

Artículo Original / Original Article

Características nutricionales y efecto citotóxico de polisacáridos extraídos de los digüeños *Cyttaria berteroi* y *Cyttaria hariatii* presentes en Chile

Nutritional characteristics and cytotoxic effect of polysaccharides extracted from the digüeños *Cyttaria berteroi* and *Cyttaria hariatii* present in Chile

RESUMEN

El género *Cyttaria* pertenece a la familia Cyttariaceae, existen 11 especies descritas a nivel mundial. En Chile y Argentina podemos encontrar sólo siete de ellas, conocidas como "Digüeños" del Mapudungun "diweñ", hongos parásitos obligados de árboles de *Nothofagus*. Este género, se distribuye naturalmente en el hemisferio sur y tiene gran importancia desde el punto de vista alimenticio. A pesar del extenso conocimiento sobre la taxonomía, ecología y composición químico-nutricional de algunas especies de *Cyttaria*, su potencial nutraceutico ha recobrado interés recientemente.

En esta investigación, se determinó la composición química-proximal y actividad citotóxica de los polisacáridos de *C. berteroi* y *C. hariatii*. Para caracterizar la composición nutricional de las especies de *Cyttaria*, se utilizó la metodología de AOAC y se evaluó el potencial citotóxico de sus polisacáridos mediante el ensayo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) frente a las líneas celulares de cáncer de colon humano (HCT-116), leucemia humana (U-937) y cáncer de mama (MCF-7). Los resultados evidenciaron que *C. berteroi* presentó un alto contenido de proteínas y lípidos en comparación con *C. hariatii*. Además, los polisacáridos de *C. hariatii* tienen un mayor efecto citotóxico frente a la línea celular de leucemia ($IC_{50} = 2100 \mu\text{g/mL}$), cáncer de colon ($IC_{50} = 3700 \mu\text{g/mL}$) y cáncer de mama ($IC_{50} = 9470 \mu\text{g/mL}$). En consecuencia, se concluye que los metabolitos de *C. berteroi* y la actividad citotóxica en líneas tumorales de los polisacáridos de *C. hariatii* podrían representar una oportunidad para la obtención de un potencial producto nutraceutico.

Palabras clave: Citotoxicidad; Digüeños; Orden Cyttariales; Polisacáridos.

ABSTRACT

The *Cyttaria* genus belongs to the Cyttariaceae family, with 11 species described worldwide. In Chile and Argentina, seven of them are found. They are known as "Digüeños", from the Mapudungun "diweñ", and are parasitic fungi of *Nothofagus* trees. They are naturally distributed in the southern hemisphere and are of great importance from

Viviana Salazar-Vidal^{1,2*}, Fabián Figueroa¹, Luis Soto¹, Claudia Pérez¹, Roberto Abdala-Díaz³, José Becerra¹.

1. Laboratorio de Química de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Víctor Lamas 1290, Concepción, Chile.
2. ONG Micófilos, San Pedro de la Paz, Chile.
3. Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos, Málaga, España.

*Dirigir correspondencia: Viviana Salazar-Vidal. Laboratorio de Química de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción. Víctor Lamas 1290, Barrio Universitario. Casilla 160-C. Región del Biobío, Chile; Email: vivianasalazar@udec.cl

Este trabajo fue recibido el 26 de febrero de 2020. Aceptado con modificaciones: 12 de mayo de 2020. Aceptado para ser publicado: 11 de junio de 2020.

a nutritional point of view. Despite extensive knowledge about the taxonomy, ecology, and chemical-nutritional composition of some *Cyttaria* species, their nutraceutical potential has recently gained interest.

In this investigation, the chemical-proximal composition and cytotoxic activity of the *C. berteroi* and *C. hariatii* polysaccharides were determined. To identify the nutritional composition of the *Cyttaria* species, the AOAC methodology was used and the cytotoxic potential of their polysaccharides was evaluated by means of the MTT test (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-bromide-diphenyltetrazolium) against the cell lines of human colon cancer (HCT-116), human leukemia (U-937) and breast cancer (MCF-7). The results showed that *C. berteroi* had a high protein and lipid content compared

to *C. hariatii*. Also, *C. hariatii* polysaccharides had a greater cytotoxic effect against the colon cancer cell line (IC_{50} = 3700 μ g/mL), leukemia (IC_{50} = 2100 μ g/mL) and breast cancer (IC_{50} = 9470 μ g/mL). Therefore, it is concluded that *C. berteroi* metabolites and cytotoxic activity in *C. hariatii* polysaccharide tumor lines could represent an opportunity to obtain a potential nutraceutical product.

Keywords: Cytotoxicity; Cyttariales Order; Digüehes; Polysaccharides.

INTRODUCCIÓN

Los hongos silvestres han sido parte de la dieta humana desde hace varios siglos, debido principalmente a sus características nutricionales y organolépticas¹. En Latinoamérica, México y en menor medida Guatemala y Honduras, poseen un arraigado conocimiento micológico y la gran riqueza de especies presentes se ha incorporado en múltiples actividades como la cocina, la medicina tradicional y particularmente en rituales religiosos². En Chile existe una gran diversidad de hongos comestibles, esto debido al alto grado de endemismo que presentan los bosques nativos, lo que se ve favorecido por las condiciones ambientales y ecológicas predominantes³. En este sentido, desde hace años diversos hongos han sido recolectados como alimento por las comunidades indígenas, donde se destaca la recolección de especies de *Cyttaria* conocidas comúnmente como "Digüehes", "Quireñes" o "Lihueñes"⁴.

El género *Cyttaria* Berk., pertenece a la familia Cyttariaceae (División Ascomycota) y es de carácter monotípico. Cuenta con 11 especies conocidas a nivel mundial⁵, siete procedentes de Sudamérica^{5,6} y cuatro originarias de Australia y Nueva Zelanda⁷. En Chile, los digüehes (*Cyttaria* spp.) están distribuidos desde la zona centro-sur hasta la Patagonia, siendo todas especies parásitas exclusivas del género *Nothofagus* donde se incluyen robles, coigües y otros árboles del género⁸.

Los hongos comestibles generalmente presentan bajo contenido en lípidos (<5% en peso seco), ácidos grasos insaturados (ácido oleico y linoleico, 688-840 mg/g de lípidos en peso seco), carbohidratos digeribles y no digeribles entre un 35 a 70%. Además, generalmente el contenido de proteína cruda de hongos comestibles oscila entre el 15 y el 35% de peso seco, vitamina D (ergosterol y ergocalciferol, 0,6% peso seco) y minerales entre 6 y 11%^{9,10,11,12}. Además, ciertos hongos también son una fuente importante de compuestos que presentan diversas actividades biológicas entre las que se destacan: actividad antioxidante, cardioprotectora, hipotensora, hepatoprotectora, antidiabética, antiviral, inmunomoduladora y antitumoral¹³. Debido a esto, a nivel mundial se ha intensificado el cultivo y el consumo de este tipo de hongos y sus compuestos bioactivos¹⁴.

En esta línea, los hongos tienen un alto contenido de polisacáridos, en particular, los β -glucanos aislados principalmente de la pared celular, los cuales se han descrito como antitumorales, debido a que interfieren

tanto en los procesos fisiológicos como en las alteraciones celulares asociadas a cáncer¹⁵.

En los últimos años los hongos están siendo evaluados como una potencial fuente de compuestos nutraceuticos, pues al ser considerados un alimento funcional-nutricional, también son fuente de compuestos fisiológicamente beneficiosos sin efectos secundarios negativos para ser humano¹⁶. En consecuencia, considerando que el cáncer es la segunda causa de muerte que cobra más de 6 millones de vidas cada año en el mundo¹⁷, es necesario prevenir su aparición y es aquí donde los compuestos biológicamente activos provenientes de los hongos cobran gran importancia. En este sentido, se ha demostrado que polisacáridos extraídos del champiñón común (*Agaricus bisporus*), poseen actividad antitumoral directa contra varios tumores y además previenen la metástasis de éstos, pudiendo evitar la oncogénesis e incrementar su actividad cuando se utiliza en conjunto con la quimioterapia. Por ejemplo, el lentinan un β -glucano de 27,5 kDa aislado de *Lentinula edodes* (Shiitake), es utilizado en Japón como una medicina anticancerígena, debido a que estimula la secreción de citoquinas por células T, lo que incrementa la generación de linfocitos T citotóxicos y células Natural Killer (NK) en presencia de IL-2¹⁸. Además, se ha comprobado que la administración de lentinan durante el tratamiento con quimioterapia incrementa la calidad de vida en pacientes con cáncer de estómago, de colon y otros carcinomas en comparación con aquellos pacientes que sólo son tratados con quimioterapia¹⁹.

En esta investigación, se determinó la composición proximal de las especies comestibles *Cyttaria berteroi* Berk. (Figura 1a) y *Cyttaria hariatii* E. Fisch (Figura 1b) que crecen en Chile y la actividad citotóxica de sus polisacáridos sobre líneas tumorales de cáncer de colon, leucemia y cáncer de mama. Esto con la finalidad de otorgar un nuevo atributo a estas especies que pueda ser utilizado para generar algún producto nutraceutico.



Figura 1: a) Estromas de *C. berteroi* creciendo sobre una rama de *N. obliqua*.



Figura 1: b) Estromas de *C. hariatii* en una rama de *N. dombeyi*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de *C. hariatii* y *C. berteroi*

El trabajo en terreno se realizó en primavera y verano entre los meses de septiembre y diciembre del año 2018, en localidades geográficas donde se observó una dominancia arbórea de *Nothofagus* spp., hospederos de estos hongos parásitos comestibles. La especie *C. hariatii* fue recolectada en el sector Vilches Alto, Región del Maule, Chile, asociada a *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. Mientras que la especie *C. berteroi* fue recolectada en el sector Palos Quemados, Región del Biobío, Chile, asociada a *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst.

Posteriormente, los estromas de *Cyttaria* spp. recolectados, fueron procesados de acuerdo a la metodología descrita por Marchionatto²⁰. Los estromas fueron seleccionados de acuerdo a su estado de madurez, considerando sólo los ejemplares maduros en la recolección. Los caracteres macroscópicos de los estromas fueron observados y documentados en campo a través de fotografías *in situ* a color realizadas con una cámara réflex Canon modelo T6 y en laboratorio bajo una lupa estereoscópica.

La determinación taxonómica de los especímenes recolectados, se realizó observando los caracteres microscópicos bajo un microscopio óptico trinocular AmScope modelo T670B sobre secciones de material fresco y/o deshidratado previamente a 45 °C en un deshidratador de alimentos Blanik, montado en agua, KOH al 5%, floxina y reactivo de Melzer, utilizando bibliografía base^{5,21,22}. Las muestras de cada especie se depositaron en el Fungario de ONG Micófilos (MICOCL).

Liofilización de los estromas recolectados

Una vez recolectados los estromas de *Cyttaria* spp. se rotularon y se almacenaron en un congelador a una temperatura de -20 °C. Luego, las muestras se liofilizaron durante 36 h en un liofilizador automático modelo Lyophilizer Cryodos, Telstar (trampa de frío -60 °C, 1 atm de presión). Posteriormente, las muestras se molieron para disminuir su tamaño de partícula y aumentar su superficie de contacto con una trituradora Moulinex DP800.

Análisis de la composición nutricional

Se realizó un análisis químico-proximal a las muestras liofilizadas, utilizando procesos estandarizados por la Association of Official Analytical Chemist²³. Se analizaron parámetros, tales como: humedad (AOAC 927.05/925.09), cenizas (AOAC 923.03), lípidos (AOCS Ce 2b-11), proteínas (AOAC 2001.11/AN300 FOSS), fibra dietaria (AOAC 985.29) y carbohidratos (21CFR1017). El porcentaje de materia seca fue determinado por el método gravimétrico.

Para determinar el contenido de lípidos totales se realizó una extracción continua con hexano en equipo Soxhlet. La fibra dietaria se determinó mediante la ebullición de la muestra en hidróxido de sodio diluido, ácido clorhídrico diluido, alcohol y éter. Finalmente, la proteína total se determinó a través del método Kjendahl utilizando 6,25 como factor de conversión²⁴.

Extracción de polisacáridos totales

La extracción de polisacáridos se realizó de acuerdo al método descrito por Figueroa et al²⁵ con algunas modificaciones. Se suspendieron 10 g de muestra liofilizada en 300 mL de etanol durante 12 h, para la eliminación de pigmentos. Posteriormente, se centrifugó a 3000 rpm por 3 min y se recolectó el precipitado. Esto se repitió hasta que el precipitado resultó incoloro. Seguidamente el precipitado se re-suspendió en 500 mL de agua destilada, y se calentó hasta llegar al punto de ebullición durante 40-45 min con agitación constante y se dejó reposar durante 1 h para permitir la liberación completa del polisacárido en el agua. Luego se centrifugó a 4500 rpm por 10 min a 4 °C (este proceso de extracción se repitió dos veces). Posteriormente, se extrajo el sobrenadante y para reducir volumen se concentró en rotavapor (IKA HB10 digital, Staufen, Germany) a 120 rpm durante 20 min a 45 °C.

La precipitación de polisacáridos se realizó utilizando etanol absoluto frío en la proporción 3:1 y se mantuvo por 15 min a -20 °C. Una vez pasado ese tiempo se centrifugó a 3000 rpm por 5 min. Finalmente, el precipitado de polisacáridos fue purificado utilizando una solución 4 M de NaCl. Una vez frío, se precipitó con etanol 96% v/v y se centrifugó durante 7 min a 4000 rpm. Posteriormente, los polisacáridos se dializaron a una presión osmótica baja de 1,5 M NaCl durante 4 h con agitación constante, favoreciendo el intercambio iónico. Luego, el contenido se precipitó con etanol al 96% y se centrifugó durante 7 min a 4000 rpm para finalmente ser liofilizados (Lyophilizer Cryodos, Telstar) (trampa de frío -60 °C, 1 atm de presión) durante 24 h y almacenados a 4 °C para su utilización.

Ensayo de citotoxicidad y determinación de la actividad antitumoral

El ensayo de citotoxicidad se realizó de acuerdo a lo descrito por Abdala-Díaz et al²⁶, utilizando las líneas de cáncer de colon (HCT-116), leucemia (U-937) y cáncer de mama (MCF-7). Las líneas tumorales se mantuvieron en el medio DMEM, antibiótico/antimicótico, L-glutamina, suero fetal bovino al 5% e incubado a 37 °C en 5% de CO₂.

Cada línea celular se incubó en una placa de 96 pocillos durante 48 h (37 °C, 5% de CO₂ en una atmósfera húmeda). Posteriormente, se añadió a cada pocillo un volumen de 10 µL de la solución MTT (5,0 mg mL⁻¹ en solución salina tapada con fosfato) y las placas se incubaron a 37 °C durante 4 h. La sal de tetrazolio MTT amarilla se redujo por la deshidrogenasa mitocondrial de células metabólicamente viables para formar cristales de formazán morados insolubles que se disolvieron mediante la adición de isopropanol-ácido (150 µL de 0,04 N HCl-2 propanol) y se midieron espectrofotométricamente a 550 nm (MicroPlate Reader 2001, Whittaker Bioproducts, EE. UU.). La citotoxicidad anticancerígena de las muestras de *C. berteroi* y *C. hariatii* se realizó mediante el recuento de las células viables en comparación con las células no tratadas. Adicionalmente, se determinó la concentración mínima inhibitoria (IC₅₀), de ambos extractos (muestras), definida como la concentración a la cual los polisacáridos (*C. berteroi* y *C. hariatii*) reducen el número de células viables al 50%. Las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado en experimentos independientes.

Análisis estadístico

Todos los resultados fueron expresados como media ± desviación estándar de tres experimentos (n= 3). Para comparar las diferencias de cada tratamiento de citotoxicidad se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Seguida de una prueba post-hoc HSD de Tukey para la comparación entre las medias de cada tratamiento. Se consideraron diferencias significativas cuando p<0,05²⁷. Los análisis se realizaron utilizando el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

Composición nutricional de *Cyttaria* spp

La tabla 1 muestra las propiedades químico-nutricionales que aportan las especies de *C. berteroi* y *C. hariatii* en base a % en peso seco. Se puede observar que el contenido de proteínas es mayor en la muestra de *C. berteroi*, llegando a ser hasta cuatro veces mayor que en la especie *C. hariatii*. Adicionalmente, se observa que un 85,3% de la biomasa de *C. hariatii* corresponde a carbohidratos, un 23,6% más que lo reportado en *C. berteroi*.

Tabla 1. Composición proximal de las especies de *C. berteroi* y *C. hariatii* en % de humedad, cenizas, lípidos, proteína, fibra e hidratos de carbono (n= 3).

Especie	% Humedad	% Cenizas	% Lípidos	% Proteína	% Fibra	% HC
<i>C. berteroi</i>	8,70 ± 0,001	4,40 ± 0,100	2,40 ± 0,300	19,1 ± 0,002	3,80 ± 0,600	61,7
<i>C. hariatii</i>	4,50 ± 0,100	2,00 ± 0,100	1,20 ± 0,100	4,10 ± 0,010	2,90 ± 0,300	85,3

*Valores expresados en porcentaje de peso seco.

Efecto citotóxico de polisacáridos aislados de *Cyttaria* spp. en líneas tumorales

Los polisacáridos crudos extraídos desde *C. berteroi* y *C. hariatii* exhiben un efecto dosis-respuesta en la supervivencia celular de las líneas tumorales HCT-116, U-937 y MCF-7 (Figuras 2, 3, 4).

Se determinó que los polisacáridos crudos de *C. hariatii*, inhiben significativamente (p<0,05) la proliferación celular de las líneas de cáncer de colon, leucemia y cáncer de mama, reportándose un IC₅₀ de 3700 µg/mL, 2100 µg/mL y 9470 µg/mL respectivamente. De igual manera, al someter las líneas de cáncer de colon, leucemia y cáncer de mama a concentraciones crecientes de polisacáridos crudos extraídos de *C. berteroi* se evidenciaron diferencias significativas (p<0,05) en la proliferación celular de estas líneas tumorales, reportándose un IC₅₀ de 9270 µg/mL para la línea HCT-116, mientras que, para las líneas celulares de leucemia y cáncer de mama, se reportaron valores de IC₅₀ >10000 µg/mL.

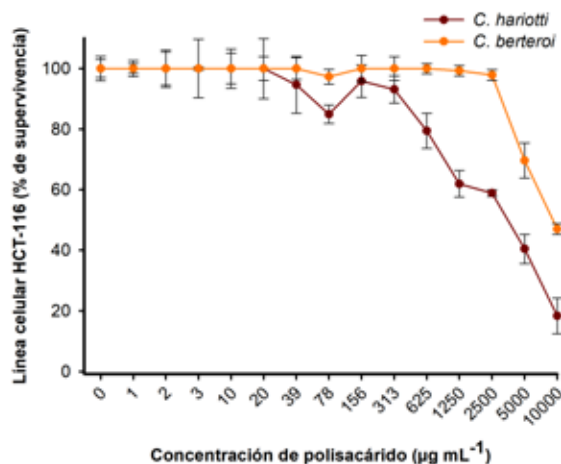


Figura 2: Efecto de los polisacáridos crudos extraídos de *C. hariatii* y *C. berteroi* expresados en porcentaje de supervivencia ± desviación estándar en la línea celular de cáncer de colon (HCT-116). IC₅₀ *C. hariatii*: 3700 µg/mL; IC₅₀ *C. berteroi*: 9270 µg/mL.

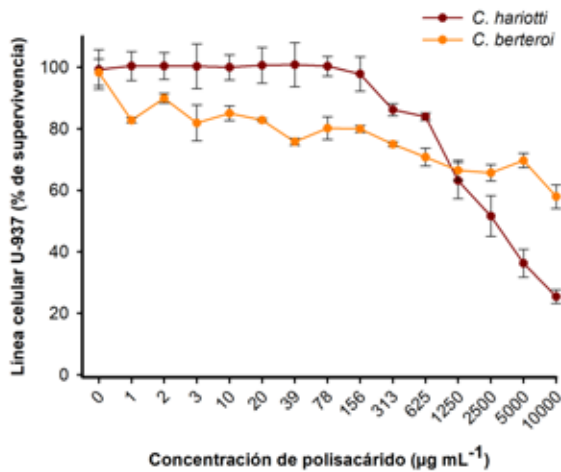


Figura 3: Efecto de los polisacáridos crudos extraídos de *C. hariatii* y *C. berteroi* expresados como porcentaje de supervivencia \pm desviación estándar en la línea celular de leucemia (U-937). IC₅₀ *C. hariatii*: 2100 µg/mL; IC₅₀ *C. berteroi*: > 10000 µg/mL.

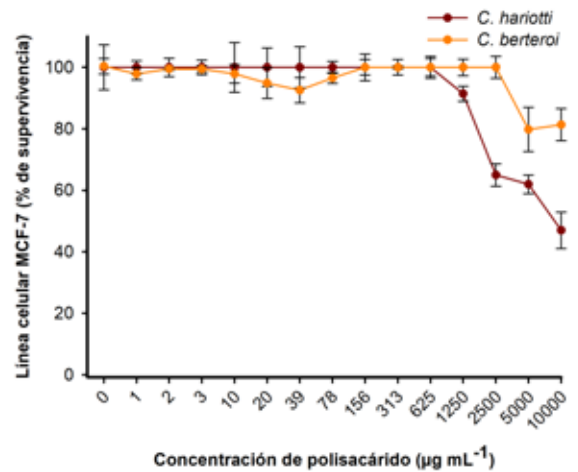


Figura 4: Efecto de los polisacáridos crudos extraídos de *C. hariatii* y *C. berteroi* expresados en porcentaje de supervivencia \pm desviación estándar en la línea celular de cáncer de mama (MCF-7). IC₅₀ *C. hariatii*: 9470 µg/mL; IC₅₀ *C. berteroi*: > 10000 µg/mL.

DISCUSIÓN

Los hongos silvestres comestibles tienen un alto valor económico y gastronómico, debido a sus propiedades nutricionales y medicinales. Son considerados alimentos funcionales, ya que además de sus propiedades nutricionales, han demostrado tener efectos benéficos para la salud humana que pueden ser utilizados para prevenir o tratar diversas enfermedades degenerativas²⁸. Por lo anterior, se hace necesario conocer la composición químico-nutricional de los hongos comestibles, en especial, de aquellos que son nativos de nuestro país y cuya información puede ser muy útil para la población, así como para promover su conservación.

El valor nutricional de los hongos comestibles se debe a su alto contenido en proteínas, fibra dietaria, vitaminas, minerales y bajos niveles de lípidos totales. En esta investigación, se determinó la composición nutricional que tienen dos especies de *Cyttaria* en base a % en peso seco mediante un análisis proximal. Las especies *C. berteroi* y *C. hariatii*, presentan diferencias en el contenido de proteínas, evidenciándose un valor medio de 19,1% en peso seco mayor para *C. berteroi* y un valor medio de proteínas igual a 4,1% en peso seco en *C. hariatii*, llegando a ser casi cuatro veces mayor en *C. berteroi*. Estos resultados coinciden con lo reportado por Schmeda-Hirshmann et al²⁹, donde reportaron valores similares en el contenido de proteínas presentes en especies recolectadas en la Región del Maule, con un valor promedio de 12,6% en peso seco para *C. berteroi* y 7,5% en peso seco para *C. hariatii*, respectivamente. Asimismo, Toledo et al³⁰ reportaron 3,3% de proteínas al analizar muestras de *C. hariatii* provenientes de la Patagonia, mientras que

Inzunza³¹ obtuvo un porcentaje de proteínas igual a un 13% para *C. hariatii*, analizando muestras provenientes de la Región del Ñuble.

De acuerdo con la literatura, las proteínas y carbohidratos son los dos principales componentes presentes en los hongos comestibles³², siendo estos dos parámetros donde se observaron mayores diferencias entre *C. berteroi* y *C. hariatii*. En este contexto, el contenido de proteína cruda de hongos comestibles puede cambiar dependiendo de la especie, variedades y etapa de desarrollo del cuerpo fructífero^{33,34}. Sin embargo, de acuerdo a la FAO, la calidad de estas proteínas es mejor que la mayoría de las proteínas vegetales, pues proveen aminoácidos esenciales convirtiéndose en una buena fuente de nutrición para el ser humano, particularmente, para quienes no consumen carne en su dieta^{35,36}. Bajo estas condiciones, *C. berteroi* presentó un alto contenido de proteínas, lo que se traduce en un mejor aporte nutricional frente a *C. hariatii*.

Por otra parte, si bien las muestras de *C. hariatii* presentaron un menor contenido de lípidos y no fueron tan ricas en proteínas (1,2% y 4,1% en peso seco en promedio), comparadas con la especie *C. berteroi*, éstas presentaron un mayor contenido de carbohidratos. Los carbohidratos, se encuentran en altas proporciones en hongos comestibles y contienen fibra, β -glucanos, hemicelulosas y otras sustancias, tales como algunos azúcares³⁷, siendo la glucosa el mocosacárido más común detectado en ambas especies, pero mayormente en *C. hariatii*, especie utilizada por el pueblo mapuche y otros pueblos originarios para preparar un brebaje alcohólico conocido como "chicha" en el sur de Chile⁷.

Dentro de las propiedades medicinales de los hongos, se destacan sus propiedades anticancerígenas, representadas por diversos principios activos, tales como: lectinas, β -glucanos, ergosteroles y argininas, que actúan en la estimulación del sistema inmunológico, antiproliferación y daño celular³⁸. Dentro de los resultados obtenidos en este estudio, se destaca la acción de los polisacáridos crudos obtenidos de la especie *C. hariatii*, mostrando un efecto citotóxico sobre cáncer de colon y leucemia al ser tratados con un IC₅₀ de 3700 μ g/mL y 2100 μ g/mL, respectivamente. Por otro lado, los polisacáridos de *C. berteroi* tuvieron un efecto citotóxico menos potente sobre las células de las líneas tumorales de leucemia y cáncer de mama, a diferencia de lo observado contra cáncer de colon donde se necesitó un IC₅₀ de 9270 μ g/mL para disminuir la viabilidad celular.

De las dos especies de *Cyttaria* estudiadas, los polisacáridos de *C. hariatii* mostraron los resultados más promisorios. El mejor efecto citotóxico de *C. hariatii* se observó sobre la línea celular de leucemia (U-937), lo que coincide con lo expuesto por Schmeda-Hirshmann et al³⁹ quienes utilizando extractos hidrosolubles de cuatro especies de *Cyttaria* evaluaron su efecto inmunomodulador en ratones con linfoma L5178Y, en los cuales sólo *C. hariatii* fue capaz de modificar la respuesta inmune. En base a estos resultados, es recomendable realizar estudios con otras líneas celulares que permitan conocer el potencial medicinal de nuestros hongos silvestres comestibles.

Los resultados obtenidos en este estudio constituyen una aproximación a los posibles usos alimenticios y/o nutraceuticos de las especies de *Cyttaria* más consumidas distribuidas a lo largo de Chile y ha permitido conocer cuáles de estas especies presentan mayor potencial nutricional y medicinal. Es preciso estudiar en profundidad las especies que tuvieron mayor bioactividad, buscar formas de cultivarlas en laboratorio y trabajar en la búsqueda de nuevas soluciones en beneficio de la salud humana.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se sugiere que *C. berteroi* presenta un alto contenido de proteínas y lípidos en comparación con *C. hariatii*. Además, los polisacáridos extraídos de *C. hariatii* y *C. berteroi* presentan una actividad citotóxica diferenciada en líneas tumorales de leucemia, cáncer colon y mama. Destacándose, una fuerte actividad citotóxica de los polisacáridos de *C. hariatii* sobre la línea celular de leucemia humana (U-937), con un IC₅₀ igual a 2100 μ g/mL. Por lo tanto, estos polisacáridos podrían utilizarse como un potencial producto nutraceutico. Sin embargo, investigaciones futuras deben ser orientadas a dilucidar la estructura y conformación química de los polisacáridos responsables de esta actividad biológica. Por otra parte, es necesario realizar más estudios sobre el género *Cyttaria* en Chile, realizando una caracterización químico-nutricional de todas las especies y la evaluación de sus componentes biológicamente activos.

Agradecimientos. Queremos agradecer la subvención del Proyecto FONDEF ID17110010 y al Proyecto de Atracción de Capital Humano Avanzado del Extranjero, modalidad estadías cortas – MEC80180098. Al Proyecto VRID 219.111.067 INV y Apoyo a Centros Científicos y Tecnológicos de Excelencia con Financiamiento Basal AFB170007. Al equipo del Laboratorio de Química de Productos Naturales de la Universidad de Concepción. También agradecemos al Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción por la asistencia técnica en el análisis proximal de las muestras. Finalmente, agradecemos a la Dra. (c) Virginia Casas de la Universidad de Málaga, España por su apoyo en los ensayos de citotoxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Albertó E. *Intensive cultivation of edible mushrooms: How to grow mushrooms, oyster mushrooms, shiitake and other species*. Argentina: Editorial Hemisferio Sur S.A.; 2008.
2. Toledo CV, Barroetaña C, Rajchenberg M. Phenology and environmental variables associated with the fruiting of wild edible fungi of the Andean-Patagonian forests in Argentina. *Rev Mex Biodiv*. 2014; 85: 1093-1103.
3. FAO. *Towards a uniform definition of Non-Wood Forest Products*. Unasylva. 1999; 50: 63-64.
4. López L, Fuenzalida F. Some problems identified in the marketing of products from the native forest. *Sustainable management of the native forest project, Talca. Proyecto GTZ-CONAF*. 1998.
5. Gamundí JI. Review of recent advances in the knowledge of the Cyttariales. *Syst Ascomycetum*. 1991; 10: 69-77.
6. Gamundí JI. *The South American Cyttariales (Fungi-Ascomycetes)*. Darwiniana. 1971; 16: 461-510.
7. Rawlings G. *Australasian Cyttariaceae*. *Trans R Soc NZ* 1956; 8: 19-28.
8. Domínguez E. *Flora of ethnobotanical interest used by native peoples: Aónikenk, Selk'nam, Kawésqar, Yagan and Haush in Southern Patagonia*. *Dominguezia*. 2010; 26: 19-29.
9. Yang JH, Lin HC, Mau JL. Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem*. 2002; 77: 229-235.
10. Mau JL, Lin HC, Ma JT, Song SF. Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. *Food Chem*. 2001; 73: 46-466.
11. Mattila P, Lampi AM, Ronkainen R, Toivo J, Piironen V. Sterol and vitamin D2 contents in some wild and cultivated mushrooms. *Food Chem*. 2002; 76: 293-298.
12. Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V, Pizzoferrato L. *Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study*. *Food Chem*. 1999; 65: 477-482.
13. Wasser S. *Medicinal mushroom science: history, status, future trends and unsolved problems*. *Int J Med Mushrooms*. 2010; 12: 1-16.
14. Arango CS, Nieto JI. *Biotechnological cultivation of edible macro-fungi: an alternative in obtaining nutraceuticals*. *Rev Iberoamer Micol*. 2013; 30: 1-8.
15. Cheung P. *Nutritional value and health benefits of mushrooms*. In: *Mushrooms as Functional Foods (PCK Cheung ed.)*, Wiley: Hoboken NJ, 2008, 71-110.
16. Mshigeni KE, Chang ST. *Mushrooms, environment and*

- human health: earthly treasures for health, happiness and longevity. Guatemala: Centro Editorial Vile; 2017.
17. Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer Statistics 2018. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68: 7-30.
 18. Zhang Y, Li S, Wang X, Zhang L, Cheung P. Advances in *Lentinan*: isolation, structure, chain conformation and bioactivities. *Food Hydrocoll.* 2011; 25: 196-206.
 19. Zhu X, Chen A, Lin Z. *Ganoderma lucidum* polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice. *J Ethnopharmacol.* 2007; 111: 219-226.
 20. Marchionatto J. The species of *Cyttaria* and *Cytariella* in Argentina. *Darwiniana.* 1940; 4: 9-32.
 21. Espinosa M. The fungi of the genus *Cyttaria*. *Rev Chil Hist Nat.* 1926; 30: 206-256.
 22. Rossman A, Tulloss R, O'Dell T, Thorn R. *Protocols for an all taxa biodiversity inventory of fungi in a Costa Rican conservation area.* USA: Parkway Publishers; 1998.
 23. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis AOAC.* 19th Edition. USA: AOAC International; 2012.
 24. USDA. *Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins,* Washington D.C., 1931, Report 183: 22.
 25. Figueroa FA, Abdala-Díaz R, Hernández V, Pedreros P, Aranda M, Cabrera-Pardo J, et al. Invasive diatom *Didymosphenia geminata* as a source of polysaccharides with antioxidant and immunomodulatory effects on macrophage cell lines, Chile. *J Appl Phycol.* 2020; 32: 93-102.
 26. Abdala-Díaz R, Arrojo V, Agudo M, Cárdenas C, Dobretsov S, Figueroa F. Immunomodulatory and antioxidant activities of sulfated polysaccharides from *Laminaria ochroleuca*, *Porphyra umbilicalis* and *Gelidium corneum*. *Mar Biotechnol.* 2019; 21: 577-587.
 27. Sokal R, Rohlf F. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research.* 4th ed. New York, USA: W H. Freeman; 2013.
 28. Cano-Estrada A, Romero-Bautista L. Economic, nutritional and medicinal value of wild edible mushrooms. *Rev Chil Nut.* 2016; 43: 75-80.
 29. Schmeda-Hirschmann G, Razmilic I, Reyes S, Gutiérrez M, Loyola J. Biological activity and food analysis of *Cyttaria* spp. (Discomycetes). *Econ Bot.* 1999; 53: 30-40.
 30. Toledo C, Barroetaveña C, Fernandes A, Barros L, Ferreira I. Chemical and antioxidant properties of wild edible mushrooms from native *Nothofagus* spp. forest, Argentina. *Molecules.* 2016; 21: 1201.
 31. Inzunza K. Bioactive properties of two species of *Cyttaria* (*digüeños*) (*C. espinosae* and *C. hariatii*) and their nutritional characterization. *Facultad de Ingeniería Agrícola, Universidad de Concepción.* 2016.
 32. Kalač P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem.* 2009; 113: 9-16.
 33. Díez, V, Alvarez A. Compositional and nutritional studies on two wild edible mushrooms from northwest Spain. *Food Chem.* 2001; 75: 417-22.
 34. Mdachi S, Nkunya M, Nyigo V, Urasa I. Amino acid composition of some Tanzanian wild mushrooms. *Food Chem.* 2004; 86: 179-182.
 35. FAO. 1992. *Non-wood Forest Products; Future Possibilities.* Roma, Italia. Estudio FAO MONTES N° 97, 1992. 36 p.
 36. Valverde ME, Hernández-Pérez T, Paredes-López O. Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *Int J Med Microbiol.* 2015; 2015: 376-387.
 37. Jedidi I, Ayoub I, Philippe T, Bouzouita N. Chemical composition and nutritional value of three Tunisian wild edible mushrooms. *J Food Meas Charact.* 2017; 11: 2069-2075.
 38. Carvalho MR, Valadares F, Campos M, Rodrigues D, da Cunha M. The effects of dietary supplementation with Agaricales mushrooms and other medicinal fungi on breast cancer: Evidence based- medicine. *Clinics.* 2011; 66: 2133-2139.
 39. Schmeda-Hirschmann G, Villaseñor M, Lozoya X, Puebla A. Immunomodulatory activity of Chilean *Cyttaria* species in mice with L5178Y lymphoma, C. *J Ethnophar.* 2001; 77: 253-257.