

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DEL GUADIANA**



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LUZ-LED EN LA PRODUCCIÓN DE  
FENOLES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO**

***Cordyceps militaris*”**

**TESIS**

Como requisito parcial para obtener el Título de:

**Licenciada en Biología**

Presenta:

**ALMA YARELI AGUILAR BARRIOS**

Villa Montemorelos, Dgo. Noviembre 2023



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



**TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO**

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DEL GUADIANA**



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LUZ-LED EN LA PRODUCCIÓN DE FENOLES,  
FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO *Cordyceps militaris*”**

**TESIS**

Presenta:

Alma Yareli Aguilar Barrios

Carrera:

Licenciatura en Biología

Dr. Cs. Jaime Herrera Gamboa

Director de tesis

Dra. Cs. Laura Anabel Páez Olivan

Asesor

M. Cs. Néstor Naranjo Jiménez

Asesor

Dr. Alfonso Martínez Rincones

Revisor:

Dra. Cs. Carmen Zulema Quiñones Pérez

Revisor

Villa Montemorelos, Dgo. Noviembre de 2023

Villa Montemorelos, Dgo. **04/octubre/2023**

## DICTAMEN

**C. ALMA YARELI AGUILAR BARRIOS  
PRESENTE:**

Por este conducto me permito informar a Usted, que su solicitud por la opción a Titulación No. **TITULACIÓN INTEGRAL "TESIS PROFESIONAL"**, con el tema **EVALUACION DEL EFECTO DE LUZ LED EN LA PRODUCCION DE FENOLES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO *Cordyceps militaris***, ha sido Autorizado por el Departamento Académico asignándole a los siguientes Asesores y Revisores.

Director de Tesis: M.C. JAIME HERRERA GAMBOA

Revisor: M.C. LAURA ANABEL PÁEZ OLIVAN

Revisor: M.P.D.E. ALFONSO MARTÍNEZ RINCONES

Jurado: Dra. Cs. CARMEN ZULEMA QUIÑONES PEREZ

Por lo que deberá ponerse en contacto con sus Asesores y para lo cual tendrá a partir de la fecha de la presente, un año para terminar su Trabajo.

**ATENTAMENTE**

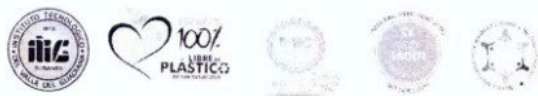
"Educación, ciencia y valores"



**AGAR ARONA ZAYAS**  
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES**



c.c.p. Archivo  
c.c.p. Egresado





Villa Montemorelos, Durango, **20/septiembre/2023**

OFICIO No. CBAS-313/2023

**ASUNTO:** Liberación para  
titulación integral

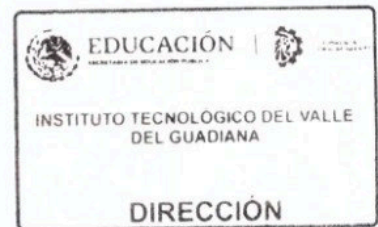
**AGAR AROÑA ZAYAS**  
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES**  
**PRESENTE**

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

<b>Nombre del estudiante y/o egresado:</b>	Alma Yareli Aguilar Barrios
<b>Carrera:</b>	Licenciatura en Biología
<b>No. De Control:</b>	18790020
<b>Nombre del proyecto:</b>	Evaluación del efecto de luz led en la producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo <i>Cordyceps militaris</i>
<b>Producto:</b>	Tesis Profesional

**ATENTAMENTE**

**OSCAR ALEJANDRO SANCHEZ VON BERTRAB**  
**DIRECTOR**



DIRECTOR JAIME HERRERA GAMBOA	SECRETARIO LAURA ANABEL PÁEZ OLIVÁN	REVISOR 1 ALFONSO MARTÍNEZ RINCONES	REVISOR 2 CARMEN ZULEMA QUIÑONES PÉREZ

C.c.p. Expediente.







Villa Montemorelos, Dgo. 13 de noviembre de 2023

Dependencia:	Subd. Académica
Sección:	División de Estudios Profesionales
No. De Oficio:	DEP-2023/194
ASUNTO:	Autorización de Impresión del Trabajo Profesional

C. ALMA YARELI AGUILAR BARRIOS  
No. de Control 18790020  
Presente

Con base en el Reglamento en vigor y teniendo en cuenta el dictamen aprobatorio emitido por el jurado que le fue asignado para la revisión de su Trabajo Profesional para Titulación, esta Jefatura autoriza a usted la impresión del mismo, cuyo título es: **EVALUACION DEL EFECTO DE LUZ LED EN LA PRODUCCION DE FENOLES, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO *Cordyceps militaris***

**TITULACIÓN INTEGRAL "TESIS PROFESIONAL"**

Así mismo se le notifica que dispone de 3 meses a partir de la fecha de la presente autorización, para sustentar el examen profesional, en caso de incumplimiento, la opción de titulación será cancelada.

**ATENTAMENTE**  
"Educación, ciencia y valores"

  
**AGAR ARONA ZAYAS**  
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES**



c.c.p. División de Estudios Profesionales  
c.c.p. Egresado



## **Dedicatoria**

*A Consuelo Barrios Irigoyen y Héctor Aguilar Reyes, con todo el amor y cariño,  
por su esfuerzo y apoyo incondicional que nunca faltó en el camino a este  
sueño.*

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo representa para mí, algo muy especial, no solo por el hecho de haber cumplido el requisito para concluir mi licenciatura y con ello lograr una formación integral al abordar temas sobre los hongos y en particular de la especie *Cordyceps militaris*. Reconozco que durante el desarrollo del proyecto hubo momentos de dudas, propios de una investigación, pero mediante la consulta y revisión de información, así como el continuo seguimiento de mi estudio se pudieron eliminar errores para lograr el objetivo planteado.

Agradezco a Dios fortaleza de seguir adelante cada día y a mis padres por haberme apoyado en todo momento, tanto emocionalmente como económicamente, en cada decisión tomada estar ahí presentes siempre.

Le doy gracias a la institución al Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana y cada uno de los docentes que estuvieron presente en mi formación como Bióloga.

También y no menos importante, agradezco al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Durango, por permitirme realizar esta investigación de manera satisfactoria apoyándome en la utilización de las instalaciones. Mi más sincero agradecimiento a mis asesores el M. en C. Néstor Naranjo Jiménez, al Dr. Jaime Herrera Gamboa y a la Dra. Laura Anabel Páez Olivan, por transmitir sus conocimientos, su apoyo y tiempo para

que se llevara a cabo este proyecto, por compartir su pasión sobre los hongos conmigo y motivarme a seguir en este camino.



## RESUMEN

Los hongos medicinales han sido reconocidos durante mucho tiempo como una parte importante de la cultura y la civilización humana. Las especies del género *Cordyceps* son valoradas por sus componentes de importancia medicinal. *Cordyceps militaris* se ha utilizado con fines medicinales en China, Japón, Corea y otros países asiáticos por sus compuestos con propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales, anti proliferativas y antidiabéticas. Algunos estudios demuestran que la luz influye en la producción de compuestos con actividad biológica. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la luz-LED en la producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo *Cordyceps militaris* en cultivo líquido. En la metodología se realizó un diseño experimental aleatorio, utilizando 24 matraces Erlenmeyer con capacidad de 250 mL con 150 mL de caldo extracto de malta inoculado con *C. militaris*, 12 de ellos estuvieron en oscuridad y el resto fue expuesto en luz-LED en agitación continua en un total de 25 días, tomando muestras los días 5, 10, 15, 20 y 25, y se almacenaron en un ultra-congelador para posteriormente cuantificar fenoles (mg AG/g), flavonoides (mg EQ/g) así como evaluar la capacidad antioxidante (mg EAA/g). Los datos obtenidos fueron evaluados por triplicado, se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Tukey ( $P < 0.05$ ). Se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistics 21. La comparación de las medias mostró que los tratamientos entre oscuridad y luz tuvieron variación en las concentraciones de fenoles, flavonoides

y capacidad antioxidante del hongo *C. militaris* en medio líquido. Para el tratamiento de luz se encontraron valores máximos a los 25 días para fenoles (59.70 mg AG/g ES), flavonoides (87.93 mg EQ/g ES) y CAT (119.86 mg EAA/g ES). En oscuridad fue a los 10 días en fenoles (78.50 mg AG/g ES) y CAT (157.30 mg EAA/g ES), mientras que en flavonoides fue a los 25 días (14.03 mg EQ/g ES). Se concluyó que el efecto de la luz en los hongos incrementa la composición mico-compuestos en medio líquido.

## ABSTRACT

Medicinal mushrooms have long been recognized as an important part of human culture and civilization. Species of the genus *Cordyceps* are valued for their medicinally important components. *Cordyceps militaris* has been used for medicinal purposes in China, Japan, Korea and other Asian countries for its compounds with anti-inflammatory, antioxidant, anti-tumor, anti-proliferative and anti-diabetic properties. Some studies show that light influences the production of compounds with biological activity. Therefore, the objective of the present work was to evaluate the effect of LED light on the production of phenols, flavonoids and antioxidant capacity of the *Cordyceps militaris* fungus in liquid culture. In the methodology, a randomized experimental design was carried out, using 24 Erlenmeyer flasks with a capacity of 250 mL with 150 mL of malt extract broth inoculated with *C. militaris*, 12 of them were in darkness and the rest were exposed in LED light under stirring. continued for a total of 25 days, taking samples on days 5, 10, 15, 20 and 25, and storing them in an ultra-freezer to subsequently quantify phenols (mg AG/g), flavonoids (mg EQ/g) as well as evaluate antioxidant capacity (mg EAA/g). The data obtained were evaluated in triplicate, analyzed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's multiple range test ( $P < 0.05$ ). The statistical software IBM SPSS Statistics 21 was used. The comparison of the means showed that the treatments between darkness and light had variation in the concentrations of phenols, flavonoids and antioxidant capacity of the *C. militaris* fungus in liquid medium. For the light treatment, maximum values were found at 25 days for phenols (59.70 mg AG/g ES), flavonoids (87.93

mg EQ/g ES) and CAT (119.86 mg EAA/g ES). In darkness it was at 10 days in phenols (78.50 mg AG/g ES) and CAT (157.30 mg EAA/g ES), while in flavonoids it was at 25 days (14.03 mg EQ/g ES). It was concluded that the effect of light on fungi increases the myco-compound composition in liquid medium.

## CONTENIDO:

AGRADECIMIENTOS.....	vii
<b>RESUMEN</b> .....	ix
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	xvii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	3
2.1 Generalidades de <i>Cordyceps militaris</i> .....	3
2.2 Clasificación taxonómica de <i>C. militaris</i> .....	4
2.3 Ciclo de vida de hongos entomopatógenos .....	5
2.4 Ciclo de vida de <i>Cordyceps militaris</i> .....	6
2.5 Ecología y distribución de <i>Cordyceps</i> .....	8
2.6 Usos tradicionales de <i>Cordyceps</i> .....	9
2.7 Compuestos bioactivos de los hongos .....	10
2.7.1 Flavonoides .....	10
2.7.2 Fenoles y capacidad antioxidante .....	11
<b>III. OBJETIVOS</b> .....	12
3.1 Objetivo general .....	12
3.2 Objetivos específicos .....	12
<b>V. JUSTIFICACIÓN</b> .....	14
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	15
5.1 Área de estudio y material biológico .....	15
5.2 Propagación del micelio .....	15
5.3 Diseño experimental .....	16
5.4 Preparación del extracto crudo etanólico .....	16
5.6 Cuantificación de fenoles totales .....	17
5.7 Cuantificación de flavonoides totales .....	18
5.8 Evaluación de la capacidad antioxidante total .....	19
5.9 Análisis y procesamiento estadístico .....	21
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	22



<b>6.1 Resultados de las concentraciones de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante.....</b>	<b>22</b>
<b>VII. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>28</b>
<b>IX. REFERENCIAS.....</b>	<b>30</b>
<b>X. ANEXOS.....</b>	<b>36</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Cordyceps militaris</i> : a) estroma emergiendo de una pupa de <i>Paradirphia lasiocampina</i> (lepidóptero) (Tomado de: Pérez-Villamares et al., 2017).....	4
<b>Figura 2.</b> Ciclo de vida de hongos entomopatógenos del orden Hypocreales (Tomado de: Augustyniuk-Kram y Kram, 2012 y López-Rodríguez, 2019).....	6
<b>Figura 3.</b> Ciclo de vida polimórfico de <i>Cordyceps militaris</i> (Tomado de López-Rodríguez, 2019).....	7
<b>Figura 4.</b> Hongo <i>C. militaris</i> parasitando a un insecto.....	8
<b>Figura 5.</b> Curva de calibración con Ácido Gálico para la determinación de contenido fenólico.....	18
<b>Figura 6.</b> Curva de calibración con Equivalente de Quercetina para la determinación de contenido de Flavonoides.....	19
<b>Figura 7.</b> Curva de calibración con Equivalente de Ácido Ascórbico para la determinación de Capacidad Antioxidante Total (CAT).....	20
<b>Figura 8.</b> Contenido fenólico total en tratamientos luz-LED y oscuridad. ....	25
<b>Figura 9.</b> Contenido total de Flavonoides en tratamientos de luz-LED y oscuridad. ....	26
<b>Figura 10.</b> Capacidad antioxidante total en los tratamientos luz-LED y oscuridad. ....	27
<b>Figura 11.</b> Cultivo de <i>Cordyceps militaris</i> en caja Petri.....	36

<b>Figura 12.</b> Cultivo con fragmentos de micelio de <i>Cordyceps militaris</i> en medio líquido. ....	36
<b>Figura 13.</b> Matraces con <i>Cordyceps militaris</i> en cultivo líquido en oscuridad. .	37
<b>Figura 14.</b> Matraces en agitación continua (oscuridad). ....	37
<b>Figura 15.</b> Matraces en agitación continúa con luz-LED. ....	38
<b>Figura 16.</b> Peso en gramos de muestra de micelio fresco. ....	38
<b>Figura 17.</b> Muestra de micelio fresco en maceración. ....	39
<b>Figura 18.</b> Maceración de muestra en oscuridad. ....	39
<b>Figura 19.</b> Muestra de micelio fresco en sonicación. ....	40
<b>Figura 20.</b> Vasos de precipitado a peso constante. ....	40
<b>Figura 21.</b> Muestras listas para centrifugar. ....	41
<b>Figura 22.</b> Secado de extracto en estufa. ....	41
<b>Figura 23.</b> Vasos de precipitado con Extracto seco. ....	42
<b>Figura 24.</b> Obtención de solución concentrada de extracto seco. ....	42
<b>Figura 25.</b> Muestras en Thermoblock. ....	43
<b>Figura 26.</b> Lectura de muestra en espectrofotómetro. ....	43

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Comparación de medias de la cantidad de micocompuestos de <i>C. militaris</i> del día 10 al 25 en tratamientos de luz-LED y oscuridad. ....	23
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

**μL:** microlitros

**AA/mL:** Ácido Ascórbico por mililitro

**AA:** Ácido Ascórbico

**AG:** Ácido Gálico

**ANOVA:** Análisis de Varianza

**CAT:** Capacidad antioxidante total

**EQ:** equivalente de quercetina

**ETOH:** Etanol

**mg AG/g de ES:** miligramos de ácido gálico por gramos de extracto seco

**mg EAA/g ES:** miligramos de equivalentes de ácido ascórbico por gramos de extracto seco

**mg EQ/g de ES:** miligramos de equivalentes de quercetina por gramos de extracto seco

**mg/mL:** miligramos por mililitro

**mL:** mililitros

**nm:** nanómetros

## I.INTRODUCCIÓN

Los hongos del género *Cordyceps* caracterizados como medicinales, producen sustancias bioactivas, las cuales tienen varias funciones como reducir la grasa en sangre, combatir tumores, regular la inmunidad y regular el metabolismo (Xu *et al.*, 2019). Pertenecen a la división Ascomycota, Pyrenomycetes, Hypocreales y Clavicipitaceae teniendo en conocimiento alrededor de 700 especies (Das *et al.*, 2021). *Cordyceps* es el nombre que se le ha dado al hongo que infecta a insectos, su presencia se conoce aproximadamente desde el año 2000 a. C (Das *et al.*, 2010). La palabra *Cordyceps* se origina en el término de Greck “kordyle” que significa “Club” y el etymon latino “ceps” que se significa cabeza (Das *et al.*, 2021). Este género como se mencionó anteriormente, infecta insectos por lo que son considerados como hongos entomopatógenos, estos evaden el sistema inmunológico del hospedador armonizando el ciclo de vida del huésped con la intención de sobrevivir y de multiplicarse (Olatunji *et al.*, 2018).

*Cordyceps militaris* se ha utilizado con fines medicinales en China Japón, Corea y otros países asiáticos ya que posee muchas actividades biológicas y



farmacológicas, tales como los compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes incluidas las antiinflamatorias, antitumorales, antiproliferativas y antidiabéticas (Kho *et al.*, 2016); esto sucede gracias a la interacción que tiene este hongo con el hospedador, el cual producirá diferentes metabolitos secundarios como cordicepina, ácido yaminobutirico, adenosina, guanocina, exopolisacaridos, cordicinina A-E, entre otros (Yi *et al.*, 2015). Se han estudiado diversas metodologías sobre el cultivo de *Cordyceps* en medios artificiales para su producción y consumo.

La producción de hongos a nivel industrial y semiindustrial empleando diferentes sustratos sólidos como zanahoria, bagazo de caña, cascarilla de café, arroz o entre otras mezclas como fuente de carbono (Chávez-García *et al.*, 2008). Debido a la capacidad que tienen los hongos de desarrollarse en diversos sustratos y condiciones medio ambientales, se ha cultivado en medio líquido como una herramienta para obtener más compuestos en menor tiempo (Suárez-Arango y Nieto, 2013). La mayoría de las especies de hongos responden y se adaptan a diversas señales ambientales incluida la luz, que favorece su productividad, tanto en calidad como en cantidad, al estar estrechamente relacionada con la formación de cuerpos fructíferos. La luz-LED es útil para producir niveles mayores de metabolitos secundarios (Kho *et al.*, 2016). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la luz-LED en la producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo *Cordyceps militaris* en cultivo líquido

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Generalidades de *Cordyceps militaris*

Es la especie más conocida del género *Cordyceps*. Su diversidad morfológica y adaptación a una amplia gama de insectos hospedadores probablemente contribuye a su presencia en diversas regiones geográficas y zonas ecológicas en el mundo (Shrestha *et al.*, 2012). Todas las especies del género *Cordyceps* forman estromas emergentes de masas miceliales compactas que difieren en forma, tamaño y color. Los estromas pueden ser aciculares, cilíndricos, clavados o capitados, con cabezas cilíndricas, obovadas, ovoides, elipsoides, globosas, aplanadas o peltadas, simples o con ramificaciones y tamaños que van de 1.5-2.5 mm, hasta 20-30 cm (Figura 1) (Castro-Bustos *et al.*, 2012).

**Figura 1.** *Cordyceps militaris*: a) estroma emergiendo de una pupa de *Paradirphia lasiocampina* (lepidóptero) (Tomado de: Pérez-Villamares et al., 2017).



## 2.2 Clasificación taxonómica de *C. militaris*

**Reino:** Fungi

**Filo:** Ascomycota

**Clase:** Sordariomycetes

**Subclase:** Hypocreomycetidae

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** Cordycipitaceae

**Género:** *Cordyceps*

**Especie:** *C. militaris*

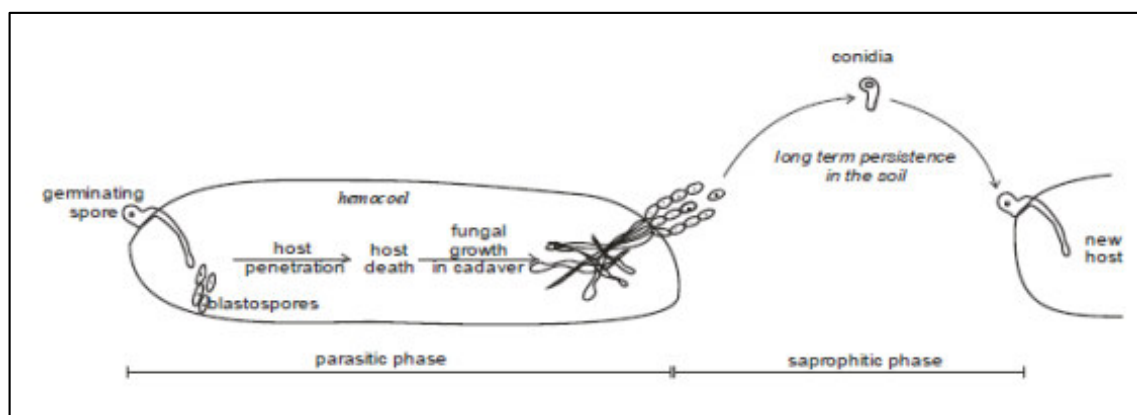
(Jian-Jun Hu *et al.*, 2021)

Recientemente se realizó un estudio filogenético con datos moleculares, a partir del cual se planteó una nueva clasificación en la que separa al género *Cordyceps* en 3 familias: Clavicipitaceae, Cordycipitaceae y Ophiocordycipitaceae (Pérez-Villamares *et al.*, 2017) y 4 géneros: *Metacordyceps*, *Cordyceps sensu stricto*, *Ophiocordyceps* y *Elaphocordyceps*, de acuerdo a estudios filogenéticos realizados con caracteres morfológicos y utilizando los marcadores moleculares LSU, SSU, RPB1, RPB2 Tef y mtATP6 (López-Rodríguez, 2019).

### **2.3 Ciclo de vida de hongos entomopatógenos**

El ciclo de vida de los hongos entomopatógenos se considera complejo debido a que presenta fases asexuales y sexuales, en el estado asexual se reproduce por medio de blastosporas, conidios y/o clamidosporas, y en el estado sexual se reproducen con la formación de ascosporas (Augustyniuk-Kram y Kram, 2012). Así mismo dándole otro nombre a estas dos fases que menciona el autor, las cuales son: fase parasítica (en la cual el hongo parasita al huésped) y la fase saprobia (después de la muerte del huésped) (Figura 2) (López-Rodríguez, 2019).

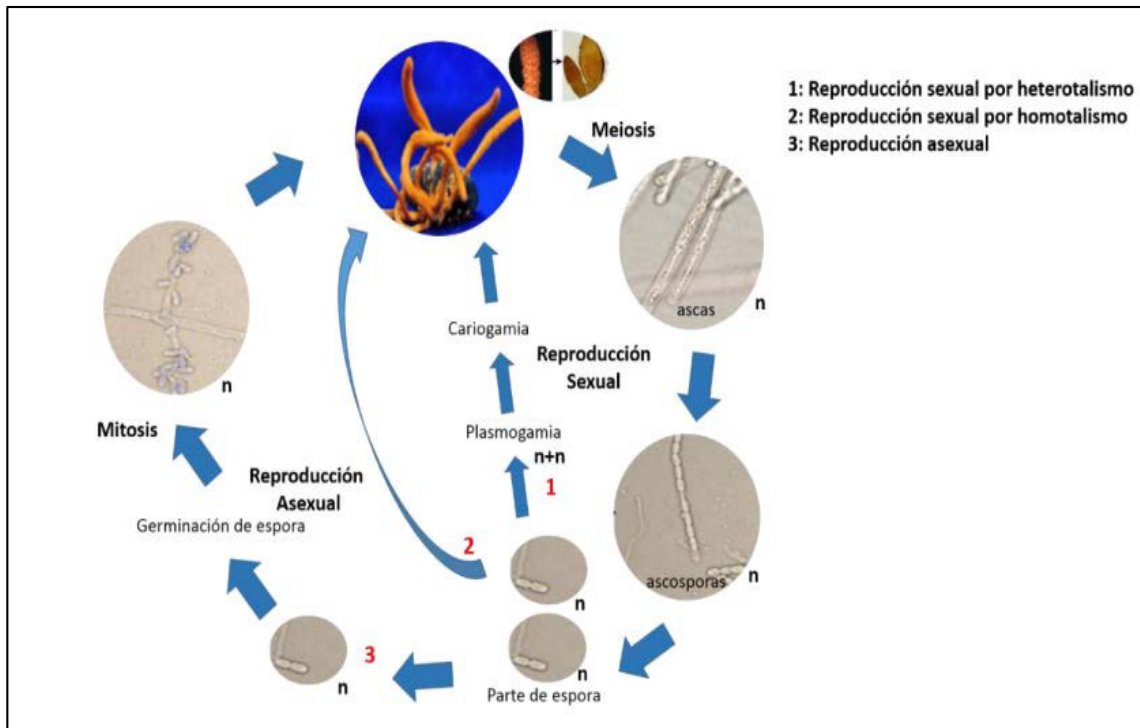
**Figura 2.** Ciclo de vida de hongos entomopatógenos del orden Hypocreales  
(Tomado de: Augustyniuk-Kram y Kram, 2012 y López-Rodríguez, 2019).



#### 2.4 Ciclo de vida de *Cordyceps militaris*

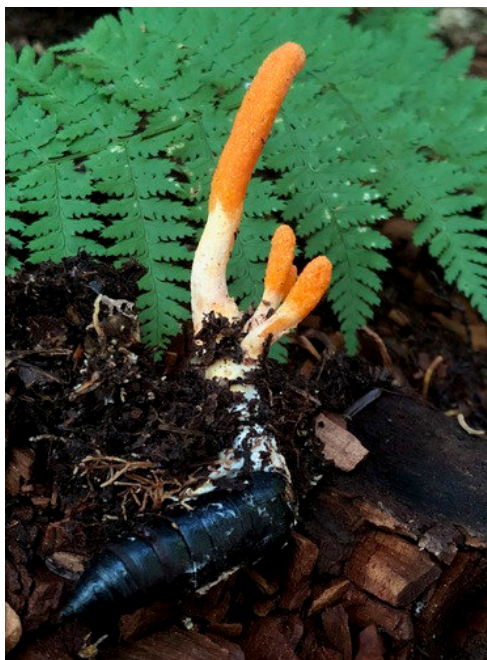
El hongo *C. militaris* presenta un ciclo de vida polimórfico, es decir, se reproduce asexual y sexualmente. En la reproducción asexual forma conidios o blastosporas que dan lugar a un estroma, y en la reproducción sexual también dan lugar a estromas, pero a partir de la germinación de ascosporas, por lo que pueden formar estromas por heterotalismo bipolar o logran formar estromas por homotalismo (Figura 3) (Zhuangli *et al.*, 2011; López-Rodríguez, 2019).





**Figura 3.** Ciclo de vida polimórfico de *Cordyceps militaris* (Tomado de López-Rodríguez, 2019).

Para que el proceso de infección se lleve a cabo, implica que se adhiera la espora a la cutícula, para que ocurra la germinación, penetración del integumento y la diseminación interna de todo el cuerpo. Posteriormente sucede una manipulación en el comportamiento del insecto, logrando colapsar su sistema inmune hasta su muerte poco tiempo después. Los órganos internos del hospedero son eventualmente degradados. Finalmente, las hifas del hongo emergen al exterior del cadáver del insecto dando lugar a los cuerpos fructíferos y la esporulación, durante el proceso de infección mencionado, podría estar involucrada la producción de metabolitos secundarios (Figura 4) (Osorio-Posada, 2019).



**Figura 4.** Hongo *C. militaris* parasitando a un insecto.

## **2.5 Ecología y distribución de *Cordyceps***

Los hongos del género *Cordyceps* son cosmopolitas por lo que se distribuyen en donde encuentren condiciones favorables para desarrollarse y reproducirse, la mayoría de las especies se encuentran concentradas en los bosques tropicales, primarios y lluviosos. Otro factor importante para su aparición es la relación con la alta diversidad de entomofauna que se encuentra en los lugares mencionados. Dentro del hábitat, generalmente se ubican en el sotobosque por el suelo, hojarasca, raíces de árboles, leños en descomposición, o en las estructuras basales o elevadas de las plantas, exponiendo habitualmente al exterior sólo los cuerpos fructíferos (Osorio-Posada, 2019). El hongo *C.*

*militaris* presenta una extensa distribución en México, se han registrado estas apariciones debido a que se ha encontrado y recolectado sobre algunos insectos como larvas y pupas de lepidópteros nocturnos de las familias Geometridae, Noctuidae y Sphingidae, en diferentes tipos de bosques como: bosque mesófilo de montaña, bosques de *Pinus-Quercus*, bosque tropical subcaducifolio, bosque tropical perennifolio, mencionándose que solo se ha encontrado un reporte de este hongo sobre coleópteros adultos de una selva baja caducifolia (Pérez-Villamares *et al.*, 2017). La gran mayoría de las especies de *Cordyceps* presentes en México se localizan en las zonas occidente, centro y sur (Castro-Bustos *et al.*, 2012).

## **2.6 Usos tradicionales de *Cordyceps***

En Asia son utilizados algunos hongos entomopatógenos en la medicina tradicional, principalmente se han realizado diversas investigaciones acerca de los hongos del género *Cordyceps*, primordialmente la especie *Cordyceps militaris*, por lo que se ha demostrado que en esta especie produce metabolitos como la cordicepina (3´deoxiadenosina), ergosterol, polisacáridos, glicoproteínas y péptidos los cuales muestran propiedades antitumorales, anticancerígenas, antiprotazoarias, antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas, anti-VIH, antimalaria, insecticidas, larvicidas, antimicrobianas, hipolipemiantes, hipoglucémicas, neuroprotectivas y renoprotectivas (Das *et al.*, 2010). Debido a que poseen todas estas propiedades han sido considerados como alimentos funcionales, de acuerdo con Alvidrez *et al.* (2002), los alimentos

funcionales son caracterizados por tener además de sus componentes nutritivos moléculas bioactivas benéficas para la reducción de riesgo de una enfermedad (López-Rodríguez y Burrola-Aguilar, 2019).

## **2.7 Compuestos bioactivos de los hongos**

Se ha comprobado que los hongos producen compuestos biológicamente activos, que tienen propiedades de suma importancia y altamente beneficiosos para la salud. La cantidad y concentración de estos dependerá de las condiciones del sustrato en la que se encuentren, así como las condiciones medioambientales, como el pH, la luz, temperatura y humedad. Entre los compuestos bioactivos se encuentran: polisacáridos, proteínas, compuestos fenólicos, flavonoides, ligninas, triterpenos, entre otros (Mendiola-Lanao, 2017).

### **2.7.1 Flavonoides**

Los flavonoides son compuestos bioactivos polifenólicos, los cuales poseen acciones biológicas y farmacológicas, por su estructura se les atribuye una capacidad antioxidante, por lo que proporciona una protección contra el daño oxidativo de las células, tiene un efecto positivo como el prevenir enfermedades como el cáncer, las cardiovasculares, aumentar la capacidad cognitiva, potencial hepatoprotector y actividades antimicrobianas (Mares-Quiñones y Naranjo-Jiménez, 2013).

### **2.7.2 Fenoles y capacidad antioxidante**

Los fenoles forman parte de uno de los grupos más abundantes de los metabolitos secundarios por lo que son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina (Martin, 2018). Los compuestos fenólicos se encuentran entre las sustancias bioactivas más potentes y útiles terapéuticamente, proporcionando beneficios para la salud asociados con un menor riesgo de enfermedades crónicas y degenerativas (Gómez-Herrador, 2014).

Los antioxidantes son compuestos que impiden o retardan la oxidación de otras moléculas mediante la iniciación de la inhibición de la propagación de reacciones en cadena oxidativas. Estos antioxidantes actúan principalmente en reacciones de terminación de cadenas de radicales libres, impidiendo la oxidación de lípidos y otras moléculas cediendo átomos de hidrógeno (Mares-Quiñones y Naranjo-Jiménez, 2013)



### **III.OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto de la luz-LED en la producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo *Cordyceps militaris* en cultivo líquido.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Propagar la cepa del hongo *C. militaris* en medio nutritivo malta-agar-levadura.
- Cuantificar los metabolitos secundarios; fenoles, flavonoides y CAT en cultivo líquido presentes en el micelio de *C. militaris* en oscuridad y luz- LED.

#### **IV.HIPOTESIS**

El uso de luz-LED puede influir en la producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo *Cordyceps militaris* en cultivo líquido.

## V.JUSTIFICACIÓN

Existen estudios realizados en hongos entomopatógenos de interés medicinal, principalmente en la especie de *Cordyceps militaris* se les ha considerado como un alimento funcional por el efecto positivo en la salud (Alvídrez *et al.*, 2002; López-Rodríguez y Burrola-Aguilar, 2019). La producción de hongos se ha enfocado a la exposición de luz y el efecto que causa sobre el crecimiento y desarrollo de los cuerpos fructíferos, existen reportes recientes sobre los efectos que tiene la aplicación luz- LED en el aumento de la producción de metabolitos secundarios (Kurtzman y Martínez-Carrera, 2013). Pero se tiene poca información sobre el efecto de la luz-LED en el cultivo en fase líquida del hongo *C. militaris*, en relación con la producción de micocompuestos con actividad antioxidante de interés medicinal. De ahí la importancia de generar una estrategia tecnológica que nos permita modular la producción de metabolitos secundarios en cantidad y calidad. Por ende, se plantea como hipótesis que el uso de luz-LED blanca podría influir en la producción de micocompuestos con actividad antioxidantes del hongo *C. militaris* cultivado en medio líquido.

## VI.MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Área de estudio y material biológico

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de hongos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN Durango). Se utilizó una cepa comercial CYM2021C1 de *Cordyceps militaris* de la empresa Notsi micofinca, ubicada en la Ciudad de Querétaro, México ([www.notsi.mx](http://www.notsi.mx)).

### 5.2 Propagación del micelio

Para la propagación y el mantenimiento de micelio, se colocaron 0.5 mililitros de la cepa comercial de *C. militaris* en cajas Petri con medio de cultivo agar extracto de malta (Figura 11) y se incubaron a 25 °C por 7 días. Posteriormente, se tomaron fragmentos de micelio utilizando una aguja estéril y se inocularon en matraces de 150 mL de Caldo extracto de malta (Figura 12), y se mantuvieron en agitación continua durante 25 días a una temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (Figura 13 y 14).

### **5.3 Diseño experimental**

Para el análisis estadístico de este estudio se utilizó un diseño completamente al azar, con dos tratamientos y con 12 repeticiones, y un total de 24 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistió en un matraz Erlenmeyer que contenían 150 mL de caldo extracto de malta, que fueron inoculados con fragmentos de 1 cm<sup>2</sup> del hongo *C. militaris*. Se evaluaron mediante 2 tratamientos, donde 12 matraces fueron expuestos a luz-LED blanca y el restante se mantuvo en oscuridad total durante 24 horas (Figura 14 y 15). Se tomaron muestras de micelio a partir de los 10, 15, 20 y 25 días en tubos Corning con capacidad de 50 mL, las muestras obtenidas se almacenaron en un ultra congelador hasta su utilización de acuerdo con Montoya et al. (2018).

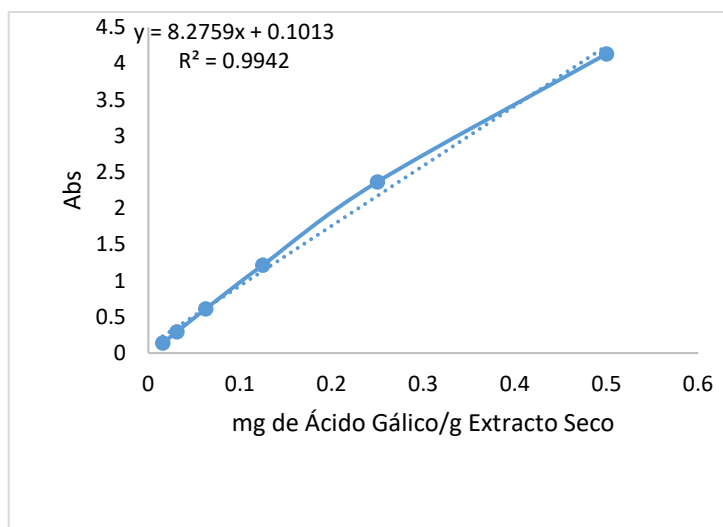
### **5.4 Preparación del extracto crudo etanólico**

La extracción se efectuó utilizando 4 g de muestra de micelio fresco (Figura 16) por maceración con 40 mL de una solución de etanol al 80% (v/v) durante 24 horas en oscuridad (Figura 17 y 18) y 1 hora en sonicación (Figura 19). Se centrifugó a 6000 rpm por 10 minutos (Figura 21) recuperando el sobrenadante. Anterior a esto, se llevaron a peso constante vasos de precipitado de 50 mL los cuales fueron etiquetados respecto al número de muestra y nombre del tratamiento correspondiente (Figura 20), el sobrenadante se recuperó en los vasos de precipitado cubiertos con aluminio para protección de los extractos de luz debido a que estos son fotosensibles, enseguida se pusieron a secar a una

temperatura de 37° C en una estufa (Figura 22 y 23), después se pesó el extracto seco para conseguir el rendimiento a 50mg/mL utilizando ETOH 80% para obtener una solución concentrada (Figura 24). Finalmente, se hicieron diluciones las cuales se prepararon por triplicado de cada muestra y se llevaron a 10mg/mL utilizando la formula  $C_1 V_1 = C_2 V_2$ , tomándose distintas alícuotas para las determinaciones.

## 5.6 Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación se realizó siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Nurmi *et al.*, 1996). Se utilizó carbonato de sodio al 7%, se agregaron 200µL, 250µL de Folin a 50µL de muestra y se dejó reposar en oscuridad 2 hrs. Por análisis de regresión lineal de la curva estándar de ácido gálico (AG), la lectura se llevó a cabo en un Espectrofotómetro Genesys105 UV-Vis Thermo Scientific, a una longitud de onda de 765 nm (Figura 26) y un coeficiente de correlación  $r = 0.9942$ . La curva de calibración de AG se preparó a partir de una solución con 0.01 mg de quercetina/mL  $A_{765} = 8.2759 [AA] + 0.1013$  de etanol contra la absorbancia ( $r = 0.9942$ ) y el contenido de fenoles totales se expresó en miligramos equivalentes de AG por gramo de muestra seca (mg AG/g de ES) (Figura 5). Se llevaron a cabo por triplicado con tres repeticiones y los valores se expresaron como la media de tres mediciones  $\pm$  la desviación estándar.

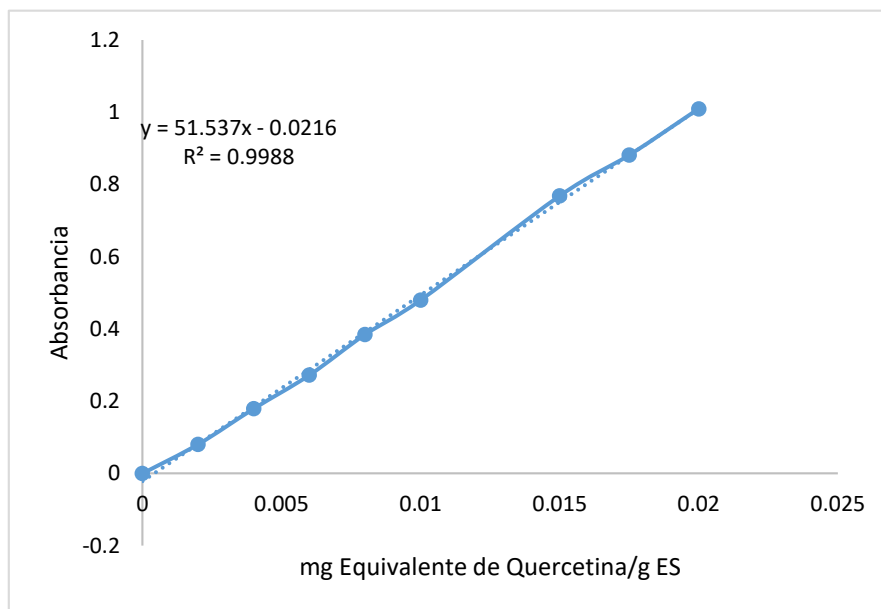


**Figura 5. Curva de calibración con Ácido Gálico para la determinación de contenido fenólico.**

### 5.7 Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides totales se realizó mediante la técnica propuesta por Woisky y Salatino (1998). Se utilizó cloruro de aluminio al 2% agregando 250 $\mu$ L a 250  $\mu$ L de muestra, dejándola reposar 1 hora en oscuridad, este método se realizó usando una curva estándar de quercetina construida con alícuotas desde 1 hasta 140  $\mu$ L mL<sup>-1</sup> de una solución de etanol/agua al 50% (v/v) contra su absorbancia  $r = (0.9988)$  las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Genesys105 UV-Vis Thermo Scientific, a una absorbancia de 405 nm y un coeficiente de correlación  $r = 0.9988$ . El contenido de flavonoides totales se expresó como miligramos equivalentes de quercetina (EQ) por gramo de muestra seca (mg EQ/g de ES) (Figura 6). Todas las determinaciones se

llevaron a cabo por triplicado con tres repeticiones y los valores se expresaron como la media de tres mediciones  $\pm$  la desviación estándar.



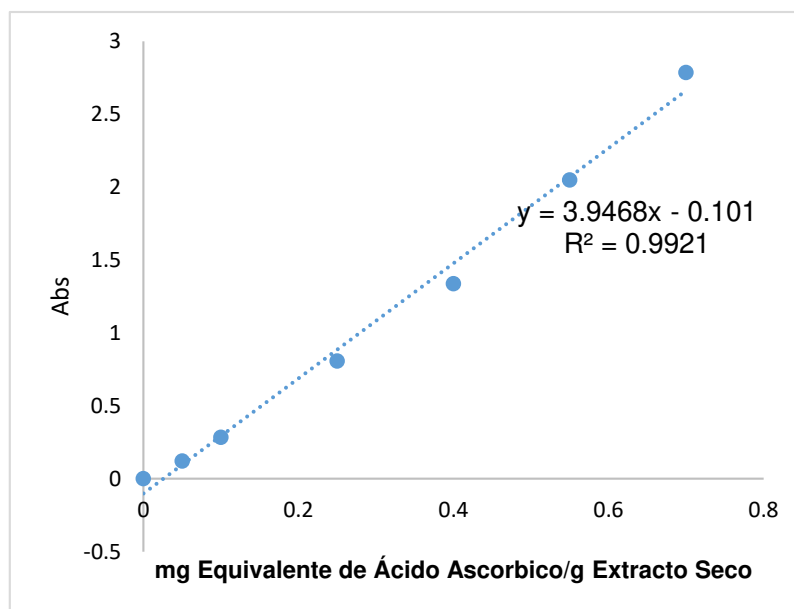
**Figura 5.** Curva de calibración con Equivalente de Quercetina para la determinación de contenido de Flavonoides.

### 5.8 Evaluación de la capacidad antioxidante total

La capacidad antioxidante total se determinó usando un reactivo con una mezcla de Fosfato de sodio (hept) 28Mm, Ácido Sulfúrico 0.6M y Molibdato de Amonio 4mM, siguiendo la técnica propuesta por Prieto *et al.* (1999), donde a 50  $\mu$ L de extracto se le añadió 500  $\mu$ L de la solución reactiva de fosfomolibdeno, enseguida se incubaron dichas muestras en un termoblock THERMO SCIENTIFIC DB28125 a 95°C durante 90 min. (Figura 25). Se enfriaron a



temperatura ambiente y la absorbancia se midió en Espectrofotómetro Genesys105 UV-Vis Thermo Scientific, cada una de las muestras se midió a 695 nm ( $r=0.9921$ ). El ácido ascórbico (AA, 1 mg/mL) fue usado como referencia para construir la curva de calibración con seis concentraciones de ácido ascórbico entre 0.1 y 1 mg AA/mL,  $A_{695} = 3.9468 [AA] - 0.101$  con un coeficiente de correlación  $r = 0.9921$ . Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico por g de muestra seca (mg EAA/g MS) (Figura 7). Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado con tres repeticiones y los valores se expresaron como la media de tres mediciones  $\pm$  la desviación estándar.



**Figura 6.** Curva de calibración con Equivalente de Ácido Ascórbico para la determinación de Capacidad Antioxidante Total (CAT).

## **5.9 Análisis y procesamiento estadístico**

Los datos obtenidos fueron evaluados por triplicado, se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Tukey ( $P < 0.05$ ). Se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistics 21.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Resultados de las concentraciones de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA) e indican que se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ). La comparación de medias mostró que los tratamientos entre obscuridad y luz tuvieron variación en las concentraciones de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo *Cordyceps militaris* en medio líquido. Para el tratamiento de luz se encontraron valores máximos a los 25 días para fenoles (59.70 mg AG/g ES), flavonoides (87.93 mg EQ/g ES) y CAT (119.86 mg EAA/g ES). En obscuridad fue a los 10 días en fenoles (78.50 mg AG/g ES) y CAT (157.30 mg EAA/g ES), mientras que en flavonoides fue a los 25 días (14.03 mg EQ/g ES).

**Tabla 1.** Comparación de medias de la cantidad de micocompuestos de *C. militaris* del día 10 al 25 en tratamientos de luz-LED y oscuridad.

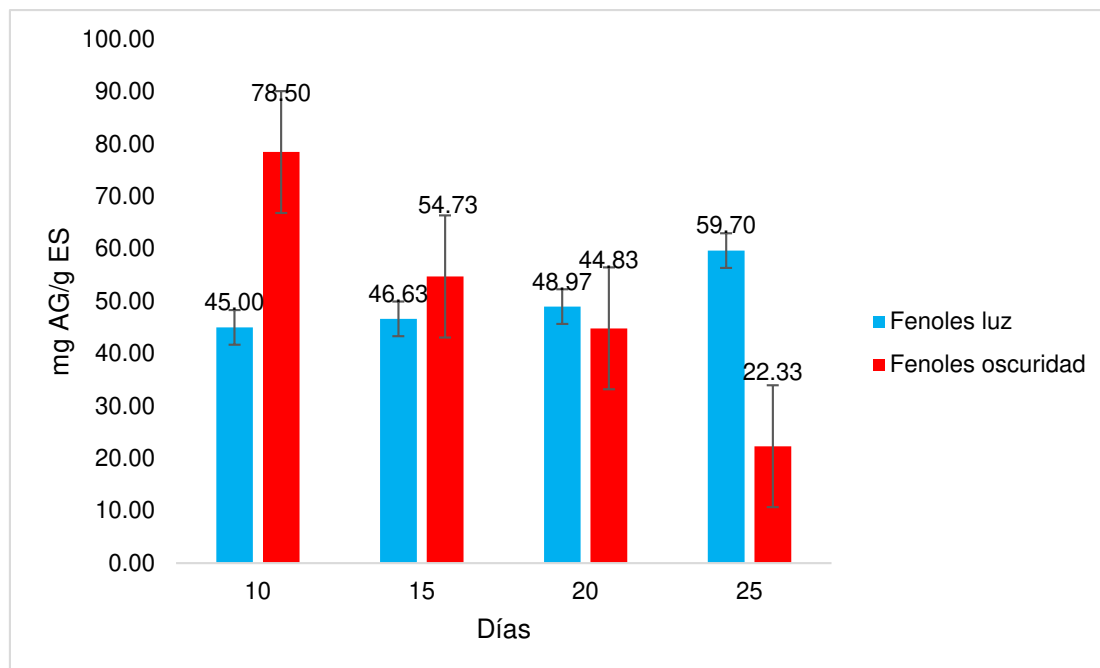
<b>Días/Luz</b>	<b>Fenoles (mg EAG/g ES)</b>	<b>Flavonoides (mg EQ/g ES)</b>	<b>CAT (mg EAA/g ES)</b>
<b>10</b>	45.00± 1.93 b	16.70± 1.03 c	60.46± 2.86 c
<b>15</b>	46.63± 1.76 b	32.33± 4.11 c	68.20± 4.35 bc
<b>20</b>	48.96± 1.24 b	59.70± 5.19 b	81.06± 3.42 b
<b>25</b>	<b>59.70± 1.61 a</b>	<b>87.93± 4.14 a</b>	<b>119.86± 5.90 a</b>
<b>Días/Oscuridad</b>			
<b>10</b>	<b>78.50± 4.53 a</b>	7.50± 0.20 b	<b>157.30± 1.09 a</b>
<b>15</b>	54.73± 2.29 b	6.06± 0.89 b	105.16± 1.61 b
<b>20</b>	44.83± 1.35 b	9.56± 0.31 b	89.53± 2.20 c
<b>25</b>	22.33± 0.92 b	<b>14.03± 1.34 a</b>	44.83± 1.95 d

Se muestran los valores promedio ± desviación estándar.

Valores con letras diferentes presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

El contenido de fenoles fue mayor en oscuridad a los 10 días, observando una disminución en el transcurso de estos, en comparación con el tratamiento luz-LED donde se observó un aumento conforme transcurrieron los días (Figura

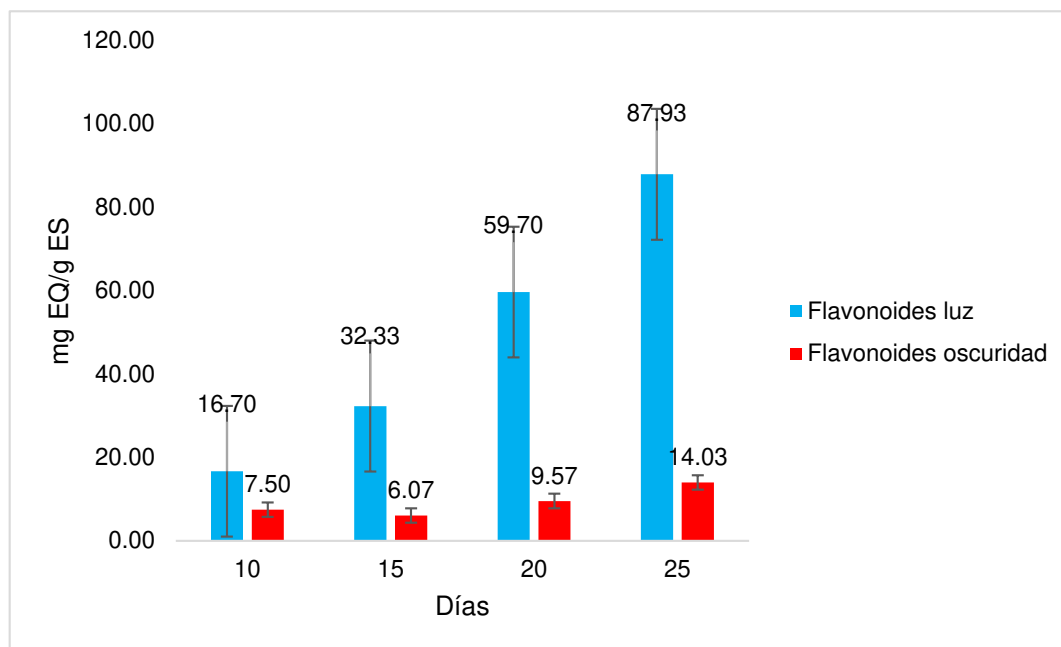
8). En un estudio realizado por Oh *et al.* (2014) con la especie *Cordyceps pruinosa*, se comparó diferentes medios de cultivo líquido, en condiciones diferentes de luz, y como resultado se obtuvo la cantidad de 59.57 mg EAG en medio agar dextrosa saboraud con extracto de levadura (SDAY) con luz y 64.08 mg EAG en medio de nuez con SDAY sin luz; así, estos resultados reportan contenido de fenoles menor a los obtenidos de la especie de *C. militaris*, tanto en presencia, como en ausencia de luz. De acuerdo con Tee (2006) el contenido fenólico en hongos podría presentar variaciones debido a la especie, medio de cultivo y condiciones ambientales, que puede tener efectos en el metabolismo y generar mayores concentraciones de compuestos. Como en este caso, el uso de luz-LED durante 24 horas, hubo mayor concentración en el contenido fenólico, estadísticamente se encuentra una correlación de Pearson de (0.841) demostrando que el estímulo de luz favorece positivamente la producción de fenoles.



**Figura 7.** Contenido fenólico total en tratamientos luz-LED y oscuridad.

Para la concentración de flavonoides totales, se observó que en ambos tratamientos se presentaron incrementos en el contenido a través del tiempo, diferenciándose mayormente para el tratamiento luz-LED (Figura 9). En el estudio realizado por Ha *et al.* (2022), se realizó una comparación del perfil metabólico del micelio y cuerpos fructíferos de *Cordyceps militaris* cultivados artificialmente, donde el micelio y cuerpos fructíferos fueron expuesto a luz-LED roja y azul en un periodo de tiempo de 7hrs/día, presentaron una concentración mayor de 7.64 mg EQ/g ES y de 5.19 mg EQ/g ES, respectivamente. Los cuerpos fructíferos fueron expuestos a 12hrs luz y 12 en oscuridad, en comparación con los resultados obtenidos de este trabajo, el hongo *C. militaris* cultivado en medio líquido con exposición a la luz-LED 24 hrs tuvo mayor contenido de flavonoides

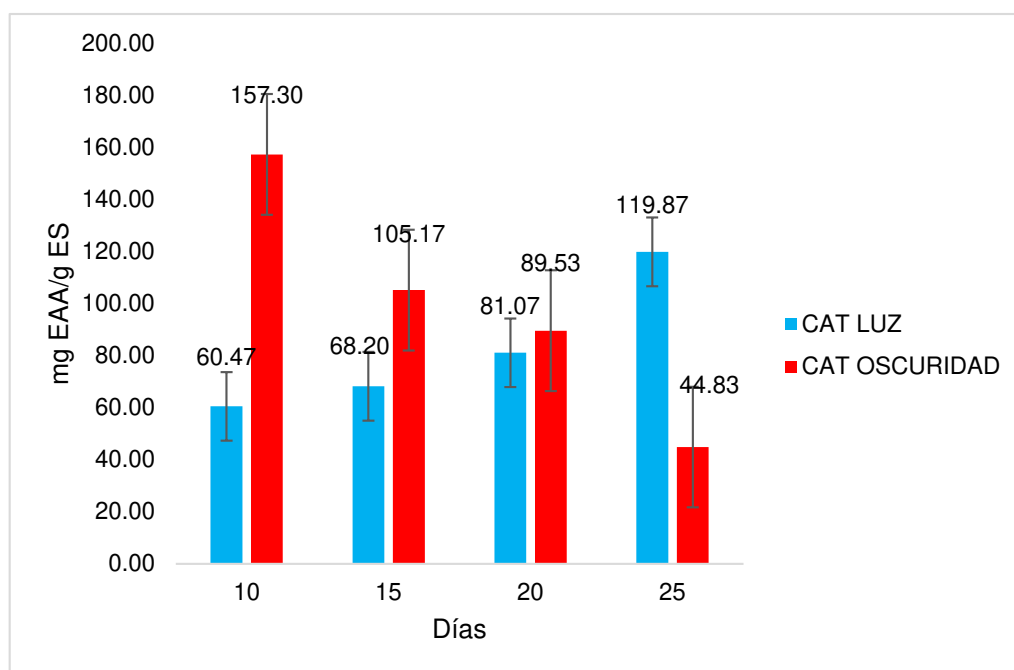
totales. Encontrando una correlación de Pearson (0.821) que demuestra que existe dicho efecto.



**Figura 8.** Contenido total de Flavonoides en tratamientos de luz-LED y oscuridad.

En la capacidad antioxidante total se observó un aumento en ambos tratamientos en el transcurso de los días, con mayor registro en luz-LED (Figura 10). Según Postemsky *et al.* (2016), el tener un control en relación con el ambiente de luz durante la diferenciación del micelio es eficaz para modular las respuestas relacionadas con los metabolitos secundarios en el micelio vegetativo o en los cuerpos fructíferos. De acuerdo a Meng-Yuan *et al.* (2017) en su estudio de la intensidad de los diodos emisores de la luz azul en las propiedades antioxidantes de los hongos ostra (*Lentinus y sajor-caju*) tuvieron respuestas

positivas en el crecimiento con diferentes tratamientos de calidad de luz, con luz-LED siendo significativamente mayor en las propiedades antioxidantes. Por ende, en la presente investigación el efecto de luz-LED, afectó positivamente en el contenido de fenoles por sus propiedades antioxidantes, encontrando estadísticamente una correlación de Pearson (930) demostrando que a medida que aumenta la cantidad fenólica aumenta consigo la capacidad antioxidante total bajo la exposición de luz-LED.



**Figura 9.** Capacidad antioxidante total en los tratamientos luz-LED y oscuridad.



## VII. CONCLUSIÓN

La luz-LED tiene un efecto positivo en el incremento de micocompuestos del hongo *C. militaris*, por lo que la hipótesis planteada se acepta.

En el tratamiento con luz-LED el contenido fenólico, flavonoides y la capacidad antioxidante presentan incrementos conforme a la duración del tratamiento. Mientras que en el tratamiento de oscuridad es inverso.

Existe una correlación positiva entre el contenido fenólico y la capacidad antioxidante.

El implementar el cultivo en medio líquido y manipulando el efecto de luz-LED puede ser un método rápido y eficaz para aumentar la producción de los compuestos medicinales de utilidad.

## VIII. RECOMENDACIONES

La presente investigación queda abierta a una mejora continua, a seguir analizando e ir incluyendo otras variables que complementen la investigación. Como recomendación a futuros interesados de seguir con el proyecto o algo equivalente al mismo, estructurar de forma adecuada los tiempos en cada fase del proyecto, desde la recopilación de materiales a utilizar como también desde la propagación de micelio hasta la cuantificación de los compuestos bioactivos, conocer e investigar acerca del medio de cultivo que se va a utilizar, si es posible hacer pruebas o ensayos con en el medio de cultivo, antes de iniciar con el cultivo oficial de proyecto, eso evitará que haya pérdida de tiempo y desperdicio de material, así mismo, cuidar la asepsia desde principio a fin, eso ayudará a que los resultados sean lo más limpios posible, las cantidades y proporciones de la masa y de los reactivos deben ser exactas en lo que corresponde a cada proceso para que no haya variabilidad en los resultados.

## IX. REFERENCIAS

- Alvídrez-Morales, A., González-Martínez, B. E. & Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. <https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/91/78>.
- Augustyniuk-Kram A., Kram K. J., (2012), Entomopathogenic Fungi as an Important Natural Regulator of Insect Outbreaks in Forests (Review), in: Forest Ecosystems – More than Just Trees, (eds.) J.A. Blanco, Y.-H. Lo, INTECH, Rijeka, pp. 265-294. DOI: 10.5772/30596
- Castro-Bustos, D., Acosta-Urdapilleta, M., Valenzuela-Garza, R. y Burgos-Solorio, A. (2012). Hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* s.l. (Fungi: Ascomycota) en el Estado de Morelos. <http://www.entomologia.socmexent.org/revista/2012/CB/273-276.pdf>.
- Chávez-García, M., Montaña-Lara, J. S., Martínez-Salgado, M. M., Mercado-Reyes, M., Rodríguez, M. X. y Quevedo-Hidalgo, B. (2008). Efecto del sustrato y la exposición a la luz en la producción de una cepa de *Trichoderma* sp. Universitas Scientiarum, Vol. 13 N° 3, 245-251. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-74832008000300003&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832008000300003&lng=en&tlng=es)
- Das G, Shin H-S, Leyva-Gómez G, Prado-Audelo MLD, Cortes H, Singh YD, Panda MK, Mishra AP, Nigam M, Saklani S, Chaturi PK, Martorell M, Cruz-Martins N, Sharma V, Garg N, Sharma R and Patra JK (2021) *Cordyceps* spp.: A Review on Its Immune-Stimulatory and Other Biological Potentials. Front. Pharmacol. 11:602364. DOI: 10.3389/fphar.2020.602364.

- Das, S. K., Masuda, M., Sakurai, A., & Sakakibara, M. (2010). Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: Current state and prospects. *Fitoterapia*, 81(8), 961–968. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.07.010.
- Gómez-Herrador, S. (2014). Medida de los fenoles totales y de la capacidad antioxidante y antirradicalaria de los hongos comestibles *Marasmius oreades*, *Lactarius deliciosus* y *Macrolepiota procera* y su degradación a diferentes tiempos y temperaturas. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/5920/TFM-M70.pdf?sequence=1>
- Jian-Jun, H., Gui-Ping, Z., Yon-Lan, T., Dan, D., Di-Zhe, G., Gu, G., Zheng-Xiang, Q., Zhen-Hao, Z., Yu, L., y Bo, Z. (2021). Morphology and molecular study of three new Cordycipitoid fungi and its related species collected from Jilin Province, northeast China. *Mycology*. 27; 83:161-180. DOI: 10.3897/mycokeys.83.72325. PMID: 34703360.
- Kho, C.-H., Kan, S.-C., Chang, C.-Y., Cheng, H.-Y., Lin, C.-C., Chiou, P.-C., ... Liu, Y.-C. (2016). Analysis of exopolysaccharide production patterns of *Cordyceps militaris* under various light-emitting diodes. *Biochemical Engineering Journal*, 112, 226–232. DOI: 10.1016/j.bej.2016.04.028.
- Kurtzman, R. y Martinez- Carrera, D. (2013) Light, what it is and what it does for mycology *Micología Aplicada International*, 25 (2), pp. 23-33. Colegio de Postgraduados Puebla, México.
- López Rodríguez, L & Burrola-Aguilar, C. (2019). Hongos parásitos de insectos y otros hongos: una alternativa de alimento funcional. *Agro productividad* 12 (5): 57-62. <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.1398>.

- Mares-Quiñones, M. D. & Naranjo-Jiménez, N. (2013). Componentes antioxidantes en especies de hongos silvestres comestibles. <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/16946>.
- Martin, D. A. (2018). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 9(1). DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>.
- Mendiola-Lanao, M. (2017). Caracterización de compuestos bioactivos y efecto de la aplicación de Pulsos Eléctricos de Moderada Intensidad de Campo en setas cultivadas en La Rioja. Tesis doctoral.
- Meng-Yuan, H., Kuan-Hung, L., Chien-Chun, L., Li-Ru, C., Tung-Chuan, H. & Wen-Ting, C. (2017). The intensity of blue light-emitting diodes influences the antioxidant properties and sugar content of oyster mushrooms (*Lentinus sajor-caju*). *Scientia Horticulturae*. 18 pp 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.014>.
- Montoya, S., López, D. & Segura, B. (2018). Influencia de la luz azul sobre la productividad del cultivo sólido de *Ganoderma lucidum*. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XX No. 1, 51 – 58. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73674
- Nurmi, K., Osipov, V., Haukioja, E. y Pihlaja, K. (1996). Variación del contenido fenólico total y fenólicos individuales de bajo peso molecular en el follaje de abedules de montaña (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*). *J Chem Ecol* 22, 2023-2040 (1996). <https://doi.org/10.1007/BF02040093>.
- Olatunji, O. J., Tan, J., Tola, A., Auberon, F., Oluwaniyi, O., y Ouyang, Z. (2018). The genus *Cordyceps*: An extensive review of its traditional uses,

phytochemistry and pharmacology, *Fitoterapia*, 129, 293-316, ISSN 0367-326X, <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.05.010>.

Oh, TJ, Hyun, SH, Lee, SG, Chun, YJ, Sung, GH y Choi, HK (2014). Perfiles metabólicos basados en RMN y GC-MS y actividades de eliminación de radicales libres de micelios de *Cordyceps pruinosa* cultivados en diferentes medios y condiciones de luz. *PLoS One*, 9 (3), e90823. DOI: 10.1371/journal.pone.0090823.

Osorio-Posada, J. A. (2019). Caracterización morfológica de *Cordyceps* sp. (ASCOMYCOTA: HYPOCREALES) aislado de una pupa de mariposa (INSECTA: LEPIDOPTERA) del mariposario amaranta de Colombia, Pereira, Risaralda. <https://core.ac.uk/download/pdf/287136575.pdf>.

Pérez-Villamares, Juan Carlos, Burrola-Aguilar, Cristina, Aguilar-Miguel, Xóchitl, Sanjuan, Tatiana, & Jiménez-Sánchez, Esteban. (2017). Nuevos registros de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* s. l. (Ascomycota: Hypocreales) del Estado de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 88(4), 773-783. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.013>

Postemsky, P.D., Marinangeli, P.A. & Curvetto, N.R. (2016). *In Vitro* Studies of Secondary Metabolite-Related Responses in Some Species of Genus *Grifola* (Agaricomycetes) from Argentina. Volume 18, Issue 4, 2016, pp. 355-363\_DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.v18.i4.90

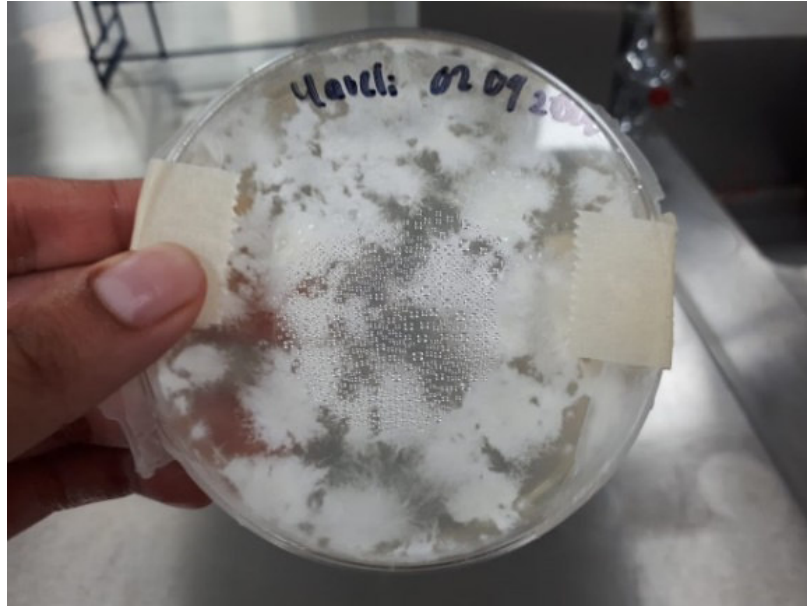
Prieto, P., y Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.

- Shrestha, B., Zhang, W., Zhang, Y., & Liu, X. (2012). The medicinal fungus *Cordyceps militaris*: research and development. *Mycological Progress*, 11(3), 599–614. doi:10.1007/s11557-012-0825-y
- Ha, SY, Jung, JY, Park, HM y Yang, JK (2022) Comparison of metabolic profile of mycelia and fruiting bodies of artificially cultured *Cordyceps militaris*. *Journal of Mushrooms*, 20 (1), 13-21.
- Suárez-Arango, C. & Nieto, I. J. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la producción de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología* 30(1): 1-8
- Tee, S. (2006). Setas, identificación y recolección. ISBN 140547806. Parragón
- Woisky, R. G., y Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, 37(2). 99-105.
- Xu, L. Wang, F., Zhang, Z., Terry, N. (2019). Optimization of Polysaccharide Production from *Cordyceps militaris* by Solid-State Fermentation on Rice and Its Antioxidant Activities. *Foods*, 8, 590; doi:10.3390/foods8110590.
- Yi, L., Jihui. W., Wei. W., Hanyue. Z., Xuelan. Z., y Chunchao., H. (2015). The Chemical Constituents and Pharmacological Actions of *Cordyceps sinensis*. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2015, Article ID 575063, 12 <http://dx.doi.org/10.1155/2015/575063>.
- Zhuangli, Z., Chuanhua, H., Li, C., Cuihong, X., y Richou, H. (2011). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation as a tool for insertional mutagenesis in medicinal fungus *Cordyceps militaris*, *Fungal*

Biology, 115, (3), 265-274, ISSN 1878-6146,  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2010.12.011>.



## X. ANEXOS



**Figura 10.** Cultivo de *Cordyceps militaris* en caja Petri.



**Figura 11.** Cultivo con fragmentos de micelio de *Cordyceps militaris* en medio líquido.



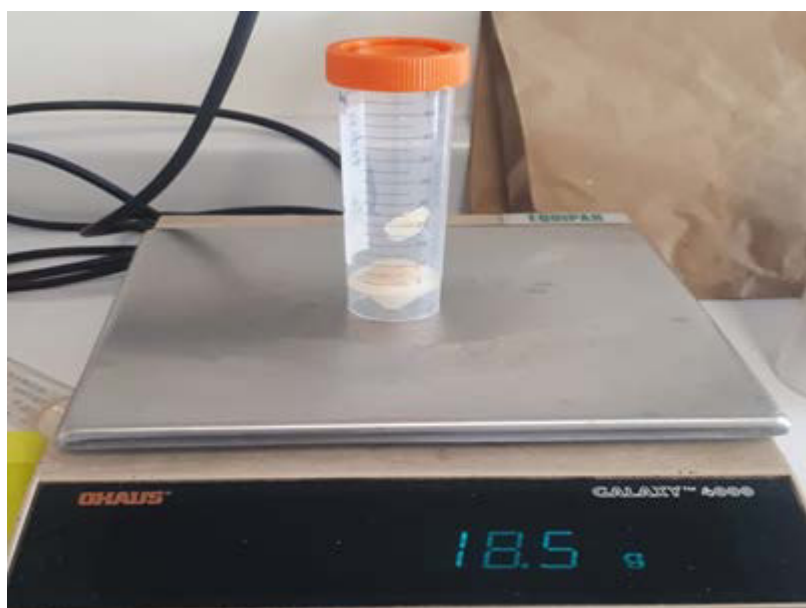
**Figura 12.** Matraces con *Cordyceps militaris* en cultivo líquido en oscuridad.



**Figura 13.** Matraces en agitación continua (oscuridad).



**Figura 14.** Matraces en agitación continúa con luz-LED.



**Figura 15.** Peso en gramos de muestra de micelio fresco.



**Figura 16.** Muestra de micelio fresco en maceración.

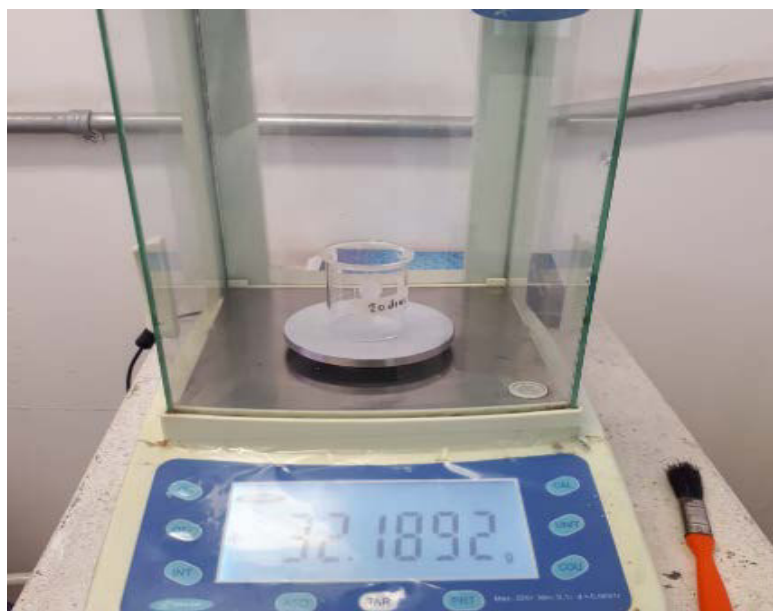


**Figura 17.** Maceración de muestra en oscuridad.





**Figura 18.** Muestra de micelio fresco en sonicación.



**Figura 19.** Vasos de precipitado a peso constante.



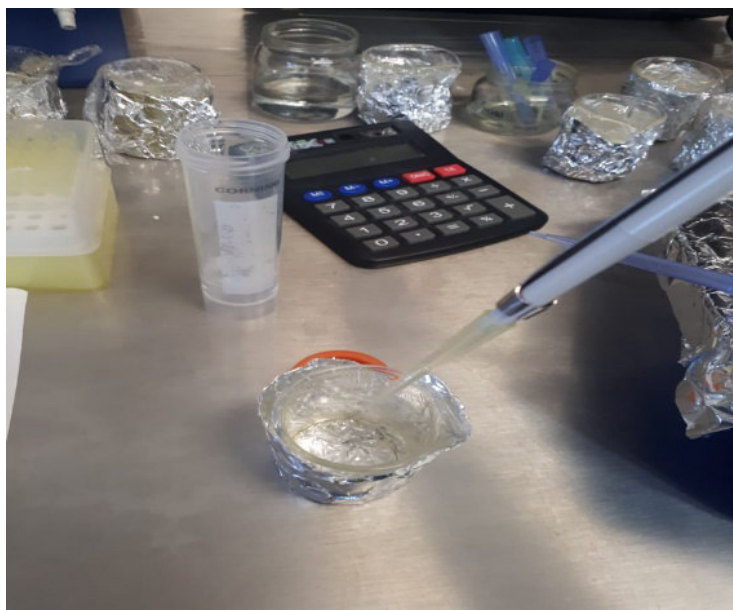
**Figura 20.** Muestras listas para centrifugar.



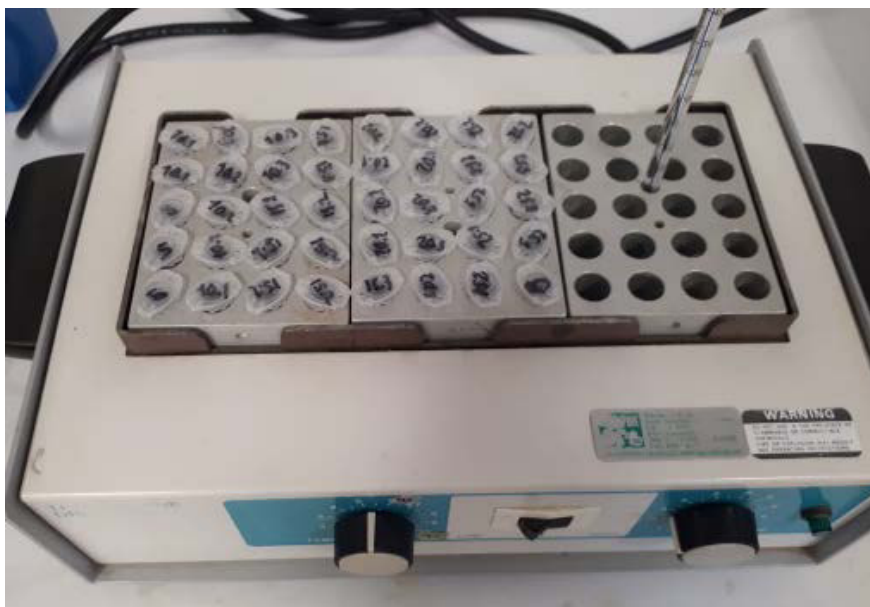
**Figura 21.** Secado de extracto en estufa.



**Figura 22.** Vasos de precipitado con Extracto seco.



**Figura 23.** Obtención de solución concentrada de extracto seco.



**Figura 24.** Muestras en Thermoblock.



**Figura 25.** Lectura de muestra en espectrofotómetro.