

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS



**ESTUDIO DEL EFECTO ANTIOXIDANTE Y LA ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA EN MODELOS DE RELEVANCIA CLÍNICA DE HONGOS
ANDINO PATAGÓNICOS PERTENECIENTES A LA FAMILIA STEREOACEAE**

POR: JONHATAN FELIPE ANTONIO GÓMEZ ESPINOZA

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de
Concepción para optar al grado académico de Biólogo

Profesor Guía: Dr. Jaime Roberto Cabrera Pardo

Enero 2023
Concepción, Chile

© 2023, Jonhatan Felipe Antonio Gómez Espinoza

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

La tesis de pregrado titulada “Estudio del efecto antioxidante y la actividad antimicrobiana en modelos de relevancia clínica de hongos andino patagónicos pertenecientes a la familia Stereaceae” del Sr. Jonhatan Felipe Antonio Gómez Espinoza realizada en la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción ha sido aprobada por la siguiente Comisión Evaluadora:

Profesora guía

Dr. Jaime Cabrera Pardo

Universidad del Bío-Bío

Concepción

Profesores evaluadores

Dr. José Becerra Allende

Universidad de Concepción

Concepción

Dr. Andrés Opazo Capurro

Universidad de Concepción

Concepción

Dra. Claudia Pérez Manríquez

Universidad de Concepción

Concepción

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por su amor incondicional, por guiarme, sustentarme y darme la sabiduría y el ánimo que necesité en cada momento para terminar esta carrera universitaria. Asimismo, agradezco a mi padre Emilio y mi madre Tavita por tanto esfuerzo, cariños y consejos. Su ejemplo fueron mi mayor motivación y su entrega mi mayor tesoro. Agradezco a mi querida esposa Débora y mi hijo Santiago, quienes me brindaron apoyo, ánimo, consejos y por darme tanto amor. Quiero que sepan que sin duda alguna llegaron a mi vida en el momento indicado. Gracias a mis hermanos Emilio y Bella por su comprensión y apoyo en estos años de estudio. A mi familia, los amo con todo el corazón. También, doy un especial agradecimiento a cada persona que de una u otra forma permitió que mi estadía en Concepción fuera más placentera, a la Sra. Nila que me recibió en su hogar por 4 años y a mi compañero y amigo de carrera Enzo Romero por brindarme apoyo, ánimo y compartir conocimientos en todo este tiempo.

De igual manera quiero agradecer a mi profesor guía Dr. Jaime Cabrera, al Dr. Ramón Ahumada y Dra. Vanessa Novoa por enseñarme a hacer las cosas de manera prolija y aprender que todo con esfuerzo y dedicación se puede lograr. A todo el equipo LabQAS en la Universidad del Bío-Bío, muchas gracias. Así también agradecer profundamente al profesor José Becerra que desde el año 2019 cuando entré a hacer partícipe del laboratorio de Química de productos naturales me brindó sabios consejos y depositó una confianza tremenda hacia mi persona, gracias profesor por todas las experiencias académicas y de vida cotidiana compartidas. A Cristian Riquelme por inducirme en el área de los hongos, enseñándome a aislar, cultivar y realizar extracciones químicas, gracias por todo el conocimiento sobre micología brindado hacia mi persona. A todo el equipo del laboratorio, a la Dra. Claudia Pérez, al Dr. Fabián Figueroa, Dr. Felipe Galleguillos, Dra. Solange Torres, Sra. Susana Meneses, Sr. Fabián Rozas, a don Eduardo Muñoz, muchas gracias

También quiero agradecer el apoyo por parte de los proyectos FONDECYT regular 1190652, FIC-R 40036205-0 y CORFO 21CVC2-18361 por financiar esta investigación permitiéndome realizar este seminario de título.

A todos, mi eterno agradecimiento.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Región Andino patagónica	11
1.2. La familia Stereaceae Pilát (1930) (Russulales, Basidiomycota).....	14
1.3. Metabolitos de origen fúngico	15
1.4. El estrés oxidativo.....	16
1.5. Bacterias multirresistentes.....	18
2. HIPÓTESIS.....	21
3. OBJETIVOS	21
3.1. Objetivo general.....	21
3.2. Objetivos específicos.....	21
4. MATERIALES Y MÉTODOS	22
4.1. Cultivo de cepas fúngicas.....	22
4.2. Obtención de extractos totales.....	22
4.3. Identificación de la composición química de los extractos totales.....	23
4.4. Actividad biológica de los extractos totales.....	23
4.5. Determinación de actividad antioxidante mediante ensayo ABTS	24
4.6. Determinación de actividad antioxidante mediante ensayo DPPH	25
4.7. Ensayo de difusión en agar frente a cepas bacterianas	25
4.8. Análisis de datos	26
5. RESULTADOS	27
5.1. Cultivo de cepas fúngicas.....	27
5.2. Composición química de los extractos	28
5.3. Evaluación de actividad antioxidante	34
5.4. Evaluación de actividad antibacteriana.....	35

6.	DISCUSIÓN	37
7.	CONCLUSIONES	39
8.	REFERENCIAS	40
9.	ANEXO 1	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa sudamericano que destaca la región Andino Patagónica (Morrone, 2018).....	13
Figura 2. Micelio en placa de hongos pertenecientes a la familia Stereaceae utilizados en este estudio.....	27
Figura 3. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Stereodiscus trivialis</i> 1611	28
Figura 4. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Gloeosoma mirabile</i> 1612	29
Figura 5. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Stereum hirsutum</i> 1672.....	29
Figura 6. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Stereum hirsutum</i> 1673.....	30
Figura 7. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Gloeocystidiellum rajchenbergii</i> 1683	30
Figura 8. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Stereodiscus patagonicus</i> 1688.....	31
Figura 9. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Gloeosoma decorticans</i> 1689.	31
Figura 10. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Gloeosoma vitellinum</i> 1716.....	32
Figura 11. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Gloeocystidiellum</i> sp. 1726.....	32
Figura 12. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de <i>Gloeocystidiellum</i> sp. 1736.....	33
Figura 13. Una selección de núcleos químicos mayoritarios presente en los extractos fúngicos utilizados en este estudio analizados por GC-MS.	336
Figura 14. Cultivos de bacterias utilizadas en este estudio.	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cepas fúngicas utilizadas en este estudio.....	22
Tabla 2. Actividad antioxidante de los extractos fúngicos utilizados en este estudio pertenecientes a la familia Stereaceae mediante ensayo DPPH y ABTS.....	34
Tabla 3. Actividad antibacteriana de los extractos fúngicos utilizados en este estudio perteneciente a la familia Stereaceae.....	36
Tabla 4. Composición química de los extractos totales de las cepas fúngicas pertenecientes a la familia Stereaceae.....	51

RESUMEN

Los hongos son microorganismos que producen metabolitos secundarios que en su mayoría exhiben compuestos biológicamente activos. *Stereodiscus trivialis* (Speg.) Rajchenb. & Pildain (código 1611), *Gloeosoma mirabile* (Berk. & M.A. Curtis) Rajchenb., Pildain & Riquelme (código 1612), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (código 1672), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (código 1673), *Gloeocystidiellum rajchenbergii* Gorjón & Hallenb. (código 1683), *Stereodiscus patagonicus* (Nogal, Telleria, M. Dueñas & M.P. Martín) Rajchenb. & Pildain (código 1688), *Gloeosoma decorticans* Rajchenb., Pildain & Riquelme (código 1689), *Gloeosoma vitellinum* (Lév.) Bres. (código 1716), *Gloeocystidiellum* sp. (código 1726) y *Gloeocystidiellum* sp. (Código 1736), son hongos saprótrofos, pertenecientes a la familia Stereaceae. Se encuentran distribuidos de manera restringida en el hemisferio Sur y crecen asociados sobre especies del género *Nothofagus*. El propósito de esta investigación es evaluar la capacidad antioxidante y el potencial antimicrobiano de los extractos totales pertenecientes a éstas 10 especies fúngicas. Así también se determinó el perfil químico de los extractos totales mediante un cromatógrafo de gas acoplado a un espectrómetro de masa (GC-MS). La actividad antibacteriana se evaluó sobre 6 cepas bacterianas de interés clínico, utilizando el método de difusión en agar. Todos los extractos exhibieron una elevada actividad antioxidante determinada en un IC 50 menor a 6 mg/ml. *G. mirabile* (1612) y *S. hirsutum* (1672) presentaron un IC 50 de $0,87 \pm 0,06$ mg/ml y $1,26 \pm 0,04$ mg/ml respectivamente, siendo los extractos más activos a baja concentración. En cuanto a la actividad antibacteriana, ningún extracto ejerció efecto sobre las cepas bacterianas utilizadas a las concentraciones testeadas. Se discute el hallazgo en la composición química de posibles agentes antioxidantes y antibacterianos.

ABSTRACT

Fungi are microorganisms that produce secondary metabolites that mostly exhibit biologically active compounds. *Stereodiscus trivialis* (Speg.) Rajchenb. & Pildain (code 1611), *Gloeosoma mirabile* (Berk. & M.A. Curtis) Rajchenb., Pildain & Riquelme (code 1612), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (code 1672), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (code 1673), *Gloeocystidiellum rajchenbergii* Gorjón & Hallenb. (code 1683), *Stereodiscus patagonicus* (Nogal, Telleria, M. Dueñas & M.P. Martín) Rajchenb. & Pildain (code 1688), *Gloeosoma decorticans* Rajchenb., Pildain & Riquelme (code 1689), *Gloeosoma vitellinum* (Lév.) Bres. (code 1716), *Gloeocystidiellum* sp. (code 1726) and *Gloeocystidiellum* sp. (code 1736), are saprotrophic fungi, belonging to the family Stereaceae. They are found in a restricted distribution in the Southern Hemisphere and grow in association on species of the genus *Nothofagus*. The purpose of this research is to evaluate the antioxidant capacity and antimicrobial potential of total extracts belonging to these 10 fungal species. The chemical profile of the total extracts was also determined using a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GC-MS). The antibacterial activity was evaluated on 6 bacterial strains of clinical interest, using the agar diffusion method. All extracts exhibited high antioxidant activity determined at an IC 50 less than 6 mg/ml. *G. mirabile* (1612) and *S. hirsutum* (1672) presented a CI 50 of 0.87 ± 0.06 mg/ml and 1.26 ± 0.04 mg/ml respectively, being the most active extracts at low concentration. As for antibacterial activity, no extract exerted any effect on the bacterial strains used at the concentrations tested. The finding of possible antioxidant and antibacterial agents in the chemical composition is discussed.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son unos de los organismos menos explorados del planeta. A nivel mundial se estima que hay entre 2,2 a 13,2 millones de especies de hongos. Actualmente se han descritos alrededor de 120.000 especies, lo que corresponde a un 3 - 8% del total de especies (Hawksworth & Lücking, 2017; Kew, 2018; Wu *et al.*, 2019; Baldrian *et al.*, 2022; Antonelli *et al.*, 2020).

Los hongos son organismos eucariontes heterótrofos, dependientes de compuestos carbonados (azucarados), característica que les ha ayudado a establecerse en la mayoría de los ambientes, ocupando una enorme diversidad de nichos y ofreciendo importantes servicios ecosistémicos (Dighton, 2018; Choi & Kim, 2017). Para llevar a cabo la obtención de nutrientes, los hongos realizan digestión enzimática extracelular, luego absorben los productos degradados y solubilizados mediante un sistema de tubos ramificados denominados hifas. El conjunto de hifas es llamado micelio. Dada las condiciones óptimas surgen agregados de hifas, las cuales constituyen el cuerpo fructífero. Esta estructura hifal permite la dispersión de propágulos del organismo fúngico, y la colonización de una amplia variedad de sustratos (Webster & Weber, 2007). Dependiendo de su modo de nutrición, los hongos pueden clasificarse en saprófitos (Baldrian, 2006; Baldrian & Valášková, 2008; Fukasawa, 2021), parásitos (Zhao *et al.*, 2019), simbioses mutualistas con insectos (Li *et al.*, 2021), algas verdes y cianobacterias (Oberwinkler, 2012) y micorrizas con plantas y árboles (Tedersoo *et al.*, 2010, Tedersoo and Smith, 2013; Rimington *et al.*, 2020; Tedersoo *et al.*, 2020).

En Chile, se han reportado más de 4.600 especies de hongos, sin embargo, hasta la fecha el número va en ascenso de acuerdo con los últimos reportes de nuevas especies realizado (Boonmee *et al.*, 2021; Caiafa *et al.*, 2021; Garnica *et al.*, 2021; Nouhra *et al.*, 2021; Rajchenberg *et al.*, 2021).

1.1. Región Andino patagónica

La región Andino patagónica comprende las subregiones de Chile central, las subregiones subantárticas y las subregiones presentes en la Patagonia (Figura 1) (Morrone, 2018). Se ha

reportado que los bosques de la región Andino patagónica que se encuentran entre la IV y XI región, representan uno de los más importantes hotspot de biodiversidad en el mundo, extendiéndose entre los 25° y 47° S (Morrone, 2015). Así también los bosques del sur de Argentina y Chile presentan un bioma característico debido a la relación histórica con las masas continentales gondwánicas que conllevó a un aislamiento del resto de América (Rajchenberg *et al.*, 2021), representando un territorio único en cuanto a sus ecosistemas y microclimas.

Es importante destacar la región geográfica de los Andes patagónicos, debido al contenido de hongos que ésta alberga, muchos de ellos aun desconocidos asociados a bosques endémicos de Chile y Argentina. En un estudio realizado por Aqueveque *et al.* (2017), se determinó que, del total de especies analizadas, el 60 % posee actividad biológica contra uno o más microorganismos patógenos, demostrando así el enorme potencial que poseen las especies de hongos en ésta región geográfica como fuentes de metabolitos secundarios bioactivos.

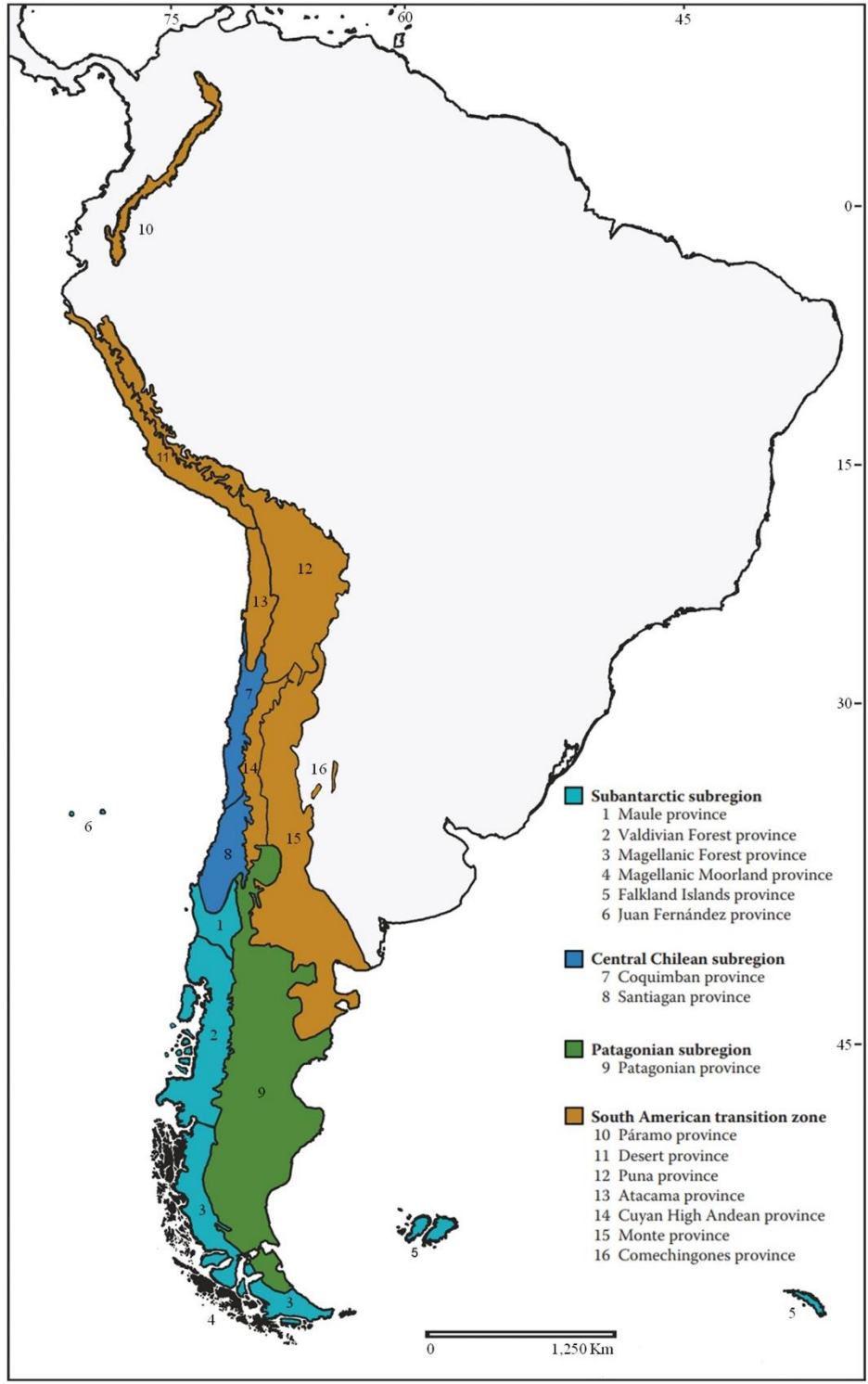


Figura 1. Mapa sudamericano que destaca la región Andino Patagónica (Morrone, 2018)

1.2. La familia Stereaceae Pilát (1930) (Russulales, Basidiomycota)

Stereaceae Pilát (1930) es una familia de hongos formada en su mayoría por especies que presentan un estilo de vida saprótrofa, siendo degradadores de material lignocelulósico (Webster & Weber, 2007). Está compuesta por 22 géneros y 125 especies aproximadamente (Kirk *et al.*, 2008). Presenta especies distribuidas de manera restringida en el hemisferio Sur y endémicas de la región patagónica en Chile y Argentina. Principalmente utilizan como hospedero ramas de distintas especies de *Nothofagus*, como *Nothofagus antartica*, *Nothofagus betuloides*, *Nothofagus dombeyi* y *Nothofagus pumilio* (Rajchenberg *et al.*, 2021).

Las especies de la familia Stereaceae se caracterizan por presentar basidioma aplanado, aprisionado o resupinado, con un himenio liso en la superficie inferior. Las basidiosporas suelen ser amiloides con paredes hialinas de finas a gruesas, presentan un sistema hifal mono o dimítico con hifas generativas simples-septadas o pinzadas y pueden presentar o no un conjunto de una serie de tipos de cistidios (Rajchenberg *et al.*, 2021; Webster & Weber, 2007).

Para esta familia en Chile, se han reportado hongos del género *Gloeocystidiellum*, *Stereum*, *Gloeosoma*, *Stereodiscus*, *Acanthobasidium*, *Aleurocystidiellum* (Rajchenberg *et al.*, 2021; Gorjón & Hallenberg, 2013).

Del género *Stereum* se han aislados varios compuestos bioactivos, entre los que se destacan sesquiterpenoides, dihidrobenzofurano, lactonas y derivados de fenol, dando como resultado propiedades biológicas que incluyen actividad antibacteriana, antifúngica, antioxidante y citotóxica (Cayan *et al.*, 2019). Por otra parte, del género *Gloeosoma*, se ha descubierto que la especie *Aleurodiscus vitellinus* syn. *Gloeosoma vitellinum* presenta fomanoxina, un compuesto químico derivado del benzofurano que muestra excelentes propiedades neuroprotectoras (González-Ramírez *et al.*, 2018).

En este estudio se trabajó con 10 especies, *Stereodiscus trivialis* (Speg.) Rajchenb. & Pildain (código 1611), *Gloeosoma mirabile* (Berk. & M.A. Curtis) Rajchenb., Pildain & Riquelme (código 1612), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (código 1672), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (código 1673), *Gloeocystidiellum rajchenbergii* Gorjón & Hallenb. (código 1683), *Stereodiscus patagonicus* (Nogal, Telleria, M. Dueñas & M.P. Martín) Rajchenb. & Pildain

(código 1688), *Gloeosoma decorticans* Rajchenb., Pildain & Riquelme (código 1689), *Gloeosoma vitellinum* (Lév.) Bres. (código 1716), *Gloeocystidiellum* sp. (código 1726) y *Gloeocystidiellum* sp. (Código 1736).

1.3. Metabolitos de origen fúngico

El gran éxito evolutivo que presentan los hongos se debe mayormente a su amplia gama de vías metabólicas (Gargano *et al.*, 2017). Al ser microorganismos sésiles y que no realizan fotosíntesis, una de las estrategias de protección desarrolladas a través de su historia evolutiva son los mecanismos químicos de defensa (Spiteller, 2015). Los productos metabólicos pueden ser sintetizados por la vía del metabolismo primario o secundario (Demain, 2014). Los productos del metabolismo primario son esenciales para el crecimiento del organismo y desempeñan roles específicos en los procesos fisiológicos normales (Barrios-González & Tarragó-Castellanos, 2017), además poseen una amplia distribución en todos los seres vivos (Frisvad *et al.*, 1998). Los metabolitos secundarios son regulados de forma congruente en respuesta a algún estrés, el cual puede ser tanto biótico como abiótico, es más, se ha observado que la pérdida o sobreproducción pueden alterar el desarrollo fúngico, la sobrevivencia o las relaciones intra o inter específicas (Keller, 2019). Los organismos fúngicos poseen un amplio rango de compuestos bioactivos producto de su metabolismo secundario (Stadler & Hoffmeister, 2015; Spiteller, 2015; Dai *et al.*, 2010; Anke & Weber, 2009; Abraham, 2001). La mayoría de los compuestos aislados de estos metabolitos secundarios son alcaloides, lactonas, fenoles, terpenoides, esteroides, lignanos, polisacáridos, entre otros (Lobo *et al.*, 2018; Vallavan *et al.*, 2020). Junto con ello se ha reportado que éstos metabolitos secundarios producidos por los hongos presentan actividad antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antivirales, nematocida, fito tóxica, insecticida, anticancerígena, antitumorales, inmunosupresora, antialérgica, hipoglicémica, antiinflamatoria y actividad hepatoprotectora (Hyde *et al.*, 2019; Gargano *et al.*, 2017; Vallavan *et al.*, 2020; Vieira Gomes *et al.*, 2019; Dimitrijevic *et al.*, 2019; Acharya *et al.*, 2019; Heleno *et al.*, 2012; Cayan *et al.*, 2019; Essien *et al.*, 2015).

El micelio y los cuerpos fructíferos del hongo se desarrollan en ambientes competitivos, por lo tanto, están constantemente expuestos a la amenaza de los depredadores y otros organismos,

lo que probablemente explica la producción de compuestos biológicamente activos en respuesta a las presiones selectivas ejercidas (Gargano *et al.*, 2017; Spiteller, 2015; Kramer & Abraham, 2012; Anke & Weber, 2009; Hanson, 2008; Gloer, 2007). El uso de estos compuestos activos ha generado un interés investigativo especialmente en el área de enzimas, control biológico, producción de antibióticos y otros compuestos activos farmacológicos (Aqueveque *et al.*, 2017).

Actualmente se han descubierto alrededor de 15.000 metabolitos secundarios con diversas propiedades bioactivas presentes en los hongos, de las cuales muchos se han convertido en productos farmacéuticos de gran relevancia, generando un gran interés investigativo en los productos naturales provenientes de éstos organismos (Vallavan *et al.*, 2020 ; Gloer, 2007). La obtención, aislamiento, determinación estructural y síntesis de nuevos compuestos bioactivos de origen fúngico es uno de los fines de la química de productos naturales (Spiteller, 2015; Stadler & Hoffmeister, 2015; Dai *et al.*, 2010; Abraham, 2001).

1.4. El estrés oxidativo

La ocurrencia de procesos degenerativos se correlaciona en biología molecular con la existencia de un exceso de radicales libres, promoviendo procesos oxidativos nocivos para el organismo. El estrés oxidativo participa de manera activa en la fisiología de enfermedades muy comunes como diabetes, cáncer, hipertensión arterial, preeclampsia, aterosclerosis, insuficiencia renal aguda, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, como lo son el Alzheimer y Parkinson (Cayan *et al.*, 2019; Hameed *et al.*, 2017). En Chile para el año 2040, según las estimaciones de la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (AIRC), habrá 94.807 nuevos casos de cáncer, lo que corresponde a un aumento de 77,6 % en los próximos 21 años. En la actualidad, el cáncer ocasiona 28.443 muertes en Chile, las que llegarán a 55.698 para el año 2040 (Parra-Soto *et al.*, 2020).

Las células, al metabolizar el oxígeno, crean especies reactivas de oxígeno (ROS), que son potencialmente dañinas. En circunstancias normales, la formación de oxidantes se equilibra con la velocidad de su eliminación, sin embargo, la pérdida de este equilibrio entre prooxidantes y antioxidantes resulta en estrés oxidativo (Cayan *et al.*, 2019), por lo tanto, altos niveles de ROS

en las células biológicas tienen un gran impacto, lo que conduce a un funcionamiento celular deficiente, envejecimiento o enfermedad (Rodrigo, 2009; Podkowa *et al.*, 2021).

Los ROS, tales como radicales superóxidos, peróxido de hidrógeno (H₂O₂), radicales hidroxilos, óxido nítrico y sus metabolitos varían respecto a su reactividad y nocividad dentro de la célula (Alshehri *et al.*, 2022). El mayor impacto negativo se forma durante la fosforilación oxidativa en las crestas mitocondriales al final del proceso de respiración aeróbica (Poprac *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2016). La oxidación celular puede llegar a ser tan dañina que puede afectar el ADN, causando dimerización de nucleótidos y errores en los procesos de replicación. Además, puede causar alteración funcional en proteínas estructurales de la célula, como por ejemplo un impacto en la cadena de ácidos grasos insaturados de fosfolípidos de membrana, produciéndose finalmente una lisis celular (Escobar *et al.*, 2019).

En los hongos, el estrés ambiental y el exceso de ROS son factores conocidos que promueven la expresión de grupos de genes biosintéticos que codifican metabolitos secundarios para contrarrestar estos compuestos reactivos y radicales para mantener el metabolismo central y las actividades intracelulares (Brakhage, 2013; Keller, 2019). Por ejemplo, los hongos saprofitos, secretan enzimas extracelulares activas en carbohidratos denominadas CAZ enzimas (Lombard *et al.*, 2014). La variedad de CAZ enzimas incluye enzimas hidrolíticas específicas (celulasas, hemicelulasas, pectinasas, esterases y quitinasas), así como oxirreductasas auxiliares de transferencia de electrones (lacasas, oxidasas, peroxidasas y peroxigenasas).

El modo de acción por parte del antioxidante puede clasificarse de acuerdo con su capacidad para: inhibir la formación de radicales libres (antioxidantes indirectos), eliminar directamente los radicales libres generados químicamente (antioxidantes directos) o fortalecer la capacidad celular para hacer frente a altas cargas de ROS. Se ha propuesto que la mayoría de las moléculas bioactivas actúan como antioxidantes directos y no tienen dependencia de enzimas intracelulares endógenas para ejercer su acción reaccionando directamente con los radicales libres (Kitic *et al.*, 2022; Dhyani *et al.*, 2022)

Los hongos se identifican como una excelente fuente de sustancias antioxidantes, ya que presentan terpenos, compuestos fenólicos, índole, carotenoides, vitaminas y minerales. Dentro de las estructuras que se han aislado está el ácido clorogénico, norbadiona A, Lovastatina, ergotioneina, ácido Xerocómico (Podkowa *et al.*, 2021; Torres *et al.*, 2019). Numerosos estudios demuestran que los antioxidantes juegan un papel esencial en el mantenimiento de la salud humana, la prevención y el tratamiento de enfermedades, debido a su capacidad para reducir el estrés oxidativo. Por lo tanto, medir la actividad antioxidante de los hongos es relevante no solo para garantizar la calidad del extracto fúngico, sino que para estudiar la eficiencia de los antioxidantes en la prevención y el tratamiento de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo (Essien *et al.*, 2015; Munteanu & Apetrei, 2021).

1.5. Bacterias multirresistentes

Uno de los hechos más importantes que marcó el inicio de la investigación en hongos y su producción de sustancias bioactivas fue el descubrimiento accidental de la Penicilina en 1928 por parte del científico Alexander Fleming, dando mucha atención por parte de la comunidad científica al posible papel de los hongos como antibióticos. Hoy en día se ha reportado actividad antibacteriana presente en muchos géneros de hongos, originándose otras fuentes de obtención de compuestos de relevancia antimicrobiana y sus derivados (Gargano *et al.*, 2017; Vallavan *et al.*, 2020). Por lo tanto, el desarrollo de nuevos antibióticos, la bioprospección de posibles compuestos naturales antibacterianos y la mejora de los sistemas de administración de fármacos, son algunas de las estrategias actuales para controlar la amenaza de resistencia a los antimicrobianos (Lazar *et al.*, 2018).

Hoy en día, existe una creciente necesidad de agentes antibióticos nuevos y efectivos debido a la reciente aparición de infecciones causadas por bacterias multirresistentes (BMR) que amenazan la vida. Las BMR causan unas 60.000 muertes cada año. Los modelos de proyección estima que para 2050, 2,4 millones de personas morirán debido a infecciones transmitidas por bacterias resistentes a los antibióticos (Clericuzio *et al.*, 2021). Es por esto que, para hacer frente a las BMR, la organización mundial de la salud (OMS) publicó en 2015 un Plan de Acción Mundial, en el que se ha establecido una lista de seis especies bacterianas contra las que es obligatorio descubrir y desarrollar nuevos fármacos (Basak *et al.*, 2016). El acrónimo ESKAPE

engloba a estos patógenos humanos, típicamente asociados con infecciones nosocomiales y que merecen la mayor atención desde el punto de vista clínico: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Enterobacter* (Vallavan *et al.*, 2020). Con esto la Organización mundial de la salud (OMS), ha promovido la investigación con el objetivo de utilizar productos naturales que a menudo son competitivos con las drogas sintéticas en el desempeño clínico. Los hongos se consideran una fuente importante de moléculas bioactivas y por lo tanto son candidatos potenciales en la búsqueda de nuevos antibióticos (Clericuzio *et al.*, 2021).

Dentro de las bacterias de importancia clínica utilizadas en este estudio están: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 1706), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990).

E. faecalis es una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa y patógena oportunista (Rocas *et al.*, 2004). Es muy tolerante a las condiciones ambientales, soportando un amplio rango de pH, salinidad y temperatura (Fair & Tor, 2014). Coloniza principalmente la cavidad oral, el intestino, tracto urinario y órganos reproductores de humanos y animales (Xiang *et al.*, 2020). Esta bacteria puede asociarse a diversas patologías, incluidas las infecciones del tracto urinario, enfermedades endodónticas persistentes, infecciones del torrente sanguíneo y periodontitis crónica (de Almeida *et al.*, 2018).

E. coli es una bacteria gram negativa, comensal, anaeróbica facultativa y parte de la microbiota normal en humanos (Croxen *et al.*, 2013). Dentro de las patologías que presenta esta bacteria son enfermedad entérica/diarreica, infección del tracto urinario y meningitis (Kaper *et al.*, 2004).

K. pneumoniae es un patógeno oportunista, gram negativo y clínicamente relevante que causa una amplia gama de infecciones (Tang *et al.*, 2020). Entre las enfermedades principales que se destaca es la neumonía, infecciones intraabdominales, infecciones del tracto urinario e infecciones del torrente sanguíneo (Imai *et al.*, 2019).

P. aeruginosa es una bacteria gram negativa, aeróbica y oportunista. Puede sobrevivir a una amplia gama de condiciones ambientales y es metabólicamente muy versátil. Es la principal

causa de infecciones del tracto urinario, del torrente sanguíneo e infecciones crónicas, como lo es la neumonía (de Sousa *et al.*, 2021).

S. aureus es una bacteria patógena oportunista, de alta prioridad, gram positiva y anaeróbica facultativa (Frieri *et al.*, 2017). Es causante de enfermedades tales como neumonía, infecciones de las vías respiratorias e infecciones cardiovasculares (Cheung *et al.*, 2021)

S. epidermidis es un estafilococo comensal, gram positivo y anaerobio facultativo. Estas bacterias suelen ser peligrosas para las personas inmunodeprimidas y los recién nacidos (Bocian *et al.*, 2020) Participa causando infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo, infecciones cardiovasculares e infecciones de ojos, oídos, nariz y garganta (Vuong & Otto, 2002).

2. HIPÓTESIS

Las especies fúngicas pertenecientes a la familia Stereaceae presentes en la región andino patagónica, tienen la capacidad de sintetizar metabolitos secundarios con actividad antioxidante y antibacteriana frente a cepas de importancia clínica

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante, el potencial antimicrobiano y determinar el perfil químico mediante cromatografía GC-MS de los extractos totales de hongos andino patagónicos pertenecientes a la familia Stereaceae

3.2. Objetivos específicos

1. Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos totales pertenecientes a la familia Stereaceae mediante ensayo DPPH y ABTS.
2. Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos totales pertenecientes a la familia Stereaceae sobre distintas cepas de bacterias de importancia clínica
3. Determinar los núcleos químicos presentes en los extractos fúngicos mediante un cromatógrafo de gas acoplado a un espectrómetro de masa (GC-MS).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Cultivo de cepas fúngicas

Los cultivos miceliales puros se obtuvieron mediante la generación de réplicas de cada hongo ya aislados en placas Petri en el Laboratorio de Química aplicada y sustentable (LabQAS) en la Universidad del Bío-Bío. Para ello cada placa Petri contiene medio de cultivo PDA (HiMedia Laboratories), preparado a una concentración de 39 g/L. Las placas inoculadas fueron almacenadas en una cámara de cultivo en oscuridad y a temperatura ambiente.

Tabla 1. Cepas fúngicas utilizadas en este estudio.

Especie	Código	Localidad	GenBank ITS	GenBank LSU
<i>Stereodiscus trivialis</i>	1611	Argentina	OP964613	OP558006
<i>Gloeosoma mirabile</i>	1612	Brasil	MT568513	-
<i>Stereum hirsutum</i>	1672	Chile	OP388911	-
<i>Stereum hirsutum</i>	1673	Chile	-	-
<i>Gloeocystidiellum rajchenbergii</i>	1683	Chile	OP964677	-
<i>Stereodiscus patagonicus</i>	1688	Chile	MT831057	OP964739
<i>Gloeosoma decorticans</i>	1689	Chile	MT831042	OP964776
<i>Gloeosoma vitellinum</i>	1716	Chile	-	-
<i>Gloeocystidiellum sp.</i>	1726	Chile	-	-
<i>Gloeocystidiellum sp.</i>	1736	Chile	OP558000	OP964777

Luego de 30 días, las cepas inoculadas en las placas Petri son cultivadas en medio líquido YPD sin agar, compuesto por Levadura (3g/L), Peptona (10 g/L) y Dextrosa (20 g/L). Los cultivos líquidos se realizaron en matraces de 1 L con 300 mL de medio de cultivo YPD, en agitación constante a 120 rpm con una temperatura de 20°C en una incubadora Shaking (LABWIT ZWY-240).

4.2. Obtención de extractos totales

Pasado 30 días de fermentación, se agrega acetato de etilo al medio de cultivo líquido en una relación 1:1 y se deja durante 24 hrs en movimiento a 120 rpm con una temperatura de 20°C, para posteriormente realizar extracción líquido-líquido. Ya separado el micelio desde el medio de cultivo mediante filtración, usando gaza y un embudo de porcelana Buchner en un matraz Kitasato, acoplado a una bomba de vacío, se utiliza un embudo de decantación para realizar la extracción líquido-líquido. Éste paso se realiza 3 veces agregando en cada ocasión Acetato de

etilo en una relación 1:1 para extraer la mayor cantidad de metabolitos secundarios contenidos en cada muestra de hongo. Finalmente se concentra la fase orgánica mediante un evaporador al vacío (RE-2000 A Rotary Evaporator), en el cual se utiliza una bomba de vacío (Buchi V-100) acoplada con un controlador de presión (Buchi Interface I-100). El agua utilizada como refrigerante de la columna del evaporador al vacío es recirculada por el equipo JSRC-13C, manteniendo constantemente la temperatura a -4°C . Los extractos totales secos son almacenados en viales y protegidos de la luz a 4°C , para así ser usados posteriormente en cada ensayo biológico.

4.3. Identificación de la composición química de los extractos totales

Para obtener información general respecto a la química de los extractos totales, fue analizada cada muestra y comparada mediante un cromatógrafo de gas con detector de masas (GC-MS), a una concentración de cada muestra de 2 mg/ml. La determinación de los compuestos presentes en los extractos totales fue realizada en un cromatógrafo de gas acoplado a un espectrofotómetro de masa GC-MS (Agilent 7890), System VLMSD, equipado con un inyector automático Agilent y usando una columna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm de diámetro interno, con una película de 0,25 μm de espesor). El espectrómetro de masas posee un detector HP Modelo 5975. Como gas de arrastre se empleó helio con un flujo de 1 mL/min. Las temperaturas del detector e inyector fueron a 250°C y 300°C , respectivamente. El programa de temperatura que se utilizó es de 100°C 2 min, isotérmica de 41 $100\text{-}280^{\circ}\text{C}$, a $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$, 280°C , con una duración de 40 min y un rango de barrido de masas 100- 500 AMU. Se inyectó 1 μL de la muestra disuelto en acetato de etilo. Los porcentajes relativos de los componentes del extracto fueron obtenidos desde el área bajo el peak. La identificación de los compuestos fue confirmada por comparación de los espectros de masa con la base de datos de NIST17 (Hewlett Packard Mass Spectral Library, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA).

4.4. Actividad biológica de los extractos totales

Para cada extracto fúngico se evaluó la capacidad antioxidante mediante ensayo ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzoazolina-6-sulfonato) y DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) en el Laboratorio de Química de productos Naturales de la facultad de Ciencias naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, sede Concepción. Así también se evaluó el potencial rol como

agentes antibacterianos utilizando los criterios propuestos por la CLSI (2022) en el Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos (LIAA), perteneciente a la facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, sede Concepción.

4.5. Determinación de actividad antioxidante mediante ensayo ABTS

El ensayo ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzoazolina-6-sulfonato) se determinó usando el método descrito por Re *et al.* (1999) con algunas modificaciones de Shah & Modi, (2015). La reacción del catión radical ABTS• es generada usando una concentración de 7mM de la solución ABTS con 2,45 mM de la solución de persulfato de potasio, ambas soluciones son preparadas con agua destilada. Posteriormente se mezclan ambas soluciones en partes iguales, dependiendo de la cantidad a utilizar, dejando en oscuridad a temperatura ambiente por un periodo de 16 hrs. Pasado el tiempo, la solución con el radical generado, se diluye con Metanol hasta obtener un valor de absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ a 754 nm. Para medir la actividad antioxidante, se toman 10 μ L del extracto fúngico y 190 μ L de la dilución del radical ABTS•. Después de 30 minutos se realiza la lectura en espectrofotómetro (Epoch de BioTek).

El % de inhibición del radical ABTS se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación utilizada por Masek *et al.* (2020):

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(A_{CS} - A_E)}{A_{CS}} \times 100$$

Donde A_{CS} es la absorbancia de la muestra control sin el extracto, y A_E es la absorbancia en presencia del extracto fúngico. A partir de los valores de % de inhibición se realiza una curva para cada muestra, la cual permite calcular mediante ecuación de la recta el valor IC 50 (concentración necesaria del extracto para inhibir un 50 % del radical). Dicho valor se expresa en mg/ml.

Se prepara una solución estándar de Trolox (1 mg/ml) con Metanol a diferentes concentraciones (2,7 - 106,7 μ g/ml) para comparar la actividad antioxidante de los extractos fúngicos. Cada ensayo fue realizado por triplicado.

4.6. Determinación de actividad antioxidante mediante ensayo DPPH

Para determinar la capacidad antioxidante mediante el ensayo DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) se realizó el procedimiento descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. Se prepara en un frasco de vidrio completamente cubierto con papel de aluminio una concentración de 20 mg/L del radical DPPH• en Metanol, dejando en oscuridad y a temperatura ambiente durante 3 horas. Pasado el tiempo se toma una cantidad suficiente de la solución dependiendo de la cantidad a utilizar y se diluye con Metanol, llevando a una absorbancia de $0,4 \pm 0,02$ a 517 nm. Para medir la actividad antioxidante, se toman 25 μ L del extracto fúngico y 100 μ L de la solución DPPH•. Después de 30 minutos se realiza la lectura en espectrofotómetro.

El % de inhibición del radical DPPH⁺ se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación utilizada por Masek *et al.* (2020):

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(A_{CS} - A_E)}{A_{CS}} \times 100$$

Donde A_{CS} es la absorbancia de la muestra control sin el extracto, y A_E es la absorbancia en presencia del extracto fúngico. A partir de los valores de % de inhibición se realiza una curva para cada muestra, la cual permite calcular mediante ecuación de la recta el valor IC 50 (concentración necesaria del extracto para inhibir un 50 % del radical). Dicho valor se expresa en mg/ml.

Se prepara una solución estándar de Trolox (1 mg/ml) con Metanol a diferentes concentraciones (2,7 - 106,7 μ g/ml) para comparar la actividad antioxidante de los extractos fúngicos. Cada ensayo fue realizado por triplicado.

4.7. Ensayo de difusión en agar frente a cepas bacterianas

El método de difusión en disco de agar fue utilizado para determinar la actividad antimicrobiana basándose en Jacinto-Azevedo *et al.* (2021) con algunas modificaciones. Se utilizaron bacterias

multirresistentes Gram positivas (*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC UC-459)) y Gram negativas (*Escherichia coli* (ATCC 35218), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC UC-295), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)). Los cultivos de bacterias se inocularon en placas Petri con medio de cultivo TSA (40 gr/L) y se dejaron incubando por 16-24 horas a 37 °C. Luego, se tomaron colonias de bacterias y de suspendieron en agua destilada estéril para obtener una turbidez estándar de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^6$ UFC), para posteriormente ser inoculadas en placas con 25 ml de medio Mueller-Hinton Agar (MHA). Los extractos totales fueron resuspendidos a una concentración de 10 mg/ml en Metanol. Luego se añadió un volumen de 10 µl de extracto a cada disco de papel filtro Whattman N° 1 de 6 mm, equivalente a 100 µg de extracto. Como control positivo fue usado el antibiótico Imipenem (10 ug) y como control negativo Metanol. La actividad antimicrobiana se determinó midiendo el halo de inhibición después de 24 h de incubación (Aqueveque *et al.*, 2015)

4.8. Análisis de datos

Todos los resultados obtenidos de los ensayos antioxidantes (ABTS y DPPH) fueron expresados como media \pm desviación estándar (SD), ya que se evaluó por triplicado cada extracto fúngico. En cuanto a la actividad antibacteriana, los resultados se analizaron utilizando los criterios del Instituto de Estándares Clínico y de Laboratorio (CLSI 2022). Los extractos que produjeron un halo de inhibición mayor o igual a 20 mm de diámetro fueron considerados activos contra las cepas bacterianas.

5. RESULTADOS

5.1. Cultivo de cepas fúngicas

Las cepas cultivadas presentan a nivel macromorfológico un micelio blanquecino con variaciones en su estructura, algunos más rugosos que otros, con relieves y con un crecimiento fragmentado, en todos oscureciéndose hacia el punto de inoculación en el centro de la placa (Figura 2).

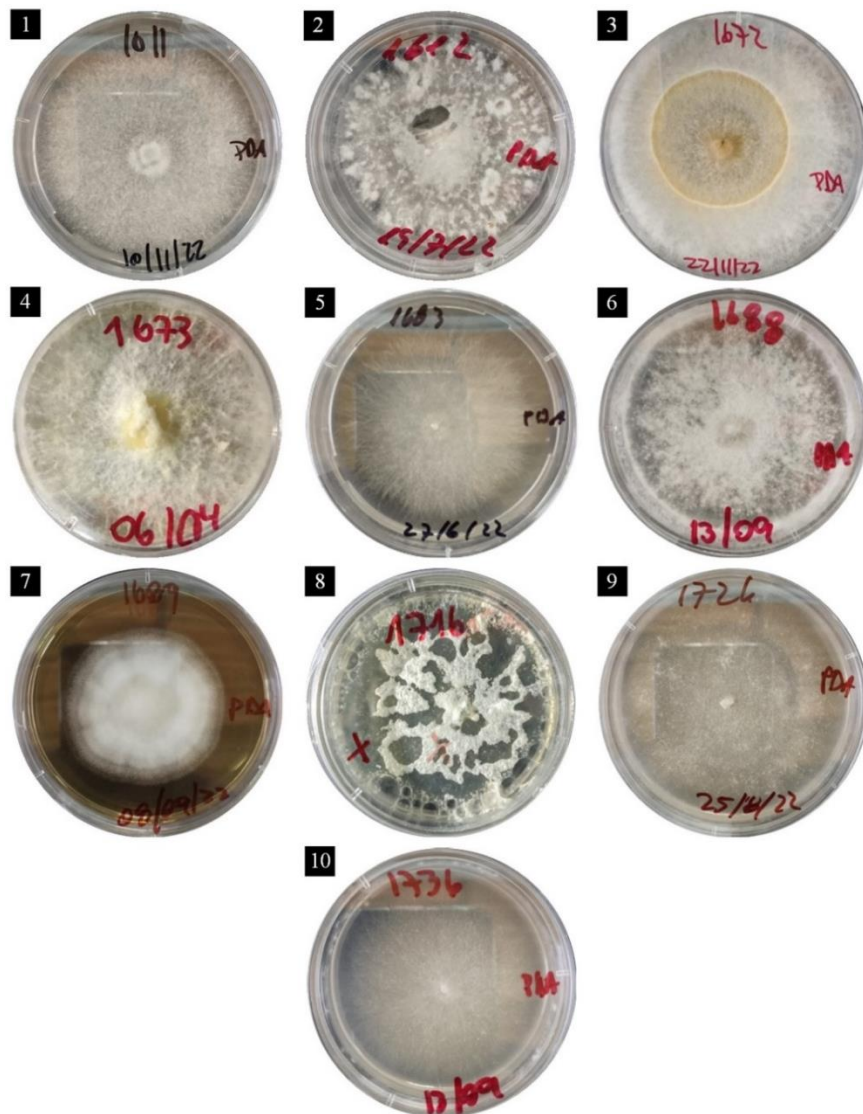


Figura 2. Micelio en placa de hongos pertenecientes a la familia Stereaceae utilizados en este estudio. 1) *Stereodiscus trivialis* (1611), 2) *Gloeosoma mirabile* (1612), 3) *Stereum hirsutum*

(1672), 4) *Stereum hirsutum* (1673), 5) *Gloeocystidiellum rajchenbergii* (1683), 6) *Stereodiscus patagonicus* (1688), 7) *Gloeosoma decorticans* (1689), 8) *Gloeosoma vitellinum* (1716), 9) *Gloeocystidiellum* sp. (1726), 10) *Gloeocystidiellum* sp. (1736).

5.2. Composición química de los extractos

La composición química de cada extracto fue determinada mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Anexo 1). Para ello cada extracto se preparó a una concentración de 2 mg/ml disueltos en acetato de etilo. Para cada muestra analizada, se presenta el cromatograma gaseoso (Figura 3-12).

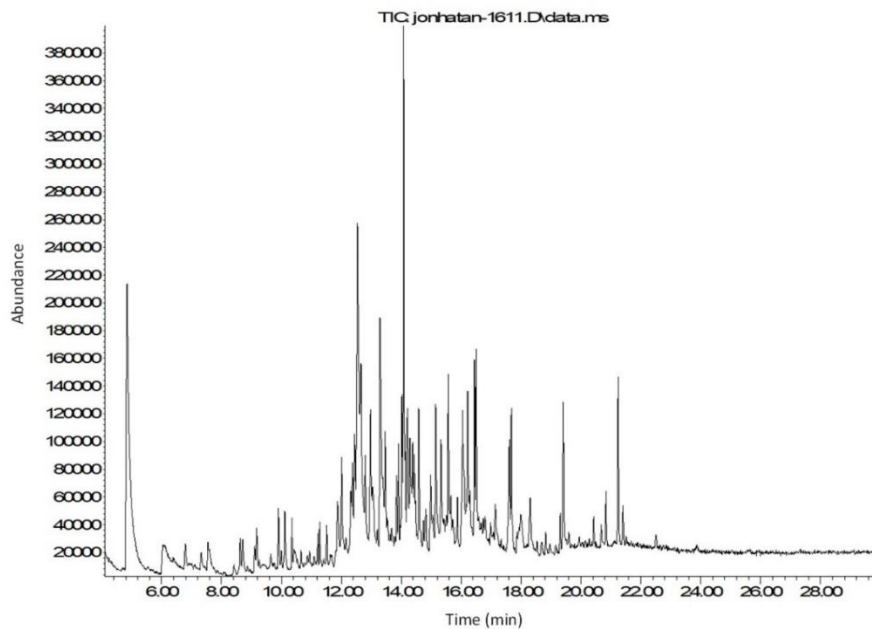


Figura 3. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Stereodiscus trivialis* 1611

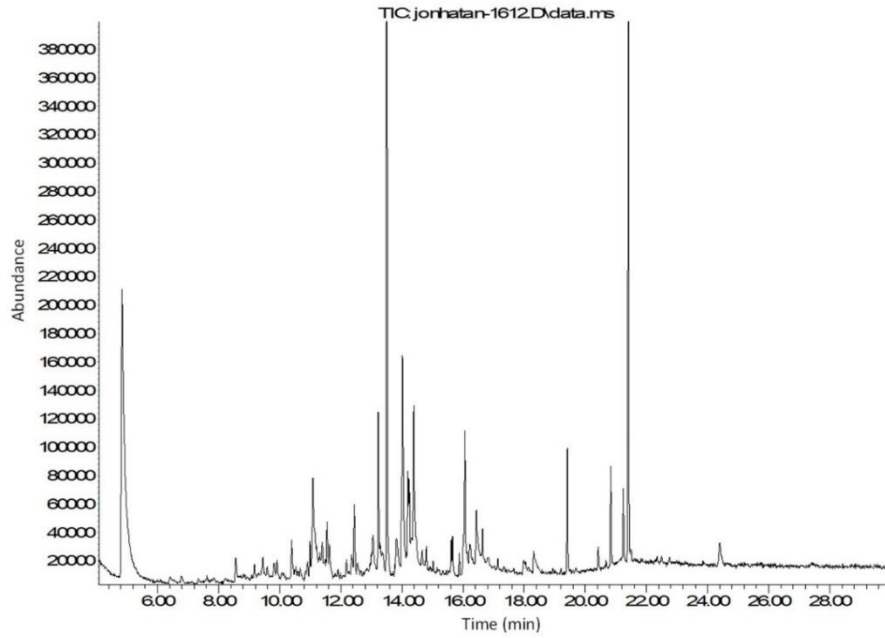


Figura 4. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Gloeosoma mirabile* 1612

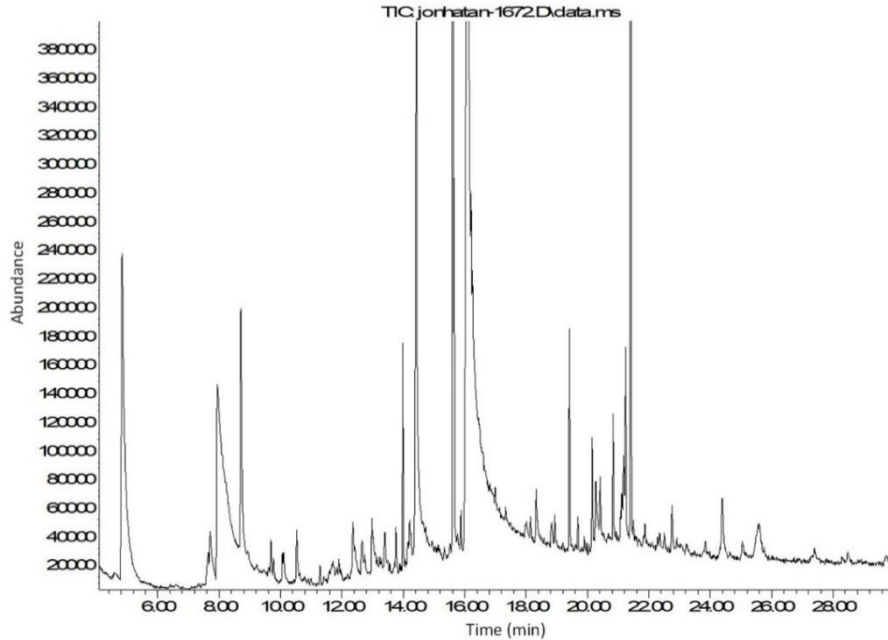


Figura 5. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Stereum hirsutum* 1672

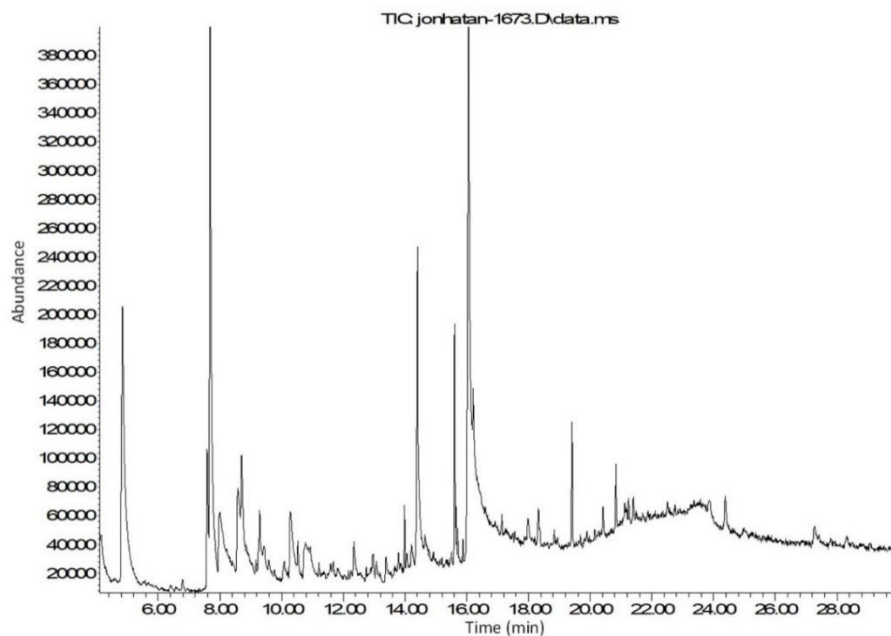


Figura 6. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Stereum hirsutum* 1673

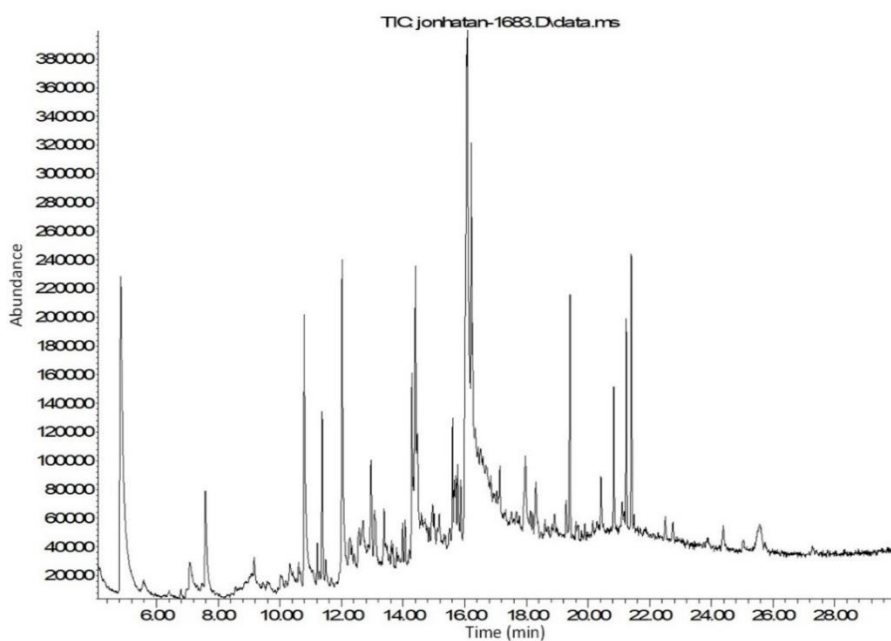


Figura 7. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Gloeocystidiellum rajchenbergii* 1683

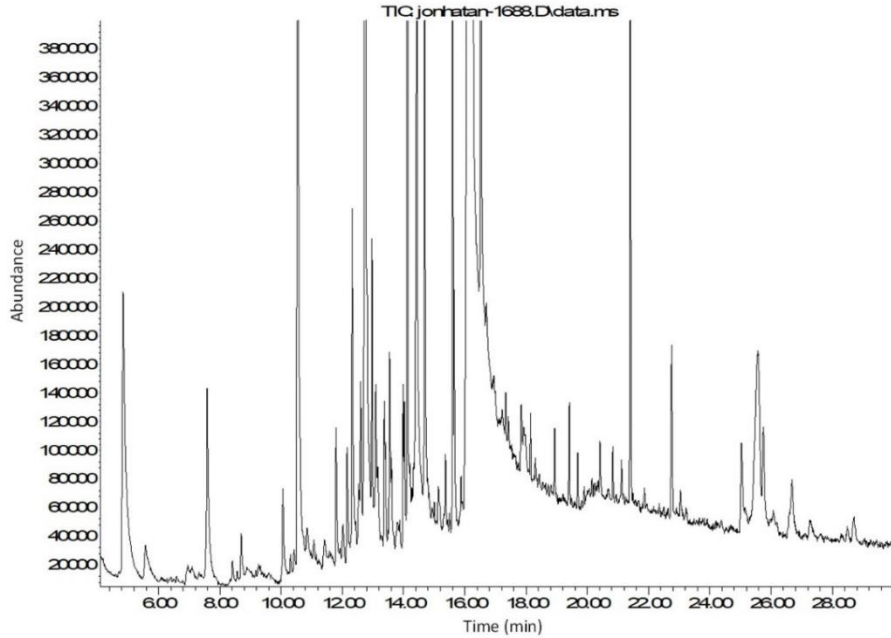


Figura 8. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Stereodiscus patagonicus* 1688

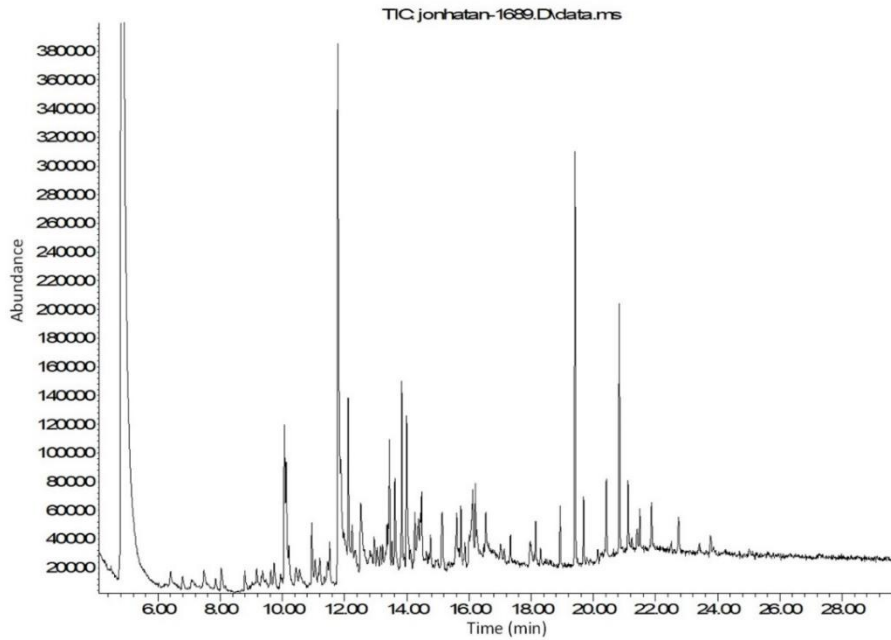


Figura 9. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Gloeosoma decorticans* 1689.

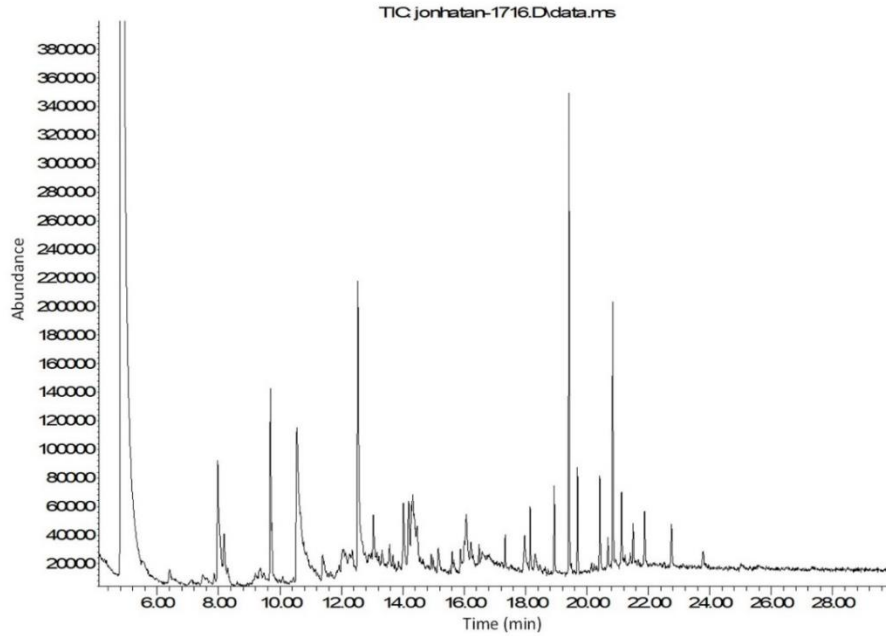


Figura 10. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Gloeosoma vitellinum* 1716.

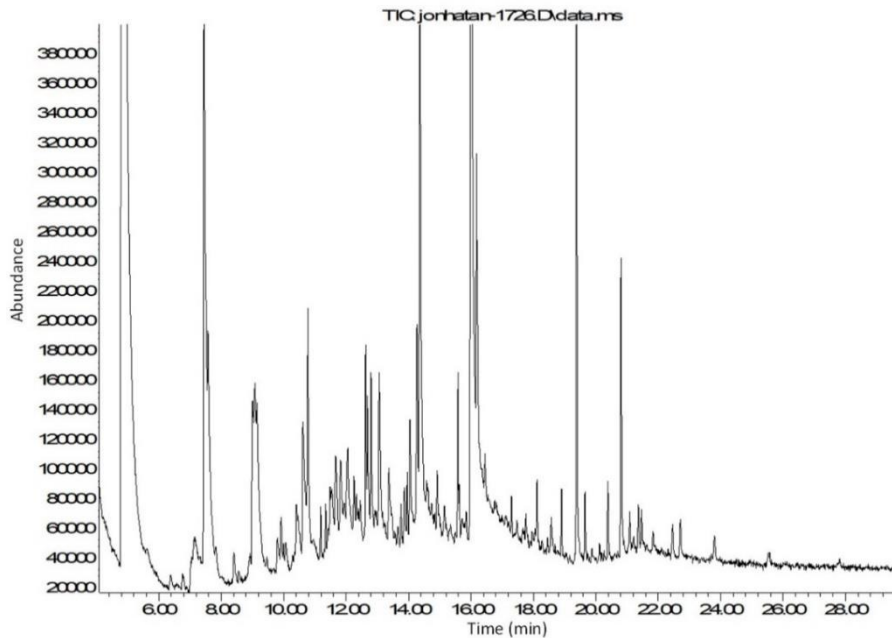


Figura 11. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Gloeocystidiellum* sp. 1726.

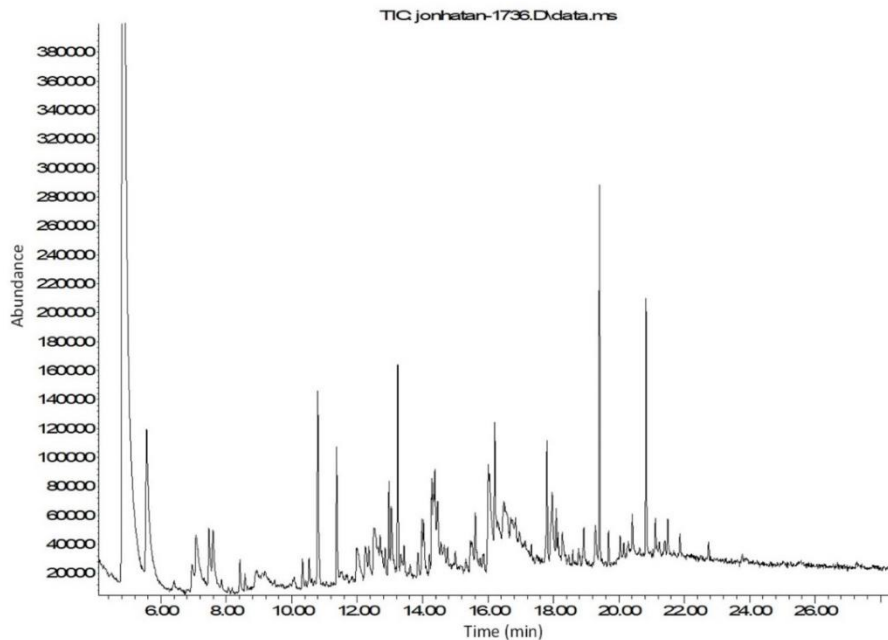
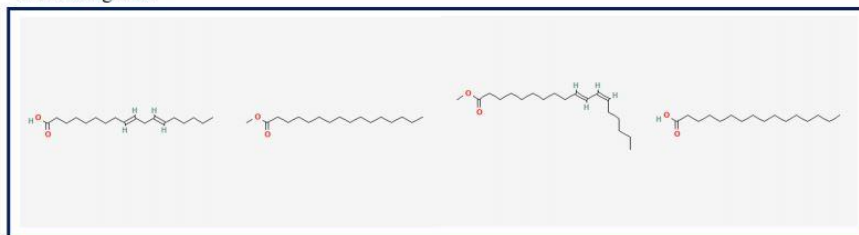
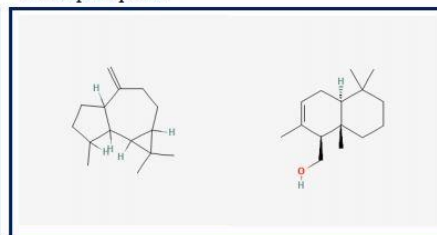


Figura 12. Cromatograma del extracto total de acetato de etilo del medio de cultivo de *Gloeocystidiellum* sp. 1736.

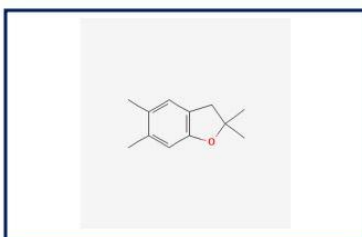
a. Ácidos grasos



b. Sesquiterpenos



c. Furano



d. Compuestos fenólicos

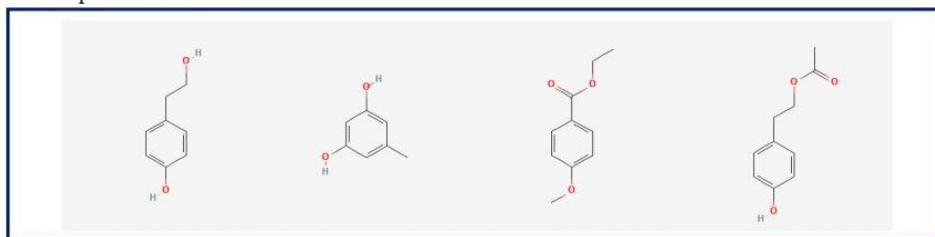


Figura 13. Una selección de núcleos químicos mayoritarios presente en los extractos fúngicos utilizados en este estudio analizados por GC-MS.

5.3. Evaluación de actividad antioxidante

Se determinó el valor IC 50 (concentración necesaria para inhibir el 50 % del radical) para cada extracto fúngico utilizando el ensayo ABTS y DPPH. Cada ensayo se realizó por triplicado para cada extracto fúngico, determinando así su desviación estándar (Tabla 2).

Tabla 2. Actividad antioxidante de los extractos fúngicos utilizados en este estudio pertenecientes a la familia Stereaceae mediante ensayo DPPH y ABTS.

Especie	Código	Actividad antioxidante	
		Ensayo DPPH• IC 50 (mg/ml) ^a	Ensayo ABTS• IC 50 (mg/ml) ^a
<i>Stereodiscus trivialis</i>	1611	4,04 ± 0,35	2,79 ± 0,07
<i>Gloeosoma mirabile</i>	1612	0,87 ± 0,06	1,56 ± 0,13
<i>Stereum hirsutum</i>	1672	4,64 ± 0,23	1,26 ± 0,04
<i>Stereum hirsutum</i>	1673	5,61 ± 0,65	2,74 ± 0,01
<i>Gloeocystidiellum rajchenbergii</i>	1683	2,68 ± 0,10	1,39 ± 0,04
<i>Stereodiscus patagonicus</i>	1688	1,85 ± 0,05	2,21 ± 0,05
<i>Gloeosoma decorticans</i>	1689	0,99 ± 0,09	2,81 ± 0,29
<i>Gloeosoma vitellinum</i>	1716	2,99 ± 0,07	4,37 ± 0,42
<i>Gloeocystidiellum</i> sp.	1726	1,28 ± 0,01	3,08 ± 0,06
<i>Gloeocystidiellum</i> sp.	1736	4,67 ± 0,06	3,72 ± 0,46
Trolox	-	0,06 ± 0,01	0,18 ± 0,03

^a Los valores IC 50 representan la media ± desviación estándar por triplicado

El ensayo ABTS mide la capacidad de los antioxidantes presentes en el extracto para neutralizar el catión radical estable ABTS• cromóforo azul-verde de máxima absorción a 734 nm, cuya intensidad disminuye en la presencia de antioxidantes. En cuanto al ensayo DPPH, se basa en la donación de electrones de los antioxidantes para neutralizar el radical DPPH•, esta reacción va acompañada por la decoloración del radical DPPH• medido a 517 nm, actuando como

indicador de la actividad antioxidante (Munteanu & Apetrei, 2021). En cuanto a los resultados obtenidos se puede observar que para una misma especie existe gran diferencia en el valor IC 50, esto se puede deber al uso de diferentes reactivos para cada metodología, diferentes estructuras estereoquímicas de los radicales DPPH• y ABTS•, la solubilidad de los extractos, la polaridad y la capacidad de quelación de metales por parte de los antioxidantes (Sridhar & Charles, 2019). Sin embargo, específicamente se desconoce la interacción que ocurre entre el extracto fúngico y los radicales ya que la reacción que se produce se debe a una sinergia de compuestos presentes en los extractos fúngicos, por lo que son necesarios estudios más específicos que ayuden a responder esta interrogante.

5.4. Evaluación de actividad antibacteriana

Para considerar un agente antibacteriano como efectivo contra una cepa bacteriana según los criterios del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), el halo de inhibición debe ser mayor o igual a 20 mm con 30 µg de extracto. Se evaluó la actividad antibacteriana utilizando el método de difusión en papel de disco de agar, sobre 6 cepas bacteriana de interés clínico (Figura 14)

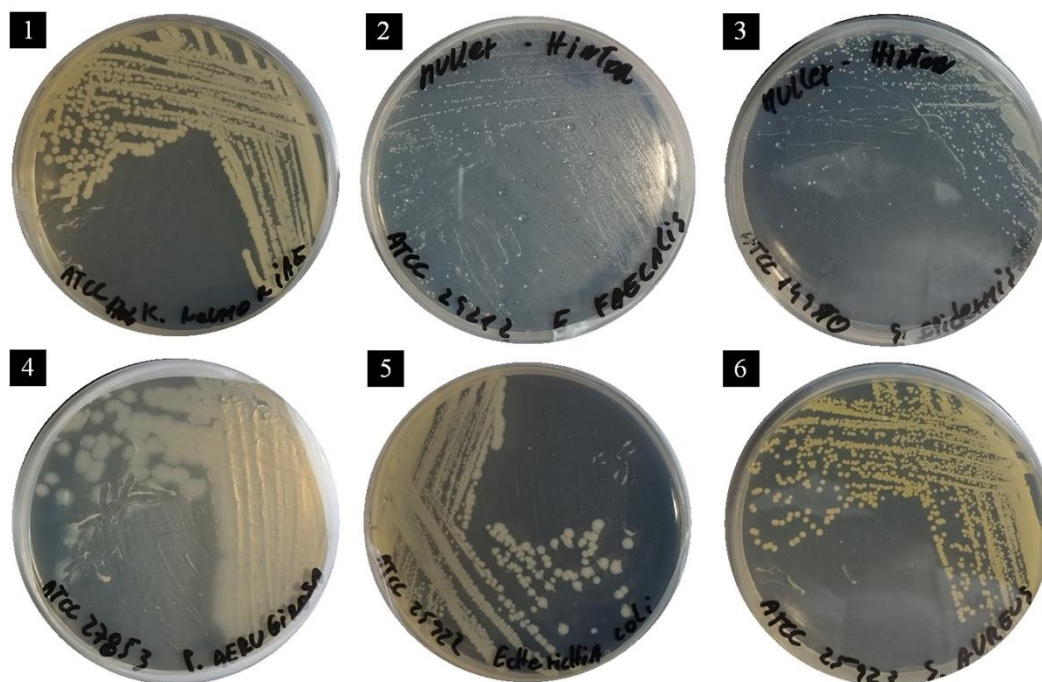


Figura 14. Cultivos de bacterias utilizadas en este estudio. 1) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 1706), 2) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), 3) *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990), 4) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), 5) *Escherichia coli* (ATCC 25922), 6) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

La cantidad de extracto utilizado en los ensayos fue de 100 µg. Los extractos fúngicos no ejercieron ningún efecto sobre las cepas bacterianas probadas, pasado 24 h de incubación (Tabla 3)

Tabla 3. Actividad antibacteriana de los extractos fúngicos utilizados en este estudio perteneciente a la familia Stereaceae

Bacterias	Extractos (100 µg)										Control
	1611	1612	1672	1673	1683	1688	1689	1716	1726	1736	Imipenem
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	49
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45

6. DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios provenientes de hongos han demostrado ser una fuente abundante de nuevos compuestos bioactivos. El cultivo de hongos en medio líquido ofrece muchas ventajas importantes, ya que la cepa cultivada es capaz de producir compuestos y liberarlos al medio en el que está inmerso (Aqueveque et al., 2017b).

El análisis de GC-MS reveló la presencia de compuestos que presentan una amplia gama de bioactividades, destacando en su mayoría compuestos que son agentes antioxidantes y antibacterianos (Anexo 1). Dentro de las estructuras químicas de relevancia presente en los extractos, *S. trivialis* 1611 presenta un compuesto clorado denominado drosofilin A metil éter (CAS# 000944-78-5), compuesto halogenado que en su mayoría son reportados exhibiendo un amplio espectro de bioactividad (Anke & Weber 2009). *S. hirsutum* 1672 presentó dentro de su composición química Orcinol (CAS# 000504-15-4), compuesto fenólico que exhibe una notable actividad antioxidante (da Silva et al., 2020). *S. patagonicus* 1688 presentó un anillo Pirrol (CAS# 019179-12-5) y *Gloeocystidiellum* sp. 1736 una estructura denominada Bencenopropanol (CAS# 000122-97-4), ambos compuestos han sido reportados generando actividad antioxidante importante y actividad antibacteriana (Rajalakshmi et al., 2016; Ser et al., 2015).

La actividad antioxidante evaluada para cada extracto fúngico fue bastante elevada para ambos ensayos (ABTS Y DPPH), lo que tiene una estrecha relación respecto a la composición química que poseen. Todas las especies presentaron un IC 50 por debajo de los 6 mg/ml, demostrando que la cantidad de extracto necesaria para inhibir el 50 % del radical oxidante es mínimo. *G. mirabile* (1612) resultó ser la especie con mejor actividad antioxidante para el ensayo DPPH con un IC 50 de $0,87 \pm 0,06$ mg/ml, mientras que para el ensayo ABTS con un IC 50 de $1,26 \pm 0,04$ mg/ml, la especie *S. hirsutum* (1672) resultó ser la mejor especie con actividad antioxidante. Se han reportado valores de IC 50 en otras familias de hongos de las especies *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus*, *Grifola frondosa*, *Lentinus edodes* y *Russula sanguineae* que exhiben un valor IC 50 por sobre los 50 mg/ml (Wu & Xu, 2015), concentraciones que son, al menos, 10 veces superior a las demostradas por las especies de la familia Stereaceae en este trabajo.

Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos totales de las 10 cepas fúngicas, frente a 6 bacterias de relevancia clínica. La cantidad del extracto utilizado en el ensayo fue de 100 µg por cada disco de papel filtro. Los extractos no ejercieron ningún efecto sobre las cepas bacterianas utilizadas. Posiblemente uno de los motivos por lo que sucedió esto es la cantidad de extracto utilizado, ya que, según la CLSI, la cantidad a utilizar es para compuestos puros. No es lo mismo realizar ensayos utilizando moléculas puras y aisladas, que utilizar extractos totales ya que el compuesto que produce actividad antibacteriana puede que esté en muy poca concentración dentro del extracto. Otro motivo por el cual no ejercieron actividad antibacteriana los extractos se puede deber a que el agar es una preparación acuosa y los compuestos apolares no difundieron, por lo que las moléculas que ejercen actividad antibacteriana no lograron difundir al medio y visualizarse halos de inhibición (Vallavan *et al.*, 2020). Debido a esto, no fue posible realizar ensayos antimicrobianos de mayor sensibilidad como el de la concentración mínima inhibitoria o la concentración mínima bactericida descrita en el trabajo de Liu *et al.*, (2013).

Los resultados de este trabajo evidenciaron que los extractos totales utilizados en este estudio pertenecientes a la familia Stereaceae presentan un valioso potencial para futuras aplicaciones como nuevos agentes antioxidantes naturales. Para lograrlo se deben caracterizar con precisión la química de estos extractos y realizarse estudios farmacológicos exhaustivos (Dokhaharani *et al.*, 2021).

7. CONCLUSIONES

El presente estudio evaluó la composición química, la actividad antioxidante y el rol potencial como agente antibacteriano de 10 especies fúngicas pertenecientes a la familia Stereaceae, *Stereodiscus trivialis* (Speg.) Rajchenb. & Pildain (código 1611), *Gloeosoma mirabile* (Berk. & M.A. Curtis) Rajchenb., Pildain & Riquelme (código 1612), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (código 1672), *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (código 1673), *Gloeocystidiellum rajchenbergii* Gorjón & Hallenb. (código 1683), *Stereodiscus patagonicus* (Nogal, Telleria, M. Dueñas & M.P. Martín) Rajchenb. & Pildain (código 1688), *Gloeosoma decorticans* Rajchenb., Pildain & Riquelme (código 1689), *Gloeosoma vitellinum* (Lév.) Bres. (código 1716), *Gloeocystidiellum* sp. (código 1726) y *Gloeocystidiellum* sp. (Código 1736).

Basado en los compuestos químicos presentes en cada extracto, se demostró que estos hongos presentan metabolitos secundarios que les permite ser buenos agentes antioxidantes y antibacterianos.

La actividad antioxidante de los 10 extractos fúngicos demostró ser elevada, evidenciada en un IC 50 por debajo de los 4,5 mg/ml en el ensayo ABTS y 6,0 mg/ml en el ensayo DPPH. En cuanto a la actividad antibacteriana de los extractos totales, fue nula frente a las 6 cepas bacterianas a una concentración de 100 µg, sin embargo, se propone evaluar la actividad antibacteriana utilizando otro tipo de técnica para poder definir mejor esta actividad, ya que los metabolitos presentes en la composición química de los extractos revelan un potencial antibacteriano para cada cepa fúngica

Los resultados evidenciados en este estudio abren camino a seguir estudiando los hongos pertenecientes a la familia Stereaceae de manera aún más específica, realizando exploraciones adicionales para determinar qué tipo de compuestos son responsables de las propiedades evidenciadas y así generar un escalamiento en la producción de nuevos agentes bioactivos basado en los productos naturales.

8. REFERENCIAS

- Abraham, W.R. (2001). Bioactive Sesquiterpenes Produced by Fungi are they Useful for Humans as Well. *Current Medicinal Chemistry*, 8(6), 583–606. <https://doi.org/10.2174/0929867013373147>
- Acharya, K., Nandi, S., & Dutta, A. K. (2019). Microanatomical and Physicochemical Characterization and Antioxidative Activity of Methanolic Extract of *Oudemansiella canarii* (Jungh.) Höhn. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(1), 76–81. <https://doi.org/10.4274/tjps.19981>
- Alshehri, M. M., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sharifi-Rad, J., Tutuncu, S., Aydar, E. F., Topkaya, C., Mertdinc, Z., Ozcelik, B., Aital, M., Kumar, N. V. A., Lapava, N., Rajkovic, J., Ertani, A., Nicola, S., Semwal, P., Painuli, S., González-Contreras, C., Martorell, M., ... Cho, W. C. (2022). A Review of Recent Studies on the Antioxidant and Anti-Infectious Properties of Senna Plants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 1–38. <https://doi.org/10.1155/2022/6025900>
- Anke, T. & Weber, -D. (2009). The Mycota XV Physiology and Genetics. (K. Esser, Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, 410 pp.
- Antonelli, A., Fry, C., Smith, R. J., Simmonds, M. S. J., Kersey, P. J., Pritchard, H. W., Abbo, M. S., Acedo, C., Adams, J., Ainsworth, A. M., Allkin, B., Annecke, W., Bachman, S. P., Bacon, K., Bárrios, S., Barstow, C., Battison, A., Bell, E., Bensusan, K., ... Zhang, B. G. (2020). *State of the World's Plants and Fungi 2020*. Royal Botanic Gardens, Kew. <https://doi.org/10.34885/172>
- Aqueveque, P., Céspedes, C. L., Becerra, J., Aranda, M., & Sterner, O. (2017b). Antifungal activities of secondary metabolites isolated from liquid fermentations of *Stereum hirsutum* (Sh134-11) against *Botrytis cinerea* (grey mould agent). *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1048–1054. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.05.036>
- Aqueveque, P., Céspedes, C. L., Becerra, J., Dávila, M., & Sterner, O. (2015). Bioactive compounds isolated from submerged fermentations of the Chilean fungus *Stereum rameale*. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 70(3–4), 97–102. <https://doi.org/10.1515/znc-2015-5005>
- Aqueveque, P. M., Cespedes, C. L., Kubo, I., Seigler, D. S., & Sterner, O. (2017a). The impact

- of Andean Patagonian mycoflora in the search for new lead molecules: Molecules of the mycoflora from the Patagonian Andes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1401(1), 5–18. <https://doi.org/10.1111/nyas.13402>
- Baldrian, P. (2006). Fungal laccases – occurrence and properties. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(2), 215–242. <https://doi.org/10.1111/j.1574-4976.2005.00010.x>
- Baldrian, P., & Valášková, V. (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(3), 501–521. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x>
- Baldrian, P., Větrovský, T., Lepinay, C., & Kohout, P. (2022). High-throughput sequencing view on the magnitude of global fungal diversity. *Fungal Diversity*, 114(1), 539–547. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00472-y>
- Barrios-González, J. & Tarragó-Castellanos, M. R. (2017). In Mérillon, J. M., & K. G. Ramawat (eds.). 2017. Fungal Metabolites. Springer International Publishing Switzerland, 1001 pp.
- Basak, S., Singh, P., & Rajurkar, M. (2016). Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *Journal of Pathogens*, 2016, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2016/4065603>
- Bocian, A., Ciszkowicz, E., Hus, K. K., Buczkowicz, J., Lecka-Szlachta, K., Pietrowska, M., Petrilla, V., Petrillova, M., Legáth, L., & Legáth, J. (2020). Antimicrobial Activity of Protein Fraction from *Naja ashei* Venom against *Staphylococcus epidermidis*. *Molecules*, 25(2), 293. <https://doi.org/10.3390/molecules25020293>
- Boonmee, S., Wanasinghe, D. N., Calabon, M. S., Huanraluek, N., Chandrasiri, S. K. U., Jones, G. E. B., Rossi, W., Leonardi, M., Singh, S. K., Rana, S., Singh, P. N., Maurya, D. K., Lagashetti, A. C., Choudhary, D., Dai, Y.-C., Zhao, C.-L., Mu, Y.-H., Yuan, H.-S., He, S.-H., ... Hyde, K. D. (2021). Fungal diversity notes 1387–1511: Taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. *Fungal Diversity*, 111(1), 1–335. <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00489-3>
- Brakhage, A. A. (2013). Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, 11(1), 21–32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2916>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

- Caiafa, M. V., Sandoval-Leiva, P., Matheny, P. B., Calle, A., & Smith, M. E. (2021). Four new species of sequestrate *Inocybe* from Chilean Nothofagaceae forests. *Mycologia*, 113(3), 629–642. <https://doi.org/10.1080/00275514.2020.1859324>
- Çayan, F., Tel-Çayan, G., Deveci, E., Öztürk, M., & Duru, M. E. (2019). Chemical Profile, In Vitro Enzyme Inhibitory, and Antioxidant Properties of Stereum Species (Agaricomycetes) from Turkey. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 21(11), 1075–1087. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.2019032893>
- Chen, C.-M., Wu, C.-T., Yang, T.-H., Chang, Y.-A., Sheu, M.-L., & Liu, S. H. (2016). Green Tea Catechin Prevents Hypoxia/Reperfusion-Evoked Oxidative Stress-Regulated Autophagy-Activated Apoptosis and Cell Death in Microglial Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(20), 4078–4085. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b01513>
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- Choi, J., & Kim, S.-H. (2017). A genome Tree of Life for the Fungi kingdom. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(35), 9391–9396.
- Clericuzio, M., Bivona, M., Gamalero, E., Bona, E., Novello, G., Massa, N., Dovana, F., Marengo, E., & Robotti, E. (2021). A Systematic Study of the Antibacterial Activity of Basidiomycota Crude Extracts. *Antibiotics*, 10(11), 1424. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111424>
- CLSI. (2022). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI Supplement M100; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA; ISBN 978-1-68440-135-2
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic Escherichia coli. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 822–880. <https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13>
- da Silva, M. H. R., Cueva-Yesquén, L. G., Júnior, S. B., Garcia, V. L., Sartoratto, A., de Angelis, D. de F., & de Angelis, D. A. (2020). Endophytic fungi from *Passiflora incarnata*: An antioxidant compound source. *Archives of Microbiology*, 202(10), 2779–2789. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02001-y>
- Dai, Y.-C., Zhou, L.-W., Cui, B.-K., Chen, Y.-Q., & Decock, C. (2010). Current advances in *Phellinus* sensu lato: Medicinal species, functions, metabolites and mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(5), 1587–1593. <https://doi.org/10.1007/s00253-010->

- de Almeida, C. V., Taddei, A., & Amedei, A. (2018). The controversial role of *Enterococcus faecalis* in colorectal cancer. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, *11*, 175628481878360. <https://doi.org/10.1177/1756284818783606>
- de Sousa, T., Hébraud, M., Dapkevicius, M. L. N. E., Maltez, L., Pereira, J. E., Capita, R., Alonso-Calleja, C., Igrejas, G., & Poeta, P. (2021). Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(23), 12892. <https://doi.org/10.3390/ijms222312892>
- Demain, A. L. (2014). Valuable Secondary Metabolites from Fungi. In J.-F. Martín, C. García-Estrada, & S. Zeilinger (Eds.), *Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites* (pp. 1–15). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1191-2_1
- Dhyani, P., Quispe, C., Sharma, E., Bahukhandi, A., Sati, P., Attri, D. C., Szopa, A., Sharifi-Rad, J., Docea, A. O., Mardare, I., Calina, D., & Cho, W. C. (2022). Anticancer potential of alkaloids: A key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. *Cancer Cell International*, *22*(1), 206. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02624-9>
- Dighton, J. (2018). *Fungi in Ecosystem Processes* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315371528>
- Dimitrijevic, M. V., Mitic, V. D., Nikolic, J. S., Djordjevic, A. S., Mutic, J. J., Stankov Jovanovic, V. P., & Stojanovic, G. S. (2019). First Report about Mineral Content, Fatty Acids Composition and Biological Activities of Four Wild Edible Mushrooms. *Chemistry & Biodiversity*, *16*(2), e1800492. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800492>
- Dokhaharani, S. C., Ghobad-Nejhad, M., Moghimi, H., Farazmand, A., & Rahmani, H. (2021). Biological activities of two polypore macrofungi (Basidiomycota) and characterization of their compounds using HPLC–DAD and LC–ESI–MS/MS. *Folia Microbiologica*, *66*(5), 775–786. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00884-y>
- Escobar, S. J. de M., Fong, G. M., Winnischofer, S. M. B., Simone, M., Munoz, L., Dennis, J. M., Rocha, M. E. M., & Witting, P. K. (2019). Anti-proliferative and cytotoxic activities of the flavonoid isoliquiritigenin in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *Chemico-Biological Interactions*, *299*, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.11.022>
- Essien, E., Udoh, B., & Peter, N. (2015). In vitro Antioxidant Activity and Total Polyphenols

- Content of Wild Edible Polypore Mushrooms – *Bondazewia berkeleyi* and *Ganoderma lucidum*. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 6(1), 61–67. <https://doi.org/10.9734/BJPR/2015/16196>
- Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 6, PMC.S14459. <https://doi.org/10.4137/PMC.S14459>
- Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
- Frisvad, J. C., Bridge, P. D. & Arora, D. K. (eds.). (1998). Chemical fungal taxonomy. CRC Press, New York, 424 pp.
- Fukasawa, Y. (2021). Ecological impacts of fungal wood decay types: A review of current knowledge and future research directions. *Ecological Research*, 36(6), 910–931. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12260>
- Gargano, M. L., van Griensven, L. J. L. D., Isikhuemhen, O. S., Lindequist, U., Venturella, G., Wasser, S. P., & Zervakis, G. I. (2017). Medicinal mushrooms: Valuable biological resources of high exploitation potential. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 151(3), 548–565. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1301590>
- Garnica, S., Sandoval-Leiva, P., & Riess, K. (2021). Phylogenetic relationships in the genus *Podoserpula* and description of *P. aliweni*, a new species from Chile. *Mycologia*, 1–12. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1927422>
- Gloer, J. B. (2007). Applications of fungal ecology in the search for new bioactive natural products. En: Kubicek, C. P., & I. S. Druzhinina (eds.). *The Mycota IV. Environmental and Microbial Relationships*. SpringerVerlag Berlin Heidelberg, 350 pp.
- González-Ramírez, M., Gavilán, J., Silva-Grecchi, T., Cajas-Madriaga, D., Triviño, S., Becerra, J., Saez-Orellana, F., Pérez, C., & Fuentealba, J. (2018). A Natural Benzofuran from the Patagonic *Aleurodiscus vitellinus* Fungus has Potent Neuroprotective Properties on a Cellular Model of Amyloid- β Peptide Toxicity. *Journal of Alzheimer's Disease*, 61(4), 1463–1475. <https://doi.org/10.3233/JAD-170958>
- Gorjón, S. P., & Hallenberg, N. (2013). Some new species and a first checklist of corticioid fungi

- (Basidiomycota) from Chile. *Mycological Progress*, 12(2), 185–192. <https://doi.org/10.1007/s11557-012-0824-z>
- Hameed, A., Hussain, S. A., Yang, J., Ijaz, M. U., Liu, Q., Suleria, H. A. R., & Song, Y. (2017). Antioxidants Potential of the Filamentous Fungi (*Mucor circinelloides*). *Nutrients*, 9(10), 1101. <https://doi.org/10.3390/nu9101101>
- Hanson, J. R. (2008). *The Chemistry of Fungi*. RSC Publishing, Cambridge, UK, 221 pp.
- Hawksworth, D. L., & Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*, 5(4), 5.4.10. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016>
- Heleno, S. A., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2012). Phenolic, Polysaccharidic, and Lipidic Fractions of Mushrooms from Northeastern Portugal: Chemical Compounds with Antioxidant Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(18), 4634–4640. <https://doi.org/10.1021/jf300739m>
- Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Abeywickrama, P. D., Aluthmuhandiram, J. V. S., Brahamanage, R. S., Brooks, S., Chaiyasen, A., Chethana, K. W. T., Chomnunti, P., Chepkirui, C., Chuankid, B., de Silva, N. I., Doilom, M., Faulds, C., Gentekaki, E., ... Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 97(1), 1–136. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00430-9>
- Imai, K., Ishibashi, N., Kodana, M., Tarumoto, N., Sakai, J., Kawamura, T., Takeuchi, S., Taji, Y., Ebihara, Y., Ikebuchi, K., Murakami, T., Maeda, T., Mitsutake, K., & Maesaki, S. (2019). Clinical characteristics in blood stream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, and *Klebsiella quasipneumoniae*: A comparative study, Japan, 2014–2017. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 946. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4498-x>
- Jacinto-Azevedo, B., Valderrama, N., Henríquez, K., Aranda, M., & Aqueveque, P. (2021). Nutritional value and biological properties of Chilean wild and commercial edible mushrooms. *Food Chemistry*, 356, 129651. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129651>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature*

- Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Keller, N. P. (2019). Fungal secondary metabolism: Regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>
- Kew, R.B.G., (2018). *State of the World's Fungi 2018*.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W. & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi*. CAB International, Wallingford, 771 pp
- Kitic, D., Miladinovic, B., Randjelovic, M., Szopa, A., Sharifi-Rad, J., Calina, D., & Seidel, V. (2022). Anticancer Potential and Other Pharmacological Properties of *Prunus armeniaca* L.: An Updated Overview. *Plants*, 11(14), 1885. <https://doi.org/10.3390/plants11141885>
- Kramer, R., & Abraham, W.-R. (2012). Volatile sesquiterpenes from fungi: What are they good for? *Phytochemistry Reviews*, 11(1), 15–37. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9216-2>
- Lazar, V., Ditu, L.-M., Pircalabioru, G. G., Gheorghe, I., Curutiu, C., Holban, A. M., Picu, A., Petcu, L., & Chifiriuc, M. C. (2018). Aspects of Gut Microbiota and Immune System Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer. *Frontiers in Immunology*, 9, 1830. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01830>
- Li, H., Young, S. E., Poulsen, M., & Currie, C. R. (2021). Symbiont-Mediated Digestion of Plant Biomass in Fungus-Farming Insects. *Annual Review of Entomology*, 66(1), 297–316. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-040920-061140>
- Liu, K., Wang, J., Zhao, L., & Wang, Q. (2013). Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava*. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 375–380. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.001>
- Lobo, M. G., Hounsome, N., & Hounsome, B. (2018). Biochemistry of Vegetables: Secondary Metabolites in Vegetables - Terpenoids, Phenolics, Alkaloids, and Sulfur-Containing Compounds. In M. Siddiq & M. A. Uebersax (Eds.), *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing* (pp. 47–82). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119098935.ch3>
- Lombard, V., Golaconda Ramulu, H., Drula, E., Coutinho, P. M., & Henrissat, B. (2014). The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D490–D495. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1178>

- Masek, A., Latos-Brozio, M., Kałużna-Czaplińska, J., Rosiak, A., & Chrzescijanska, E. (2020). Antioxidant Properties of Green Coffee Extract. *Forests*, 11(5), 557. <https://doi.org/10.3390/f11050557>
- Morrone, J. J. (2015). Biogeographical regionalisation of the Andean region. *Zootaxa*, 3936(2), 207. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3936.2.3>
- Morrone, J. J. (2018). *Evolutionary Biogeography of the Andean Region* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429486081>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nouhra, E., Kuhar, F., Truong, C., Pastor, N., Crespo, E., Mujic, A., Caiafa, M. V., & Smith, M. E. (2021). Thaxterogaster revisited: A phylogenetic and taxonomic overview of sequestrate Cortinarius from Patagonia. *Mycologia*, 1–34. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1894535>
- Oberwinkler, F. (2012). 16 Basidiolichens. In B. Hock (Ed.), *Fungal Associations* (pp. 341–362). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0_16
- Parra-Soto, S., Petermann-Rocha, F., Martínez-Sanguinetti, M. A., Leiva-Ordeñez, A. M., Troncoso-Pantoja, C., Ulloa, N., Diaz-Martínez, X., & Celis-Morales, C. (2020). Cáncer en Chile y en el mundo: Una mirada actual y su futuro escenario epidemiológico. *Revista Médica de Chile*, 148(10), 1489–1495. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872020001001489>
- Podkowa, A., Kryczyk-Poprawa, A., Opoka, W., & Muszyńska, B. (2021). Culinary–medicinal mushrooms: A review of organic compounds and bioelements with antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 247(3), 513–533. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03646-1>
- Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C. J., & Valko, M. (2017). Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, 38(7), 592–607. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2017.04.005>
- Rajalakshmi, P., Vadivel, V., Ravichandran, N., Sudha, V., & Brindha, P. (2016). Pharmacognostic evaluation of *Abies webbiana* leaf: a Siddha herbal ingredient. *Asian J Pharm Clin Res*, 9(4), 213-219.

- Rajchenberg, M., Pildain, M. B., de Errasti, A., Riquelme, C., Becerra, J., Torres-Díaz, C., & Cabrera-Pardo, J. R. (2021). Species and genera in *Aleurodiscus* sensu lato as viewed from the Southern Hemisphere. *Mycologia*, 1–14. <https://doi.org/10.1080/00275514.2021.1940671>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rimington, W. R., Duckett, J. G., Field, K. J., Bidartondo, M. I., & Pressel, S. (2020). The distribution and evolution of fungal symbioses in ancient lineages of land plants. *Mycorrhiza*, 30(1), 23–49. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00938-y>
- Rocas, I., Siqueirajr, J., & Santos, K. (2004). Association of *Enterococcus faecalis* With Different Forms of Periradicular Diseases. *Journal of Endodontics*, 30(5), 315–320. <https://doi.org/10.1097/00004770-200405000-00004>
- Rodrigo, R. (2009). *Oxidative Stress and Antioxidants: Their Role in Human Diseases*; Nova: New York, NY, USA; pp. 9–10
- Ser, H.-L., Palanisamy, U. D., Yin, W.-F., Abd Malek, S. N., Chan, K.-G., Goh, B.-H., & Lee, L.-H. (2015). Presence of antioxidative agent, Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro- in newly isolated *Streptomyces mangrovisoli* sp. Nov. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00854>
- Shah, P., & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int. J. Res. Appl. Sci. Eng. Technol*, 3(6), 636-641.
- Spiteller, P. (2015). Chemical ecology of fungi. *Natural Product Reports*, 32(7), 971–993. <https://doi.org/10.1039/C4NP00166D>
- Sridhar, K., & Charles, A. L. (2019). In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.040>
- Stadler, M., & Hoffmeister, D. (2015). Fungal natural products—the mushroom perspective. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00127>
- Tang, M., Kong, X., Hao, J., & Liu, J. (2020). Epidemiological Characteristics and Formation Mechanisms of Multidrug-Resistant Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in*

- Microbiology*, 11, 581543. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581543>
- Tedersoo, L., Bahram, M., & Zobel, M. (2020). How mycorrhizal associations drive plant population and community biology. *Science*, 367(6480), eaba1223. <https://doi.org/10.1126/science.aba1223>
- Tedersoo, L., May, T. W., & Smith, M. E. (2010). Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: Global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza*, 20(4), 217–263. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0274-x>
- Tedersoo, L., & Smith, M. E. (2013). Lineages of ectomycorrhizal fungi revisited: Foraging strategies and novel lineages revealed by sequences from belowground. *Fungal Biology Reviews*, 27(3–4), 83–99. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2013.09.001>
- Torres, S., González-Ramírez, M., Gavilán, J., Paz, C., Palfner, G., Arnold, N., Fuentealba, J., Becerra, J., Pérez, C., & Cabrera-Pardo, J. R. (2019). Exposure to UV-B Radiation Leads to Increased Deposition of Cell Wall-Associated Xerocomic Acid in Cultures of *Serpula himantioides*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(18), e00870-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00870-19>
- Vallavan, V., Krishnasamy, G., Zin, N. M., & Abdul Latif, M. (2020). A Review on Antistaphylococcal Secondary Metabolites from Basidiomycetes. *Molecules*, 25(24), 5848. <https://doi.org/10.3390/molecules25245848>
- Vieira Gomes, D. C., de Alencar, M. V. O. B., dos Reis, A. C., de Lima, R. M. T., de Oliveira Santos, J. V., da Mata, A. M. O. F., Soares Dias, A. C., da Costa, J. S., de Medeiros, M. das G. F., Paz, M. F. C. J., Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno, L. C., Castro e Sousa, J. M. de, Islam, M. T., & Melo Cavalcante, A. A. de C. (2019). Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic/antitumoral bioactives from the phylum Basidiomycota and their possible mechanisms of action. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108643. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108643>
- Vuong, C., & Otto, M. (2002). Staphylococcus epidermidis infections. *Microbes and Infection*, 4(4), 481–489. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01563-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01563-0)
- Webster, J. & Weber, R. W. S. (2007). Introduction to Fungi. Cambridge University Press, New York, 841 pp.
- Wu, B., Hussain, M., Zhang, W., Stadler, M., Liu, X., & Xiang, M. (2019). Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences

- of fungi. *Mycology*, 10(3), 127–140. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1614106>
- Wu, T., & Xu, B. (2015). Antidiabetic and Antioxidant Activities of Eight Medicinal Mushroom Species from China. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(2), 129–140. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i2.40>
- Xiang, Y., Li, W., Song, F., Yang, X., Zhou, J., Yu, H., Ji, X., & Wei, Y. (2020). Biological characteristics and whole-genome analysis of the *Enterococcus faecalis* phage PEf771. *Canadian Journal of Microbiology*, 66(9), 505–520. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0336>
- Zhao, Y., Liu, X., & Bai, F. (2019). Four new species of Tremella (Tremellales, Basidiomycota) based on morphology and DNA sequence data. *MycKeys*, 47, 75–95. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.47.29180>

9. ANEXO 1

Tabla 4. Composición química de los extractos totales de las cepas fúngicas pertenecientes a la familia Stereaceae

	TR (min)	ID	FM	Masa molecular	CAS#	AR (Area%)	FI (Qual)
1611	12,010	1,2,4,5-tetracloro-3,6-dimetoxibenceno	C8H6Cl4O2	274	000944-78-5	2,36	99
	14,384	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	1,90	96
	14,989	Ácido heptadecanoico	C17H34O2	270	000506-12-7	1,29	98
	15,159	Ácido cis-10-heptadecenoico	C17H32O2	268	029743-97-3	2,37	97
	16,048	Ácido oleico	C18H34O2	282	000112-80-1	3,55	93
	21,248	Decanodioato de bis(2-etilhexilo)	C26H50O4	426	000122-62-3	2,03	93
1612	14,393	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	7,60	99
	16,057	Lineoleato de metilo	C19H34O2	294	1000336-44-2	4,73	99
	21,248	Decanodioato de bis(2-etilhexilo)	C26H50O4	426	000122-62-3	2,19	92
	21,409	Escualeno	C30H50	410	000111-02-4	14,50	99
1672	7,945	Orcinol	C7H8O2	124	000504-15-4	10,44	97
	8,711	4-metoxibenzoato de etilo	C10H12O3	180	000094-30-4	2,88	96
	13,987	Hexadecanoato de metilo	C17H34O2	270	000112-39-0	1,24	98
	14,431	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	8,24	99
	15,613	Lineoleato de metilo	C19H34O2	294	002462-85-3	10,81	99
	15,660	(Z)-octadec-13-enoato de metilo	C19H36O2	296	1000333-58-3	2,26	99
	21,182	(3 E , 12 Z)-nonadeca-1,3,12-trieno	C19H34	262	1000131-11-3	0,80	93
	21,248	Decanodioato de bis(2-etilhexilo)	C26H50O4	426	000122-62-3	1,48	87
	21,409	Escualeno	C30H50	410	000111-02-4	7,33	99
1673	7,680	4-metoxibenzoato de metilo	C9H10O3	166	000121-98-2	18,42	97
	8,001	Orcinol	C7H8O2	124	000504-15-4	4,03	93
	8,578	4-(2-hidroxietil)fenol	C8H10O2	138	000501-94-0	3,31	87
	10,289	Acetato de 2-(4-hidroxifenil)etilo	C10H12O3	180	058556-55-1	3,35	86
	13,986	Hexadecanoato de metilo	C17H34O2	270	000112-39-0	0,78	96
	14,403	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	8,46	99
	15,613	Lineoleato de metilo	C18H31ClO	298	002462-85-3	3,71	99
1683	14,403	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	6,27	99
	15,613	Lineoleato de metilo	C19H34O2	294	000112-63-0	1,70	99
	16,086	Ácido linoleico	C18H32O2	280	000060-33-3	21,21	99
	16,208	Linoleato de etilo	C20H36O2	308	000544-35-4	4,61	99
	16,256	Ácido linoleico	C18H32O2	280	000060-33-3	1,92	95
	21,248	Decanodioato de bis(2-etilhexilo)	C26H50O4	426	000122-62-3	2,90	93
1688	12,540	Pirrolol[1,2-a]pirazina-1,4-diona, hexahidro-3-(fenilmetil)-	C7H10N2O2	154	019179-12-5	0,45	83
	13,987	Hexadecanoato de metilo	C17H34O2	270	000112-39-0	0,48	98
	14,431	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	5,35	99
	15,613	Lineoleato de metilo	C19H34O2	294	000112-63-0	2,41	99
	16,133	Ácido linoelaídico	C18H32O2	280	000506-21-8	17,57	99
	16,256	Ácido linoleico	C18H32O2	280	000060-33-3	5,32	99
	17,845	Ácido linoleico	C18H32O2	280	002420-56-6	0,24	90
	25,579	Ergosterol	C28H44O	396	000057-87-4	3,43	99
1689	8,786	Precoceno 1	C12H14O2	190	017598-02-6	0,37	91
	12,965	Aromadendreno	C15H24	204	025246-27-9	0,88	90
	14,374	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	2,99	99
	15,584	Ácido 8,11-octadecadienoico, éster metílico	C19H34O2	294	056599-58-7	0,47	99
	15,849	Estearato de metilo	C19H38O2	298	000112-61-8	0,16	96
	16,000	Ácido linoleico	C18H32O2	280	002420-56-6	2,41	99
	16,076	Ácido linoelaídico	C18H32O2	280	000506-21-8	0,50	94
	16,190	Linoleato de etilo	C20H36O2	308	000544-35-4	0,65	99
	16,218	Ácido esteárico	C18H36O2	284	000057-11-4	0,83	98
	17,305	Eicosano	C20H42	282	000112-95-8	0,18	96
	18,118	Tetracosano	C24H50	338	000646-31-1	0,35	98
	21,087	Octacosano	C28H58	394	000630-02-4	0,45	99

	TR (min)	ID	FM	Masa molecular	CAS#	AR (Area%)	FI (Qual)
1716	7,973	4-(2,2-Dimetil-6-metilenciclohexil)butan-2-ona	C13H22O	194	013720-12-2	2,62	81
	10,554	2,2,5,6-tetrametil-3 H-1-benzofurano	C12H16O	176	063577-97-9	5,82	80
	12,540	Drimenol	C15H26O	222	000468-68-8	5,16	99
	18,156	Tetracosano	C24H50	338	000646-31-1	0,59	97
	18,941	Pentacosano	C25H52	352	000629-99-2	0,86	96
	19,698	Eicosano	C20H42	282	000112-95-8	1,05	96
1726	13,968	Hexadecanoato de metilo	C17H34O2	270	000112-39-0	0,23	96
	14,374	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	5,32	99
	16,010	Lineoleato de metilo	C18H32O2	280	000060-33-3	12,26	99
	16,180	Linoleato de etilo	C20H36O2	308	000544-35-4	3,33	99
	18,119	Eicosano	C20H42	282	000112-95-8	0,36	98
1736	5,562	Bencenopropanol	C9H12O	136	000122-97-4	6,20	96
	14,384	Ácido palmítico	C16H32O2	256	000057-10-3	1,10	96
	16,019	Ácido linoleico	C18H32O2	280	000060-33-3	3,61	99
	16,209	Linoleato de etilo	C20H36O2	308	000544-35-4	1,33	99