por Dewi y Mukti (2022), se reportó que el contenido de  $\beta$ -glucanos fue de dos tercios del peso total del hongo ostra; a través de estudios sanguíneos e histopatológicos en *Mus musculus* hallaron que los organismos alimentados con nuggets del hongo tenían un incremento de linfocitos y

granulocitos en sangre y presentaban aumento de pulpa blanca, la cual es una zona germinal de linfocitos en el bazo, considerado un órgano inmunitario.

Otro compuesto presente significativamente en muchos hongos, son los fenoles, diferenciados por su potencial antioxidante al inducir el retraso del estrés oxidativo relacionado con el envejecimiento celular causante del deterioro del sistema inmunológico. Así mismo, Gonzales *et al.* (2021) corroboran tal actividad en un estudio de hongos consumidos tradicionalmente en el centro de México y muestra la divergencia entre concentraciones de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de estudios realizados anteriormente con las mismas especies, evidenciando que la concentración de los metabolitos sintetizados puede variar de acuerdo con las condiciones de crecimiento del hongo.

### 2.1.2.- Biología de los Hongos del Género *Ganoderma*

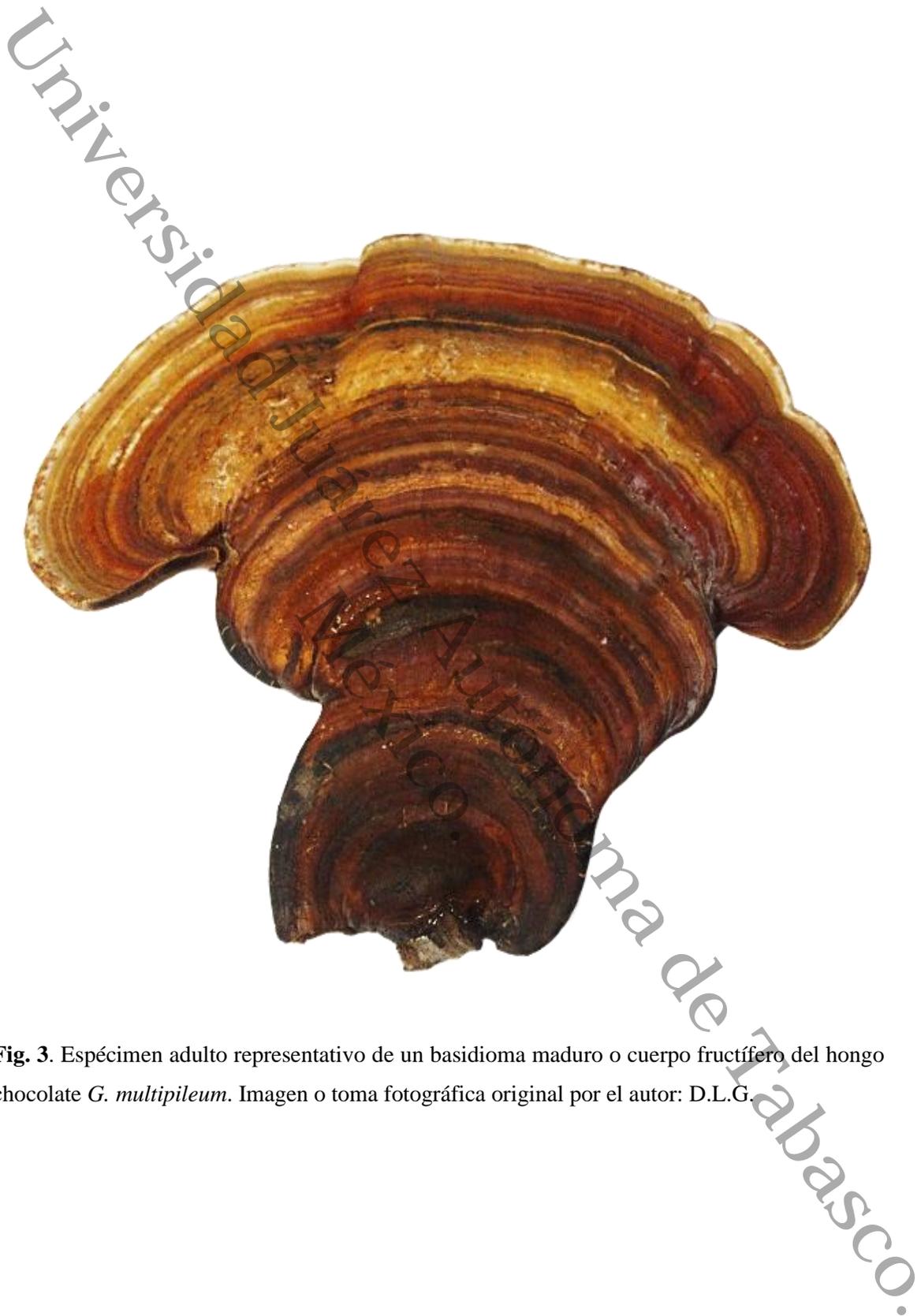
En el grupo de los poliporales, también se encuentra *Ganoderma*, un género de hongos degradadores de madera que se distribuye alrededor de todo el mundo con casi 500 especies registradas (Index Fungorum, 2024). Son de gran interés para la investigación debido al amplio uso en varios países, con lo cual se ha logrado aislar cientos de metabolitos bioactivos (Baby *et al.* 2015). Entre ellos, se encuentran ácidos ganodéricos, triterpenoides y polisacáridos con propiedades medicinales que comparte con la especie *Pycnoporus sanguineus* según la transcripción de su genoma, como (Rohr *et al.* 2013; Trigos and Suárez, 2011).

El hongo chocolate *Ganoderma multipileum* (**Fig. 3**) es una especie de climas tropicales y subtropicales, ha sido reportado en muchas regiones del mundo. Sin embargo, se ha confundido erróneamente durante los últimos dos siglos con *Ganoderma lucidum* en Asia tropical (Dong-Mei *et al.* 2009; Nguyen *et al.* 2023).

A través de estudios morfológicos y moleculares, se ha establecido una filogenia basada en diversas características que identifican a ambas especies, *G. multipileum* presenta esporas ovoides y equinuladas, hifas esqueléticas de pared gruesa, basidioma sésil o estipitado, multipileado, con tonalidades que van de café rojizo a amarillo y contexto color crema con depósitos de resina (Cappello-García *et al.* 2023; Dong-Mei *et al.* 2009; Li-Wei *et al.* 2015; Nguyen *et al.* 2023). Recientemente, fue registrado en México en el estado de Tabasco (Cappello-García *et al.* 2023).

Actualmente aún no se han realizado estudios de inmunoestimulación con *G. multipileum*. Sin embargo, es de interés para aplicaciones medicinales, Kamal *et al.* (2023) analizaron nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) aisladas de extracto de *G. multipileum* y comprobaron su capacidad fungicida contra cepas de hongos filamentosos y bactericida contra las bacterias Gram positivas *Klesbsiella pneumonia* y *Staphylococcus aureus*, y contra las Gram negativas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Además, demostraron la hemocompatibilidad de las nanopartículas de ZnO con sangre humana al no ser tóxicas para células normales, pero sí fueron citotóxicas contra parásitos causantes de Leishmaniasis, una enfermedad infecciosa transmitida por moscas de arena. Por otra parte, Adongbede y Aduralere (2019), señalan la capacidad antitumoral de los metabolitos de diez especies de hongos silvestres, entre los que se encontraba *G. multipileum*, concluyeron que en los compuestos con polisacáridos con alto y bajo peso molecular, presentaban inhibición del crecimiento de células tumorales. Así mismo, otras especies del género *Ganoderma* han sido ampliamente usadas en la medicina tradicional. Estudios recientes, muestran que sus extractos funcionan como inductores de la autofagia en células cancerígenas gástricas, como sugieren Oliveira *et al.* (2014) en, los extractos fenólicos de *G. lucidum* que contiene ácido p-hidroxibenzoico. En contraste, Sung *et al.* (2012), obtuvieron extractos mediante agua caliente tratando biomasa de *Elfvíngia applanata* o también llamada *G. applanatum*; los cuales fueron empleados en sarcomas 180 de ratón; reduciéndose la cantidad de células tumorales con incremento significativo de la actividad inmunoestimulante.

En acuicultura *G. lucidum*, es una especie con potencial profiláctico mezclado en dietas para cultivos de animales; donde se busca incrementar el rendimiento y resistencia a enfermedades, mejorando la respuesta del sistema inmune, como demostraron Mohan *et al.* (2019) en la investigación con el langostino *Macrobrachium rosenbergii* contra *Aeromonas hydrophila*, en ello se les proporcionó una dieta suplementada con extracto de *G. lucidum*, el estudio resultó con aumento del peso, disminución de mortalidad de los ejemplares expuestos al patógeno, debido al incremento en el conteo total de fagocitos en la hemolinfa.



**Fig. 3.** Espécimen adulto representativo de un basidioma maduro o cuerpo fructífero del hongo chocolate *G. multipileum*. Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.

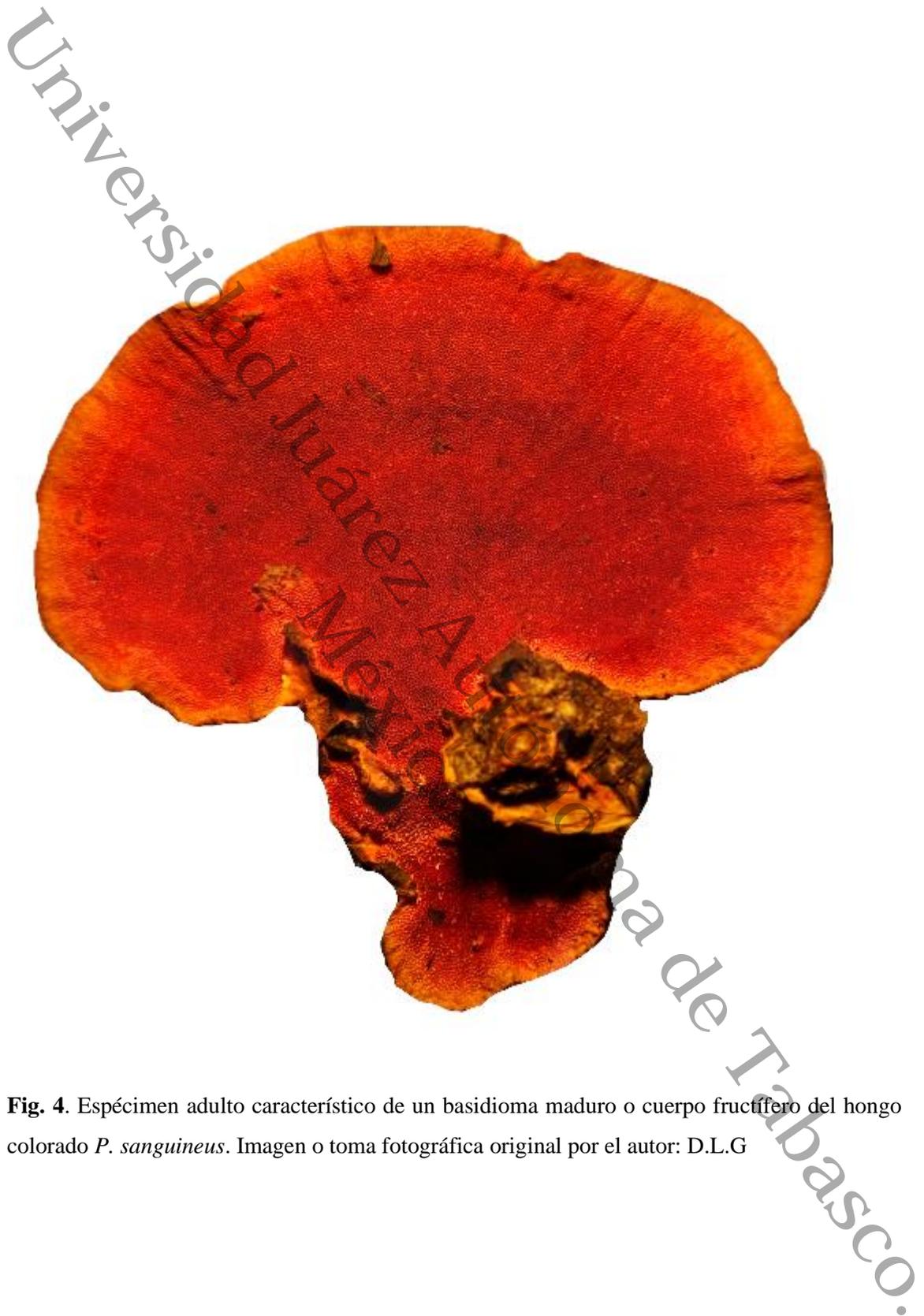
### 2.1.3.- Biología de los Hongos del Género *Pycnoporus*

Los hongos *Pycnoporus* son un género representativo de los homobasidiomicetos, que se dividen en cuatro especies: *P. sanguineus*, *P. cinnabarinus*, *P. coccineus* y *P. puccineus*. Son hongos saprobios que se encuentran comúnmente en madera en descomposición. Muchos poliporales, tienen potencial lignocelulítico y son tolerantes a la escasez de agua y altas temperaturas (Susan *et al.* 2021; Téllez-Téllez *et al.* 2016).

El hongo colorado o *P. sanguineus* (**Fig. 4**), es fácil de observar en zonas tropicales al igual que el resto de las especies del género en el sureste de México. Los cuerpos fructíferos o basidiomas se caracterizan por la coloración anaranjado brillante, debido a metabolitos derivados de la cinabarina (ácido cinabarínico y tramesanguina), que han sido de interés por que presentan capacidad de oxidación y degradación de compuestos de estructura molecular compleja (Eggert *et al.* 1996; Pineda-Insuasti *et al.* 2017). Además, se ha reportado que *P. sanguineus* posee compuestos fenólicos con capacidad antiinflamatoria, terpenos, para la biosíntesis del ácido clavárico antitumoral, sesquiterpenoides, triterpenoides y lanosterol; todos ellos precursores de esteroides y ácidos ganodéricos, que muestran actividad anticancerígena, antiviral y hepatoprotectora (Pineda-Insuasti *et al.* 2017; Rohr *et al.* 2013). Tales metabolitos, ofrecen panorama amplio para el desarrollo de tratamientos preventivos de diversas enfermedades (Bourdette *et al.* 2022; Rodríguez, 2020).

Existen variados estudios, de especies fúngicas con registros de potencial citotóxico y anticancerígeno (López *et al.* 2016). Aunque, aún es un campo poco explorado, es importante destacar que, si bien pueden no ser los metabolitos, los que actúan contra las células cancerígenas en todos los casos, pueden fomentar a las células del organismo a protegerse; en ello radica la importancia y estudio de la inmunoestimulación (De Marco *et al.* 2021).

En la investigación realizada por Boukes *et al.* (2017), evaluaron la citotoxicidad de 13 especies de macrohongos en cinco líneas celulares de cáncer; *P. sanguineus* fue una de las tres que presentaba mayores índices asociados a la apoptosis en las células cancerosas. Por otra parte, los extractos de *P. sanguineus* y *P. cinnabarinus* han sido igualmente estudiados por la inhibición del crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* y *Shigella flexneri*. Además de actuar como antifúngico contra cepas de *Trichoderma* spp., causantes de daños en cultivos de hongos comestibles (Acosta *et al.* 2012; Guadarrama *et al.* 2019; Talavera, *et al.* 2020).



**Fig. 4.** Espécimen adulto característico de un basidioma maduro o cuerpo fructífero del hongo colorado *P. sanguineus*. Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G

## 2.2.- Los Peces y Cíclidos

En acuerdo con registros paleontológicos, los primeros fósiles de vertebrados aluden a aproximadamente 450 millones de años, en la era Paleozoica durante el periodo Ordovícico-Silúrico con el primer grupo extinto de peces perteneciente a los Agnatos, los Ostracodermos, que a pesar de poseer exoesqueleto carecían de mandíbulas como todas las especies de esta clase, siendo así, precursores de organismos más evolucionados como son los peces mandibulados (Petrovický, 1994; Rísquez, 2023; Rubio-Godoy, 2010). La mandíbula, es una característica que les permitió alimentarse de otros organismos; así la presencia de vertebras y encefalización, les proporcionó mayor movilidad para desplazarse por diferentes ambientes; además del desarrollo de un riñón glomerular para mantener presión osmótica óptima en dependencia del tipo de ecosistema acuático, como los cuerpos de aguas dulceacuícolas o salobres (Díaz, 2022; Heredia, 1974).

Actualmente, el grupo más abundante que existe en los vertebrados es el de los peces; son organismos acuáticos que abarcan tres clases: Agnatos, Condrictios y Osteíctios, en estos últimos se encuentran los denominados peces verdaderos o teleósteos, que como su nombre lo indica, poseen huesos en lugar de cartílago, son ectotermos con respiración branquial, aletas y escamas (Espinosa-Pérez, 2014; Padilla y Cuesta, 2003). Su cuerpo alargado está cubierto por moco que sirve como una barrera externa que los protege del medio y evita que contaminantes o agentes patógenos se adhieran a ellos. El moco, es producido por células mucorales inmersas bajo la cutícula en la epidermis, a su vez, en la dermis se encuentran células pigmentarias, cromatóforos que, en conjunto con el sistema nervioso, cumplen la función de coloración en los peces, misma que puede cambiar de acuerdo con su estado anímico (Petrovický, 1994). El cuerpo hidrodinámico de los peces óseos, les permiten desplazarse por el agua con facilidad, están segmentados por radios, poseen una línea lateral con células denominadas neuromastos que actúan como receptores sensoriales hipersensibles a los cambios en las ondas de sonido, vibraciones y presión en el medio acuático (Miller, 2005). Además, en conjunto con su oído interno cumplen el rol de equilibrio, puesto que, dentro de sus cavidades auditivas contienen otolitos, estructuras particulares de cada especie formadas desde su nacimiento en capas de carbonato de calcio, facilitando a través de ellas, la determinación de la etapa de crecimiento de los organismos. Por otro lado, debido a la adherencia de metales pesados en los otolitos, han sido usados como herramientas para la detección de contaminantes en sistemas acuáticos (Petrovický, 1994; Villablanca, 2003; Volpedo y Vaz-dos-Santos, 2015). La Familia Cichlidae,

perteneciente a los peces Osteíctios, contiene alrededor de 2,000 especies clasificadas en 241 géneros que se distribuyen en aguas dulceacuícolas y salobres de África Oriental, Asia, Centroamérica, Norteamérica y Sudamérica. La morfología de los cíclidos o mojarras es muy diversa, lo cual se ha relacionado con la variedad de ecosistemas acuáticos que habitan, algunas especies son popularmente cultivadas con fines comerciales en todo el mundo como son las tilapias, para el sector alimenticio y de ornato (Angulo y Gil-León, 2022; Soria, 2009; Yong-Hwee *et al.* 2013).

### 2.2.1.- Biología de la Tilapia *Oreochromis niloticus*

La mojarra tilapia *O. niloticus* que pertenece a la Familia Cichlidae del Suborden Percoides, es una especie de pez teleósteo de agua dulce que es originaria del Noreste de África; es omnívora pues en condiciones silvestres; la alimentación de las tilapias varía desde fitoplancton, plantas acuáticas, detritos orgánicos, hasta pequeños peces (Angulo y Gil-León, 2022; FAO, 2023). Se distingue por tener cuerpo angosto con longitud de aproximadamente tres veces el tamaño de su cabeza, cubierto con escamas cicloideas. La especie, presenta dimorfismo sexual y el período de reproducción es amplio debido a que alcanza la madurez sexual en periodos cortos desde su nacimiento, de los 10-30 cm. de longitud. Para el nado, posee aletas pares ventrales y pectorales, en conjunto con tres aletas impares, la dorsal constituida de 18 a 28 espinas, la caudal que se encuentra redondeada con franjas oscuras regulares y la aleta anal (Angulo y Gil-León, 2022; FAO, 2023; Forouhar, 2021)(Fig. 5).

Su amplia adaptabilidad al medio, rápido crecimiento y resistencia a patógenos, son características que la han posicionado como la segunda especie de pez más cultivada a nivel mundial, el registro más antiguo de su aprovechamiento para consumo humano data de los años 2500 a. C. en Egipto y por su eficiencia, se replicó su cultivo extensivo e intensivo en otros países, tal es el caso de México, donde fue introducida en la década de los años 50's (Aguilar-Moreno y Aguilar-Aguilar, 2024; El-sayed, 2016; FAO, 2023). Sin embargo, a pesar de su importancia económica y científica, el manejo inadecuado de la especie la ha conducido a ser catalogada como invasora, perjudicial para la biodiversidad nativa en los ecosistemas acuáticos del territorio mexicano (Aguilar-Moreno y Aguilar-Aguilar, 2024; Amador-del Ángel y Wakida-Kusunoki, 2014; FAO, 2023).



**Fig. 5.** Especimen adulto macho, representativo de la mojarra tilapia *O. niloticus*. Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.

### 2.2.2.- La Inmunestimulación en los Peces del Género *Oreochromis*

En el cultivo de peces, uno de los desafíos es procurar el bienestar de los animales, dicha tarea es complicada; pues las estrategias de supervivencia implican usar áreas con mejores condiciones. Pero debido a los sistemas intensivos, se puede llegar a comprometer la salud de los organismos por la calidad del agua, hipoxia, estrés y enfermedades oportunistas que debilitan el sistema inmunológico. Las enfermedades son tratadas con antibióticos de uso prolongado, que podrían dar cabida a cepas de microorganismos resistentes (López y Torres, 2022; Rubio-Godoy, 2010).

Las especies del género *Oreochromis*, son conocidas por ser aparentemente muy resistentes a condiciones desfavorables de la calidad del agua y a pesar de eso, desde hace más de una década los acuicultores han enfrentado pérdidas económicas por enfermedades como el parvovirus de la tilapia; enfermedad emergente muy contagiosa o la estreptocosis, ocasionada por bacterias Gram positivas; de las que se han identificado *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus iniae*, patógenos con factores de virulencia que les permiten la evasión del sistema inmune de su hospedero. Por ello, el desarrollo de la profilaxis a través de agentes inmunostimuladores, ha cobrado interés en la investigación para la prevención de infecciones (Devi *et al.* 2022; Zhang, 2021).

En dicho sentido, los metabolitos obtenidos de la biomasa de los hongos tienen la posibilidad de prevenir y controlar enfermedades; proporcionando protección y aumento en la resistencia (Ruiz-González *et al.* 2018). Originalmente los hongos de mayor empleo son microscópicos como la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y con el tiempo se han añadido especies macroscópicas (Ruiz *et al.* 2018). Tal como en Wan-Mohtar *et al.* (2021) con híbridos de tilapia roja alimentada con dieta suplementada con exopolisacáridos obtenidos del micelio de *G. lucidum*, donde encontraron crecimiento y valores hematológicos positivos; siendo el último aspecto la herramienta más usada para el monitoreo de la salud de los peces. Por otra parte, Palma-González (2021), evaluó una dieta con  $\beta$ -glucano para la alimentación de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*), en ello obtuvo resultados positivos en relación con el crecimiento de los peces. En dicho sentido el autor, resalta que al ser proporcionado en mayor cantidad se obtendrá mayor beneficio nutricional en los ejemplares (Palma-González, 2021).

## 2.3.- El Sistema Inmunológico en Vertebrados

El sistema inmune de los vertebrados está compuesto por células, órganos y componentes moleculares mediados a través de dos mecanismos de respuesta, la innata y adaptativa, ambos protegen al organismo ante los patógenos del medio (Rubio-Godoy, 2010; Zenteno-Sayín *et al.* 2020). Se estima, que el origen de este sistema ocurrió con la aparición de los peces mandibulados como los conocemos actualmente, debido a dos eventos evolutivos que dieron lugar a la respuesta adaptativa como complemento de la innata: la doble duplicación del genoma y la aparición de RAGs; la recombinación de genes activadores de la Inmunoglobulina (Ig), que es una macromolécula esencial en el proceso de reconocimiento de antígenos (Flajnik and Kasahara, 2010; Petrovický, 1994; Rubio-Godoy, 2010, Sadofsky, 2004). La respuesta innata del sistema inmune, se integra por presencia de células linfocitarias que dependiendo de su especialización, cumplen con diversos roles de protección en el organismo; mientras que la respuesta adaptativa del sistema inmune se desarrolla a través del tiempo mediante el reconocimiento por contacto con microorganismos patógenos, la interacción antígeno-anticuerpo consiste en uniones moleculares en uno o varios epítomos, enlaces que determinan la eficiencia de la conexión (Kindt *et al.* 2007; Rubio-Godoy, 2010).

### 2.3.1.- La Inmunidad en los Peces

El sistema inmune en los peces, cuenta con una gran variedad de mecanismos de respuesta intraespecíficas e interespecíficas; entre ellas, los leucocitos (macrófagos, granulocitos, y células citotóxicas no específicas), producen péptidos antimicrobianos, enzimas proteolíticas y proteínas que les ayudan a protegerse contra agentes patógenos del medio acuático (López y Torres, 2022; Penagos *et al.* 2009). El sistema inmune innato en los peces, incluye grupos celulares mitóticos que constituyen barreras protectoras físicas como las mucosas epidérmicas, macrófagos y neutrófilos, además de componentes humorales o bioquímicos como las lisozimas y péptidos antimicrobianos (Pohlenz, 2013). Por otra parte, el sistema adaptativo se conforma por células denominadas linfocitos B y T; las cuales actúan en el reconocimiento de antígenos de agentes patógenos microbianos, en este sentido, se complementa con Inmunoglobulinas específicas en el organismo (Pohlenz, 2013).

### III.- JUSTIFICACIÓN

En el trópico húmedo, los macrohongos, son especies muy abundantes y en el sureste mexicano, donde se ubica geográficamente Tabasco, podemos destacar la presencia de los hongos *P. sanguineus* y *G. multipileum*; que son especies reconocidas entre los biólogos por poseer en su biomasa, metabolitos secundarios, principalmente de algunos fenoles y beta-glucanos. Además, de poseer otros componentes bioquímicos especie-específicos, como es el caso de la cinabarina, que ha sido reconocida su presencia únicamente en los hongos del género *Pycnoporus*. Tales componentes bioquímicos, con extenso interés alimenticio, medicinal y científico. Sin embargo, para que sea posible el estudio y comprensión funcional, de tales componentes bioquímicos; es necesario el desarrollo de métodos de laboratorio eficientes que permitan la extracción saludable de los componentes de la biomasa fúngica en cantidad suficiente para su puesta en marcha en experimentos “*in vitro*” e “*in vivo*”. Lo anterior, con el fin de demostrar o rechazar los supuestos que la literatura en el tema, ha estado señalando a lo largo de varios años.

En dicho sentido, por primera ocasión en la región se ha diseñado un protocolo con el cual se va evaluó la capacidad de extracción de metabolitos mediante cinco solventes en la biomasa de *G. multipileum* y *P. sanguineus*. Posteriormente, se demostró los efectos inmunoestimulantes “*in vivo*” empleando como modelo biológico especímenes adultos de la mojarra tilapia *O. niloticus*.

## IV.-OBJETIVOS

### 4.1.- Objetivo General

Evaluar la capacidad de extracción de metabolitos a partir de biomasa de *G. multipileum* y *P. sanguineus* demostrando sus efectos inmunoestimulantes en la mojarra tilapia *O. niloticus*.

### 4.2.- Objetivos Específicos

4.2.1.- Comparar la capacidad de extracción de cinco solventes en la biomasa de los hongos *G. multipileum* y *P. sanguineus*.

4.2.2.- Valorar y comparar los efectos inmunológicos de los extractos de *G. multipileum* y *P. sanguineus* en la tilapia *O. niloticus*.

4.3.3.- Establecer las perspectivas del uso de los extractos de las dos especies de hongos.

## V.-MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1.- Aprobación Bioética, Origen de los Especímenes de Hongos y Conservación

El presente proyecto de investigación fue evaluado y aprobado por la comisión institucional en Bioética de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco con folio: UJAT-CIEI-2024-094.

Los ejemplares del hongo *G. multipileum* y *P. sanguineus* se colectaron manualmente en la reserva biológica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco en la División Académica de Ciencias Biológicas del Estado de Tabasco, México (**Fig. 6**). Posteriormente, fueron trasladados en contenedores térmicos para su determinación taxonómica con claves basadas en Téllez-Téllez *et al.* (2016) y Cappello *et al.* (2023).

### 5.2.- Origen de los Especímenes de Tilapia *O. niloticus*

Los ejemplares adultos de tilapia *O. niloticus* con peso de  $329 \pm 131$  gr y longitud  $23.8 \pm 4.00$  cm, fueron criados en cautiverio con buena calidad de agua, aire y alimentación hasta su empleo en los experimentos en las instalaciones del Laboratorio en Genética y Ecofisiología de la DACBiol UJAT en acuerdo con el Permiso de Pesca de Fomento: PRMN/DGOPA-006/2024.



**Fig. 6.** Ejemplares del hongo *P. sanguineus* colectados en la reserva biológica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco en la División Académica de Ciencias Biológicas en el municipio de Centro Tabasco, México. Imagen o toma fotográfica original por el autor: D.L.G.

### 5.3.- Procedimiento para la Extracción de Metabolitos y Conservación

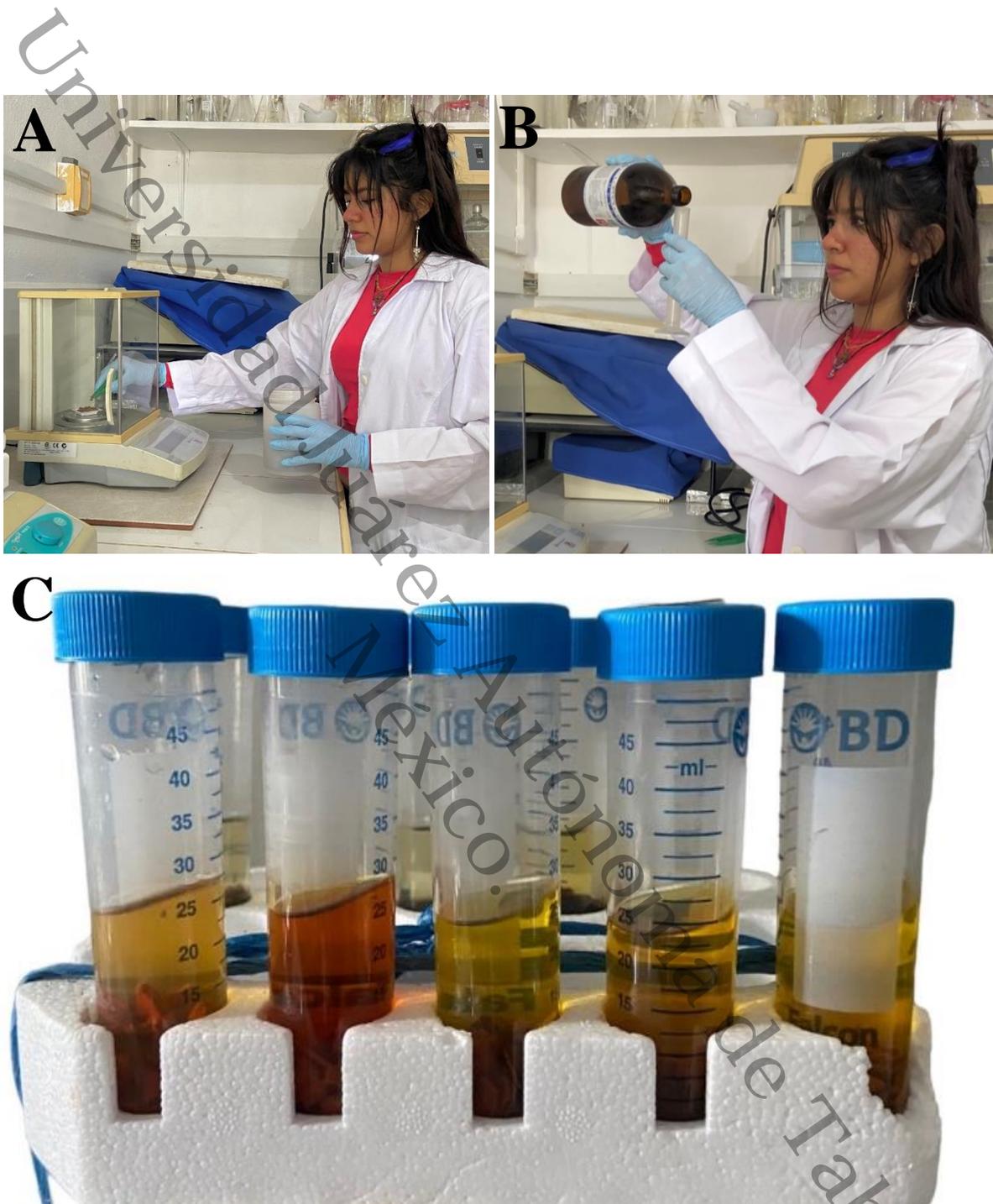
Los ejemplares de los hongos, se deshidrataron en una secadora con flujo continuo de aire caliente a 60°C forzado durante 24 horas y luego la biomasa seca fue cortada en condiciones de esterilidad en fragmentos de aproximadamente 1x1 cm. Posteriormente, fueron pulverizados en una licuadora para trabajo rudo y las muestras fueron conservadas en botes estériles de plástico a -4 °C hasta su empleo.

Para la extracción de metabolitos, se evaluó la eficacia del empleo de los solventes metanol, etanol, ácido acético, acetona y agua, en proporción de 25 ml de cada solvente y 0.5 gr de biomasa fúngica. En cada solvente y especie de hongo, se repitió diez veces el procedimiento anterior en tubos estériles de 50 ml. Cada repetición experimental o tubo con muestras de tejido fúngico, fueron colocadas en un agitador orbital a 25 r.p.m. durante 24 horas a  $40 \pm 1.0$  °C.

Posteriormente, los extractos individuales fueron filtrados mecánicamente con filtros de papel (Whatman) de 0.2  $\mu\text{m}$  en condiciones de esterilidad. Los productos de la extracción fueron colocados en tubos estériles y mantenidos a -20°C hasta su empleo (**Fig. 7**).

Para la obtención de los concentrados metabólicos, las muestras de los extractos fueron colocados en baño maría (Thermo Scientific 180 Series Water Bath) a  $75 \pm 1.0$ °C hasta la total evaporación de cada solvente.

Después, los residuales puros de la extracción correspondiente a cada solvente, fueron mezclados y colocados en tubos estériles que fueron mantenidos hasta su empleo para los experimentos “*in vivo*” a -20°C.



**Fig. 7.** Elaboración de los extractos fúngicos de los hongos poliporales *G. multipileum* y *P. sanguineus*, pesaje de biomasa fúngica (A) y medición de solventes (B); Aspecto de los extractos de los hongos poliporales *G. multipileum* y *P. sanguineus* (C). Imágenes o tomas fotográficas originales por el autor: D.L.G.

#### 5.4.- Determinación de la Concentración Espectrofotométrica de Metabolitos

La concentración total de los extractos fúngicos, se cuantifico inicialmente mediante espectrofotometría (Smart Spect™ Plus Spectrophotometer Bio-Rad) y después se determinó con la fórmula establecida por Rodríguez-Amaya (2001), a como se indica:

$$\frac{\mu g}{g \text{ de biomasa}} = \left( \frac{A_i \cdot V_f \cdot 10x4}{A_f \cdot P_b} \right)$$

**Donde:**

$X$  = Concentración total de la muestra en microgramos/gramo de biomasa

$A_i$  = Indica la absorbancia de la acetona o blanco

$V_f$  = Volumen de dilución final de la muestra en mililitros

$A_f$  = Absorbancia resultante de la lectura de la muestra

$P_b$  = Peso en gramos inicial de la biomasa usada para la extracción

Un ejemplo de cómo se aplicó la fórmula es lo siguiente:

$$\left( \frac{800 \text{ nm} \cdot 20 \text{ ml} \cdot 10x4}{810 \text{ nm} \cdot 25 \text{ gr}} \right) = 6320.987 \mu g/gr$$

$A_i$  = 800 nm

$V_f$  = 20 ml

$A_f$  = 810 nm

$P_b$  = 25 gr

#### 5.5.- Bioensayos de los Extractos Fúngicos en *O. niloticus* y Frotis Sanguíneo

Todos los especímenes de tilapia fueron tratados en acuerdo a los estándares bioéticos nacionales en cumplimiento con las normas oficiales mexicanas NOM-126-SEMARNAT-2000 y NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT 2019). Se emplearon dos grupos (un grupo por cada extracto de especie fúngica) de peces con 12 especímenes adultos de la mojarra tilapia *O. niloticus*. Para el manejo de los ejemplares de tilapia, los especímenes fueron anestesiados individualmente con metasulfonato de tricaina (MSS222) disolviendo 1gr/L de agua corriente. En cada pez, fueron tomadas las biometrías, longitud

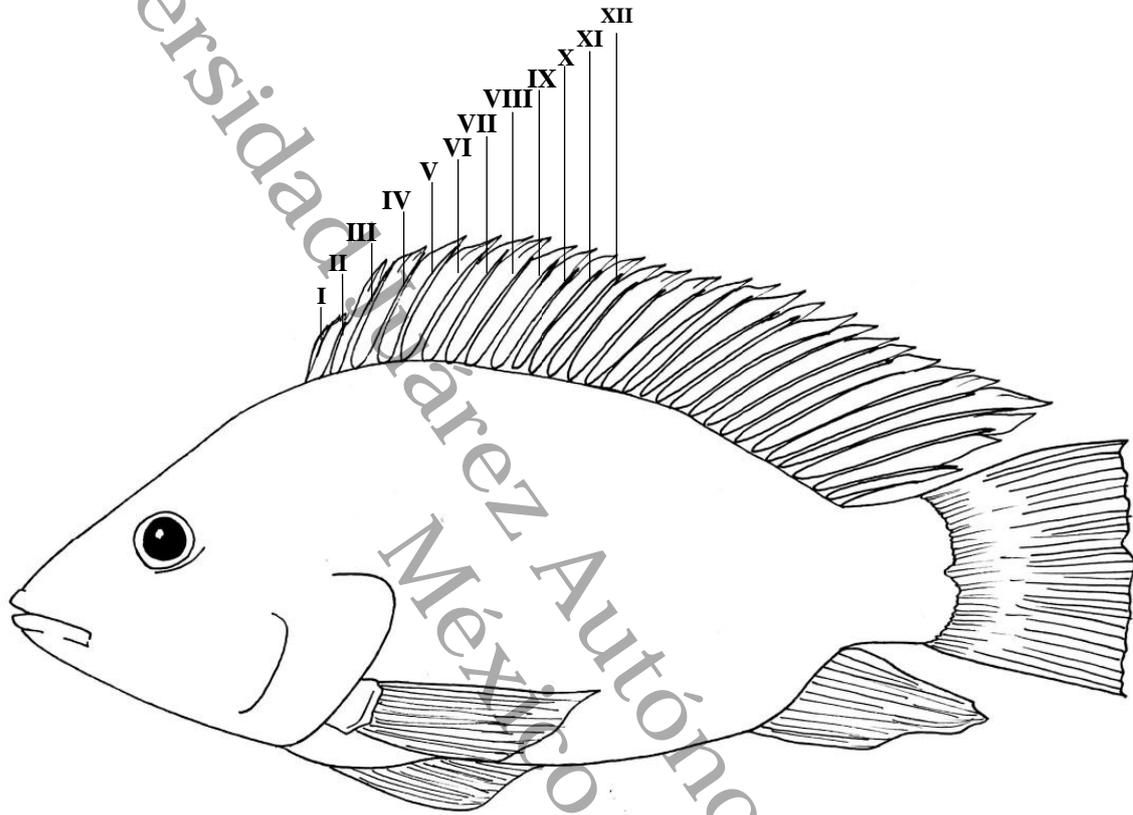
total en cm con un ictiómetro con precisión en mm y el peso en gramos con una balanza digital.

Cada espécimen de pez, fue marcado mediante el corte de 0.3 mm de la región terminal de una espina dorsal. La numeración, inicio desde primera espina dorsal, desde la región cefálica en dirección de la aleta caudal. La asignación numérica fue ascendente, en número y la posición de la espina dorsal, así, por ejemplo, la espina dorsal II sería correspondiente con el espécimen número 2 y sucesivamente en correspondencia (**Fig. 8**).

Posterior al marcaje del espécimen, se procedió a la toma de una muestra de 50 microlitros de sangre periférica, esta se realizó cuidadosamente entre la región terminal de la aleta dorsal y caudal, justo por encima de la vena que surca debajo de la línea lateral, evitando la manipulación excesiva de los peces con el empleo de una jeringa estéril de insulina (100 UI). La muestra de sangre fue depositada sobre un portaobjetos estéril y después la sangre fue dispersada cuidadosamente por capilaridad con de otro portaobjetos estéril, evitando con ello el daño en las células hematopoyéticas. Cada frotis, fue rotulado y secado al aire.

Consecutivamente, se suministró a cada espécimen una inyección intramuscular empleando la dosis de 100,000 µg de extracto fúngico por kg de peso de cada ejemplar. Posterior a la inyección, se evaluó por dos horas bajo observación directa en una jaula las reacciones secundarias después de la recuperación del periodo de anestesia vs tratamientos. Después, los especímenes fueron trasladados y monitoreados en un tanque de 1800 litros con aireación continua, cuidados especiales y alimentación cada 8 horas. Los especímenes experimentales, fueron monitoreados 72 horas después del experimento, con el fin de registrar algún tipo de respuesta en términos de sobrevivencia y cambios morfo-fisiológicos.

Veinticuatro horas después del suministro del extracto de hongos a las tilapias, los especímenes fueron anestesiados individualmente y se procedió a la toma de una muestra de sangre; y elaboración de un frotis sanguíneo conforme al procedimiento anteriormente empleado. Los frotis sanguíneos, fueron teñidos en acuerdo con el procedimiento recomendado para el Hemocolorante rápido HYCEL™, el cual contiene una solución fijadora la cual se aplicó una vez por un segundo y dos soluciones colorantes amortiguadoras en las que se sumergieron tres veces por solución colorante (1 y 2).



**Fig. 8.** En el marcaje de los especímenes de la Tilapia *O. niloticus*, la numeración se estableció de acuerdo con el orden de las espinas dorsales, por ejemplo, la espina dorsal **I**, fue correspondiente al espécimen número 1 y así sucesivamente hasta la espina XII. Imagen o toma fotográfica original por el auto: D.L.G.

## **5.6.- Análisis de los Frotis Sanguíneos por Microscopia Óptica de Alta Resolución**

Las preparaciones citológicas elaboradas antes y después de los tratamientos, fueron observadas y analizadas bajo el Microscopio óptico Axio Scope A1 (Carl Zeiss®), equipado con una cámara digital AxioCam ERc5s (Carl Zeiss®) en conjunto con el programa ZEN/2011 (Carl Zeiss® Microscopy GmbH, 2011). Los campos celulares seleccionados con los objetivos 10x+1.25X y 40x+1.25X, fueron fotodigitalizados en alta resolución con las herramientas de imágenes del programa ZEN/2011 (Carl Zeiss® Microscopy GmbH, 2011). La identificación y conteo de las células leucocitarias y eritrocitarias, se realizó por observación directa en acuerdo con las recomendaciones de Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011).

## **5.7.- Plataformas de Datos y Análisis Estadísticos**

Los datos obtenidos fueron, capturados en bases de datos individuales y se les calculo el porcentaje, la media y desviación estándar con las herramientas del programa Excel para Windows®. Posteriormente, los datos porcentuales fueron analizados por las pruebas de normalidad y homogeneidad; y posteriormente se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis (K-W) y la prueba a posteriori de Dunnett's. En todos los análisis, se utilizó el nivel de significancia de  $P \geq 0.05$  empleando el programa SigmaStat para Windows®.

## VI.- RESULTADOS

En el desarrollo de esta investigación, se extrajeron metabolitos fúngicos empleando la biomasa seca de *G. multipileum* y *P. sanguineus* que son hongos basidiomicetos tropicales nativos del sureste mexicano. Se comparó la eficiencia de extracción de los solventes etanol, metanol, ácido acético, acetona y agua (**Tabla 1**). Los resultados obtenidos en *G. multipileum* y *P. sanguineus*, muestran que existen diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) en la concentración de metabolitos obtenidos entre replicas y entre solventes ( $P \leq 0.001$ ); por ello se registró la presencia de diferentes grupos estadísticamente significativos ( $P \leq 0.001$ ) (**Tabla 1**). En el hongo chocolate o *G. multipileum*, se registraron promedios desde 3.80 miligramos (mg) sobre gramo (gr) (mg/gr) y hasta 33.1 mg/gr para las muestras de biomasa donde se empleó el solvente etanol (**Tabla 1**). Así también, concentraciones desde 12.9 mg/gr y hasta 121 mg/gr para las muestras procesadas con el solvente metanol (**Tabla 1**). Por otro lado, se registró desde 25.2 mg/gr y hasta 45.2 mg/gr para las muestras de biomasa tratadas con el ácido acético (**Tabla 1**). Además, se observaron desde 0.50 mg/gr y hasta 48.6 mg/gr de metabolitos para las extracciones con acetona y de 5.90 mg/gr a 43.0 mg/gr para las muestras de biomasa tratadas con agua (**Tabla 1**).

Por otro lado, las observaciones registradas en las muestras de biomasa del hongo colorado, o *P. sanguineus*, demostraron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.001$ ) en las concentraciones de metabolitos o extractos entre replicas y tipos de solvente (**Tabla 1**). En dicho sentido, cuando se empleó el solvente etanol, se registraron desde 1.50 mg/gr y hasta 53.3 mg/gr de extractos. En el caso particular del solvente metanol, se logró registrar desde 12.9 mg/gr y hasta 79.6 mg/gr, mientras que, en el proceso con ácido acético, de 11.7 mg/gr a 107 mg/gr; ahora bien, la acetona como solvente mostró un rango desde 0.20 mg/gr hasta 42.6 mg/gr. Sin embargo, en el caso del agua, se observaron valores desde 0.90 mg/gr y hasta 76.4 mg/gr (**Tabla 1**). En el hongo chocolate, los promedios totales de los concentrados de metabolitos mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre los tipos de solventes empleados (**Tabla 1**). En dicho sentido, con el solvente etanol, se registraron valores promedio de extractos de 18.3 mg/gr; con el solvente metanol se observó la mayor capacidad de extracción de compuestos metabólicos con promedio total de 45.2 mg/gr (**Tabla 1**), seguido del ácido acético con promedio de 32.2 mg/gr. En el solvente, acetona se logró observar en promedio 8.05 mg/gr de extractos, en contraste con los valores registrados con el solvente agua con 22.7 mg/gr (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Resultados en miligramos de metabolitos extraídos/gr de biomasa a partir del empleo de cinco solventes en *G. multipileum* y *P. sanguineus*.

<i>G. multipileum</i>					
Replicas/ 0.5 gr	Solventes				
	Etanol mg/gr	Metanol mg/gr	Ácido acético mg/gr	Acetona mg/gr	Agua mg/gr
1	3.80 <sup>a</sup>	12.9 <sup>a</sup>	25.2 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	5.90 <sup>a</sup>
2	8.10 <sup>b</sup>	13.6 <sup>a</sup>	25.7 <sup>a</sup>	0.90 <sup>b</sup>	7.30 <sup>b</sup>
3	11.3 <sup>c</sup>	15.1 <sup>b</sup>	26.0 <sup>a</sup>	1.10 <sup>b</sup>	13.6 <sup>c</sup>
4	11.4 <sup>c</sup>	15.9 <sup>b</sup>	27.0 <sup>a</sup>	1.50 <sup>b</sup>	14.7 <sup>c</sup>
5	13.6 <sup>c</sup>	44.2 <sup>c</sup>	29.9 <sup>a</sup>	1.70 <sup>b</sup>	15.0 <sup>c</sup>
6	15.3 <sup>d</sup>	45.3 <sup>c</sup>	33.4 <sup>b</sup>	2.30 <sup>b</sup>	15.9 <sup>c</sup>
7	19.0 <sup>e</sup>	45.6 <sup>c</sup>	33.5 <sup>b</sup>	6.10 <sup>c</sup>	32.1 <sup>d</sup>
8	19.9 <sup>e</sup>	56.9 <sup>d</sup>	33.7 <sup>b</sup>	8.20 <sup>e</sup>	37.6 <sup>d</sup>
9	20.3 <sup>e</sup>	81.0 <sup>e</sup>	41.9 <sup>b</sup>	9.60 <sup>e</sup>	41.6 <sup>d</sup>
10	33.1 <sup>f</sup>	121 <sup>f</sup>	45.2 <sup>b</sup>	48.6 <sup>d</sup>	43.0 <sup>d</sup>
<b>Total en mg/gr</b>	<b>156</b>	<b>452</b>	<b>322</b>	<b>80.5</b>	<b>227</b>
<b>Promedio en mg/gr</b>	<b>15.6<sup>A</sup></b>	<b>45.2<sup>B</sup></b>	<b>32.2<sup>C</sup></b>	<b>8.05<sup>D</sup></b>	<b>22.7<sup>E</sup></b>
<i>P. sanguineus</i>					
Replicas/ 0.5 gr	Solventes				
	Etanol mg/gr	Metanol mg/gr	Ácido acético mg/gr	Acetona mg/gr	Agua mg/gr
1	1.50 <sup>a</sup>	12.9 <sup>a</sup>	11.7 <sup>a</sup>	0.20 <sup>a</sup>	0.90 <sup>a</sup>
2	2.50 <sup>a</sup>	16.6 <sup>b</sup>	12.2 <sup>a</sup>	1.00 <sup>b</sup>	20.5 <sup>b</sup>
3	8.10 <sup>b</sup>	19.7 <sup>c</sup>	23.2 <sup>b</sup>	1.20 <sup>b</sup>	30.6 <sup>c</sup>
4	12.0 <sup>c</sup>	19.8 <sup>c</sup>	25.9 <sup>b</sup>	1.90 <sup>b</sup>	38.8 <sup>d</sup>
5	13.2 <sup>c</sup>	30.0 <sup>d</sup>	45.7 <sup>c</sup>	2.00 <sup>b</sup>	42.2 <sup>d</sup>
6	14.0 <sup>c</sup>	36.2 <sup>d</sup>	46.1 <sup>c</sup>	3.60 <sup>c</sup>	46.1 <sup>d</sup>
7	19.1 <sup>d</sup>	50.3 <sup>e</sup>	51.0 <sup>d</sup>	6.60 <sup>d</sup>	46.9 <sup>d</sup>
8	22.6 <sup>d</sup>	56.1 <sup>e</sup>	56.8 <sup>d</sup>	7.60 <sup>d</sup>	51.1 <sup>e</sup>
9	36.5 <sup>e</sup>	71.2 <sup>f</sup>	62.8 <sup>e</sup>	11.2 <sup>e</sup>	62.4 <sup>f</sup>
10	53.3 <sup>f</sup>	79.6 <sup>f</sup>	107 <sup>f</sup>	42.6 <sup>f</sup>	76.4 <sup>g</sup>
<b>Total en mg/gr</b>	<b>183</b>	<b>392</b>	<b>443</b>	<b>77.9</b>	<b>416</b>
<b>Promedio en mg/gr</b>	<b>18.3<sup>A</sup></b>	<b>39.2<sup>B</sup></b>	<b>44.3<sup>A</sup></b>	<b>7.79<sup>A</sup></b>	<b>41.6<sup>B</sup></b>

mg= miligramos, gr= gramos de biomasa empleado por replica. Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con  $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.

Los resultados o promedios totales, de metabolitos registrados a partir del empleo de biomasa del hongo colorado o *P. sanguineus* con diferentes solventes mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.001$ ) (**Tabla 1**). Por lo anterior, en el caso del extractor etanol, se observó el promedio total de metabolitos extraídos de 18.3 mg/gr de biomasa seca; mientras que en el solvente metanol el promedio fue de 39.2 mg/gr, en contraste con el ácido acético que registró el valor promedio de 44.3 mg/gr de concentrado metabólico, seguido del solvente acetona con 7.79 mg/gr y el promedio observado con el extractor agua fue el correspondiente a 41.6 mg/gr (**Tabla 1**).

Para los ensayos “*in vivo*”, los concentrados metabólicos estériles resultantes de los cinco solventes se mezclaron en tubos estériles individuales para cada especie, uno correspondiente a *P. sanguineus* y el otro a *G. multipileum*. En tales extractos, se evaluó el efecto inmunoestimulante, mediante la evaluación de la proporción de células sanguíneas en dos lotes de doce especímenes adultos de *O. niloticus*. La recolección de muestras hematológicas, consistió en dos fases, las muestras sanguíneas recolectadas antes del tratamiento actuaron como control y las tomadas después, sirvieron para el contraste comparativo de los efectos posterior a las 24 horas de cada tratamiento. Los resultados de los efectos de los tratamientos con los extractos fúngicos, mostraron 100% de sobrevivencia durante las primeras 24 horas de exposición a los extractos y posterior a las 24 horas la sobrevivencia continuo con el 100% en todos los especímenes de ambos tratamientos. Basado en el seguimiento de la sobrevivencia de los especímenes, posterior a las 72 horas del término de los experimentos, se observó 91.6% de sobrevivencia con el hongo *P. sanguineus* y 100% en los especímenes de tilapia empleados con *G. multipileum*.

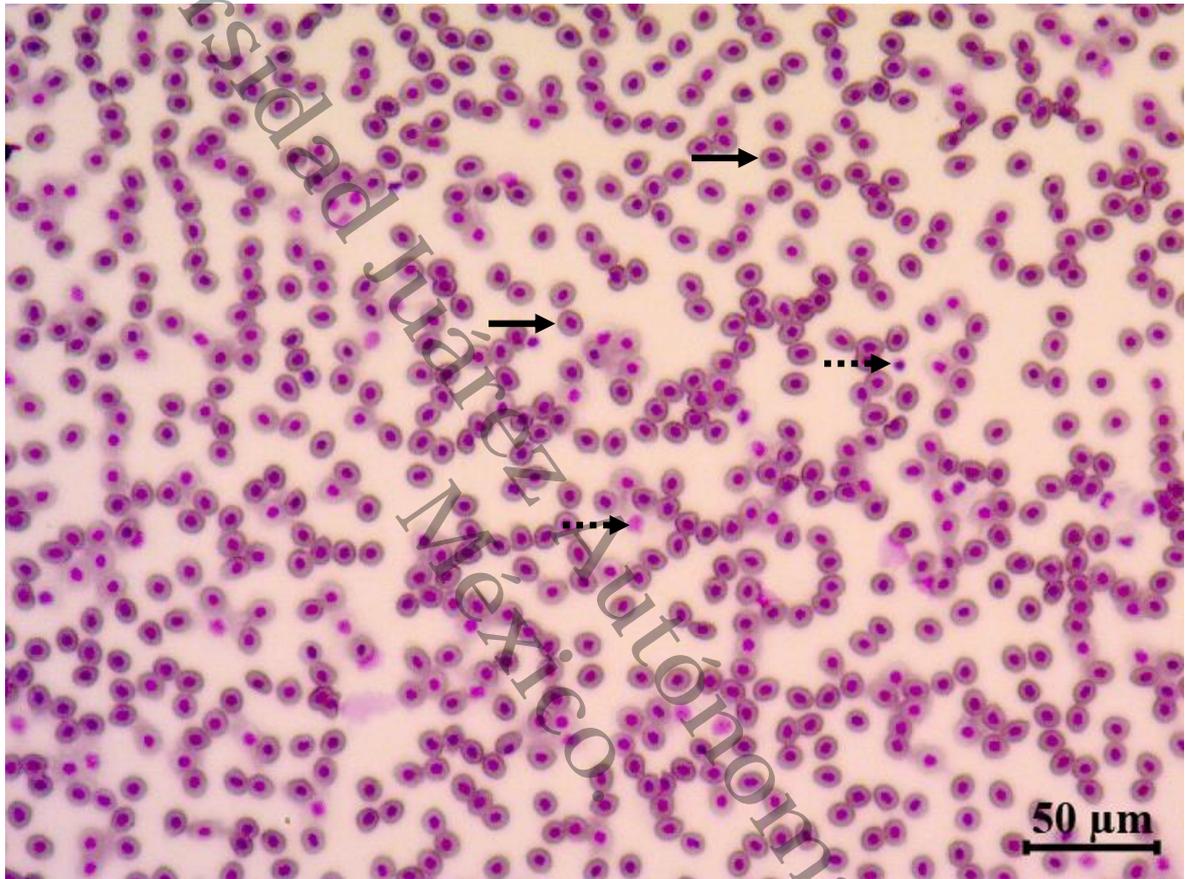
En el hongo *G. multipileum*, el análisis de las fotografías bajo el microscopio óptico de alta resolución, de las muestras sanguíneas derivadas de los especímenes de las tilapias *O. niloticus* antes y después del tratamiento (**Fig. 10**), mostraron porcentajes de células leucocitarias con diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ). En dicho sentido, los resultados anteriores a la aplicación del tratamiento mostraron valores promedio mínimos de 36.0% y máximos de hasta 62.1% de leucocitos (**Fig.10A** y **Fig. 12**). Posterior, a la exposición de los especímenes, a los metabolitos del hongo chocolate, el 66.7% mostraron porcentajes de ocurrencia de leucocitos por encima del 50%, con variaciones desde 54.2% y hasta 64.0%. Tales resultados, mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre los especímenes de tilapia empleados para los experimentos con el hongo *G. multipileum* (**Fig. 10B** y **Fig. 12**). Así mismo, durante el análisis de las células eritrocitarias antes del tratamiento con *G. multipileum*, se registraron valores estadísticamente similares por encima del 50.0% (y hasta

el 50.3%) de eritrocitos en el 75% de los especímenes empleados para el experimento; y en el resto de los ejemplares que representa el 25%, se observaron valores porcentuales desde 49.7% y hasta 49.9% de eritrocitos (**Fig. 10A** y **Fig. 13**). Mientras que los porcentajes de ocurrencia, de células eritrocitarias registradas a las 24 horas, posteriores a la inyección del extracto fúngico en los ejemplares de tilapia; mostraron valores porcentuales en el 66.7% de los ejemplares desde 49.7% y hasta 49.9% que fueron estadísticamente similares entre ellos. En el resto de los especímenes, que representaron el 33.3%, se observaron porcentajes de ocurrencia eritrocitaria que variaron desde 50.0% y hasta 50.3% (**Fig. 10B** y **Fig. 13**).

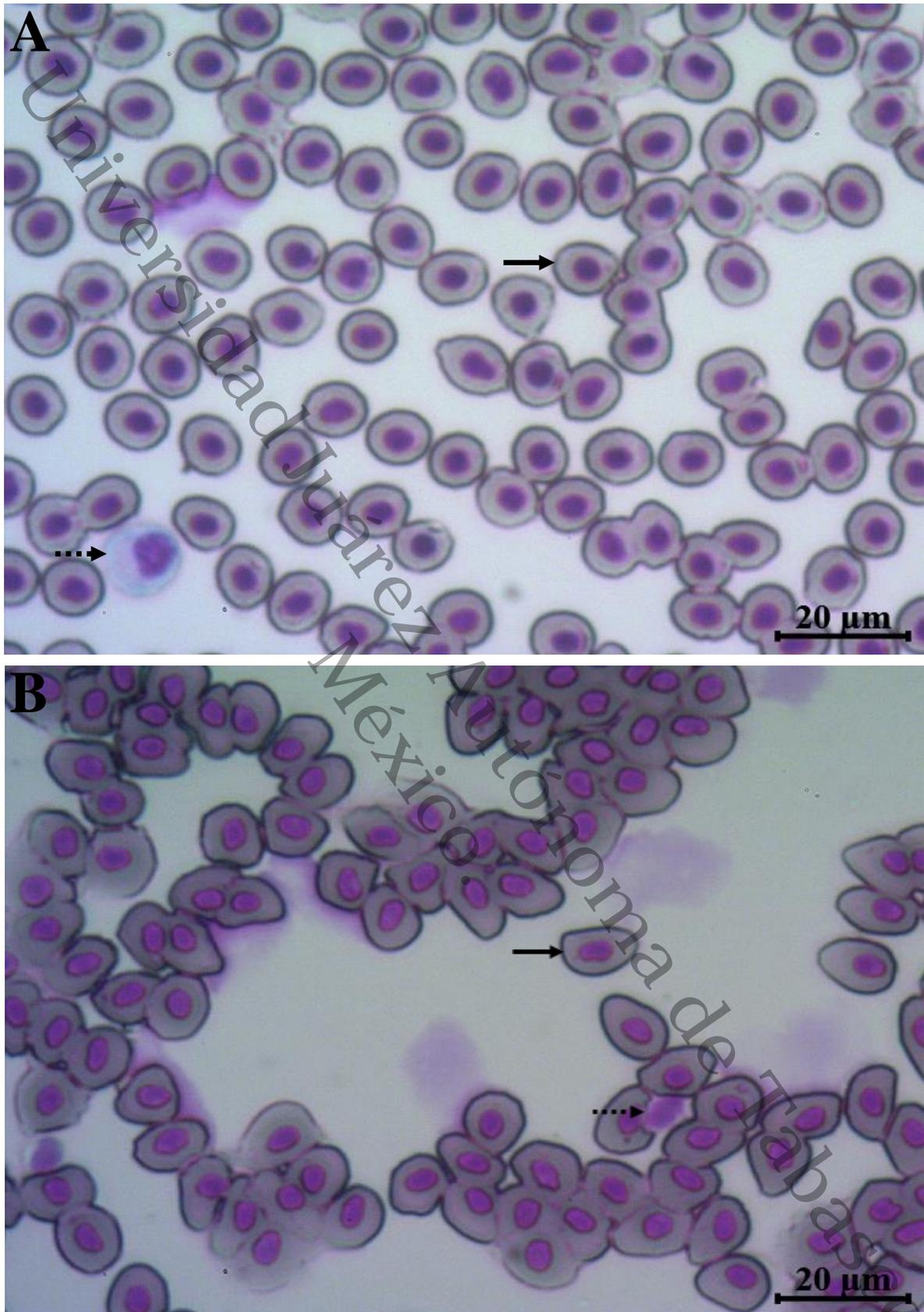
En la evaluación de los efectos del extracto de *P. sanguineus*, en las células leucocitarias de los especímenes de la mojarra tilapia *O. niloticus*; se observaron cuatro grupos de datos entre los ejemplares que mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.001$ ) antes del tratamiento, con valores porcentuales desde 35.2% y hasta 51.0% (**Fig. 11A** y **Fig. 14**). Por otra parte, 24 horas después del tratamiento con los extractos del hongo colorado, los especímenes de *O. niloticus* mostraron dos grupos de datos con diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre especímenes, con valores porcentuales desde 49.0% y hasta 64.8% (**Fig. 11B** y **Fig. 14**).

Los porcentajes de células eritrocitarias, observadas antes del tratamiento con los extractos de *P. sanguineus*, no mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre especímenes, con valores porcentuales registrados desde 50.0% y hasta 50.3% (**Fig. 11A** y **Fig. 15**). Después de 24 horas de exposición al extracto de metabolitos fúngicos de *P. sanguineus*, se identificaron dos grupos de datos estadísticamente similares ( $P \geq 0.06$ ) entre los especímenes de la tilapia, con valores porcentuales mínimos de 49.7% y máximos de 50.0% (**Fig. 11B** y **Fig. 15**).

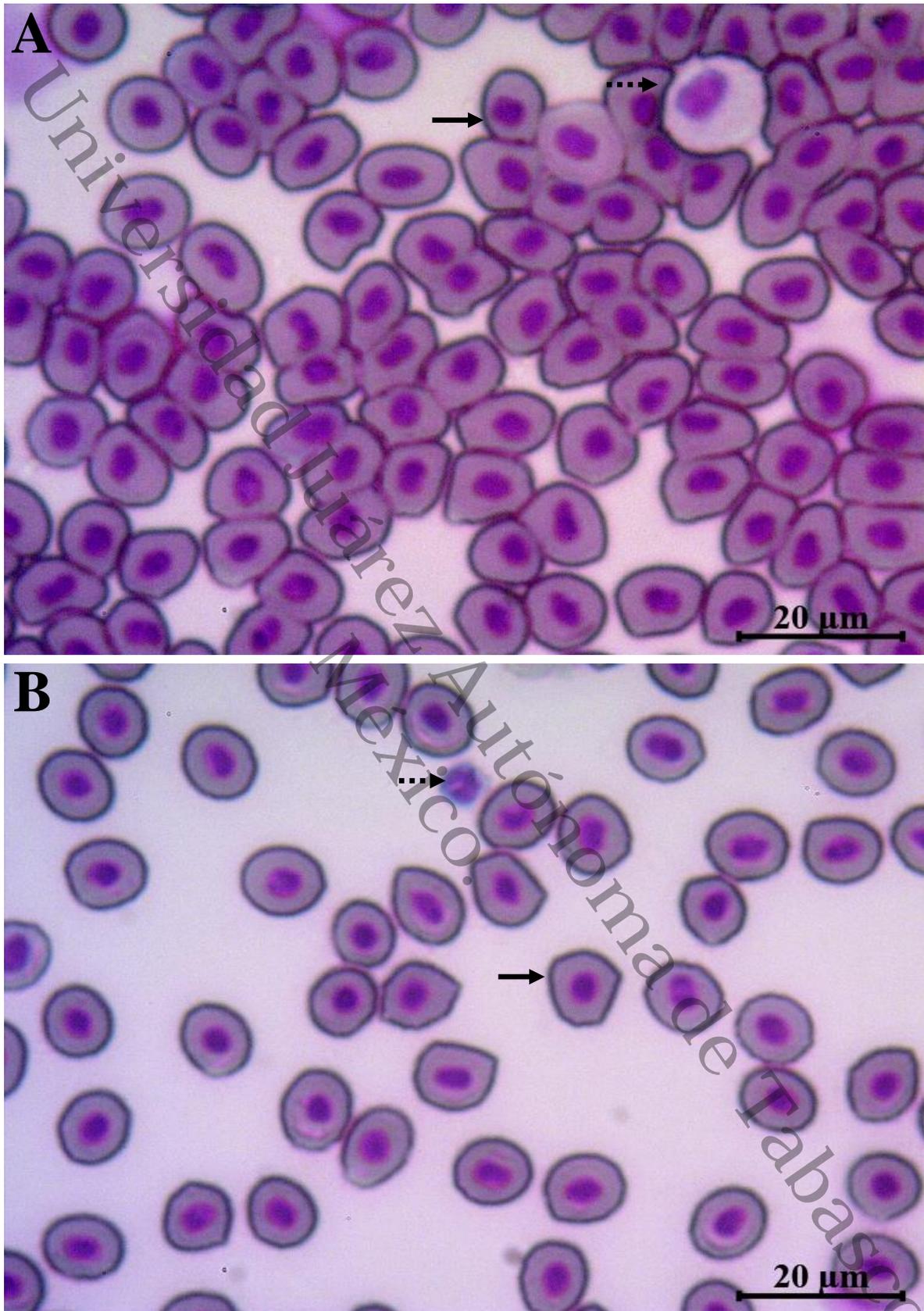
Finalmente, se realizó el análisis comparativo de los valores porcentuales después de 24 horas de exposición de las células leucocitarias de los especímenes de la tilapia *O. niloticus* a los extractos del hongo *G. multipileum* y *P. sanguineus* (**Fig. 10B**, **Fig. 11B** y **Fig. 16**). En el caso del hongo chocolate *G. multipileum*, se observaron porcentajes de células leucocitarias con diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre especímenes, en un rango de 37.9% a 56.6% (**Fig. 10B** y **Fig. 16**). Por otro lado, en el tratamiento con el hongo colorado *P. sanguineus*, se identificaron entre los porcentajes de leucocitos registrados, diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre especímenes, con valores mínimos de 43.4% y máximos de 62.1% (**Fig. 11B** y **Fig. 16**). La comparación porcentual promedio de los resultados de los conteos leucocitarios entre *G. multipileum* y *P. sanguineus* muestran  $47.7 \pm 5.46$  y  $52.2 \pm 5.46$  de leucocitarios respectivamente con diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) (**Fig. 16**).



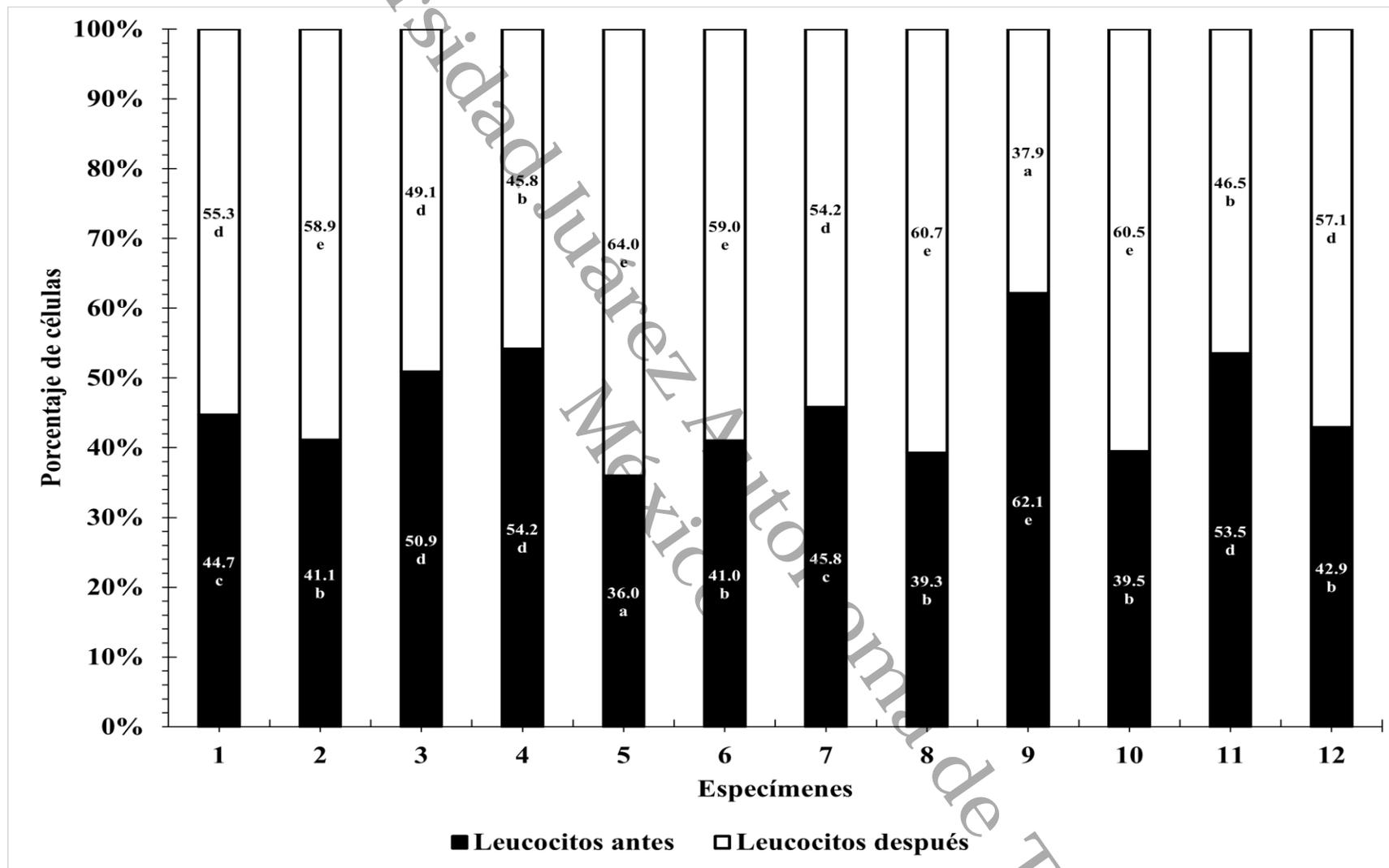
**Fig. 9.** Microfotografía de alta resolución que muestra el panorama típico de las células hematopoyéticas de un espécimen adulto de la mojarra tilapia *O. niloticus*. Flechas con líneas continua, muestran las células eritrocitarias típicas y las flechas con líneas discontinuas las leucocitarias. Microfotografía a 10X+1.25X del optovar original por el autor: D.L.G.



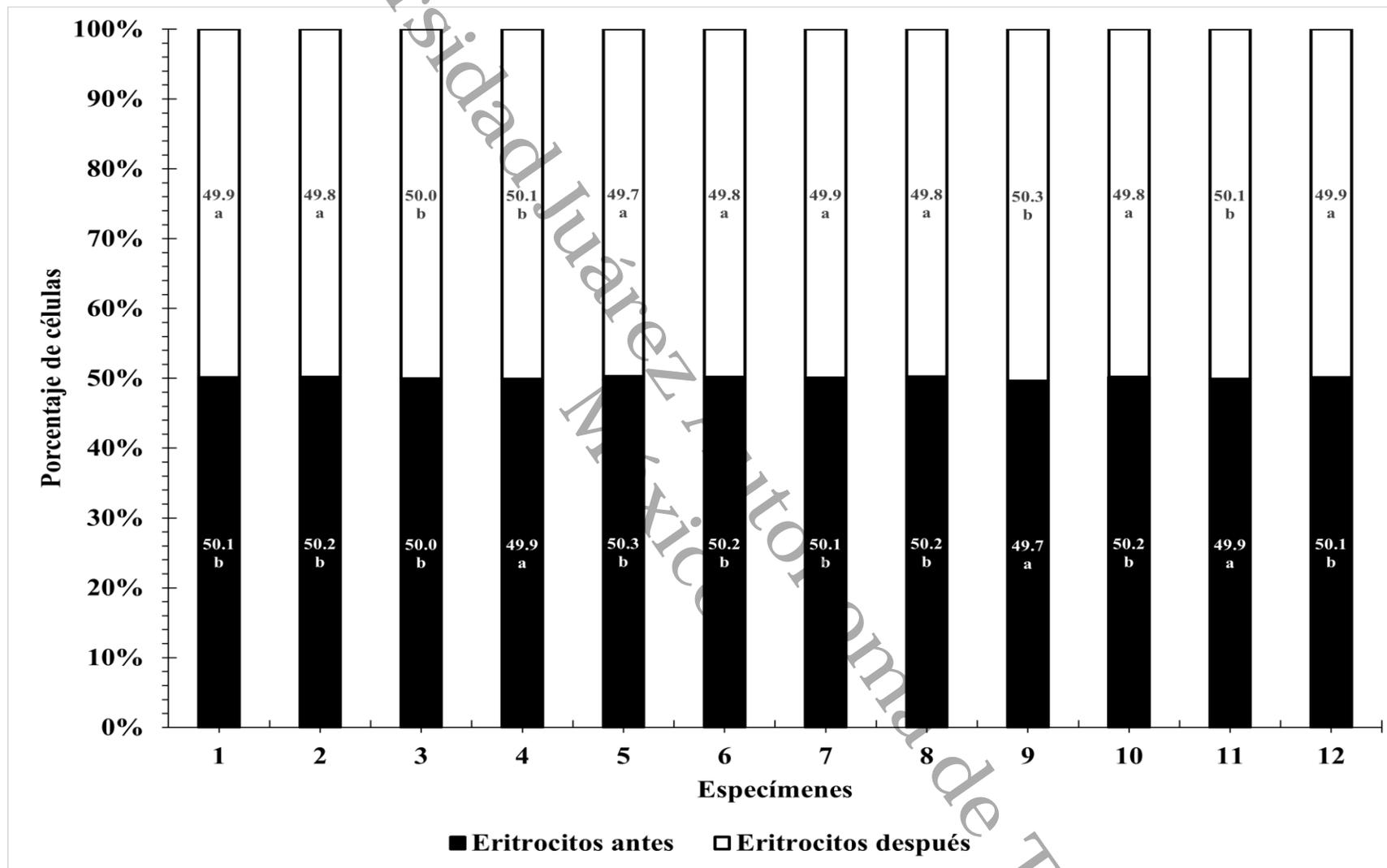
**Fig. 10.** Microfotografías de alta resolución que muestran el panorama de las células hematopoyéticas de un espécimen adulto de la mojarra tilapia *O. niloticus*, antes (A) y (B) 24 horas después del tratamiento con extractos de *G. multipileum*. Las flechas con líneas continuas muestran las células eritrocitarias típicas y las flechas con líneas discontinuas, las leucocitarias. Microfotografías a 40X+1.25X originales por el autor: D.L.G.



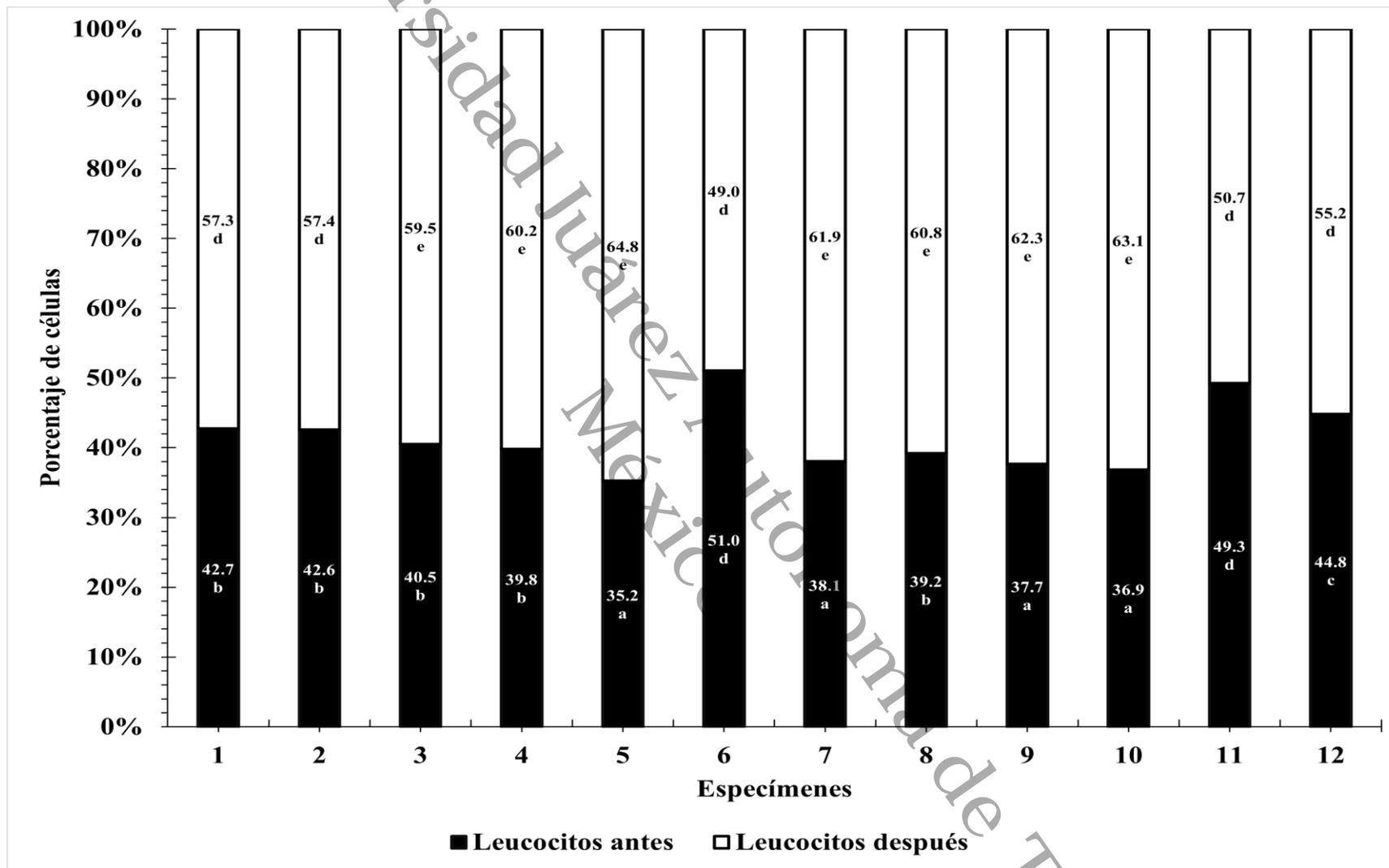
**Fig. 11.** Microfotografías de alta resolución que muestran el panorama de las células hematopoyéticas de un espécimen adulto de la mojarra tilapia *O. niloticus*, antes (A) y (B) 24 horas después del tratamiento con extractos de *P. sanguineus*. Las flechas con líneas continuas muestran las células eritrocitarias típicas y las flechas con líneas discontinuas, las leucocitarias. Microfotografías a 40X+1.25X del optovar originales por el autor: D.L.G.



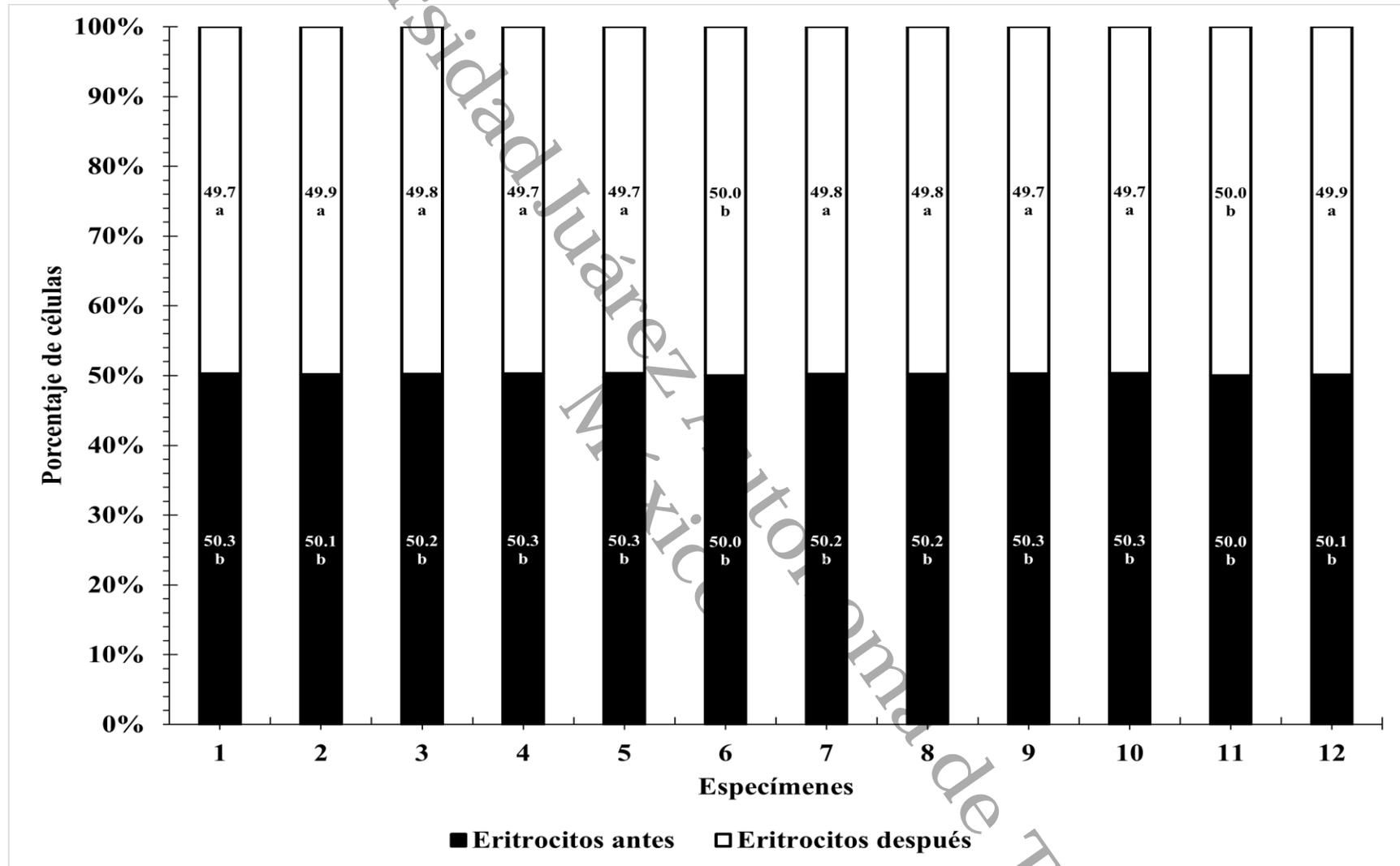
**Fig. 12.** Análisis comparativo de los porcentajes leucocitarios promedio, en doce especímenes adultos de *O. niloticus* previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo *G. multipileum*. Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de  $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.



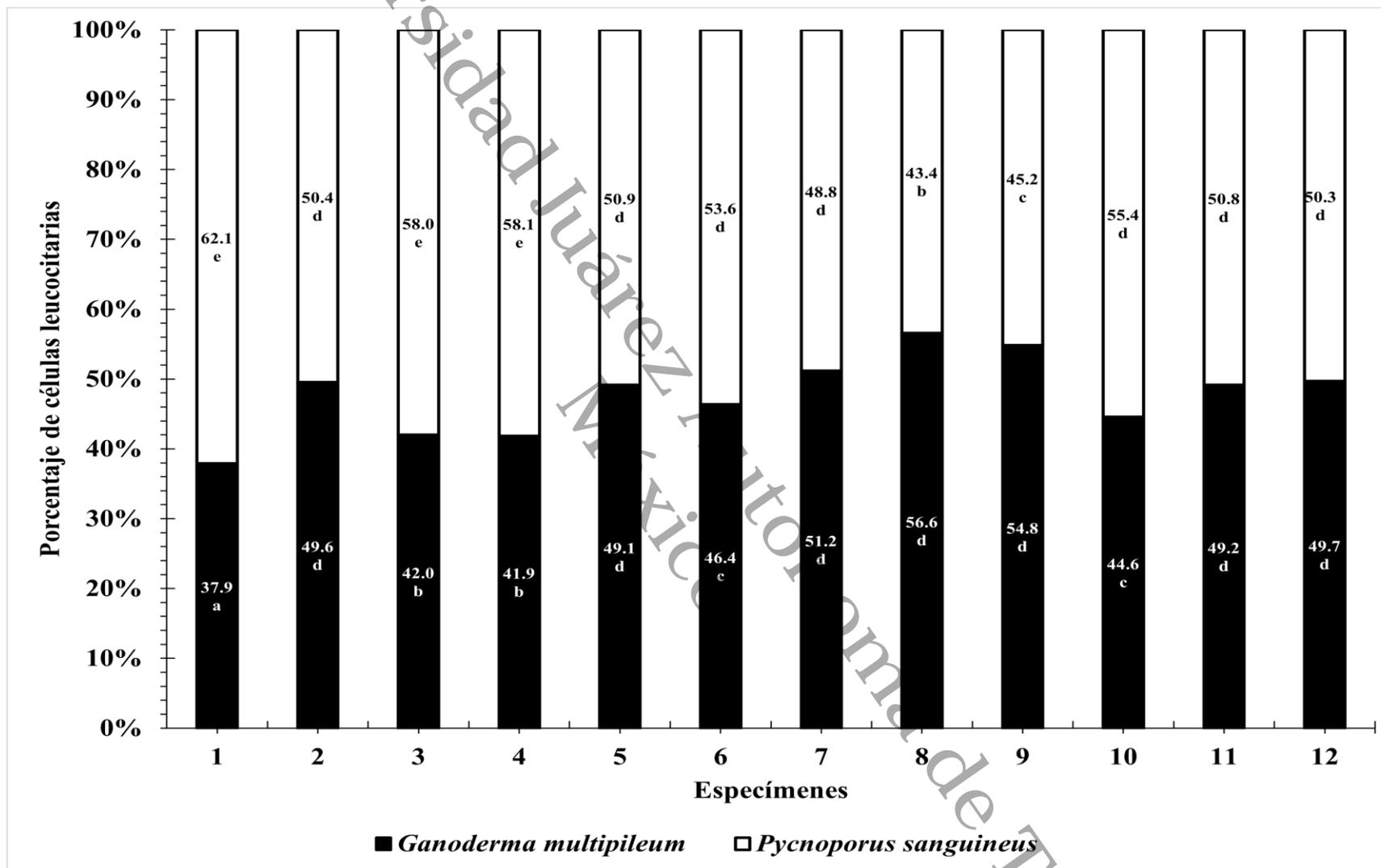
**Fig. 13.** Análisis comparativo de los porcentajes eritrocitarios promedio, en doce especímenes adultos de *O. niloticus* previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo *G. multipileum*. Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de  $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.



**Fig. 14.** Análisis comparativo de los porcentajes leucocitarios promedio, en doce especímenes adultos de *O. niloticus* previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo *P. sanguineus*. Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de  $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.



**Fig. 15.** Análisis comparativo de los porcentajes eritrocitarios promedio, en doce especímenes adultos de *O. niloticus* previo y posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo *P. sanguineus*. Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de  $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.



**Fig. 16.** Análisis comparativo de los porcentajes leucocitarios promedio, en doce especímenes adultos de *O. niloticus* posterior al tratamiento por 24 horas con extractos del hongo *P. sanguineus* y *G. multipileum*. Las literales similares entre especímenes y entre tratamientos, indican que no existen diferencias significativas con valor de  $P \geq 0.05$ , y en caso contrario las diferencias existen.

## VII.- DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los hongos, han sido descritos en una amplia diversidad de ecosistemas y en ellos se ha documentado la eficiente capacidad para sintetizar compuestos metabólicos que representan una fuente importante de potenciales bioproductos para diversos usos como la agroalimentaria, papelera, farmacéutica, etc (Curvetto, 2004; Pineda-Insuasti *et al.* 2017; Trigos and Suárez, 2011).

En acuicultura, recientemente los metabolitos de hongos se han venido empleando con fines profilácticos por los efectos inmunoestimulantes ante factores biológicos y ambientales (López y Torres, 2022; Ruiz-González *et al.* 2018). En dicho sentido, el efecto o las reacciones de los metabolitos fúngicos puede observarse en los peces en las células del tejido hematológico, mediante el análisis de la proporción de células blancas y rojas (Hahn-Von-Hessberg *et al.* 2011; Palma-González, 2021; Penagos *et al.* 2009), como es el caso del que trata la presente investigación. Actualmente, el conocimiento acerca de la variedad de metabolitos presentes en los hongos de la región sureste de México, así como los usos y aplicaciones es aún muy escaso, si se compara con la diversidad de especies que existen en el Reino Fungi (Aguirre *et al.* 2014; Cappello-García *et al.* 2023). Aunado a la inexistencia de interés y del desarrollo de protocolos estandarizados para la extracción de metabolitos de la biomasa de los hongos nativos, todo ello evidencia la importancia y necesidad del estudio para el empleo de solventes inocuos y de métodos de extracción rápidos y económicamente rentables. En dicho sentido, la concentración y los tipos de compuestos que se obtengan durante la aplicación de protocolos de extracción de metabolitos de las diversas partes de los hongos dependen de factores intrínsecos como son, la especie, el sustrato de crecimiento, la humedad, luz y del tipo de agente empleado para la extracción (Cepero *et al.* 2012; González-Morales, 2021).

En acuerdo con la revisión de la bibliografía disponible hasta la fecha (2024), el presente estudio es el primero que se desarrolla con el propósito de evaluar el efecto de los extractos fúngicos del hongo chocolate *G. multipileum* y el hongo colorado *P. sanguineus* nativos del sureste mexicano, sobre la respuesta inmunológica de las células sanguíneas de especímenes adultos de la tilapia *O. niloticus*.

Los promedios de los concentrados obtenidos como productos de los extractos fúngicos de la biomasa del hongo *G. multipileum* y *P. sanguineus* se registraron con diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre los tipos de solventes empleados y las correspondientes

réplicas (**Tabla 1**). Lo anterior se debe a tres circunstancias, la primera es correspondiente con las propiedades químicas de cada uno de los solventes empleados para el estudio y la segunda con la especie biológica, siendo ello congruente con lo reportado por Abugri y McElhenney, (2013) cuando emplearon agua destilada, metanol y etanol sobre la biomasa de los hongos *Agaricus bisporus*, *Trametes versicolor*, *G. applanatum* y *Fomes fomentarius*. En lo que respecta a la tercera circunstancia, es una de las menos exploradas debido a que a lo largo del crecimiento del cuerpo fructífero que forma la biomasa del basidioma, se acumulan probablemente diferentes concentraciones y tipos de metabolitos lo que favorece variaciones significativas en las concentraciones de metabolitos entre replicas, tal y a como fue observado en el presente estudio con *G. multipileum* y *P. sanguineus*. En dicho sentido, es recomendable que, en estudios posteriores, se analice la concentración de metabolitos en relación con la biomasa de las diferentes regiones que integran el cuerpo fructífero.

En el caso del hongo chocolate *G. multipileum*, el solvente que mostró mayor capacidad de extracción fue el metanol, con valor promedio de concentrados de extractos de 45.2 mg/gr, seguido del ácido acético con promedio de 32.2 mg/gr (**Tabla 1**). Tales resultados son congruentes con el estudio comparativo de Abugri y McElhenney (2013), quienes cuantificaron concentraciones máximas de metabolitos fúngicos con el metanol en los hongos poliporales *G. applanatum*, con fenoles de 147.78 mg/ml y 138.80 mg/ml de flavonoides. Mientras que en el hongo *F. fomentarius* lograron extraer 12.96 mg/ml de fenoles y 38.13 mg/ml de flavonoides con el metanol. En el caso de nuestro estudio con *G. multipileum* con el empleo del agua destilada, se logró obtener en promedio 22.7 mg/gr de concentrados de extractos. Sin embargo, en el estudio de Abugri y McElhenney (2013) con *G. applanatum*, los resultados de extracción (4.45 mg/ml de fenoles/11.20 mg/ml de flavonoides) con agua destilada fueron en apariencia inferiores a lo reportado en nuestro estudio; pero estos son congruentes con nuestros resultados, debido a que estos no fueron considerados como un total de extracción (15.65 mg/ml), aunado al tipo de unidad de medida empleado por los autores Abugri y McElhenney (2013).

Por otro lado, Oliveira *et al.* (2014); en el estudio comparativo con los solventes metanol, etanol y agua que fueron empleados para la extracción de metabolitos del cuerpo fructífero de *G. lucidum*, los autores reportan que el extractor más eficiente fue el metanol con concentraciones desde  $107.5 \pm 5.3$  y hasta  $93.3 \pm 9.1$  mg/ml<sup>-1</sup>; simultáneamente comprobaron que los compuestos metanólicos de *G. lucidum* mostraron inhibición del crecimiento de una línea celular de cáncer gástrico, debido a que promueven la muerte de células anormales interviniendo en la apoptosis y el ciclo celular.

En contraste con el hongo chocolate, en el hongo colorado *P. sanguineus*, se observó que el solvente con mayor capacidad de extracción de metabolitos fue el ácido acético, con valores promedio de 44.3 mg/gr, seguido del metanol con registros promedio de 39.2 mg/gr de concentrado (**Tabla 1**). El ácido acético, a diferencia del resto de los solventes usados en este estudio, ha sido poco probado para la extracción de metabolitos de hongos. Sin embargo, Casale (1985); desarrolló un método para la extracción de Psilocibina en hongos alucinógenos en el cual, se induce la desfosforilación del compuesto a Psilocina usando la dilución acuosa del ácido acético; en tal sentido. Así, mismo, Alarcón (2022) comprueba las propiedades ansiolíticas de la Psilocina ante la adición alcohólica condicionada en el mamífero *Mus musculus*, donde, a través del método de Casale, obtuvo 5 mg/gr de concentrado de extracto fúngico del hongo *P. cubensis*; mencionando, mayor pureza del metabolito en comparación con el agua como solvente.

En el estudio de los efectos inmunoestimulantes en *O. niloticus*, con extractos de los hongos *G. multipileum* y *P. sanguineus*, antes de los tratamientos se observaron en los especímenes sanos de tilapia porcentajes de células leucocitarias del 1.8% y para células eritrocitarias del 98.2%. En dicho sentido, Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011) reportan porcentajes de células sanguíneas normales para individuos sanos de *O. niloticus* con presencia de 14.2% de leucocitos y del 85.8% de eritrocitos. Mientras que Sikandar *et al.* (2022), mencionan porcentajes del 1.2% de leucocitos y de 98.8% de eritrocitos. También Jiménez-Morales (2024), reporta porcentajes de leucocitos desde 3.74% y hasta 96.2% de eritrocitos en especímenes silvestres del cíclido *Vieja melanurus*.

En dicho contexto, la proporción de células en el comparativo de los resultados obtenidos como control en este estudio con la literatura citada nos indican que los especímenes de *O. niloticus* se encontraban sanos durante el manejo, un requisito idóneo para el presente análisis.

En contraste, 24 horas después de la exposición de los especímenes de tilapia *O. niloticus* a los tratamientos con extractos de metabolitos fúngicos de *G. multipileum* y *P. sanguineus*, se observaron incrementos significativos ( $P \leq 0.001$ ) en la concentración de células leucocitarias usando ambas especies de hongos (**Fig. 9** y **Fig. 11**). En el tratamiento con los extractos del hongo chocolate *G. multipileum*, 24 horas después del tratamiento, los especímenes mostraron porcentajes promedio de células leucocitarias desde 37.9% y hasta 56.6% (**Fig. 9**) con diferencias significativas ( $P \leq 0.001$ ) entre especímenes. Mientras que en el hongo colorado *P. sanguineus*, los valores porcentuales promedio fueron mayores, con

rango desde 43.4% hasta 62.1% (**Fig. 11**) de células leucocitarias, es decir, la respuesta inmune de los peces fue mayor en la exposición con el hongo colorado.

En el caso del hongo chocolate *G. multipileum*, los porcentajes de células leucocitarias en los especímenes fue de 2.2% y de células eritrocitarias de 97.8%, en tal sentido, algunas especies del género *Ganoderma* con las que comparten metabolitos secundarios son usadas con fines profilácticos contribuyendo a esta respuesta inmune por sus potenciales propiedades antitumorales y antioxidantes debido a la presencia de compuestos fenólicos, ergosteroles, polisacáridos, entre otros (Islas-Santillán *et al.* 2017). En el caso del hongo *G. lucidum* como inmunoestimulador en *O. niloticus*, Yin *et al.* (2008) observaron mejora en la actividad de la lisozima y la fagocitosis de las células del sistema inmune. De manera similar, Sikandar *et al.* (2022), indican parámetros hematológicos con porcentajes del 7.6% de células leucocitarias y 92.4% de células eritrocitarias posteriores a la exposición con una dieta elaborada con biomasa del hongo champiñón *Agaricus bisporus* al 6% por seis semanas. Así mismo, reportan incrementos en la actividad de la lisozima, enzima directamente involucrada en la respuesta innata del sistema inmune de los peces, debido a que promueven mecanismos importantes como la fagocitosis y la activación alternativa de complemento (ACH50).

En comparación con *G. lucidum*, se observó en el tratamiento con extractos de *P. sanguineus*, que los porcentajes de células leucocitarias incrementó a 2.6% y el de las células eritrocitarias disminuyó a 97.4%, siendo este último el más eficiente por la inducción de mayor presencia de células inmunitarias en los especímenes tratados. Lo cual, puede atribuirse al contenido de compuestos como la cinabarina y el ácido cinabarínico derivados de la especie *P. sanguineus*, que han sido poco estudiado en términos de activación del sistema inmunitario en peces (Smânia *et al.* 1998; Smânia *et al.* 2003).

En nuestro estudio, se observó que los especímenes tratados con extractos metabólicos de *G. multipileum* y *P. sanguineus*, mostraron 100% de sobrevivencia 24 horas después de la exposición a los extractos de ambos hongos, manteniéndose así después de 72 horas en el caso de los especímenes tratados con *G. multipileum*. Mientras que en el tratamiento con *P. sanguineus*, la sobrevivencia de los especímenes se redujo a 91.6%. Sin embargo, este último porcentaje se atribuye al estrés durante el manejo de los ejemplares en los experimentos.

Finalmente, los resultados del presente estudio demuestran que las dos especies de hongos utilizadas estimulan la división celular de las células leucocitarias, siendo mayores en el hongo *P. sanguineus*, por todo lo anterior, sería necesario que en el futuro se hagan estudios utilizando organismos contaminados con agentes patógenos y en los cuales se evalúe la

eficacia o respuesta de los extractos fúngicos como los encontrados en la presente investigación con fines terapéuticos y preventivos.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## VIII.- LITERATURA CITADA

- Abugri, D. and McElhenney, W. (2013). Extraction of total phenolic and flavonoids from edible wild and cultivated medicinal mushrooms as affected by different solvents. *Journal of Natural Products and Plant Resource*, 3(3): 37-42.
- Acosta-Urdapilleta, L., Medrano, F. y Villegas, E. (2012). Pigmentos antimicrobianos de *Pycnoporus sanguineus*. En J. Sánchez y G. Mata (Eds.), *México: Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica, investigación y desarrollo en un entorno multicultural*. (pp. 339-347). El colegio de la Frontera Sur e Instituto de Ecología.
- Adongbede, E. and Aduralere, I. (2019). Evaluation of compounds extracted from eight genera of wild mushrooms from Nigeria for anti-cell proliferation activity in vitro. *Iraqi Journal of Science*, 60(5): 952-960.
- Aguilar-Moreno, M. y Aguilar-Aguilar, R. (2024). La tilapia: invasión biológica y gastronómica. *Culinaria*, 27(1): 5-21.
- Aguirre, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J. y Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(1): 76-81.
- Akramiene, D., Kondrotas, A., Didziapetriene, J. and Kévelaitis, E. (2007). Effects of B-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)*, 43(8): 597-606.
- Alarcón, G. (2022). *Extracción de un ansiolítico a partir del hongo Psilocybe para el tratamiento de adicción alcohólica acondicionada en ratones Mus musculus*. Tesis de Licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador, 1-88.
- Amador-del Ángel, L. y Wakida-Kusunoki, A. (2014). Peces invasores en el sureste de México. En R. Mendoza y P. Koleff (coords.), *México: Especies acuáticas invasoras en México*. (pp. 425-433). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Angulo, A. y Gil-León, J. (2022). Claves para la identificación de los peces de las aguas continentales e insulares de Costa Rica. Parte II: Cichliformes, Cichlidae (Mojarras, Guapotes, Tilapias y afines). *UNED Research Journal*, 14(2): 1-25.
- Baby, S., Johnson, A. and Govidan, B. (2015). Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*, 114(1): 66-101.
- Bautista, J. (2013). *Conocimiento tradicional de hongos medicinales en seis localidades diferentes del país*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México. México, 1-171.

- Boukes, G., Koekemoer, T., Van de Venter, M. and Govender, S. (2017). Cytotoxicity of thirteen South African macrofungal species against five cancer cell lines. *South African Journal of Botany*, 113(1): 62-67.
- Bourdette, J., Ndong, H., Bourobou, H. and Engonga, L. (2022). Mycochemical analysis, anti-inflammatory and cytotoxic activities of *Pycnoporus sanguineus* (L.) Murrill, a medicinal mushroom from Gabon. *World Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, 3(1): 1-8.
- Cappello-García, S., García-García, M., Rivas-Acuña, M. y Cifuentes-Blanco, J. (2023). Registros nuevos del género *Ganoderma* (Agaricomycetes: Polyporales) para México y Tabasco. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 94(2): 1-26.
- Casale, J. (1985). An Aqueous-Organic Extraction Method for the Isolation and Identification of Psilocin from Hallucinogenic Mushrooms. *Journal of Forensic Sciences*, 30(1): 247-250.
- Cepero, M., Restrepo, S., Franco-Molano, A. Cárdenas, M. y Vargas, N. (2012). *Biología de hongos*. Bogotá: Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (30 de septiembre de 2020). *Hongos y líquenes medicinales*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal/hongos-liquenes>
- Curvetto, N. (2004). Biotecnología en hongos superiores. *Agro UNS*, 2(1): 12-15.
- De Marco, E., Calder P. and Roche H. (2021).  $\beta$ -1,3/1,6-Glucans and Immunity: State of the Art and Future Directions. *Molecular Nutrition and Food Research*, 65(1): 1-15.
- Devi, L., Waikhom, D. and Salam, A. (2022). *Tilapia parvovirus* (TiPV) The first emerging parvovirus in tilapia. *Aquaculture Spectrum*, 5(9): 21-26.
- Dewi, A. and Mukti, Y. (2022). Immunostimulant potential of oyster mushroom nugget (*Pleurotus ostreatus*). *Journal Pangan dan Agroindustri*, 10(2): 78-82.
- Díaz, R. (2022). Origen y evolución de las vértebras. *ISURU*, 14(1): 12-28.
- Dong-Mei, W., Sheng-Hua, W., Ching-Hua, S., Jin-Torng, P., Ya-Hui, S. and Lung-Chung, C. (2009). *Ganoderma multipileum*, the correct name for '*G. lucidum*' in tropical Asia. *Botanical Studies*, 50(1): 451-458.
- Dubovoy, C. (1968). Conocimiento de los hongos en el México antiguo. *Revista Mexicana de Micología*, 2(1): 82-84.

- Eggert, C., Temp, U. and Eriksson, K. (1996). The lignolytic system of the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: purification and characterization of the laccase. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(4): 1151-1158.
- El-sayed, A. (2016). Tilapia co-culture in Egypt. In Perschbacher, P. and R. Stickney (Eds.), *Tilapia in Intensive Co-culture*. (pp. 211-236). John Wiley & Sons.
- Espinosa-Pérez, H. (2014). Biodiversidad de peces en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(1): 450-459.
- Fazio, F., Lionetto, L., Molinaro, G., Bertrand, H., Acher, F., Ngomba, R., Notartomaso, S., Curini, M., Rosati, O., Scarselli, P., Di Marco, R., Battaglia, G., Simmaco, V., Pin, J., Nicoletti, F. and Goudet, C. (2012). Cinnabarinic acid, an endogenous metabolite of the kynurenine pathway, activates type 4 metabotropic glutamate receptors. *Molecular Pharmacology*, 81(5): 643-656.
- Flajnik, M. and Kasahara, M. (2010). Origin and evolution of the adaptive immune system: genetic events and selective pressures. *Nature Reviews Genetics*, 11(1): 47-59.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2023). *Oreochromis niloticus*. *Cultured Aquatic Species Information Programme*. División de Pesca y Acuicultura. Canadá.  
[https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/oreochromis\\_niloticus\\_es/es](https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/oreochromis_niloticus_es/es)
- Forouhar, M. (2021). A review of the physiology and biology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 10(6): 244–246.
- Fouillioux, C., Contreras, F., Rivera, M., Terán, A. y Velasco, M. (2004). Receptores de glutamato: Implicaciones terapéuticas. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 23(2): 99-108.
- 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(1): 1-10.
- Guadarrama-Pérez, H., Rodríguez-Sólis, Villegas-Villarreal, E., Acosta-Urdapilleta, L., Téllez-Téllez, M. y Díaz-Godínez, G. (2019). *Disminución del crecimiento bacteriano por extractos crudos en el cultivo de Pycnoporus cinnabarinus* [cartel digital]. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Guzmán, G. (1995). La diversidad de hongos en México. *Ciencias*, 39(1): 52-57.
- Guzmán, G. (2008). Diversity and use of traditional Mexican medicinal fungi. A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 10(3): 209-217.

- Hahn-Von-Hessberg, C., Grajales-Quintero, A. y Gutiérrez-Jaramillo, A. (2011). Parámetros hematológicos de Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Revista Veterinaria y Zootecnia, (On Line)*, 5(1): 47–61.
- Heredia, P. (1974). Revisión bibliográfica: la evolución de los peces Teleósteos. *Actualidades Biológicas*, 3(10): 94-96.
- Herrera, T. y Ulloa, M. (2013). *El reino de los hongos: Micología básica y aplicada*. España: Fondo de cultura económica de España. 1-552.
- Index Fungorum. (2024). *Ganoderma*. En *Index Fungorum Search Page*. Consultado el 09 de marzo de 2024. <http://www.indexfungorum.org>
- Islas-Santillán, M., Castañeda, A., Álvarez, A., Valenzuela, R., Romero-Bautista, L. y Torres-Valencia, J. (2017). Estudio preliminar de la actividad antioxidante de tres especies del Género *Ganoderma* (Polyporaceae) nativas del estado de Hidalgo, México. *Scientia Fungorum*, 46(1): 37-45.
- Jiménez-Morales, J. (2024). *Mitoestimulación hematopoyética en la mojarra paleta Vieja melanurus (Günther, 1862)*. Tesis de Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México, 1-45.
- Kamal, A., Batool, M., Saba, M., Albsher, G. and Ahmad, H. (2023). Wild mushroom (*Ganoderma multipileum*) as biosource for zinc oxide nanoparticles: from synthesis to enhance biological applications. *TechRxiv*, 4(1): 1-16.
- Kindt, T., Goldsby, R. and Osborne, B. (2007). *Inmunología de Kuby, 6ª. Ed.* México: McGraw-Hill Interamericana. 1-697.
- Licona, A. (2022). *Efecto de la suplementación de inmunoestimulantes sobre parámetros inmunológicos, expresión de genes y resistencia a Vibrio parahaemolyticus en camarón blanco Penaeus vannamei*. Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. México, 1-89.
- Li-Wei, Z., Yun, C., Sheng-Hua, W., Vlasák, J., De-Wei, L., Meng-Jie, L. and Yu-Cheng, D. (2015). Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny. *Phytochemistry*, 114(1): 7-15.
- López-García, A., Pérez-Moreno, J., Jiménez-Ruiz, M., Ojeda-Trejo, E., Delgadillo-Martínez, J. y Hernández-Santiago, F. (2020). Conocimiento tradicional de hongos de importancia biocultural en siete comunidades de la región chinanteca del estado de Oaxaca, México. *Scientia Fungorum*, 50(1): 1-13.

- López, H., Ayala, N., Rodríguez, O., Portillo, A., Íñiguez A. y Soria, I. (2016). Actividad citotóxica de extractos de hongos silvestres de Ensenada, Baja California, México. *Revista Mexicana de Micología*, 43(1): 37-42.
- López, Y. y Torres, A. (2022). Aditivos inmunoestimulantes en la dieta de especies de tilapias (*Oreochromis ssp.*). *Revista de Producción Animal*, 34(3): 65-79.
- Lustre, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, 23(2): 1-8.
- Medina, N. (2018). *Evaluación de la actividad antagónica de levaduras marinas para el control de hongos fitopatógenos en grano de maíz y su potencial probiótico e inmunoestimulante en caprinos*. Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste]. México, 1-98.
- Miller, R., Norris, S. y Minckley, W. (2009). *Los peces dulceacuícolas de México*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 1-574.
- Mohan, K., Muralisankar, T., Uthayakumar, V., Chandirasekar, R., and Rajan, D. (2019). Dietary *Ganoderma lucidum* polysaccharides to enhance the growth, immune response and disease resistance of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Reports*, 14(1): 1-9.
- Nguyen, T., Nguyen, H., Bui, A., Pham, K., Van, K., Tran, L. and Tran, M. (2023). Phylogenetic analysis and morphology of *Ganoderma multipileum*, a *Ganoderma* species associated with dieback of the metropolitan woody plant *Delonix regia* (Boj. ex Hook.) Raf. in Vietnam. *Science Progress*, 106(3): 1-18.
- Olabeuena, S. (2000). Sistema Inmune en Peces. *Gayana*, 64(2): 205-215.
- Oliveira, M., Reis, F., Sousa, D., Tavares, C., Lima, R., Ferreira, I., Dos Santos, T. and Vasconcelos, M. (2014). A methanolic extract of *Ganoderma lucidum* fruiting body inhibits the growth of a gastric cancer cell line and affects cellular autophagy and cell cycle. *Food Function*, 5(7): 1389–1394.
- Padilla, F. y Cuesta, A. (2003). *Zoología aplicada*. España: Editorial Díaz de Santos. 1-488.
- Palma-González, E. (2021). *Efecto del  $\beta$ -glucano en dieta sobre la respuesta bioproductiva y química sanguínea en juveniles de Tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*)*. Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador, 1-76.
- Penagos, G., Barato, P. y Iregui, C. (2009). Sistema Inmune y Vacunación en Peces. *Acta Biológica Colombiana*, 14(1): 3-24.
- Petrovický, I. (1994). *Peces de acuario*. España: Tikal. 1-496.

- Pineda-Insuasti, J., Gómez-Andrade, W., Duarte-Trujillo, A., Soto-Arroyave, C., Pineda-Soto, C., Fierro-Ramos, F., Mora-Muñoz, E. y Álvarez-Ramos, S. (2017). Producción de *Pycnoporus spp.* y sus metabolitos secundarios: Una revisión. *ICIDCA: Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(2): 60-69.
- Pohlenz, C. y Gatlin, D. (2013). *Nutriendo el sistema inmune de los peces*. En L., Cruz-Suárez, D., Ricque-Maric, M., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, D., Villarreal-Cavazos, J., Gamboa-Delgado, y C., Alvarez-González (Eds), *México: Contribuciones Recientes en Alimentación y Nutrición Acuícola*. (pp. 13-29). Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Prats, G. (2005). *Microbiología clínica*. España: Editorial Panamericana. 1-354.
- Quiroga, Y. y Supelano, W. (2019). *Aporte a la diversidad de Macrohongos (Ascomycetes y Basidiomycetes) presentes en el sendero ecológico de la Quebrada Las Delicias (Chapinero, Bogotá D.C)*. Tesis de Licenciatura, Universidad Distrital San José de Caldas. Colombia, 1-152.
- Rísquez, A. (2023). La lamprea, autentico chupasangre. En *El Instituto de Ecología, A.C.* Consultado el 02 de febrero de 2024. <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1197-la-lamprea-autentico-chupasangre>
- Rodríguez-Amaya, D. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods*. United States: ILSI Press. Brazil, 1-71.
- Rodríguez, J. and Winkelman, M. (2021). Psychedelics, sociality and human evolution. *Frontiers in Psychology*, 12(1): 1-26.
- Rodríguez, N. (2020). *Evaluación del crecimiento "in vitro" del hongo Pycnoporus sanguineus en residuos agroforestales, en Montería Córdoba*. Tesis de Licenciatura, Universidad de Córdoba. España, 1-88.
- Rohr, C., Levin, L., Mentaberry, A. and Wirth, S. (2013). A first insight into *Pycnoporus sanguineus* BAFC 2126 transcriptome. *PloS one*, 8(12): 1-14.
- Rúa-Giraldo, A. (2023). Taxonomía de los hongos: un rompecabezas al que le faltan muchas piezas. *Biomédica*, 43(1): 288-311.
- Ruan-Soto, F. y Ordaz-Velázquez, M. (2015). Aproximaciones a la etnomicología Maya. *Revista Pueblos y Fronteras Digital*, 10(20): 44-69.
- Rubio-Godoy, M. (2010). Inmunología de los peces óseos. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 1(1): 47-57.

- Ruiz-González, L., Rio-Zaragoza, O., Tintos-Gómez, A., Hernández-Rodríguez, M., Guzmán-Dávalos, L., Badillo Zapata, D., y Vega-Villasante, F. (2018). El uso de hongos macroscópicos como inmunoestimulantes en peces teleósteos: estado del arte al 2018. *Hidrobiológica*, 28(2): 209-217.
- Sadofsky, M. (2004). Recombination-activating gene proteins: more regulation, please. *Immunological Reviews*, 200(1): 83-89.
- SEMARNAT. 2019. Modificación del anexo normativo III, lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestres, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, lista de especies em riesgo. Diario Oficial de la Federación "DOF". En línea: [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019#gs.c.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808&fecha=14/11/2019#gs.c.tab=0)
- Shmuel, K. (2022). Urgencia y mecanismo de biosíntesis de metabolitos secundarios microbianos marinos. *International Journal of Science and Society*, 4(2): 138-147.
- Sikandar, S., Naz, S., Khalid, S., Kanwal, R., Ameer, I., Nawaz, S., Khan, A., Ur, A., Kousar, M., Ullah, S. and Nazir, N. (2022). Effect of white button mushroom (*Agaricus bisporus*) on immunity and hematological parameters of *Oreochromis niloticus*. *Zoological Society of Pakistan*, 54(2): 785-790.
- Smânia, A., Marques, C., Smânia, E. Zanetti, C., Carobrez, S., Tramonte, R and Loguercio-Leite, C. (2003). Toxicity and antiviral activity of Cinnabarin obtained from *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *Phytotherapy Research*, 17(9): 987-1126.
- Smânia, E., Smânia, A. and Loguercio-Leite, C. (1998). Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 29(4): 1.
- Soria, M. (2009). *Ecomorfología de los Cíclidos en la Selva Lacandona (Rebima), Chiapas, México* Tesis de Doctorado, El Colegio de la Frontera Sur. México, 1-162.
- Souza, E. and Rocha, M. (2017). Mushrooms: Biology and Life Cycle. En A. Pardo and D. Cunha (Eds.), *United States: Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications*. (pp. 15-33). John Wiley & Sons. 1-562.
- Shim S. M., Lee, J. S. Lee, T. S. and Lee, U. Y. (2012). Antitumor and Immunostimulating Activities of *Elfvigia applanata* Hot Water Extract on Sarcoma 180 Tumor-bearing ICR Mice. *Mycobiology*, 40(1): 47-52.

- Susan, D., Fastanti, F., Sutikno, S., Supriyanti, Y., Robiah, Y. and Ariasari, N. (2021). The genus *Pycnoporus* in Indonesia. *Floribunda*, 6(7): 248-256.
- Talavera-Ortiz, A., Chaverri, P., Díaz-Godínez, G., Acosta-Urdapilleta, L., Villegas, E. and Téllez-Téllez, M. (2020). Mycelial inhibition of *Trichoderma* spp. (Hypocreaceae) isolated from the cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) with an extract of *Pycnoporus* sp. (Polyporaceae). *Acta Botánica Mexicana*, 127: 1-11.
- Téllez-Téllez, M., Villegas, E., Rodríguez, A., Acosta-Urdapilleta, M., O'Donovan, A. and Díaz-Godínez, G. (2016). Fungi of *Pycnoporus*: Morphological and molecular identification, worldwide distribution and biotechnological potential. *Mycosphere*, 7(10): 1–26.
- Trigos, Á. and Suárez, J. (2011). Biologically active metabolites of the genus *Ganoderma*: Three decades of myco-chemistry research. *Revista mexicana de micología*, 34(1): 63-83.
- Velázquez, C. (2005). Teonanácatl, la carne divina. *Elementos: Ciencia y cultura*, 12(60): 31-35.
- Villablanca, E. (2003). *La línea lateral del pez cebra: Un modelo de estudio in vivo de migración, proliferación, neurogénesis y diferenciación celular*. Tesis de Ingeniería, Universidad de Chile. Chile, 1-88.
- Volpedo, A y Vaz-dos-Santos, A. (2015). *Métodos de estudios con otolitos: Principios y aplicaciones*. Argentina: PIESCI-SPU. 1-481.
- Wan-Mohtar, W., Taufek, N., Thiran, J., Rahman, J., Yerima, G., Subramaniam, K. and Rowan, N. (2021). Investigations on the use of exopolysaccharide derived from mycelial extract of *Ganoderma lucidum* as functional feed ingredient for aquaculture-farmed red hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Future Foods*, 3(1): 1-8.
- Yin, G., László, A., Zsigmond, J., Xu, P. and Galina, J. (2008). Chinese Herbs (*Lonicera japonica* and *Ganoderma lucidum*) Enhance Non-Specific Immune Response of Tilapia, *Oreochromis niloticus*, and Protection Against *Aeromonas hydrophila*. In C., Crumlish and R. Subasinghe (Eds.), *Philippines: Diseases in Asian Aquaculture VI: Fish Health*. (pp. 269-282). Asian Fisheries Society.
- Yong-Hwee, E., Bezault, E., Muenzel, F., Roberts, R., Swofford, R., Barluenga, M., Kidd, C., Howe, A., Di Palma, F., Lindblad-Toh, K., Hey, J., Seehausen, O., Salzburger, W., Kocher, T. and Streelman, J. (2013). Origins of Shared Genetic Variation in African Cichlids. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 906-917.

Zenteno-Savín, T., Reyes-Ramos, C., Symon, T., Ramirez-Jirano, L., Bitzer-Quintero, O. y

Gaxiola-Robles, R. (2020). Bases del funcionamiento del sistema inmune. *Recursos Naturales y Sociedad*, 6(1): 55-66.

Zhang, Z. (2021). Research advances on *Tilapia streptococcosis*. *Pathogens*, 10(5): 1-10.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

<b>Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional</b>	
<b>Título de Tesis:</b>	Estudio comparativo de la extracción de metabolitos de <i>Ganoderma multipileum</i> y <i>Pycnoporus sanguineus</i> para pruebas de inmunoestimulación en <i>Oreochromis niloticus</i> .
<b>Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:</b>	Daniela López García
<b>ORCID:</b>	<a href="https://orcid.org/0009-0000-1831-9421">https://orcid.org/0009-0000-1831-9421</a>
<b>Resumen de la Tesis:</b>	<p>En el sureste de México, caracterizado por el clima húmedo, la diversidad de hongos ha sido ampliamente documentada. Sin embargo, la utilidad de tales organismos solo se ha evidenciado como degradadores de materia orgánica y fuente de alimento. En dicho sentido, los metabolitos de hongos macroscópicos con propiedades inmunoestimulantes han sido de reciente interés para la prevención de enfermedades en humanos con aplicación en la acuicultura. Este es el primer estudio en el sureste de México, donde se ha valorado la eficiencia de la extracción de metabolitos de <i>Ganoderma multipileum</i> y <i>Pycnoporus sanguineus</i>, con el fin de evaluar los efectos inmunoestimulantes de los extractos en especímenes adultos de la tilapia <i>Oreochromis niloticus</i>. por ello, se estudió la capacidad de extracción de metabolitos con cinco solventes y se probaron en 12 especímenes adultos sanos de tilapia. Se les suministró intramuscularmente 100,000 µg de extracto por kg de peso y veinticuatro horas después de los tratamientos, se extrajeron muestras de sangre que fueron comparadas y los resultados en porcentajes, analizados estadísticamente. El solvente con mayor capacidad de extracción de metabolitos fue el metanol para <i>G. multipileum</i> y el ácido acético para <i>P. sanguineus</i>; ambas especies</p>

	<p>mostraron capacidad inmunoestimulante en <i>O. niloticus</i>. Sin embargo, los extractos de <i>P. sanguineus</i> dieron mayor estimulación en términos del número de células leucocitarias, estos resultados abren nuevas perspectivas para la aplicación de estos compuestos para el tratamiento de enfermedades en peces.</p>
<p><b>Palabras clave:</b></p>	<p>Bioproductos, Poliporales, Inmunología, Profilaxis, Acuicultura.</p>
<p><b>Referencias citadas:</b></p>	<p>-Baby, S., Johnson, A. and Govidan, B. (2015). Secondary metabolites from <i>Ganoderma</i>. <i>Phytochemistry</i>, 114(1): 66-101.</p> <p>-Cappello-García, S., García-García, M., Rivas-Acuña, M. y Cifuentes-Blanco, J. (2023). Registros nuevos del género <i>Ganoderma</i> (Agaricomycetes: Polyporales) para México y Tabasco. <i>Revista Mexicana de Biodiversidad</i>, 94(2): 1-26.</p> <p>-Hahn-Von-Hessberg, C., Grajales-Quintero, A. y Gutiérrez-Jaramillo, A. (2011). Parámetros hematológicos de Tilapia nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. <i>Revista Veterinaria y Zootecnia, (On Line)</i>, 5(1): 47-61.</p> <p>-López, Y. y Torres, A. (2022). Aditivos inmunoestimulantes en la dieta de especies de tilapias (<i>Oreochromis ssp.</i>). <i>Revista de Producción Animal</i>, 34(3): 65-79.</p> <p>-Penagos, G., Barato, P. y Iregui, C. (2009). Sistema Inmune y Vacunación en Peces. <i>Acta Biológica Colombiana</i>, 14(1): 3-24.</p> <p>-Rubio-Godoy, M. (2010). Inmunología de los peces óseos. Revisión. <i>Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias</i>, 1(1): 47-57.</p>

<p>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.</p>	<p>-Ruiz-González, L., Rio-Zaragoza, O., Tintos-Gómez, A., Hernández-Rodríguez, M., Guzmán-Dávalos, L., Badillo Zapata, D., y Vega-Villasante, F. (2018). El uso de hongos macroscópicos como inmunoestimulantes en peces teleósteos: estado del arte al 2018. <i>Hidrobiológica</i>, 28(2): 209-217.</p> <p>-Téllez-Téllez, M., Villegas, E., Rodríguez, A., Acosta-Urdapilleta, M., O'Donovan, A. and Díaz-Godínez, G. (2016). Fungi of <i>Pycnopus</i>: Morphological and molecular identification, worldwide distribution and biotechnological potential. <i>Mycosphere</i>, 7(10): 1–26.</p> <p>-Trigos, Á. and Suárez, J. (2011). Biologically active metabolites of the genus <i>Ganoderma</i>: Three decades of myco-chemistry research. <i>Revista mexicana de micología</i>, 34(1): 63-83.</p>
--	--