

1983--87--2

REG. No 079343099

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS



CARACTERIZACION DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. EN CULTIVOS SOLIDOS DE LABORATORIO Y DETERMINACION DEL PATRON DE SEXUALIDAD

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

MARTHA CEDANO MALDONADO

GUADALAJARA, JAL. 1989

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección de la Biól. Laura Guzmán Dávalos y la asesoría del Biól. Conrado Soto Velasco.

A mis padres.....

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Biól. Laura Guzmán Dávalos por haber hecho posible la realización del presente trabajo.

Se agradece especialmente al Biól. Conrado Soto Velazco por su valiosa asesoría brindada en este estudio.

Se reconoce el apoyo y estímulo de los Biólogos Luis Villaseñor Ibarra, Ofelia Vargas Ponce, Lorenzo Salvador Vázquez, M. Olivia Rodríguez Alcantar y a todas aquellas personas que de alguna u otra manera colaboraron en la realización de esta investigación.

RESUMEN

Se estudió el comportamiento de 5 cepas de Pleurotus ostreatoroseus sobre cuatro medios de cultivo sólido de laboratorio: agar con dextrosa y papa, agar con extracto de malta, agar con dextrosa sabouraud y agar con extractos de trigo, paja y malta; bajo condiciones de completa obscuridad y a temperatura de 28-30°C. El medio de cultivo que resultó más adecuado fue agar con extractos de trigo, paja y malta. Posteriormente se observó el comportamiento de dichas cepas a una temperatura de 31-32°C, en el medio de cultivo agar con extractos de trigo, paja y malta. Se realizó una caracterización macroscópica y microscópica de cada una de las cepas, en los diferentes medios de cultivo y en los dos rangos de temperatura utilizados.

Se determinó el patrón de sexualidad de dicha especie como heterotálico tetrapolar.

I N D I C E

	pags.
I.- INTRODUCCION	1
II.- GENERALIDADES	3
III.- ANTECEDENTES	8
IV.- OBJETIVOS	10
V.- METODOLOGIA	12
VI.- RESULTADOS	20
VII.- DISCUSION	36
VIII.- CONCLUSIONES	40
IX.- BIBLIOGRAFIA	41

CARACTERIZACION DEL HONGO COMESTIBLE Pleurotus ostreatoroseus
Sing. EN CULTIVOS SOLIDOS DE LABORATORIO Y DETERMINACION DEL
PATRON DE SEXUALIDAD

I.- INTRODUCCION

Actualmente se considera que alrededor de la mitad de la población mundial está insuficiente e inadecuadamente alimentada, no sólo en cuanto a la energía que requiere, sino también en cuanto a los elementos nutritivos (proteínas, vitaminas, etc.), que al ser deficientes en sus alimentos, constituyen lo que conocemos como desnutrición.

Es por ello necesario buscar alternativas para la obtención de alimentos no convencionales, a bajo costo y en gran cantidad. Una de las opciones que se han venido manejando hoy en día, es el cultivo de diversas especies de hongos comestibles en desechos agroindustriales, ya que los hongos constituyen una fuente potencial de proteínas, que en gran medida coadyuvarían a la solución de las demandas nutricionales de los países en desarrollo (Chang y Hayes, 1978; Chang y Quimio, 1982; Martínez-Carrera et al., 1984; Soto-Velazco, 1986). Sin embargo, adaptar cepas y tecnologías de otras regiones del mundo a nuestros medios es realmente incosteable e innecesario, ya que como lo han hecho notar Guzmán (1977) y Villarreal y Guzmán (1985), en México crecen de manera silvestre

tre más de 200 especies de hongos comestibles, 13 de los cuales se cultivan comercialmente en el mundo (Guzmán, 1983). Por otra parte, diversos especialistas en el cultivo de hongos comestibles, recomiendan el empleo de cepas nativas de las regiones donde se piense implantar una técnica de cultivo de hongos, iniciando con el aislamiento y caracterización de la fase micelial del hongo, con el fin de evaluar su comportamiento y posteriormente realizar cultivos intensivos comerciales (Raper, 1966; Eger, 1974-a y 1978; Chang y Hayes, 1978; Zadrazil, 1978).

En el presente estudio se pretende evaluar el crecimiento del hongo Pleurotus ostreatoroseus Sing. sobre cuatro medios de cultivo sólido de laboratorio y en dos rangos diferentes de temperatura, con miras a proponer una nueva cepa de cultivo nativa del estado de Jalisco.

II.- GENERALIDADES

A.- MORFOLOGIA DE Pleurotus ostreatoroseus

P. ostreatoroseus se caracteriza por presentar todo el cuerpo fructífero, incluyendo la carne o contexto, de color rosa; con crecimiento en forma de repisa, presencia de un pie lateral el cual es extremadamente reducido o incluso ausente, sus láminas rosas pueden ser cerradas o subcerradas y bastante angostas, las esporas son cilíndricas, lisas y de pared delgada e inamiloides, según la descripción de Singer (1961).

B.- HABITAT Y DISTRIBUCION

Pleurotus ostreatoroseus se considera una especie tropical y subtropical de amplia distribución pero no abundante, ya que solo se le conoce de Brazil y México. Se encuentra creciendo en forma gregaria sobre madera, principalmente de árboles dicoñiledóneos.

En México sólo se ha registrado de los estados de Veracruz, Oaxaca, Morelos y Jalisco (Singer, 1969; Guzmán, 1977; Welden y Guzmán, 1978; Guzmán-Dávalos et al., 1983; Guzmán y Guzmán-Dávalos, 1984; Guzmán Dávalos y Soto-Velazco, 1987).

4

Concerniente a la comestibilidad tenemos que Singer (1961), lo consideró como un hongo de sabor suave, de olor agradable y débil, incluso algunas veces similar al de Boletus edulis. Además, Guzmán y Guzmán-Dávalos (1984) mencionaron que Guzmán en 1970 encontró que se vendía como hongo comestible en un mercado de Tepoztlán, Morelos.

C.- CONSIDERACIONES TAXONOMICAS

Pleurotus ostreatoroseus ha sido citado como P. roseopilatus por varios autores (Guzmán, 1977; Welden y Guzmán, 1978; Guzmán-Dávalos et al., 1983), debido a que Singer (1962) por equivocación lo incluyó en su obra con este nombre. El epíteto válido desde el punto de vista taxonómico es P. ostreatoroseus (Singer, 1975-b), tal como lo discutieron Guzmán y Guzmán-Dávalos (1984).

Diversos autores ubicaron al género Pleurotus dentro de la familia Polyporaceae del orden Agaricales (Singer, 1961, 1975-a, 1975-b; Pegler, 1977; Moser, 1983) a diferencia de Dennis (1970), Guzmán (1975) y Hosney (1975) que lo colocaron dentro de la familia Tricholomataceae; sin embargo, por consideraciones prácticas de este trabajo, se seguirá la clasificación de Singer (1961), que fue el primero en describir la especie.

D.- REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

La mayoría de las especies del género Pleurotus se caracterizan por requerir principalmente fuentes de carbono solubles como la glucosa o insolubles como la celulosa; nitrógeno obtenido básicamente de compuestos orgánicos como aminoácidos o peptona y en raras ocasiones pueden utilizar compuestos inorgánicos como nitratos o nitritos. Por otro lado, los requerimientos de vitaminas y minerales son variados y no indispensables para algunas especies (Kurtzman y Zadrazil, 1982).

Además de nutrientes se requieren condiciones ambientales como: temperaturas de 25-35°C, humedad relativa entre el 60-95%, luz en intensidades bajas, desde 60 nm aproximadamente (penumbra) para obtener la fructificación y obscuridad para el crecimiento micelial. La presencia de CO₂ estimula el crecimiento del micelio y con bajas concentraciones se inicia la fructificación. Por último, el pH más adecuado está entre 4.5 a 6.5, dependiendo de la especie y la cepa (Kurtzman y Zadrazil, op. cit.).

E.- PATRON DE SEXUALIDAD

En general el ciclo de vida del género Pleurotus se caracteriza por presentar un ciclo sexual llamado heterotalis-

mo tetrapolar (Eugenio y Anderson, 1968; Eger, 1974-a), el cual inicia con la germinación de una basidiospora, de la que emerge un micelio primario, homocarión o monospórico, con crecimiento indefinido. Sin embargo, para que este micelio primario pueda completar el ciclo, requiere de la interacción con otro micelio primario compatible, para dar origen a un micelio secundario llamado dicarion. Este micelio puede formar el cuerpo fructífero o carpóforo y entonces se le llamará micelio terciario. En el himenio del carpóforo se presentan los basidios, que van a originar 4 tipos de esporas; las cuales se diferencian por dos factores de compatibilidad A y B, cada uno con dos alelos (A_1, A_2, B_1, B_2), de tal modo que los 4 tipos, de basidiosporas posibles serán: A_1B_1 , A_1B_2 , A_2B_2 y A_2B_1 . Los homocariotes originados a partir de las basidiosporas solo serán compatibles si los alelos son diferentes, por ejemplo A_1B_1 con A_2B_2 o A_1B_2 con A_2B_1 (ver Fig. 1). Potencialmente un basidio puede dar origen a dos tipos de dicariones (Sui Fong Li, 1980).

La compatibilidad se puede determinar experimentalmente al observar al microscopio la presencia de fibulas, cuando se cruzan dos micelios homocarióticos compatibles. Por otro lado, la ausencia de fibulas nos indicará que los micelios no son compatibles.

La determinación del patrón de sexualidad sirve como base en los procesos de selección y mejoramiento de cepas de

hongos con fines comerciales. Esto gracias a que cada micelio monospórico se estudia de manera independiente, permitiendo de este modo seleccionar aquellos que presentan características adecuadas, como: bajos requerimientos nutricionales, rápida velocidad de crecimiento, formación de agregados miceliales, tolerancia a altas o bajas temperaturas, resistencia a enfermedades y plagas, etc.. Al cruzar dos micelios monospóricos con características seleccionadas semejantes, la probabilidad de obtener una cepa mejorada se incrementa.

III.- ANTECEDENTES

La fase micelial de este hongo fue aislada recientemente por Gúzman-Dávalos y Soto-Velazco (1987) y hasta la fecha no hay información precisa respecto a su comportamiento sobre medios de cultivo sólidos de laboratorio y la influencia de éstos en cuanto a las características de las hifas y la morfología macroscópica de la colonia, así como el comportamiento de las cepas a altas temperaturas.

Algunos trabajos realizados en México, pioneros en la caracterización de micelios, aunque no precisamente de hongos comestibles, son aquellos realizados con Psilocybe muliercula y P. zapotecorum en medios líquidos por Cuevas y Herrera (1971) y con Agrocybe, Panus y Psilocybe por Olmos-Fuentes y Herrera (1973).

Salmones (1985) estudió Volvariella bakeri, un hongo comestible de regiones tropicales, probando su crecimiento en 6 medios de cultivo diferentes, resultando mejor el agar con extracto de malta y el medio compuesto para Volvariella volvacea citado por Chang (1982).

Recientemente Mata (1987) observó el comportamiento del hongo comestible Flammulina velutipes en varios medios de cultivo. En su estudio utilizó una cepa comercial proveniente de Estados Unidos de América, la cual ya había sido seleccionada

para temperaturas extremadamente bajas, como lo demostraron sus resultados.

Respecto a los estudios realizados con el género Pleurotus, sólo se encuentran los de Martínez (1984) y Acosta Urdapilleta et al. (1988) que estudiaron a P. ostreatus en medios de cultivo sólido y desechos agroindustriales, resultando el mejor medio el agar con extracto de malta para ambos estudios.

Por otra parte, en cuanto a la determinación de los patrones de sexualidad de los hongos y los procesos de selección genética de cepas, sólo se tiene la referencia de Martínez-Carrera y colaboradores (1986), quienes caracterizaron y determinaron el patrón de sexualidad de P. ostreatus, para la obtención de híbridos con alta producción.

IV.- OBJETIVOS

En el presente estudio se pretende observar desde un punto de vista biológico, el comportamiento en el laboratorio de cinco cepas de Pleurotus ostreatoroseus Sing., nativas de Jalisco, en diversos medios de cultivo y dos rangos diferentes de temperatura. Este trabajo servirá de base para estudios posteriores sobre la obtención de fructificaciones en desechos agroindustriales, como lo discutieron Guzmán-Dávalos y Soto-Velazco (1987).

La determinación del patrón de sexualidad contribuirá al entendimiento de la genética de esta especie, que finalmente servirá para obtener líneas puras de micelios y establecer de esta manera una selección controlada de cepas de alto rendimiento.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- 1.- Determinar el medio de cultivo sólido de laboratorio más adecuado para el crecimiento, preservación y manejo de las cepas de Pleurotus ostreatoroseus en el laboratorio.
- 2.- Realizar una caracterización macroscópica y microscópica de dichas cepas, en los diferentes medios de cultivo.

- 3.- Caracterizar macroscópica y microscópicamente las cepas de P. ostreatoroseus a una temperatura de 31-32°C, en el medio seleccionado.
- 4.- Obtener el patrón de sexualidad de P. ostreatoroseus.
- 5.- Dar a conocer una nueva especie de hongo comestible nativa del Estado de Jalisco.

V.- METODOLOGIA

En la fig.2 se esquematiza la metodología seguida en el presente estudio.

I.- Cepas a utilizar:

Se utilizarón 5 cepas de P. ostreatoroseus de origen multiespórico (7₀, 7₁, 7₂, 7₄ y 7₅) que se encuentran depositadas en el cepario de hongos comestibles del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara y preservadas a temperatura de 4-5°C, en tubos de ensayo con agar con extracto de malta inclinado.

EXPERIMENTO A: Selección del medio de cultivo sólido adecuado para el crecimiento de las cepas estudiadas

Con la finalidad de conocer él o los medios de cultivo sólido más adecuados para un buen desarrollo, preservación y manejo de las cepas en el laboratorio, se procedió al estudio de cuatro medios de cultivo con las cepas ya mencionadas, bajo condiciones de incubación de 28-30°C. Dichos medios son de uso común en el aislamiento de hongos, pero con diferentes nu

trientes y concentraciones; tales medios son: agar con dextrosa y papa (PDA) (BIOXON), agar con extracto de malta (EMA) (BIOXON), agar dextrosa sabouraud (S) (BIOXON) y agar con extractos de trigo, paja y malta (ETA) (ver apéndice 1).

Las cepas fueron sembradas por quintuplicado en cada uno de los medios de cultivo señalados, en cajas de petri de 90mm de diámetro con 35 ml de medio de cultivo cada una. Se colocó un inóculo de 1 cm^2 en el centro de la caja de petri con medio solidificado y se incubaron a $28-30^\circ\text{C}$.

Los parámetros a evaluar en la selección de los medios de cultivo se basaron en parte en la metodología propuesta por Eger (1974-a) y Martínez (1984) y fueron:

1.-Caracterización macroscópica

a) Morfología macroscópica de la colonia. Se tomó en cuenta lo siguiente:

- Tipo de crecimiento: Homogéneo

Irregular

Ralo

Con anillos de crecimiento

- Textura: Algodonosa
 - Aborlada
 - Venosa
 - Aterciopelada
 - Cerosa

- Color: Blanco
 - Blanquecino
 - Amarillento

- Micelio aéreo: Abundante
 - Regular
 - Escaso
 - Ausente

- Densidad (a trasluz): Placa costrosa presente
 - Placa costrosa escasa
 - Placa costrosa ausente

b) Velocidad de crecimiento

Se basó en lo propuesto por Sharp (1978) y se realizó midiendo el número de mm avanzados a partir del inóculo, cada 48 horas bajo condiciones de obscuridad, hasta que el micelio cubrió totalmente el medio de cultivo. La medida del crecimiento se efectuó bajo un foco de luz roja, como lo recomienda Eger (1974-b).

2.- Caracterización microscópica de las hifas

Se realizó con preparaciones montadas en KOH (5%) del micelio de la parte central, media y periférica de la colonia. Se midió el diámetro de las hifas y tamaño de las fibulas para cada una de las cepas en los diferentes medios de cultivo. En el caso de las fibulas se midió el largo y ancho de la fibula.

3.- Pruebas de fructificación de las cepas

Una vez que las cepas cubrieron el diámetro del medio de cultivo en la caja de petri, se colocaron en cámara húmeda y se expusieron a la luz con la finalidad de observar el número de primordios formados, así como la cantidad de cuerpos fructíferos maduros. A través de esto se prueba la eficiencia del medio de cultivo y se evalúa el grado de fertilidad de la cepa (Eger, 1974-a; Kurtzman y Zadrazil, 1982).

EXPERIMENTO B : Crecimiento y caracterización de las cepas a temperatura de 31-32°C en el medio seleccionado

Con el medio seleccionado, las cepas se incubaron a una temperatura de 31-32°C para observar su comportamiento; se

realizó su descripción macroscópica y microscópica, como fue indicado en el experimento anterior, para determinar la resistencia de las cepas a altas temperaturas, tal como lo indicó Sui Fong Li (1980).

II.- Determinación del patrón de sexualidad

1.- Producción de los carpóforos para la obtención de esporadas

a) Elaboración de inóculo con las cepas de Pleurotus ostreatoroseus que presentaron mejor comportamiento

El inóculo se elaboró con semillas de trigo en frascos de vidrio de boca ancha, que se esterilizaron por 40 minutos a una presión de 15 lb o a una temperatura de 121°C. Posteriormente se inocularon con las cepas seleccionadas, y se incubaron a temperatura de 28-30°C, hasta que el micelio cubrió completamente el trigo. Estos granos de trigo invadidos por el micelio de P. ostreatoroseus sirvieron como un vehículo para sembrar el hongo en el sustrato (según la metodología seguida por Martínez-Carrera et al., 1984).

b) Siembra de las cepas en bagazo de agave

La siembra en el bagazo de agave se realizó de acuerdo al método propuesto por Guzmán-Dávalos y Soto-Velazco (1989).

El sustrato fue fermentado por un periodo de 20 días, posteriormente, se pasteurizó en agua a 70°C por espacio de 30 minutos, al cabo de los cuales se sacó del agua y se drenó por 15 minutos. El bagazo se extendió en una mesa hasta que alcanzó 30°C, momento en el cual se procedió a la siembra con el inóculo preparado con anterioridad. El sustrato inoculado se depositó en bolsas de plástico de 40 X 60 cm hasta que alcanzó un peso de 5 Kg.

c) Incubación y cosecha

Las bolsas con el sustrato inoculado se colocaron en camas metálicas para permitir la incubación del micelio y que éste colonizara todo el sustrato; una vez que aparecieron los primordios, la bolsa de plástico fue retirada, para permitir su completo desarrollo. Los hongos ya maduros se cosecharon y se escogieron los mejores para la toma de esporadas.

2.- Obtención de esporadas

Las esporadas se lograron colocando el pileo del hongo sobre un papel filtro estéril durante 12 horas, lo que permitió que las esporas, por gravedad, quedaran depositadas en el papel, formando una densa masa sobre su superficie.

3.- Aislamiento de micelios monospóricos

Con las esporadas se prepararon diluciones de esporas tomando un fragmento del papel con la esporada de aproximadamente 1 cm^2 . Se sumergió en un vaso de precipitado con 100 ml de agua destilada estéril y se agitó para permitir la dispersión de las esporas en el agua.

De esta dilución concentrada (1:100) se tomó 1 ml y se depositó en otro vaso de precipitado con 100 ml de agua destilada estéril (sol. 1:1 000), el proceso se repitió hasta la obtención de una solución 1:10 000. Con esta última dilución, con escasa concentración de esporas, se sembraron 10 cajas de petri con medio de cultivo agar con extracto de malta. Se incubaron a una temperatura de 28-30°C y se observaron a diferentes periodos de tiempo hasta la germinación de las esporas.

Treinta de las esporas que germinaron se aislaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico y cada una se sembró independientemente en una caja de petri con medio de cultivo, para el completo desarrollo del micelio monospórico.

4.- Determinación del patrón de sexualidad

Se realizó de acuerdo al método propuesto por Eger (1978). Se escogieron 12 monospóricos al azar, los cuales se

entrecruzaron entre sí en todas sus posibilidades, evitando cruces recíprocos (ver Fig. 3), dando un total de 66 apareamientos.

Una vez que los micelios se cruzaron, se hicieron preparaciones de la zona de entrecruzamiento de la colonia, para observarlos al microscopio. Un apareamiento se consideró positivo cuando se observaron fibulas en las hifas de la zona de entrecruzamiento, a diferencia de los apareamientos negativos los cuales no presentaron fibulas.

Si el comportamiento de las 66 cruces se puede agrupar en 4 clases de incompatibilidad (I, II, III, IV), entonces será posible determinar que Pleurotus ostreatoroseus es heterotálico tetrapolar, como se ha demostrado con algunas especies del género.

VI.- RESULTADOS

EXPERIMENTO A : Selección del medio de cultivo sólido adecuado para el crecimiento de las cepas

1.- Caracterización macroscópica de las cepas en los diferentes medios

MEDIO AGAR CON DEXTROSA Y PAPA (Tabla 1)

CEPA 7₀

Esta cepa presentó colonias ralas, irregulares y anilladas, de textura aterciopelada y blanquecinas. Con micelio aéreo escaso y en algunos casos ausentes. Respecto a la densidad a trasluz no se observó una capa costrosa. La velocidad con que el micelio cubrió el medio de cultivo fue de 15.5 días, con un crecimiento promedio diario de 5.80 mm (Fig. 4).

CEPA 7₁

La colonia presentó un aspecto ralo, irregular, con anillos de crecimiento, de textura aterciopelada y blanquecinas, con escaso micelio aéreo. Relativo a la densidad no se presentó una placa costrosa en esta cepa. La velocidad de crecimiento fue de 38 días, con un promedio de 2.35 mm avanzados por día (Fig. 5).

CEPA 7₂

El aspecto de la colonia fue ralo, irregular y con presencia de anillos de crecimiento, no presentó micelio aéreo, ya que la textura de la colonia fue cerosa y blanquecina. Sin placa costrosa. El micelio cubrió con una velocidad de crecimiento de 35 días, siendo su promedio de crecimiento por día de 2.55 mm (Fig. 6).

CEPA 7₄

La colonia presentó un aspecto ralo, irregular y con anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecina, el micelio aéreo fue regular. No se observó placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 35 días, con un promedio de 2.57 mm avanzados por día (Fig. 7).

CEPA 7₅

Como en el caso de las cepas anteriores se observaron colonias ralas, de crecimiento irregular, con anillos de crecimiento, de textura aterciopelada, blanquecinas y el micelio aéreo fué regular. No presentó placa costrosa. Su velocidad de crecimiento fue de 30.5 días, con un promedio por día de 2.94 mm (Fig. 8).

MEDIO AGAR CON EXTRACTO DE MALTA (Tabla 2)

CEPA 7₀

La colonia mostró un crecimiento irregular y anillos de crecimiento, con una textura aborlada, blanquecina y en la parte central presentó una coloración anaranjada, el micelio aéreo fue regular. Sin placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue 34 días y un promedio de 2.64 mm avanzados por día (Fig. 4).

CEPA 7₁

El aspecto de la colonia fue rala, irregular y con anillos de crecimiento, con textura aborlada, blanquecina, en la parte media presentó en forma de anillo una coloración rosa-anaranjado, el micelio aéreo fue escaso. Sin placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 28 días, con un promedio por día de 3.21 mm (Fig. 5).

CEPA 7₂

La colonia de esta cepa fue rala, irregular y con anillos de crecimiento, de textura aborlada en el centro y en forma de venaciones hacia la periferia, blanquecina y en la parte central se observó una mancha de color rosa-anaranjado. en relación con la densidad, no se observó placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 26 días, con un promedio de 3.47 mm por día (Fig. 6).

CEPA 7₄

Las colonias presentaron un crecimiento ralo, irregular y con anillos de crecimiento, de textura aterciopelada y blanquecina, no mostró micelio aéreo ni placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 58.5 días con un promedio de 1.53 mm avanzados por día (Fig. 7).

CEPA 7₅

Colonias ralas, irregulares y sin anillos de crecimiento, de textura cerosa por lo que no se presentó micelio aéreo, blanquecinas. Respecto a la densidad, no presentaron placa costrosa. Su velocidad de crecimiento fue de 59 días, con un promedio por día de 1.51 mm (Fig. 8).

MEDIO AGAR DEXTROSA SABOURAUD (Tabla 3)

CEPA 7₀

El crecimiento de la colonia fue irregular y con anillos de crecimiento, de textura algodonosa y blanquecina, en el centro se presentó un envejecimiento acelerado del micelio con presencia de excreción en forma de gotas acuosas de color amarillento, el micelio aéreo fue abundante. El aspecto de la colonia fue muy denso ya que presentó una placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 33 días, con un promedio diario de 2.7 mm avanzados (Fig. 4).

CEPA 7₁

La colonia fue irregular, con anillos de crecimiento, de textura algodonosa y blanquecina, en la parte media y externa se observó una zona de color rosa-anaranjado, el micelio aéreo fue abundante. Presentó una placa costrosa densa. Mostró una velocidad de crecimiento de 29 días y un promedio por día de 3.10 mm (Fig. 5).

CEPA 7₂

Esta cepa exhibió colonias de crecimiento irregular y con anillos de crecimiento, de textura algodonosa y blanquecinas, en el centro y parte media de la colonia se observaron zonas de color rosa-anaranjado, el micelio aéreo fue regular. Presentó una placa costrosa densa. La velocidad de crecimiento fue de 29 días con un promedio de 3.10 mm por día (Fig.6).

CEPA 7₄

Las colonias de esta cepa mostraron un crecimiento irregular, sin presencia de anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecinas, se observó un anillo de color rosa-anaranjado desde la parte media hasta la periferia de la colonia, el micelio aéreo fue abundante. Presentaron una placa costrosa muy densa. La velocidad de crecimiento fue de 29.5 días, con un promedio diario de 3.02 mm (Fig. 7).

CEPA 7₅

El crecimiento de estas colonias fue irregular y con anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecinas, el micelio aéreo fue regular. Respecto a la densidad a trasluz se observó una placa costrosa densa. La velocidad de crecimiento fue de 22.5 días, con un promedio por día de 3.97 mm (Fig. 8).

MEDIO AGAR CON EXTRACTOS DE TRIGO, PAJA Y MALTA (Tabla 4)

CEPA 7₆

La colonia presentó un crecimiento regular, con anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecinas, el micelio aéreo fue abundante. Con placa costrosa densa. La velocidad de crecimiento fue de 10 días, con un promedio de 9.0 mm por día (Fig. 4).

CEPA 7₁

Esta cepa exhibió un crecimiento regular con anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecino, el micelio aéreo fue abundante. La placa costrosa fue densa. Su velocidad de crecimiento fue de 11.5 días y un promedio de 7.71 mm por día (Fig. 5).

CEPA 7₂

En este medio el crecimiento de esta cepa fue regular, sin presencia de anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecino, el micelio aéreo fue abundante. Mostró una placa costrosa de micelio denso. Con una velocidad de crecimiento de 23 días y un promedio de 3.91 mm por día (Fig. 6).

CEPA 7₄

Las colonias de esta cepa mostraron un crecimiento ligeramente irregular y con anillos de crecimiento, de textura aborlada y blanquecinas, el micelio aéreo fue abundante. Presentaron una placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 19.5 días, con un promedio diario de 4.61 mm (Fig. 7).

CEPA 7₅

La cepa en este medio presentó colonias ligeramente irregulares y anilladas, de textura aborlada y blanquecinas, el micelio aéreo fue abundante. Mostraron una placa costrosa densa. La velocidad de crecimiento fue de 24 días, con un promedio diario de 3.72 mm (Fig. 8).

Los resultados de velocidad de crecimiento mostraron que en el medio de cultivo ETA, la mayoría de las cepas de *P. ostreatoroseus* presentaron una mayor velocidad de crecimiento

que en el resto de los medios, la cual osciló entre los 10 a 24 días. El que le siguió fue el medio S. en el que las velocidades de crecimiento fueron de 22.5 a 33 días. En el medio PDA se registraron velocidades de crecimiento de 15.5 a 38 días y en el medio EMA, se observaron velocidades de 22.5 hasta de 59 días (Fig. 9).

2.- Caracterización microscópica de las hifas

MEDIO AGAR CON DEXTROSA Y PAPA

Diámetro de las hifas

En general las cinco cepas de Pleurotus ostreatoroseus presentaron hifas de 1.6 a 2.4 μm de diám., con un mínimo de 0.8 μm y un máximo de 5.6 μm (Tabla 5).

Tamaño de las fibulas

El ancho de las fibulas osciló en un rango promedio de 3.2 μm a 4.8 μm , con un mínimo de 2.4 μm y un máximo de 6.4 μm para todas las cepas. El largo de las fibulas fue de 4.0 μm a 6.4 μm con un mínimo de 2.4 μm y un máximo 8.8 μm para las cepas estudiadas (Tabla 6).

MEDIO AGAR CON EXTRACTO DE MALTA

Diámetro de hifas

Las hifas oscilaron en un rango de 1.6 a 4.0 μm de diám., presentando hifas de 0.4 μm hasta de 5.6 μm . La cepa 7₄ fue la que tuvo hifas de menor diámetro y la cepa 7₁ las de mayor tamaño (Tabla 5).

Tamaño de las fibulas

El ancho fue 4.0 a 5.6 μm , teniendo como mínimo 2.4 μm (cepas 7₂ y 7₅) y como máximo 8.0 μm (cepas 7₁ y 7₄). En cuanto al largo de las fibulas que presentaron las cepas en este medio, el rango osciló entre 4.0 y 7.2 μm con un mínimo de 2.4 μm (cepa 7₄) y un máximo de 10.4 μm (cepa 7₀) (Tabla 7).

MEDIO AGAR DEXTROSA SABOURAUD

Diámetro de las hifas

Las cepas mostraron un rango mas o menos constante de 1.6 a 3.2 μm , con un mínimo de 0.8 μm para todas las cepas y un máximo de 4.8 μm (cepa 7₁) (Tabla 5).

Tamaño de las fibulas

En lo que respecta al ancho de las fibulas varió de 3.2 a 4.8 μm , teniendo como mínimo 2.4 μm y un máximo de 6.4 μm .

El largo se mantuvo constante de 4.0 a 5.6 μm con un mínimo de 3.2 μm para todas las cepas y un máximo de 9.6 μm (cepa 7₂) (Tabla 8).

MEDIO AGAR CON EXTRACTOS DE TRIGO, PAJA Y MALTA

Diámetro de las hifas

Las cepas presentaron rangos desde 1.6 hasta 4.0 μm , un mínimo de 0.8 μm para todas las cepas y un máximo de 6.4 μm (cepa 7₁) (Tabla 5).

Tamaño de las fibulas

El ancho de las fibulas fue de 3.2 a 5.6 μm , teniendo como mínimo 2.4 μm (cepas 7₁, 7₄ y 7₅) y un máximo de 8.0 μm (cepa 7₄). Respecto a la longitud osciló entre 4.0 a 6.4 μm , teniendo como mínimo 2.4 μm en las cepas 7₄ y 7₅ con un máximo de 12.8 μm en el caso de la 7₄ (Tabla 9).

3.- Pruebas de fructificación

MEDIO AGAR DEXTROSA PAPA (Tabla 10)

Concerniente a la fructificación en este medio, solo la cepa 7₀ formó agregaciones hifales blancas y únicamente 2 primordios, también blancos que no se diferenciaron a cuerpos fructíferos maduros. El resto de las cepas no formó ninguna estructura.

MEDIO AGAR CON EXTRACTO DE MALTA (Tabla 11)

Sólo la cepa 7₀ y 7₂ presentaron agregaciones hifales. La cepa 7₂ formó 50 primordios de color rosa, de los cuáles 19 se diferenciaron a cuerpos fructíferos maduros de color rosa tenue. El resto de las cepas no desarrolló ningún tipo de estructuras.

MEDIO AGAR DEXTROSA SABOURAUD (Tabla 12)

En este medio las cepas que presentaron agregados hifales fueron la 7₂ y 7₅, de color rosa para la primera y blancos para la segunda. Estas cepas formaron primordios, 8 de color rosa para la cepa 7₂ y 14 blancos para la cepa 7₅ y sólo se diferenciaron a cuerpos fructíferos 2 en cada cepa.

MEDIO AGAR CON EXTRACTOS DE TRIGO, PAJA Y MALTA (Tabla 13)

Todas las cepas a excepción de la 7₅ formaron agregados hifales de color rosa. La cepa 7₄ formó hasta 200 primordios y 88 la cepa 7₁, todos ellos de color rosa. En lo que respecta al número de cuerpos fructíferos maduros la cepa 7₀ y 7₂ desarrollaron un promedio de 13 carpóforos de color rosa. Con la cepa 7₄ sólo se diferenció uno de ellos y presentó un color rosa tenue. En la cepa 7₁ y la 7₅ no hubo formación de cuerpos fructíferos.

EXPERIMENTO B : Crecimiento de las cepas a temperatura de 31-32°C en el medio seleccionado

Con base a los resultados obtenidos con los diferentes medios de cultivo en el experimento anterior, el agar con extractos de trigo, paja y malta fue el indicado para realizar el crecimiento de las cepas a una temperatura de 31-32°C, con la finalidad de observar su comportamiento bajo estas condiciones y seleccionar aquella apta para regiones de clima cálido.

1.- Caracterización macroscópica de las cepas (Tabla 14)

CEPA 7₀

La colonia presentó un crecimiento ralo e irregular, con anillos de crecimiento, de textura aterciopelada en el centro y periferia, y cerosa en la parte media, blanquecino y sin presencia de micelio aéreo. No se observó placa costrosa. Respecto a la velocidad de crecimiento, la cepa cubrió únicamente 70 mm del medio de cultivo en la caja de petri, en un lapso de 29 días, presentando un promedio de 2.07 mm avanzados por día (Fig. 10).

CEPA 7₁

La colonia mostró un crecimiento irregular, con anillos de crecimiento, de textura algodonosa y blanquecino, el micelio aéreo fue regular. Presentó una placa costrosa de micelio denso. La velocidad de crecimiento fue de 63.8 mm a los 29 días, con un promedio diario de 1.85 mm avanzados (Fig. 10).

CEPA 7₂

Las colonias de esta cepa fueron de crecimiento ralo irregular y sin formación de anillos de crecimiento, de textura aterciopelada en la parte central y media y algodonosa en la periferia, blanquecino, el micelio aéreo fue escaso. Sin placa costrosa. Mostró una velocidad de crecimiento de 64.5 mm a los 29 días y un promedio de 2.15 mm por día (Fig. 10).

CEPA 7₄

Las colonias presentaron un crecimiento, irregular con anillos de crecimiento, de textura algodonosa y blanquecinas, el micelio aéreo fue regular. Respecto a la densidad mostró una placa costrosa. La velocidad de crecimiento fue de 70 mm en un tiempo de 34 días y un promedio de 2.15 mm por día (Fig. 10).

CEPA 7₅

Esta cepa presentó un crecimiento irregular, sin anillos de crecimiento, de textura algodonosa y blanquecino, en la parte central y media se observó una coloración rosa-anaranjado, el micelio aéreo fue abundante. Con una capa costrosa de micelio denso. Con una velocidad de crecimiento de 76.6 mm a los 34 días con un promedio de crecimiento diario de 1.96 mm (Fig. 10).

Las velocidades de crecimiento que se registraron en este experimento, oscilaron de 63.8 a 76.6 mm entre los 29 a 34 días, observándose un promedio muy similar entre todas las cepas como se puede ver en la fig.11.

2.- Caracterización microscópica de las hifas

Diámetro de las hifas

Las hifas presentaron desde 1.6 hasta 4.0 μm de diám., siendo el menor de 0.8 μm para todas las cepas y de 6.4 μm el diámetro mayor en la cepa 7₄ (Tabla 15).

Tamaño de las fíbulas

En lo que respecta al ancho varió de 4.0 a 5.6 μm , con un mínimo de 2.4 μm para las cepas 7₂, 7₄ y 7₅ y un máximo

de 8.8 μm en la cepa 7₀. La longitud de las fibulas fue de 4.0 a 6.4 μm , la menor fue de 3.2 μm en las cepas 7₀, 7₁ y 7₄ y la mayor de 9.6 μm para la cepa 7₄ (Tabla 15).

II.- DETERMINACION DEL PATRON DE SEXUALIDAD

En base a los resultados obtenidos se seleccionaron las cepas 7₀ y 7₂ que fueron las que presentaron un mejor comportamiento en el medio de cultivo agar con extractos de trigo, paja y malta (ETA).

Con ellas se elaboró inóculo, como se indicó en la metodología y se sembraron en bagazo de agave. Las cepas mostraron un buen desarrollo y colonización del bagazo, hasta la formación de los carpóforos.

Los hongos se cosecharon y se escogieron los más grandes para la obtención de las esporadas. De éstas se decidió usar una de la cepa 7₂, para el aislamiento de micelios monospóricos como se indicó.

Se aislaron 30 micelios monospóricos, de los cuales 12 se escogieron al azar y se cruzaron como se muestra en la

fig. 12, dando como resultado el siguiente esquema de incompatibilidad.

I	II	III	IV
2	1	8	6
10	3		7
	4		11
	5		12
	9		

Con uno de los monospóricos de cada tipo de incompatibilidad (2, 1, 8, 6) se hicieron cruizas, para determinar a que tipo de incompatibilidad pertenecían el resto de los monospóricos aislados. En la Tabla 16 se aprecia la reordenación final. Como se observa la frecuencia del tipo III es muy baja en relación a los obtenidos en el tipo II.

En base a estos resultados se puede decir que Pleurotus ostreatoroseus presenta un patrón de sexualidad heterotálico tetrapolar.

VII.- DISCUSION

En general se puede mencionar, que ninguno de los medios probados fue adverso para el crecimiento de las cepas de Pleurotus ostreatoroseus empleadas en este trabajo. Sin embargo, cada uno de los medios indujo a las cepas a expresar diferentes comportamientos de desarrollo, lo que motiva a proponer a uno de ellos como el indicado para conservar y manejar las cepas en el laboratorio.

El agar con extractos de trigo, paja y malta (ETA) resultó ser el medio más adecuado para el desarrollo de P. ostreatoroseus, ya que las cepas presentaron colonias con micelio aéreo denso y un crecimiento regular y uniforme (Tabla 4). Asimismo, fue en este medio en el que las cepas alcanzaron a formar primordios y cuerpos fructíferos maduros (Tabla 13). En cuanto al diámetro de las hifas, éstas no mostraron diferencias con respecto a los demás medios (Tabla 5).

Por otra parte, el micelio en el medio ETA no presentó indicios de envejecimiento acelerado, como fue en el caso del medio Sabouraud, en el que también se presentaron colonias de micelio denso, de crecimiento irregular, pero con una marcada tendencia a un envejecimiento prematuro, en el centro y parte media de la colonia. Respecto a la velocidad de crecimiento, en el medio ETA se presentó la más rápida coloniza-

ción, como es el caso de la cepa 7₀ que en sólo 10 días cubrió el diámetro total de la caja de petri (Fig. 4).

Con base a estos resultados y a la formulación del medio de cultivo se supone que Pleurotus ostreatoroseus, necesita una alta concentración de azúcares del tipo de las glucosas y almidones principalmente, y en algunos casos de celulosas (Apéndice 1).

El segundo medio más importante para el crecimiento de las cepas fue el S (Tabla 3), con las desventajas ya mencionadas y una velocidad de crecimiento de 28.5 días en promedio para las cepas.

Como se puede observar en la Tabla 1 las colonias que se presentaron en el medio PDA se caracterizaron por ser ralas, con micelio aéreo escaso y de crecimiento irregular, con una velocidad de crecimiento promedio de 34.5 días, a excepción de la cepa 7₀ que creció en 15 días.

Respecto al medio de cultivo EMA, en un principio, se pensó que podría ser el idóneo para las cepas, ya que para algunas especies del género Pleurotus es el medio de cultivo más apropiado. Sin embargo, en este estudio se considera como un medio de cultivo no adecuado, debido a que se presentaron resultados muy diversos, como colonias ralas o densas (Tabla 2), así como velocidades de crecimiento rápidas o lentas, como en el caso de las cepas 7₄ y 7₅ de hasta 59 días (Figs. 7 y 8).

El crecimiento de las cepas a una temperatura de 31-32°C mostró cambios bastante significativos, que se caracterizaron principalmente por variaciones morfológicas macroscópicas de la colonia, como degeneración del micelio, provocando aspectos cerosos en la parte media de la colonia y crecimientos muy irregulares, como en el caso de las cepas 7₀ y 7₂. Las cepas 7₁, 7₄ y 7₅ mostraron buen crecimiento al inicio, pero después de rebasar la parte media de la caja de petri (45 mm), el micelio tendió a degenerar, presentando textura cerosa (Tabla 14). Cabe mencionar que ninguna de las cepas colonizó el diámetro total de la caja de petri y las velocidades de crecimiento tuvieron un promedio de 2.01 mm por día (Fig. 10), a diferencia del crecimiento a temperaturas de 28-30°C en el mismo medio ETA, que presentó un promedio de 5.81 mm por día.

Respecto de la influencia de la temperatura en las hifas los datos no mostraron ninguna variación en el diámetro de las hifas y tamaño de las fibulas (Tabla 15). A pesar de que este hongo se le reconoce como de distribución tropical, tal parece y con base a estos resultados, que no es recomendable realizar cultivos de estas cepas a temperaturas arriba de los 30°C, ya que no se obtendría un crecimiento suficiente para desarrollar fructificaciones.

Pleurotus ostreatoroseus resultó ser un hongo heterotálico tetrapolar, con un amplio potencial en la obtención de

cepas mejoradas, ya que puede ser hibridizado con otras especies del género, específicamente con *P. ostreatus*, como ya se está experimentando en el laboratorio de cultivo de hongos del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara (datos sin publicar). Sólo falta determinar la frecuencia de alelos en las poblaciones naturales, para identificar y determinar el pool-genético, que conduzca a la obtención de cepas superiores y de mejor calidad que las silvestres.

La implicación de los resultados que se obtuvieron en este trabajo, son de índole práctica en lo que se refiere a la introducción de una nueva especie para los cultivos comerciales de hongos comestibles, que se han venido realizando recientemente en México (Guzmán y Martínez, 1986; Martínez-Carrera et al., 1988). Asimismo a través de su cultivo en diversos desechos agroindustriales, se potencializa la obtención de un alimento de valor nutricional alto, que coadyuvaría en un momento dado a solucionar la creciente e imponente demanda de alimentos a nivel nacional y de diversas partes del mundo.

VIII.- CONCLUSIONES

- 1.- Todas las cepas estudiadas tienen un alto potencial de ser cultivadas.
- 2.- El medio de cultivo más adecuado para el crecimiento, preservación y manejo de las cepas en el laboratorio resultó ser el medio agar con extractos de trigo, paja y malta (ETA), a temperatura de 28-30°C.
- 3.- Las temperaturas por arriba de los 30°C afectan el crecimiento de las cepas estudiadas.
- 4.- Pleurotus ostreatoroseus presenta un patrón de sexualidad heterotálico tetrapolar.

IX.- BIBLIOGRAFIA

- Acosta Urdapilleta, L., G. Bustos Zagal y D. Portugal Portugal, 1988. Aislamientos y caracterización de cepas de Pleurotus ostreatus y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. Rev. Mex. Mic. 4: 13-20.
- Chang, S.T., 1982. Mushroom spawn. In: Chang, S.T. y T.H. Quimio (Eds.). Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods. The Chinese University Press, Hong Kong.
- Chang, S.T. y W.A. Hayes (Eds.), 1978. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press, Nueva York.
- Chang, S.T. y T.H. Quimio (Eds.), 1982. Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods. The Chinese University Press, Hong Kong.
- Cuevas, F.J. y T. Herrera, 1971. Variaciones morfológicas de los micelios de Psilocybe muliercula y P. zapotecorum en diversos medios de cultivo. Bol. Soc. Mex. Mic. 5: 37-46.
- Dennis, R.W.G., 1970. Fungus flora of Venezuela and adjacent countries. Kew Bull. Add. Ser. III. Cramer, Lehre.

- Eger, G., 1974-a. Rapid method for breeding Pleurotus ostreatus. Mushroom Science 9 (1): 567-573.
- Eger, G., 1974-b. The action of light and other factors on sporophore initiation in Pleurotus ostreatus. Mushroom Science 9 (1): 575-583.
- Eger, G., 1978. Biology and breeding of Pleurotus. In: Chang, S.T. y W.A. Hayes (Eds.). The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press, Nueva York.
- Eugenio, C.P. y N. Anderson, 1968. The genetics and cultivation of Pleurotus ostreatus. Mycologia 60: 627-624.
- Guzmán, G., 1975. New and interesting species of Agaricales of México. In: Bigelow, H.E. y H.D. Thiers (Eds.). Studies on higher fungi. Cramer, Vaduz.
- Guzmán, G., 1977. Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinantes. Limusa, México.
- Guzmán, G., 1983. Los hongos de la Península de Yucatán. II. Nuevas exploraciones y adiciones micológicas. Biótica 8 (1): 71-100.
- Guzmán, G. y L. Guzmán-Dávalos, 1984. Nuevos registros de hongos en el Estado de Veracruz. Bol. Soc. Mex. Mic. 19: 221-244.

- Guzmán-Dávalos, L., G. Nieves y G. Guzmán, 1983. Hongos del Estado de Jalisco, II. Especímenes depositados en el Herbario ENCB, 1a. parte. Bol. Soc. Mex. Mic. 18: 165-181.
- Guzmán-Dávalos, L., D. Martínez-Carrera, P. Morales y C. Soto, 1987. El cultivo de los hongos (Pleurotus) sobre el bagazo de maguey en la industria tequilera. Rev. Mex. Mic. 3: 47-49.
- Guzmán-Dávalos, L. y Soto-Velazco, 1987. Nuevos registros de hongos comestibles de Jalisco y obtención de la cepa de uno de ellos. Resúmenes del 10 Congreso Mexicano de Botánica, Guadalajara, Jalisco.
- Guzmán-Dávalos L. y C. Soto-Velazco, 1989. Perspectiva del cultivo de hongos comestibles en desechos agroindustriales, en Jalisco. Tiempos de Ciencia. (U de G). 15: (en prensa).
- Hosney, F.V., 1975. Fungus collections from the E. S. George Reserve, Livingston Country, Michigan. In: Bigelow, H.E. y H.D. Thiers (Eds.). Studies on higher fungi. Cramer, Vaduz.
- Kurtzman, R. H. y F. Zdrážil, 1982. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of Pleurotus mushrooms. In: Chang, S.T. y T. H. Quimio (Eds.). Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods. The Chinese University Press, Hong Kong.

- Martínez, D., 1984. Cultivo de Pleurotus ostreatus sobre desechos agrícolas. I. Obtención y caracterización de cepas nativas en diferentes medios de cultivo sólido en laboratorio. Biótica. 9 (3): 243-248.
- Martínez-Carrera, D., M. Quirarte, C. Soto, D. Salmones y G. Guzmán, 1984. Perspectivas sobre el cultivo de hongos comestibles en residuos agroindustriales en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 19: 207-219.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal y M. Quirarte, 1986. Obtención y caracterización de híbridos de cepas mexicanas de Pleurotus ostreatus. Rev. Mex. Mic. 2: 227-238.
- Martínez-Carrera, D., C. Soto-Velazco, P. Morales y G. Guzmán, 1988. El cultivo de los hongos comestibles. Ciencia 39: 217-221.
- Mata, G., 1987. Comportamiento de una cepa extranjera de Flammulina velutipes en tres medios de cultivo. Rev. Mex. Mic. 3: 39-46.
- Moser, M., 1983. Keys to agarics and boleti. Phillips, Londres.
- Muller, E. y W. Loeffler, 1976. Micología. Omega, Barcelona.
- Olmos-Fuentes, C. y T. Herrera, 1973. Comportamientos de micelios de los géneros Agrocybe, Panus y Psilocybe (Agaricales) en diferentes medios de cultivo. Bol. Soc. Mex. Mic. 7: 151-159.

- Pegler, D. N., 1977. A preliminary Agaric Flora of East Africa. Kew Bull. Add. Ser. VI. Her Majesty's Stationery Office, Londres.
- Raper, J. R., 1966. Genetics of sexuality in higher fungi. The Ronald Press, Nueva York.
- Salmones, D., 1985. Obtención de cepas de Volvariella bakeri y su estudio comparativo con una cepa extranjera de Volvariella bombycina en diferentes desechos agro-industriales. Facultad de Biología, Universidad Veracruzana. Tesis profesional.
- Sharp, R., 1978. Investigative Mycology. Heinemann Educational Books, Londres.
- Singer, R., 1961. Fungi of Northern Brazil. Inst. Micologia (Univ. do Recife) 304: 1-26.
- Singer, R., 1962. The Agaricales in modern taxonomy. Cramer, Weinheim.
- Singer, R., 1969. Micoflora australis. Cramer, Lehre.
- Singer, R., 1975-a. Interesting and new species of Basidiomycetes from Ecuador. Cramer, Vaduz.
- Singer, R., 1975-b. The Agaricales in modern taxonomy. Cramer, Vaduz.
- Soto-Velazco, C., 1986. La producción de los hongos comestibles en la región de Xalapa-Coatepec, Veracruz durante 1985-1986. Rev. Mex. Mic. 2: 437-440.

- Sui Fong Li, 1980. Studies on the tolerance to elevated temperatures in Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kummer. Bibliotheca Mycologica. Cramer, Vaduz.
- Villarreal, L. y G. Guzmán, 1985. Producción de los hongos comestibles silvestres en los bosques de México (parte I). Rev. Mex. Mic. 1: 51-90.
- Welden, A. L. y G. Guzmán, 1978. Lista preliminar de los hongos, líquenes y mixomicetos de las regiones de Uxpanapa, Coatzacoalcos, Los Tuxtlas, Papaloapan y Xalapa (parte de los estados de Veracruz y Oaxaca). Bol. Soc. Mec. Mic. 12: 59-102.
- Zadrazil, F., 1978. Cultivation of Pleurotus. In: Chang, S. T. y W.A. Hayes (Eds.) The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press, Nueva York.

CEPA	TIPO DE CRECIMIENTO	ANILLOS DE CRECIMIENTO	TEXTURA	COLOR	MICELIO AEREO	PLACA COSTROSA
7 ₀	Ralo e irregular	Presentes	Aterciopelada	Blanquecino	Escaso o Ausente	Ausente
7 ₁	Ralo e irregular	Presentes	Aterciopelada	Blanquecino	Escaso	Ausente
7 ₂	Ralo e irregular	Presentes	Cerosa	Blanquecino	Ausente	Ausente
7 ₄	Ralo e irregular	Presentes	Aborlada	Blanquecino	Regular	Ausente
7 ₅	Ralo e irregular	Presentes	Aterciopelada	Blanquecino	Regular	Ausente

TABLA 1. Caracterización macroscópica de la cepas de *P. ostreatoroseus* en medio PDA, a temperatura de 28-30° C.

CEPA	TIPO DE CRECIMIENTO	ANILLOS DE CRECIMIENTO	TEXTURA	COLOR	MICELIO AEREO	PLACA COSTROSA
7 ₀	Irregular	Presentes	Aborlada	Blanquecino, con zonas anaranjadas	Regular	Escasa
7 ₁	Ralo e irregular	Presentes	Aborlada	Blanquecino, con zonas *	Escaso	Ausente
7 ₂	Ralo e irregular	Presentes	Aborlada y en venaciones	Blanquecino, con zonas *	Escaso	Ausente
7 ₄	Ralo e irregular	Presentes	Aterciopelada	Blanquecino	Ausente	Ausente
7 ₅	Ralo e irregular	Ausentes	Cerosa	Blanquecino	Ausente	Ausente

* rosa-anaranjado

TABLA 2. Caracterización macroscópica de las cepas de P. ostreatoroseus en medio EMA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	TIPO DE CRECIMIENTO	ANILLOS DE CRECIMIENTO	TEXTURA	COLOR	MICELIO AEREO	PLACA COSTROSA
7 ₀	Irregular	Presentes	Algodonosa	Blanquecino	Abundante	Presente
7 ₁	Irregular	Presentes	Algodonosa	Blanquecino, con zonas *	Abundante	Presente
7 ₂	Irregular	Presentes	Algodonosa	Blanquecino, con zonas *	Regular	Presente
7 ₄	Irregular	Ausentes	Aborlada	Blanquecino, con anillo *	Abundante	Presente
7 ₅	Irregular	Presentes	Aborlada	Blanquecino	Regular	Presente

* rosa-anaranjado

TABLA 3. Caracterización macroscópica de las cepas de P. ostreatoroseus en el medio S, a temperatura de 28-30° C.

CEPA	TIPO DE CRECIMIENTO	ANILLOS DE CRECIMIENTO	TEXTURA	COLOR	MICELIO AEREO	PLACA COSTROSA
7 ₀	Regular	Presentes	Aborlada	Blanquecino	Abundante	Presente
7 ₁	Regular	Presentes	Aborlada	Blanquecino	Abundante	Presente
7 ₂	Ausentes	Ausentes	Aborlada	Blanquecino	Abundante	Presente
7 ₄	Ligeramente irregular	Presentes	Aborlada	Blanquecino	Abundante	Presente
7 ₅	Ligeramente irregular	Presentes	Aborlada	Blanquecino	Abundante	Presente

TABLA 4. Caracterización macroscópica de las cepas de P. ostreatoroseus en medio ETA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	PDA	EMA	S	ETA
7 ₀	(0.8-)1.6-2.4(-5.6) *	1.6-3.2(-4.8)	(0.8-)1.6-2.4(-4.0)	(0.8-)1.6-2.4(-5.6)
7 ₁	(0.8-)1.6-2.4(-5.6)	(0.8-)1.6-4.0(-5.6)	(0.8-)1.6-3.3(-4.8)	(0.8-)2.4-3.2(6.4)
7 ₂	1.6-2.4(-5.6)	(0.8-)1.6-4.0	(0.8-)1.6-2.4(-4.0)	(0.8-)2.4-4.0(-4.8)
7 ₄	(0.8-)1.6-2.4(-4.8)	(0.4-)1.6-2.4(-4.0)	(0.8-)1.6-3.2(-4.0)	(0.8-)1.6-3.2(-4.8)
7 ₅	1.6-3.2(-4.8)	(0.8-)1.6-2.4(-4.8)	(0.8-)1.6-2.4(-4.0)	(0.8-)1.6-3.2(-4.8)

TABLA 5. Diámetro de las hifas de las cepas de *P. ostreatoroseus* en los diferentes medios utilizados a temperatura de 28-30°C.

* Todas las mediciones están expresadas en micrómetros (μm).

CEPA	ANCHO (μm)	LARGO (μm)
7_0	(2.4-)3.2-4.0(-5.6)	(2.4-)4.0-4.8(-7.2)
7_1	(2.4-)4.0-4.8(-6.4)	(3.2-)4.0-6.4(-8.8)
7_2	(2.4-)3.2-4.8(-5.6)	(3.2-)4.0-5.6(-8.0)
7_4	(3.2-)4.0-4.8(-6.4)	4.0-4.8(-8.0)
7_5	(3.2-)4.0-4.8(-5.6)	4.0-5.6(-8.0)

TABLA 6. Tamaño de las fíbulas de las cepas de P. ostreatoroseus en medio PDA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	ANCHO (μm)	LARGO (μm)
7_0	(3.2-)4.0-5.6(-6.4)	(3.2-)4.0-5.6(-10.4)
7_1	(3.2-)4.0-5.6(-8.0)	(3.2-)4.8-5.6(-8.0)
7_2	(2.4)4.2-5.6(-7.2)	(4.0-)5.6-7.2(-8.0)
7_4	(3.2-)4.0-4.8(-8.0)	(2.4-)4.0-4.8(-8.0)
7_5	(2.4-)4.0-4.8(-6.4)	(3.2-)4.0-4.8(-6.4)

TABLA 7. Tamaño de las fíbulas de las cepas de P. ostreatoroseus en medio EMA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	ANCHO (μm)	LARGO (μm)
7_0	(2.4-)3.2-4.0(-6.4)	(3.2-)4.0-4.8(-8.0)
7_1	(2.4-)4.0-4.8(-5.6)	(3.2-)4.0-5.6(-7.2)
7_2	(2.4-)3.2-4.0(-5.6)	(3.2-)4.0-5.6(-9.6)
7_4	(3.2-)4.0-4.8(-6.4)	(3.2-)4.0-5.6(-8.8)
7_5	(2.4-)3.2-4.0(-6.4)	(3.2-)4.0-4.8(-8.0)

TABLA 8. Tamaño de las fíbulas de las cepas de P. ostreatoroseus en medio S, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	ANCHO (μm)	LARGO (μm)
7_0	3.2-4.0(-6.4)	(3.2-)4.0-4.8(-8.0)
7_1	(2.4-)4.0-4.8(-7.2)	4.0-5.6(-9.6)
7_2	(3.2-)4.8-5.6(-6.4)	(4.0-)5.6-6.4(-8.0)
7_4	(2.4-)4.0-4.8(-8.0)	(2.4-)4.0-5.6(-12.8)
7_5	(2.4-)3.2-4.8(-7.2)	(2.4-)4.0-4.8(-8.8)

TABLA 9. Tamaño de las fíbulas de las cepas de P. ostreatoroseus en medio ETA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	PRESENCIA DE AGREGACIONES HIFALES	NUM. DE PRIMORDIOS	NUM. DE CUERPOS FRUCTIFEROS
7 ₀	si (blancas)	2 (blancos)	-
7 ₁	-	-	-
7 ₂	-	-	-
7 ₄	-	-	-
7 ₅	-	-	-

TABLA 10. Formación de cuerpos fructíferos en medio PDA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	PRESENCIA DE AGREGACIONES HIFALES	NUM. DE PRIMORDIOS	NUM. DE CUERPOS FRUCTIFEROS
7 ₀	si (ligeramente de color rosa)	-	-
7 ₁	-	-	-
7 ₂	si (color rosa)	50 (color rosa)	19 (color rosa tenue)
7 ₄	-	-	-
7 ₅	-	-	-

TABLA 11. Formación de cuerpos fructíferos en medio EMA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	PRESENCIA DE AGREGACIONES HIFALES	NUM. DE PRIMORDIOS	NUM. DE CUERPOS FRUCTIFEROS
7 ₀	-	-	-
7 ₁	-	-	-
7 ₂	si (color rosa)	8 (color rosa)	2 (ligeramente color rosa)
7 ₄	-	-	-
7 ₅	si (blancas)	14 (blancos)	2 (blancos)

TABLA 12. Formación de cuerpos fructíferos en medio S, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	PRESENCIA DE AGREGACIONES HIFALES	NUM. DE PRIMORDIOS	NUM. DE CUERPOS FRUCTIFEROS
7 ₀	si (color rosa)	150 aprox. (ligeramente color rosa)	13 aprox. (ligeramente color rosa)
7 ₁	si (color rosa)	88 aprox. (color rosa)	-
7 ₂	si (color rosa)	175 aprox. (color rosa)	13 aprox. (color rosa)
7 ₄	si (color rosa)	200 aprox. (color rosa)	1 (color rosa tenue)
7 ₅	-	-	-

TABLA 13. Formación de cuerpos fructíferos en medio ETA, a temperatura de 28-30°C.

CEPA	TIPO DE CRECIMIENTO	ANILLOS DE CRECIMIENTO	TEXTURA	COLOR	MICELIO AEREO	PLACA COSTROSA
7 ₀	Ralo e irregular	Presentes	Aterciopelada y cerosa en región media	Blanquecino	Ausente	Ausente
7 ₁	Irregular	Presentes	Algodonosa	Blanquecino	Regular	Presente
7 ₂	Ralo e irregular	Ausentes	Aterciopelada y algodonosa en la periferia	Blanquecino	Escaso	Ausente
7 ₄	Irregular	Presentes	Algodonosa	Blanquecino	Regular	Escasa
7 ₅	Irregular	Ausentes	Algodonosa	Blanquecino y *	Abundante	Presente

* rosa-anaranjado en zona central y media

TABLA 14. Caracterización macroscópica de las cepas de P. ostreatoroseus en medio ETA, a temperatura de 31-32° C.

CEPA	DIAMETRO DE HIFAS	FIBULAS	
		ANCHO (um)	LARGO (um)
7 ₀	(0.8-)1.6-4.0(-4.8)	(3.2-)4.0-4.8(-8.8)	(3.2-)4.0-6.4(-8.8)
7 ₁	(0.8-)1.6-3.2(-5.6)	(3.2-)4.0-5.6(-7.2)	(3.2-)4.0-5.6(-8.0)
7 ₂	(0.8-)1.6-3.2(-5.6)	(2.4-)4.0-5.6(-6.4)	4.0-5.6(-8.0)
7 ₄	(0.8-)1.6-4.0(-6.4)	(2.4-)4.0-4.8(-5.6)	(3.2-)4.0-5.6(-9.6)
7 ₅	(0.8-)1.6-3.2(-4.8)	(2.4-)4.0-5.6(-8.0)	4.0-6.4(-8.0)

TABLA 15. Caracterización microscópica de las cepas de P. ostreatoroseus en el medio ETA, a temperatura de 31-32°C.

TIPOS
DE
INCOMPATIBILIDAD

I	II	III	IV
(A ₁ B ₁)	(A ₁ B ₂)	(A ₂ B ₁)	(A ₂ B ₂)
2	1	8	6
10	3	16	7
20	4		11
22	5		12
26	9		13
29	14		18
	15		21
	17		23
	19		24
	25		
	27		
	28		
	30		

TABLA 16. Agrupación de los monospóricos de la cepa 7₂ de Pleurotus ostreatoroseus de acuerdo a su tipo de incompatibilidad.

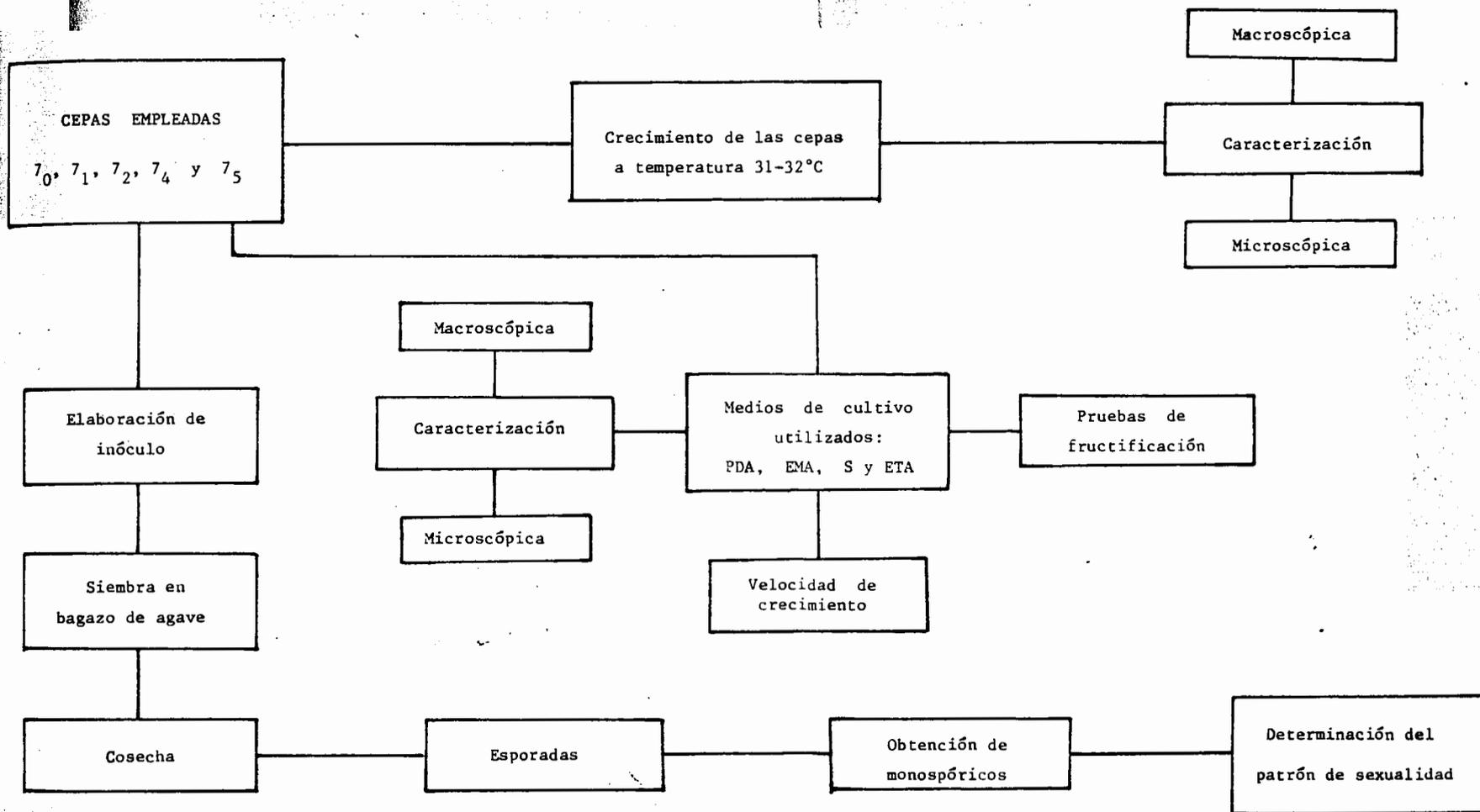


Fig. 2. Representación de la metodología seguida en el presente trabajo.

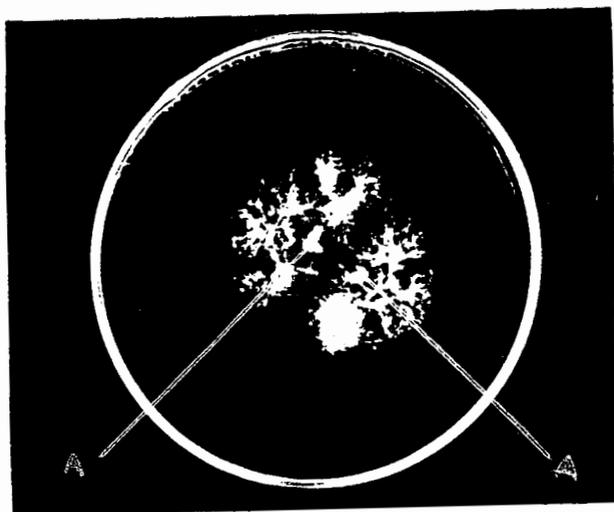


Fig. 3. Cruza entre dos monospóricos. La letra A indica los puntos de inoculación.

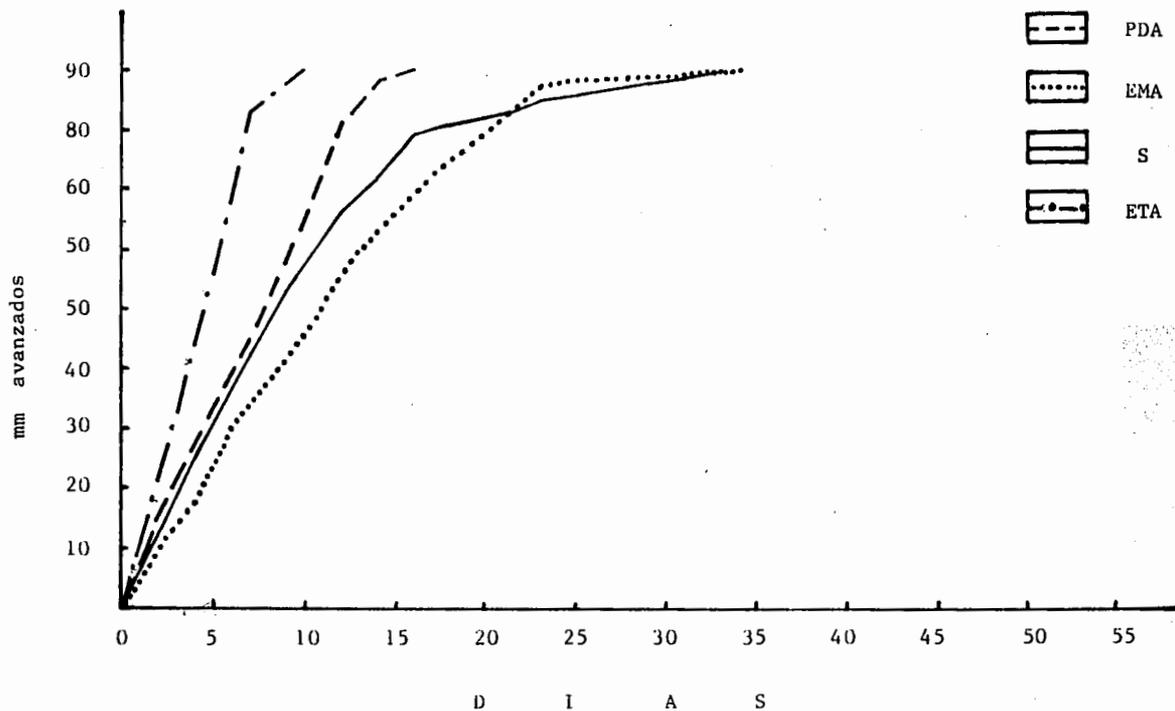


Fig. 4. Velocidad de crecimiento de la cepa 7₀ de P. ostreatoroseus en los diferentes medios de cultivo, a temperatura de 28-30°C.

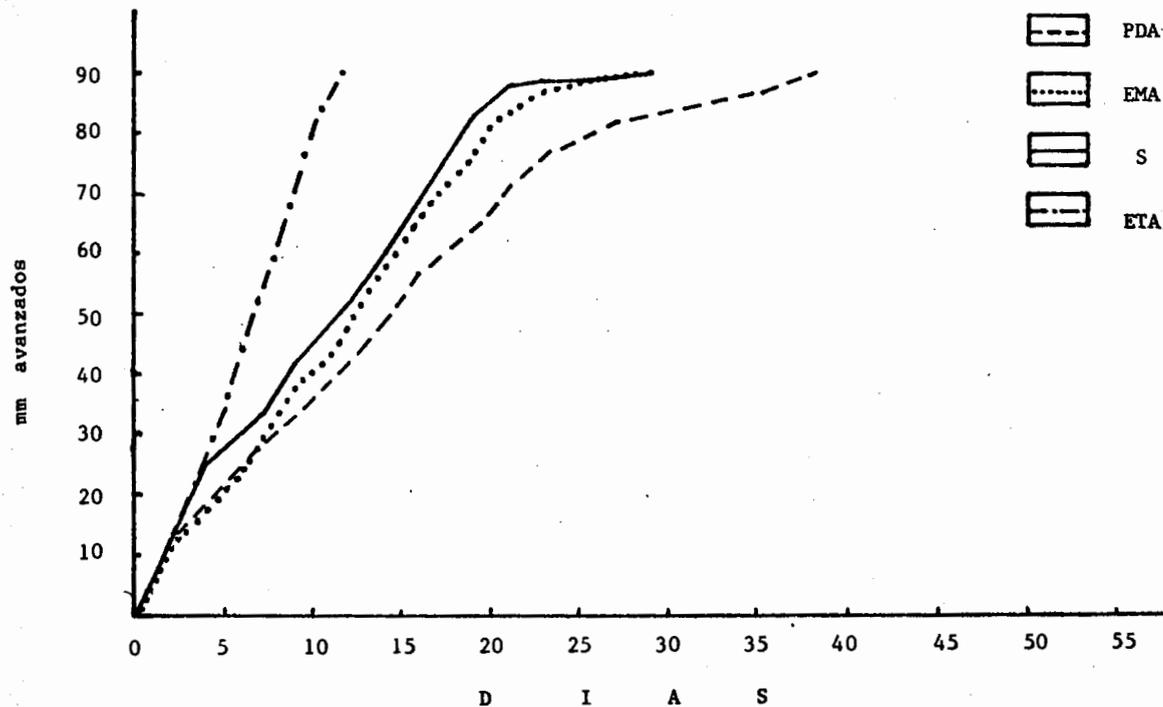


Fig. 5. Velocidad de crecimiento de la cepa 7₁ de *P. ostreatoroseus* en los diferentes medios de cultivo, a temperatura de 28-30°C.

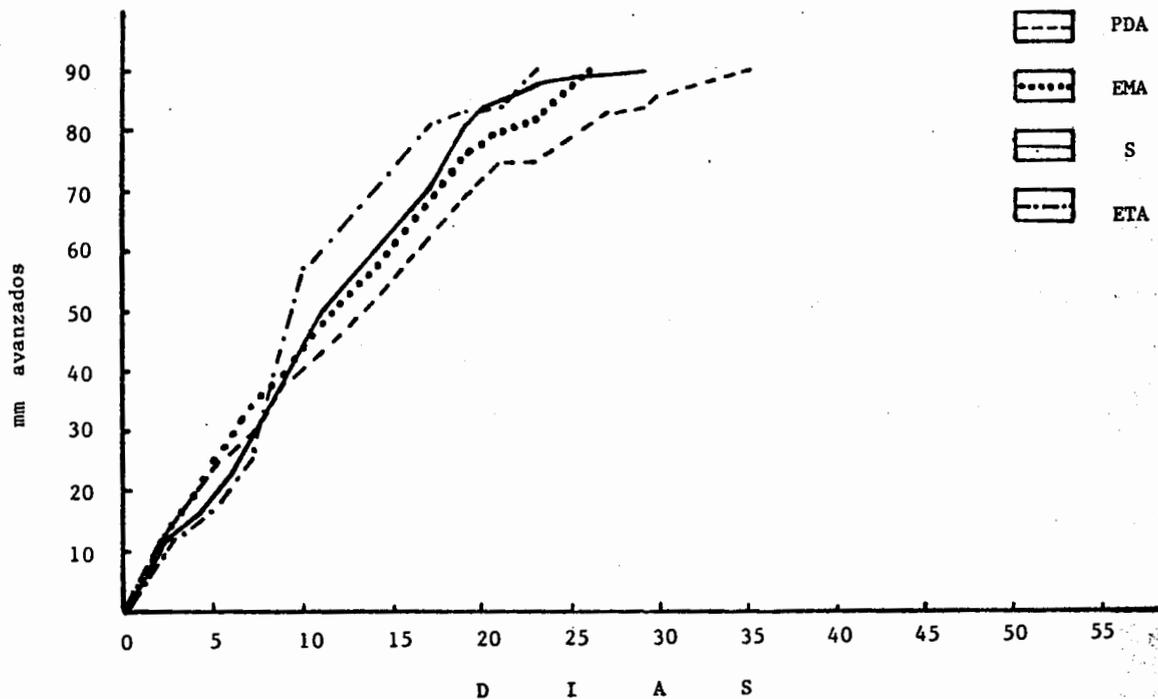


Fig. 6. Velocidad de crecimiento de la cepa 7₂ de *P. ostreatoroseus* en los diferentes medios de cultivo, a temperatura de 28-30°C.

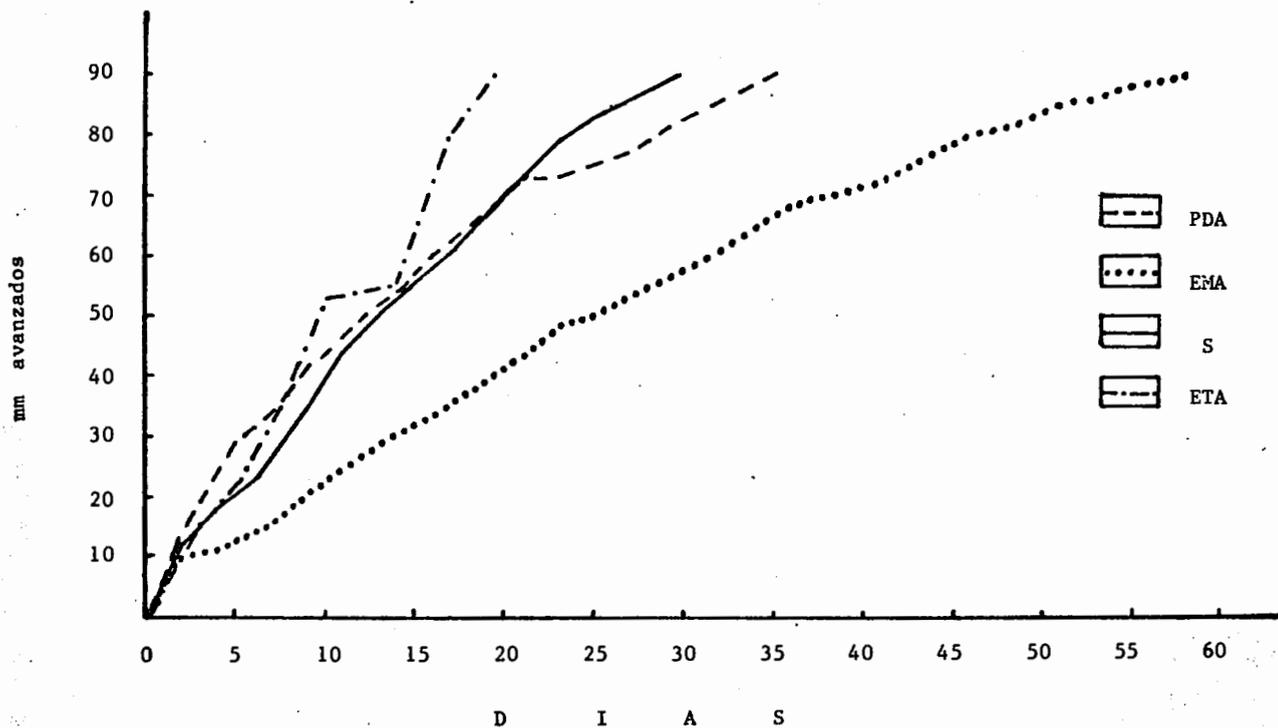


Fig. 7. Velocidad de crecimiento de la cepa 7₄ de P. ostreatoroseus en los diferentes medios de cultivo, a temperatura de 28-30°C.

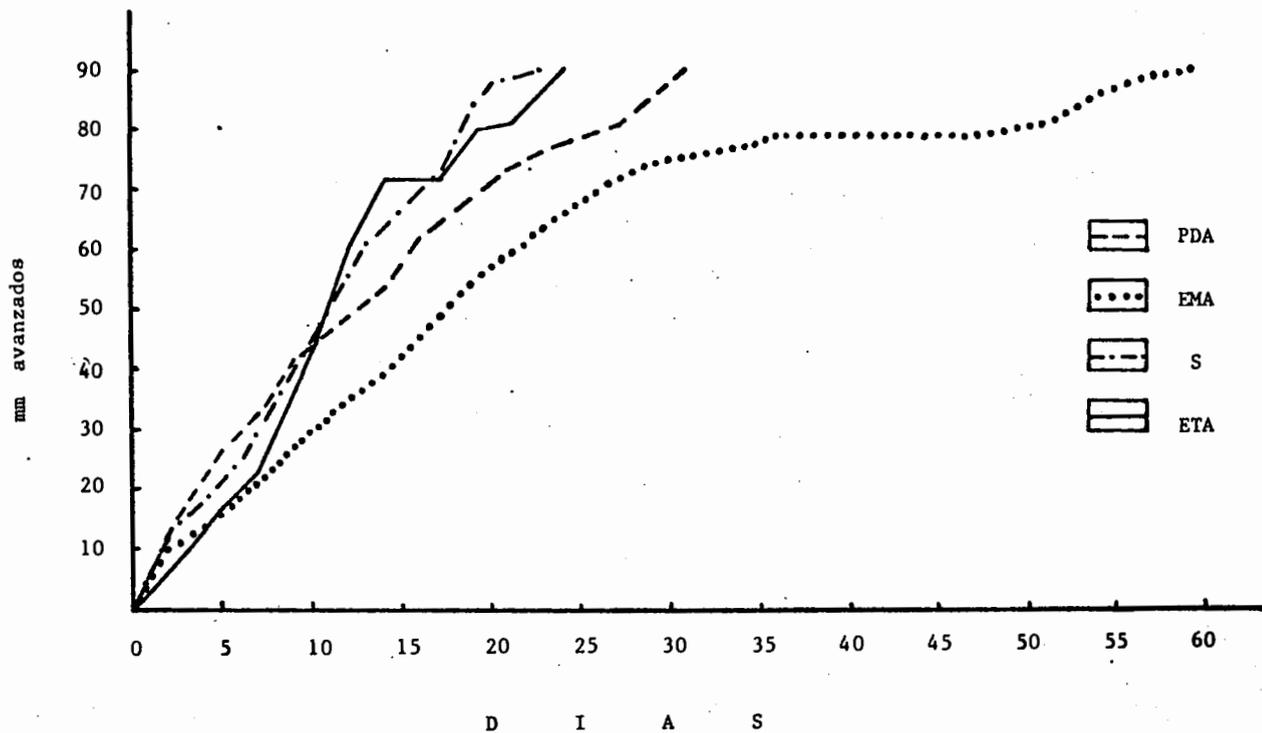


Fig. 8. Velocidad de crecimiento de la cepa 7₅ de *P. ostreatoroseus* en los diferentes medios de cultivo, a temperatura de 28-30°C.

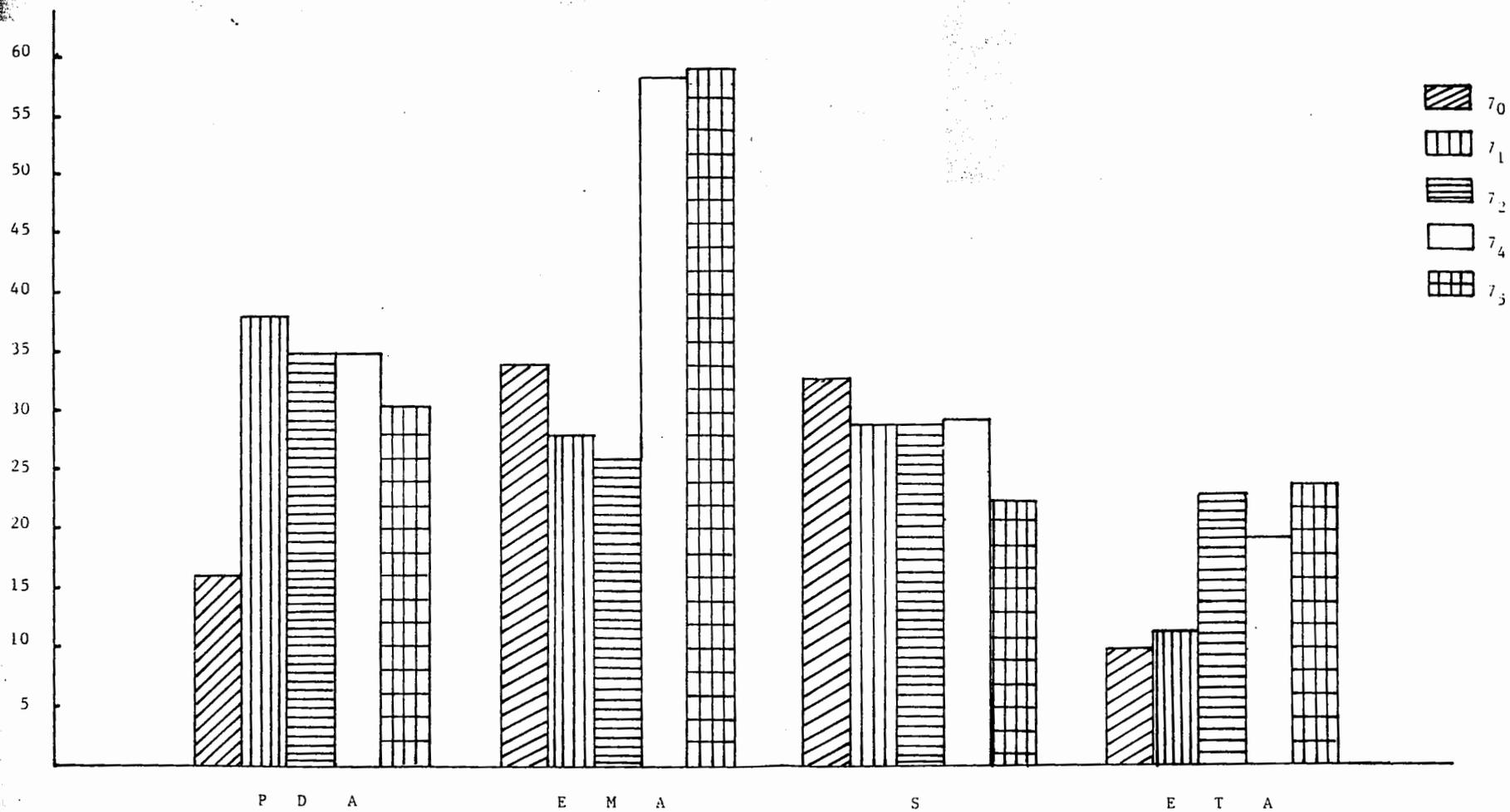


Fig. 9. Comparación de la velocidad de crecimiento de las cepas de *P. ostreatoroseus* en los diferentes medios de cultivo, a temperatura de 28-30°C.

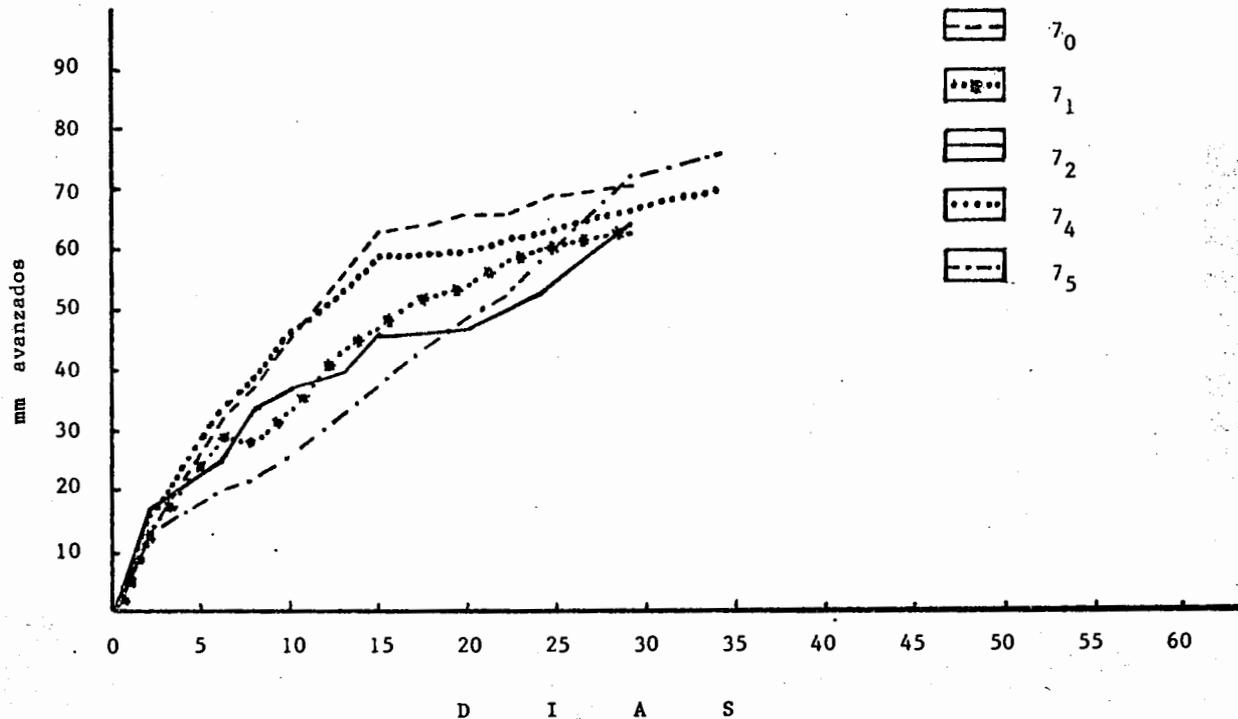


Fig. 10. Velocidad de crecimiento de las diferentes cepas de P. ostreatoroseus en el medio ETA, a temperatura de 31-32°C.

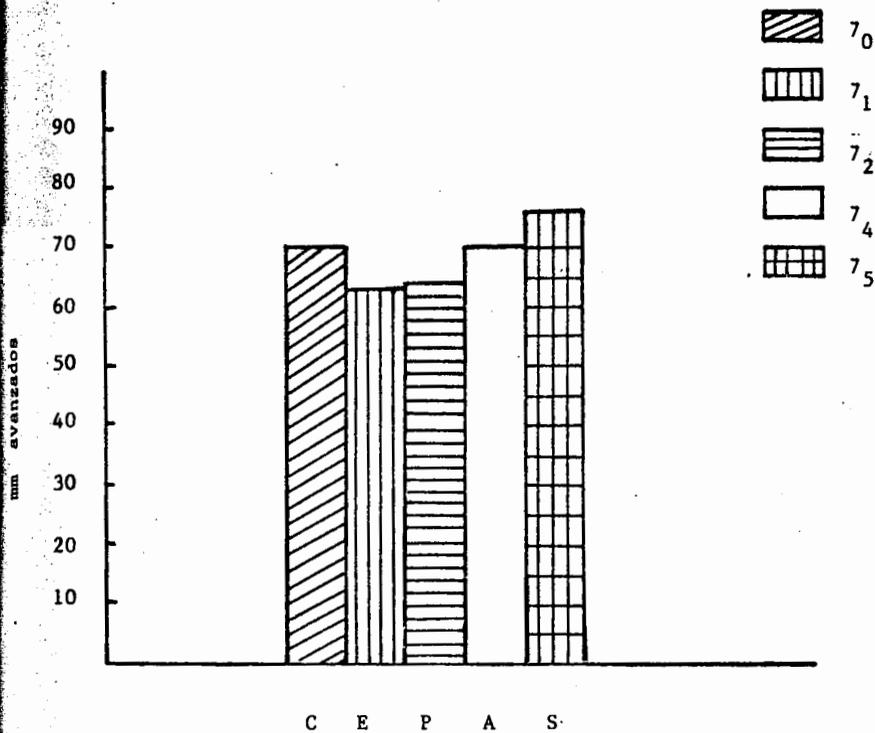


Fig. 11. Diámetro máximo alcanzado por las colonias de las cepas de Pleurotus ostreatoroseus en el medio de cultivo ETA, a temperatura de 31-32°C.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1		-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
2				-	-	+	+	-	-	-	+	+
3					-	-	-	+	-	-	-	-
4						-	-	+	-	-	-	-
5							-	+	-	-	-	-
6								-	-	+	-	-
7								-	-	+	-	-
8									+	-	-	-
9										-	-	-
10											+	+
11												-
12												

Fig. 12. Esquema de entrecruzamiento de los monospóricos de la cepa 7₂ de Pleurotus ostreatoroseus.

APENDICE 1. Composición de los medios de cultivo utilizados en el presente estudio.

AGAR CON DEXTROSA Y PAPA (PDA)		
Componentes	Cantidad por litro	
Infusión de papa	200	g
Dextrosa	20	g
Agar	15	g
Agua destilada	1 000	ml

AGAR CON EXTRACTO DE MALTA (EMA)		
Componentes	Cantidad por litro	
Maltosa Técnica	12.75	g
Dextrina	2.75	g
Glicerina	2.35	g
Peptona de gelatina	0.78	g
Agar	15.00	g
Agua destilada	1 000	ml

AGAR DEXTROSA SABOURAUD (S)

Componentes	Cantidad por litro
Dextrosa	40 g
Mezcla de peptonas	10 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 000 ml

AGAR CON EXTRACTOS DE TRIGO, PAJA Y MALTA (ETA)

Componentes	Cantidad por litro
* Extracto de trigo.....	500 ml
** Extracto de paja	500 ml
Dextrosa	10 g
Extracto de malta	18.65 g
Agar	17.0 g

* Se preparó poniendo 400 g de trigo por 1 000 ml de agua destilada. Se hierve hasta obtener 500 ml de extracto.

** Se preparó poniendo 100 g de paja de trigo en 1 000 ml de agua destilada. Se hierve hasta obtener 500 ml de extracto.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente

Número ...397/89.....

SRITA. MARTHA CEDANO MALDONADO
P R E S E N T E . _

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "CARACTERIZACION Y ESTUDIO DEL HONGO COMESTIBLE PLEURO TUS OSTREATOROSEUS SING. EN CULTIVOS SOLIDOS DE LABORATORIO Y DETERMINACION DEL PATRON DE SEXUALIDAD" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptada como Directora de dicha Tesis la Biol. Laura Guzmán Dávalos.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Abril 25 de 1989



EL DIRECTOR

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA

FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIO

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS.

c.c.p. La Biol. Laura Guzmán Dávalos, Directora de Tesis.-Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

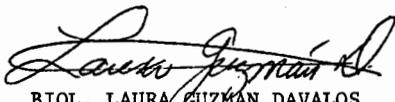
C. ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

P R E S E N T E

Me dirijo a usted de la manera mas atenta para informarle que después de haber revisado la Tesis de la Pasante de Biología MARTHA CEDANO MALDONADO, titulada " CARACTERIZACION DEL HONGO COMESTIBLE Pleurotus ostreatoroseus Sing. EN CULTIVOS SOLIDOS DE LABORATORIO Y DETERMINACION DEL PATRON DE SEXUALIDAD ", no existe ningún inconveniente y doy mi aprobación para la impresión de la misma.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 25 de octubre de 1989.



BIOL. LAURA GUZMAN DAVALOS
DIRECTORA DE TESIS