

B-240

89-A

REG. No. 081184712

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



OBTENCION DE CEPAS DE PLEUROTUS OSTREATUS
(Jacq. ex Fr.) Kumm. POR APAREAMIENTO DICARION-
MONOCARION Y SU CULTIVO EN BAGÁZO DE AGAVE
TEQUILERO .

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
ARIAS GARCIA JOSE ARMANDO
GUADALAJARA, JAL. 1991

La presente tesis se realizó en el Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección del Biól. Conrado Soto Velazco, como parte del proyecto "Producción de alimento a partir del cultivo de hongos sobre residuos agroindustriales".

A MIS PADRES.....

CARMEN GARCIA Y

AGUSTIN ARIAS

A MIS HERMANOS.....

AGUSTIN,

FATIMA,

SAMUEL,

LUIS,

LUZ Y

GEMA.

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Biól. Conrado Soto Velazco por la dirección de este trabajo

Al Biól. Salvador Vazquez Gonzalez, que en paz descansa

A la M. en C. Laura Guzmán por el apoyo brindado

A los compañeros y amigos del Laboratorio de Micología

Se reconoce el apoyo de los compañeros Dr. Igor Ramos, Ing. Carlos Ramirez Serrano y al Ing. Guillermo Elizalde.

A todos los compañeros del Instituto de Botánica que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo

OBTENCION DE CEPAS DE PLEUROTUS OSTREATUS (Jacq. ex Fr.) Kumm. POR
APAREAMIENTO DICARION-MONOCARION Y SU CULTIVO EN BAGAZO DE AGAVE
TEQUILERO.

R E S U M E N

Se estudió la dicarionización de micelios monospóricos por medio de micelios dicarióticos (Fenómeno Buller), entre cepas de Pleurotus ostreatus. Asimismo se empleó P. var "Florida" y P. ostreatoroseus como agentes dicarionizantes. En total se obtuvieron 15 cepas di-monocarióticas. A cada cepa obtenida se le evaluó el comportamiento en los medios de cultivo EMA y HIT, resultando el más adecuado este último, por lo que puede ser empleado para el manejo de estas cepas. Respecto a la producción de carpóforos de agave se determinó que pueden alcanzar hasta un 52 % en fresco y de 5.4 % en seco de eficiencia biológica. Por otro lado se estableció un promedio del tamaño de carpóforos adecuado a nivel comercial de 5 a 11 cm, por lo que se obtuvieron porcentajes del 77 al 44 % en las cepas obtenidas.

I N D I C E

I	INTRODUCCION.....	1
II	GENERALIDADES.....	3
	1. Morfología de <u>Pleurotus ostreatus</u>	
	2. Sexualidad del género <u>Pleurotus</u>	
III	ANTECEDENTES.....	9
IV	OBJETIVOS.....	12
V	MATERIALES Y METODOS.....	13
	a) FASE DE LABORATORIO	
	b) FASE DE CAMPO	
VI	RESULTADOS.....	19
VII	DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	28
VIII	LITERATURA CITADA.....	34

I. INTRODUCCION

En los bosques del territorio nacional se encuentra una gran variedad de especies de hongos silvestres, de los cuales más de 200 especies son comestibles (Guzmán 1977; Villarreal y Guzmán 1985). Es importante hacer notar que en algunos estados del centro y oriente del país se recolectan hongos comestibles silvestres en forma tradicional, lo cual data desde épocas prehispánicas. Estas prácticas se realizan con fines de autoconsumo o comercialización en los mercados populares de poblaciones aledañas (Villarreal y Perez-Moreno, 1989). Por otra parte, sólo 89 especies de hongos comestibles silvestres son las más conocidas en los mercados (Guzmán, 1977).

La falta y poco desarrollo de tecnologías que permitan el cabal aprovechamiento de estos recursos naturales, los hongos, ha limitado su aprovechamiento integral. Sin embargo, actualmente se han encaminado esfuerzos para la obtención de cepas de hongos comestibles y adaptarlas a cultivo intensivo. En la actualidad, en el país, únicamente se cultivan Agaricus bisporus, A. bitorquis y Pleurotus ostreatus, aunque se pueden cultivar otras 10 especies de hongos comestibles (Guzmán, 1983). Por lo general las cepas son obtenidas del extranjero, E. U. A. y Europa principalmente, pero resulta demasiado caro adaptar estas cepas y tecnologías a nuestro

medio. Por lo que se hace necesario el aislamiento y caracterización de cepas adaptadas al lugar donde se va a cultivar comercialmente el hongo comestible.

Además para garantizar una buena producción de hongos a nivel comercial es importante realizar estudios de selección y mejoramiento de cepas de hongos comestibles a través de cruzamientos (Eger, 1978; Eugenio y Anderson, 1968; Martínez et al., 1986).

II. GENERALIDADES

1. Morfología de Pleurotus ostreatus

P. ostreatus presenta un sombrero en forma de repisa, de 4-14 cm de diámetro, blanquecino, gris o de color café grisáceo; las láminas son decurrentes, blanquecinas; presenta un pie lateral corto, que en ocasiones puede ser excéntrico; la carne o contexto es blanca a blanquecina, con sabor y olor agradables. Los cuerpos fructíferos crecen en forma gregaria y por lo general imbricados, sobre troncos caídos o en pie, o en diversos restos vegetales.

2. Sexualidad del género Pleurotus

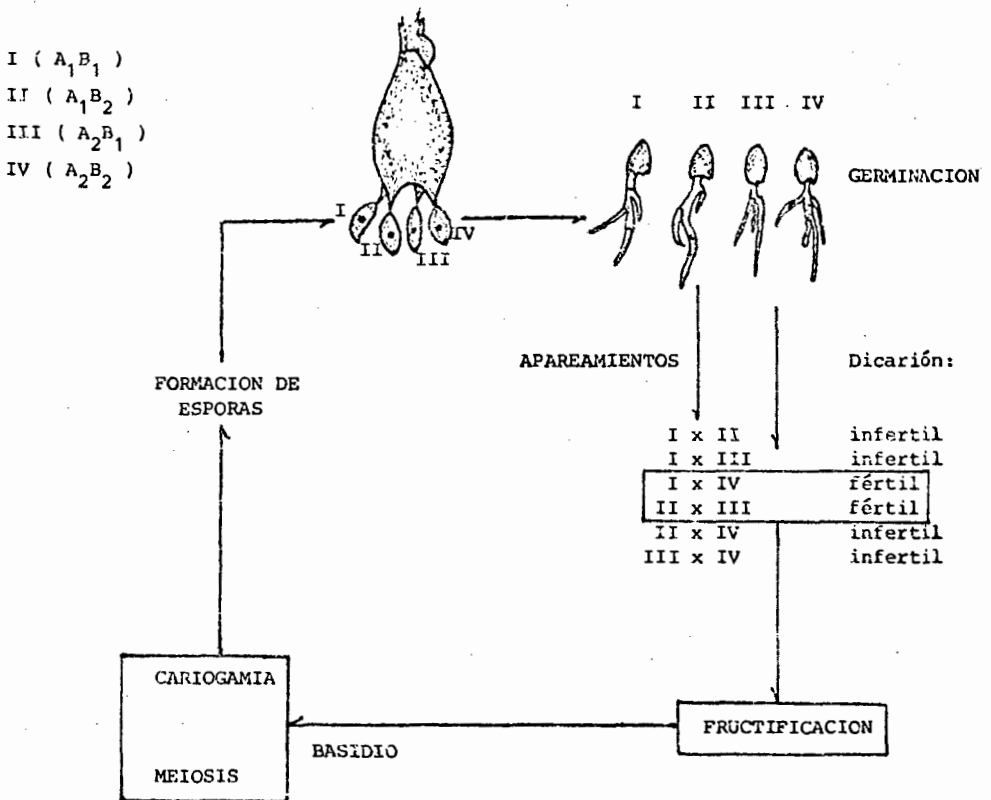
El ciclo de vida de Pleurotus ostreatus inicia con la germinación de una espora en un micelio primario o monocarion, que se caracteriza por la presencia de hifas septadas, uninucleadas y con crecimiento indefinido. Debido a que este micelio primario es incapaz de completar el ciclo de vida, es necesaria la fusión de dos micelios primarios compatibles para la formación del micelio secundario o también llamado dicarion, el cual se caracteriza por la presencia de dos núcleos parentales genéticamente diferentes en un citoplasma. Además las hifas dicarióticas presentan en cada septo pequeños apéndices, llamados fíbulas, que indican la presencia de un micelio con capacidad de fructificación (Eugenio y

Anderson, 1968; Anderson et al. 1973; Eger, 1978; Li, 1980). Este micelio secundario es capaz bajo condiciones adecuadas de temperatura, humedad, etc. de desarrollar el micelio terciario o cuerpo fructífero, donde se formarán los basidios. En los basidios se fusionan los dos núcleos (cariogamia) y por medio de la meiosis se forman 4 núcleos haploides que originan las cuatro esporas en el basidio.

Esta necesidad de apareamiento entre micelios compatibles para el establecimiento de un dicarion fértil se ha denominado heterotalismo. El heterotalismo esta dado por los sistemas de apareamiento o factores de incompatibilidad, que puede ser unifactorial (A) o bifactorial (A y B), cada uno con alelismo múltiple. Cuando ocurre al menos un factor de incompatibilidad idéntico durante los procesos de apareamiento, la formación de las fibulas no se presenta y la cariogamia y la meiosis no son posibles, por lo que se tendrá un micelio estéril sin capacidad de fructificar (Li, 1980). Pleurotus ostreatus presenta un ciclo sexual heterotálico bifactorial, ya que posee dos diferentes factores de incompatibilidad A y B, cada uno con alelismo múltiple.

Los factores de incompatibilidad son importantes debido a que evitan el entrecruzamiento de los micelios de un mismo cuerpo fructífero y favorecen el intercambio genético de poblaciones silvestres de la misma especie (Eger, 1978). Asimismo, estos factores A y B son responsables del proceso de dicarionización,

así tenemos que, el factor A realiza la asociación nuclear, la división conjugada e iniciación de la fibula. El factor B regula la actividad de la enzima R-glucanasa que favorece la fusión de la fibula y la migración nuclear (Deacon, 1981). Como consecuencia durante la meiosis estos dos factores A y B se segregan y forman 4 esporas haploides con factores de incompatibilidad combinados como se señala en el esquema:



Así, los micelios monocarióticos sólo serán compatibles si estos alelos son diferentes:

monocarión		monocarión		dicarición	
A ₁ B ₁	x	A ₂ B ₂	----->	(A ₁ B ₁ : A ₂ B ₂)	(1)
A ₁ B ₂	x	A ₂ B ₁	----->	(A ₁ B ₂ : A ₂ B ₁)	(2)

Estos dicariones (1) y (2) darán de nueva cuenta origen a esporas con los factores de incompatibilidad originales:

A₁B₁:A₂B₂ -----> (A₁B₁); (A₂B₁); (A₁B₂); (A₂B₂)

A₁B₂:A₂B₁ -----> (A₁B₁); (A₂B₁); (A₁B₂); (A₂B₂)

FENOMENO BULLER

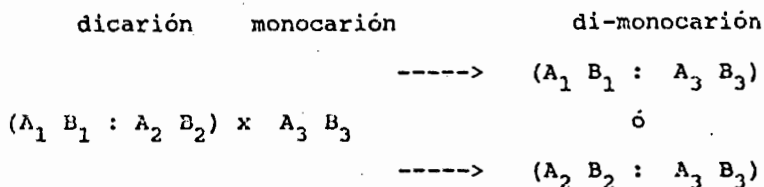
La selección y mejoramiento de cepas con calidad comercial de P. ostreatus, se basa principalmente en la determinación de los micelios compatibles por medio de cruzamientos monocarión-monocarión (Eger, 1978; Eugenio y Anderson, 1968; Martínez et al., 1986).

Una contribución al entendimiento de la sexualidad en los Basidiomycetes, fué el descubrimiento del Fenómeno Buller, que consiste en la dicarionización de micelios monocarióticos por medio de dicariones, observado por primera vez en Coprinus lagopus (Fr.) Fr. y Schyzophilum commune Fr. (Raper, 1966). Esto es, un micelio dicariótico fibulado induce la formación de fibulas en otro que no está fibulado (monocarión), si ambos son confrontados.

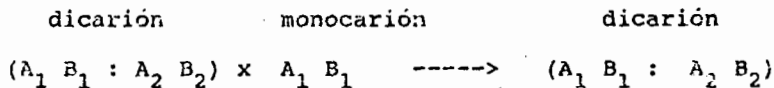
De esta confrontación pueden obtenerse dos tipos de reacciones:

LEGITIMA O COMPATIBLE: Cuando los tipos de apareamiento del monocarión son compatibles con los tipos de apareamiento de los dos núcleos del dicarión, y se le denomina cruce compatible.

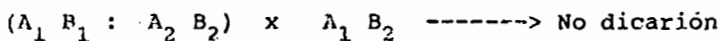
Ejemplo:



Si el monocarión es compatible sólo con un núcleo del dicarión, se dice que es HEMICOMPATIBLE. Ejemplo:



ILEGITIMA O NO COMPATIBLE: Si los tipos de apareamiento del monocarión no son compatibles con ninguno de los tipos de apareamiento de los dos núcleos del dicarión. Ejemplo:



Este fenómeno también se ha observado en varias especies de Pleurotus, pero se ha empleado únicamente en la determinación de los factores de incompatibilidad A y B, la migración nuclear y la

formación de la fibula, pero nunca se ha usado como un agente dicarionizante en la obtención de dicariones o híbridos en especies estrechamente emparentadas.

III. ANTECEDENTES

Entre los estudios más importantes realizados para la obtención de cepas de Pleurotus ostreatus tenemos a los de Eger, quien en 1974 propuso un método para la obtención de cepas de alta fructificación (Eger, 1974). Eger y colaboradores (1974) estudiaron los efectos de la luz sobre la fructificación y apariencia de los carpóforos de P. ostreatus en el medio de cultivo. Eger (1978) estableció varias características que deben reunir las cepas, tales como resistencia a altas temperaturas, carpóforos que no produzcan esporas, alta producción de carpóforos y resistencia a plagas y enfermedades.

Otro trabajo de interés corresponde al de Eugenio y Anderson (1968), en donde determinaron la cantidad de factores A y B dentro de una población silvestre de P. ostreatus, así como la importancia de la exogamia en el mantenimiento de la variabilidad de las cepas silvestres. Li (1980) estudió los efectos de la temperatura en la fructificación de cepas dicarióticas alemanas de P. ostreatus obtenidas por apareamiento de monocariones en condiciones de alta temperatura.

Mori et al. (1974) obtuvieron cepas dicarióticas de Lentinus edodes por apareamientos dicarion-monocarion. Estas cepas presentaron variabilidad en cuanto a características morfológicas

y fisiológicas, debido a que utilizaron cepas de diferente origen geográfico.

Entre los trabajos realizados en México en relación a la selección de cepas de P. ostreatus, tenemos al de Martínez et al. (1986), quienes trabajaron con apareamientos entre monocariones de la región de Xalapa, Veracruz, con la finalidad de evaluar su fructificación.

Martínez-Carrera (1988) cruzó monocariones de cepas mexicanas con cepas guatemaltecas de P. ostreatus, para determinar el grado de compatibilidad entre cepas de diferente origen geográfico, encontrando un 100 % de compatibilidad y un comportamiento de los dicariones muy diverso.

Mata (1989) entrecruzó cepas monocarióticas de Lentinus boryanus, originaria del Estado de Veracruz, con una cepa dicariótica japonesa de L. edodes y determinó que ambas especies son incompatibles, debido a que no obtuvo cepas dicarióticas por medio de este método.

Sin embargo, a la fecha no existen referencias que indiquen la obtención de cepas dicarióticas de P. ostreatus por medio de apareamientos dicarion-monocarion, a pesar de que este fenómeno ocurre de manera espontánea en la naturaleza, lo cual nos indica una clara selección de genotipos mejor adaptados.

En el presente estudio se realizó una evaluación del potencial de dicarriotización de micelios monocarióticos de P. ostreatus nativos de Jalisco con cepas de Pleurotus spp. de diferente origen geográfico, con la finalidad de observar la dicarriotización y las características de las cepas obtenidas.

IV. OBJETIVOS:

El presente trabajo pretende obtener la dicariorización de micelios monocarióticos de cepas de P. ostreatus nativas del Estado de Jalisco, a través de micelios dicarióticos de diversos orígenes geográficos, por lo que se plantea:

1. Determinar cuáles micelios monocarióticos se logran dicariorizar por apareamientos dicariorión-monocariorión.
2. Estudiar el crecimiento de los dicarioriones obtenidos en dos medios de cultivo sólido.
3. Evaluar la velocidad de crecimiento de las cepas dicarióticas obtenidas en los medios de cultivo empleados.
4. Conocer el tiempo de fructificación y producción de hongos frescos de los dicarioriones logrados, en bagazo de agave tequilero.
5. Evaluar las características de los carpóforos de los dicarioriones cosechados sobre bagazo de agave.

V. MATERIALES Y METODOS

El método aquí propuesto comprendió dos fases o etapas, las cuales se realizaron en el Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara (IBUG) (se aprecia un esquema general en la figura 1).

I) FASE DE LABORATORIO

1.- Cepas monocarióticas de Pleurotus ostreatus

Los micelios monocarióticos de P. ostreatus que se emplearon se conservan en refrigeración a temperatura de 4 ± 1 °C sobre agar extracto de malta inclinado, en el cepario de hongos comestibles de Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica de la Universidad de Guadalajara. Dichos monocariones se derivaron de las cepas IBUG-1, IBUG-3 e IBUG-9. El material silvestre de la primera se encontró creciendo sobre bagazo de caña de azúcar, la segunda en un tronco y la última sobre un maguey, todas en el Estado de Jalisco.

A los monocariones de cada cepa se les determinó el tipo de apareamiento de acuerdo al método propuesto por Eger (1978). En total se usaron cuatro monocariones por cepa.

2. Cepas dicarióticas

Las cepas dicarióticas que se usaron como agentes dicariorizantes fueron: P. ostreatus de Alemania (IBUG-27), de Japón (IBUG-25), de Hong Kong (IBUG-23) y de la República Dominicana (IBUG-28); asimismo se incluyeron P. var. "Florida" de Alemania (IBUG-4) y P. ostreatoroseus de Jalisco (IBUG-7).

Respecto a la cepa IBUG-4, ésta es una especie con muchos problemas taxonómicos, en algunos casos se le cita como Pleurotus sp. "Florida" y en otros como Pleurotus ostreatus var. "Florida" o incluso se considera sinónimo de P. floridanus Sing., aunque con esta especie no existe ninguna relación (Zadrazil, 1978). En este trabajo se le da el nombre de P. ostreatus var. "Florida", por ser una de las más aceptadas.

Además se utilizaron los dicariones parentales IBUG-1, IBUG-3 e IBUG-9 para aparearlos entre sus monospóricos y observar las características de los di-monocariones que se obtengan.

3. Formación de di-monocariones

Para la formación de los di-monocariones, se colocó en una caja de petri con medio de agar con extracto de malta, un micelio monocariótico y un micelio dicariótico alejados aproximadamente 1.5 cm uno del otro. Se incubaron a una temperatura de 28°C y se esperó que los bordes de los micelios en crecimiento se fusionaran. Para comprobar la formación del dicarion, en el micelio monocariótico se

hicieron observaciones al microscópio. En el caso de que la dicarriotización haya ocurrido se observaron fíbulas, sobre los septos de las hifas de los micelios monocarióticos.

Los micelios di-monocarióticos obtenidos se conservan en tubos de ensaye con extracto de malta con agar a temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4. Pruebas de laboratorio

a) Medios de cultivo

Se ha visto que las cepas de P. ostreatus crecen de forma adecuada en agar con extracto de malta (EMA) (Eger, 1976), por lo que se empleó este medio para propagar a los di-monocariones obtenidos y sus parentales. De forma paralela se usó un medio de cultivo a base de harina de trigo y fructosa con agar (HIT), diseñado en el Laboratorio de Micología del Instituto de Botánica, U. de G. y que ha dado buenos resultados con varias especies de Pleurotus.

b) Velocidad de crecimiento

Un inóculo de un centímetro cuadrado, de los di-monocariones obtenidos, se colocó en el centro de una caja de petri de 90 mm con los medios ya mencionados (EMA, HIT). Se hicieron 5 réplicas para evaluar la velocidad de crecimiento en cada medio de cultivo. Se

incubaron a temperatura de 28°C y cada 72 horas se midieron los milímetros avanzados, como lo describió Sharp (1978), hasta que el micelio cubrió los 90 milímetros de diámetro del medio de cultivo.

c) Caracterización macroscópica de las di-monocariones

Las cajas con el micelio mencionadas en el inciso anterior fueron observadas para caracterizar las cepas, para lo cual se tomó en cuenta la textura y el micelio aéreo.

5. Elaboración de inóculo

Con los di-monocariones obtenidos y cepas parentales o dicarióticas se elaboró inóculo, siguiendo la técnica propuesta por Stamets y Chilton (1983). Se elaboró con granos de trigo en frascos de vidrio con capacidad de 950 ml.

Según esta técnica, se coloca un fragmento de agar con micelio de los dicariones dentro de un frasco con trigo y se incuba a temperatura de 28°C , hasta que el micelio cubra los granos.

II) FASE DE CAMPO

1. Fructificación en bagazo de agave

Se empleó bagazo de agave tequilero fermentado por 20 días, como lo recomendaron Soto-Velazco et al. (1991). Se pasteurizó en agua a 70-75°C durante 40 minutos y posteriormente se coló en una mesa para su enfriamiento.

Con el inóculo elaborado previamente, se realizó la inoculación o siembra en el bagazo. El inóculo se puso en cantidad de un 3 % en relación al peso fresco del substrato que se inoculó. Para la siembra se emplearon bolsas de plástico de 40x60 cm. Se hicieron en réplicas de 10 bolsas para cada cepa probada.

Una vez inoculado el substrato dentro de las bolsas de plástico, se colocó en el cuarto de incubación de la planta de cultivo de hongos, hasta que se inició la fructificación.

Cuando aparecieron los primordios sobre el substrato, éste se trasladó al área de desarrollo y cosecha, para permitir que los carpóforos completaran su crecimiento, asimismo la bolsa de plástico se retiró para evitar deformaciones de los carpóforos y permitir el riego del substrato.

2. Evaluación de la producción de carpóforos

Los carpóforos una vez maduros se cosecharon y pesaron en una báscula común. Los pesos de los carpóforos obtenidos se registraron en una tabla diseñada expresamente para ello. Los resultados totales de la producción de carpóforos, ésto es la suma de la primera a la última cosecha de una misma bolsa con substrato, se sumaron y se sacó un total en gramos.

Para expresar en porcentaje y hacer la evaluación de la producción, se empleó la fórmula de eficiencia biológica propuesta por Tchierpe y Hartman (1977), que consiste en dividir el peso de los hongos frescos entre el peso seco del substrato empleado al momento de la inoculación con base cien. Además se evaluó con base al peso seco de las fructificaciones.

3. Caracterización de los carpóforos obtenidos

Con el fin de determinar que dicarion produce mejores carpóforos, se llevó un registro de las principales características de los cuerpos fructíferos, como son tamaño y consistencia.

V. RESULTADOS

Los micelios monospóricos que se utilizaron para realizar los apareamientos con los micelios dicarióticos fueron: para la cepa IBUG-1 el monospórico 4 del tipo de apareamiento I, el 12 del II, el 17 del III y el 23 del IV; los de la cepa IBUG-3, fueron el monospórico 10 del tipo I, el 15 del II, el 16 del III y el 17 del tipo IV; los monospóricos de la cepa IBUG-9 fueron, del tipo I el 1, del II el 8, del III el 39 y del tipo IV el 63 (Tabla 1). En la tabla 2 se señalan las cepas dicarióticas empleadas, que ya fueron mencionadas en la metodología.

En la tabla 3 se muestra el resultado de los apareamientos realizados con las cepas extranjeras de Pleurotus ostreatus, en la que se observa que solamente el monospórico 12 de la cepa IBUG-1, se dicarionizó con el micelio de la cepa IBUG-28 de la República Dominicana. El resto de los micelios monospóricos no se logró dicarionizar con ninguna de las cepas probadas. El único dicarion formado en este caso se registró como 28 x 12₁.

Con respecto a la cepa de Pleurotus var. "Florida" (IBUG-4), tampoco se observó la formación de dicariones (Tabla 4). Sin embargo, con la cepa de Pleurotus ostreatoroseus (IBUG-7) se lograron dicarionizar los 4 micelios monospóricos de la cepa IBUG-1 y de la cepa IBUG-9 sólo se dicarionizó el monospórico 39. Con los

micelios monospóricos de la IBUG-3 no se logró la obtención de dicariones (Tabla 4). En total se obtuvieron 5 di-monocariones en apareamientos entre especies y se identificaron como sigue: $7 \times 4_1$, $7 \times 12_1$, $7 \times 17_1$, $7 \times 23_1$, y $7 \times 39_9$.

Respecto a los apareamientos realizados entre los micelios monospóricos y las cepas dicarióticas parentales, los resultados se muestran en la tabla 5. Como se puede observar la cepa IBUG-3 dicarionizó a los monospóricos 4 y 17 de la cepa IBUG-1, por lo que se obtuvieron 2 di-monocariones ($3 \times 4_1$ y $3 \times 17_1$). La cepa IBUG-9 también dicarionizó a los monospóricos mencionados y además al 23, por lo que se lograron los di-monocariones $9 \times 4_1$, $9 \times 17_1$ y $9 \times 23_1$.

Los monospóricos de la cepa IBUG-3 con el micelio dicariótico de la cepa IBUG-1 sólo formaron un di-monocarión ($1 \times 17_3$). Con el parental IBUG-9 y los monospóricos de la IBUG-3 se obtuvieron 2 di-monocariones el $9 \times 15_3$ y el $9 \times 17_3$.

Los monospóricos de la IBUG-9 con el parental IBUG-1 únicamente dieron origen al $1 \times 39_9$. Con la cepa parental IBUG-3 no se obtuvieron di-monocariones. En total se formaron 9 di-monocariones (Tabla 5.).

Por conveniencia y para facilitar el manejo, los di-monocariones obtenidos se agruparon como sigue: Grupo A, aquellos

que se obtuvieron entre las cepas de la misma especie (di-monocarión 28x 12₁); Grupo B, los di-monocariones formados entre especies diferentes (di-monocariones 7 x 4₁, 7 x 12₁, 7 x 17₁, 7 x 23₁ y 7 x 39₉); al Grupo C, pertenecen aquellos di-monocariones obtenidos entre los micelios monocarióticos y sus parentales (di-monocariones 1 x 17₃, 1 x 39₉, 3 x 4₁, 3 x 17₁, 9 x 17₁, 9 x 23₁, 9 x 4₁, 9 x 15₃ y 9 x 17₃). En el Grupo D se incluyen a las cepas dicariotizantes y parentales.

CARACTERIZACION DE LOS MICELIOS DI-MONOCARIOTICOS OBTENIDOS

Los medios de cultivo empleados para caracterizar los di-monocariones obtenidos fueron el extracto de malta con agar (FMA) y el medio a base de harina de trigo y fructosa con agar (HIT). Los resultados obtenidos en cuanto a la velocidad de crecimiento y caracterización del micelio de los tres grupos de di-monocariones se resumen en la tabla 6. Se observa que el único di-monocarión del grupo A (28x 12₁) tuvo una velocidad de crecimiento en el medio EMA de 5 mm/día y cubrió totalmente el medio en 18 días; en el medio HIT tuvo una velocidad de crecimiento de 10 mm/día, con una duración total de 9 días en cubrir el medio de cultivo. En cuanto a la textura del micelio, en ambos medios de cultivo fué algodonosa. El micelio aereo fué abundante en el EMA y de abundante a regular en el HIT.

La caracterización de los di-monocariones del grupo B fué como sigue: el di-monocarión $7 \times 12_1$ fué el que presentó mayor velocidad de crecimiento en el medio EMA, de 5.6 mm/día, con un total de 16 días en cubrir el medio. El de menor velocidad fué el $7 \times 17_1$, de 4.3 mm/día y 21 días en completar el diámetro de la caja de petri. En el medio HIT el di-monocarión que presentó mayor velocidad de crecimiento fué el $7 \times 39_9$, que solo duró 9 días en cubrir el medio, con una velocidad de crecimiento de 10 mm/día. Respecto a la textura que presentaron en el medio EMA fué algodonosa a aborlada. Con el medio HIT fueron algodonosos a aborlados y sólo el di-monocarión $7 \times 39_9$ fué lanoso (Tabla 6).

En el grupo C en el medio de cultivo EMA la velocidad de crecimiento osciló de los 10 mm/día del di-monocarión $9 \times 17_1$, que cubrió el medio de cultivo en 9 días, hasta la más lenta de 3.9 mm/día de los di-monocariones $9 \times 23_1$ y $9 \times 4_1$, que cubrieron el medio en 23 días. En el medio de cultivo HIT el dicarión $9 \times 17_1$ presentó la velocidad de crecimiento más alta, con 12.9 mm/día y con una duración de solo 7 días para cubrir el medio de cultivo. En cambio el di-monocarión $1 \times 17_3$ tardó 25 días en cubrir el medio, con una velocidad de crecimiento de 3.6 mm/día. Respecto a la textura que presentó el micelio de los di-monocariones en el medio EMA, en su mayoría fué algodonosa, con micelio aéreo de regular a abundante. En el medio HIT los di-monocariones presentaron texturas algodonosas a aborladas, sólo el di-monocarión $9 \times 17_1$ presentó textura lanosa (Tabla 6).

De las cepas parentales únicamente se estudiaron aquellas que lograron dicarriotizar los micelios monospóricos, que fueron la IBUG-1, IBUG-3, IBUG-7, IBUG-9 e IBUG-28. En la tabla 7 se muestran las características de estas cepas, las cuales constituyen el grupo D. Como se observa, la cepa IBUG-28 en el medio de cultivo EMA fue la que presentó mayor velocidad de crecimiento de 6.4 mm/día con 14 días en cubrir el medio de cultivo. La de menor velocidad de crecimiento fué la cepa IBUG-3, que tardó hasta un mes en cubrir el medio EMA, con una velocidad de crecimiento de 3.0 mm/día. En el medio HIT la cepa dicarriotizante que presentó mayor velocidad de crecimiento fué de nuevo la IBUG-28, con 18 mm/día y en sólo 5 días cubrió el medio. También en el medio de cultivo HIT la cepa IBUG-3 presentó la velocidad de crecimiento más lenta, ya que duró 27 días en cubrir el medio, con una velocidad de crecimiento de 3.3 mm/día (Tabla 7).

Las texturas de los parentales en el medio EMA fueron principalmente algodonosas, con micelio aéreo regular a abundante, aunque la IBUG-9 presentó una textura cerosa y la IBUG-28 una textura plumosa. En el medio HIT también tuvieron texturas algodonosas con micelio aéreo regular a abundante, excepto la cepa IBUG-9 que tuvo una textura lanosa (Tabla 7).

SIEMBRA DE DICARIONES EN BAGAZO DE AGAVE

Algunos di-monocariones estudiados iniciaron su fructificación desde los 20 días. El di-monocarión $28 \times 12_1$, que es el único del grupo A, inició la formación de primordios en 30 días. De los di-monocariones del grupo B, el $7 \times 39_9$ inició su fructificación en un periodo de 20 a 22 días. Posteriormente le siguió el di-monocarión $7 \times 23_1$, que formó primordios de los 21 a 23 días. Los di-monocariones $7 \times 4_1$ y $7 \times 12_1$ fructificaron en un período similar, de 22 a 24 días. El di-monocarión que más tardó en fructificar fue el $7 \times 17_1$, que fructificó hasta los 32-34 días (Tabla 8).

De los di-monocariones del grupo C, el que más tempranamente fructificó fue el $3 \times 17_1$, a los 20-22 días. Le siguió $1 \times 17_9$, que formó primordios a los 21 a 23 días. Más tarde fue el $3 \times 4_1$, que inició su fructificación a los 24 a 26 días. El di-monocarión $9 \times 17_1$ después de un periodo de 26 a 28 días. El tiempo de fructificación para los dicariones $9 \times 23_1$, $9 \times 15_3$ y $9 \times 17_3$ fue a los 28 a 30 días. Hasta los 30-32 días formó primordios el dicarión $1 \times 39_9$. Finalmente, el di-monocarión que más tardó en fructificar fue el $9 \times 4_1$, que formó sus primordios hasta los 32 a 34 días (Tabla 8).

Respecto a las cepas dicariotizantes y parentales sus periodos de fructificación se muestran en la tabla 8. La cepa IBUG-3 fue la que más tempranamente fructificó, en un periodo de 17 a 19 días.

Posteriormente, la IBUG-1 y la IBUG-7 fructificaron a los 20 a 22 días y la IBUG-9 a los 21 a 23 días. La cepa IBUG-28 fructificó hasta los 30 a 32 días.

En la tabla 9 se observan los datos de producción y eficiencia biológica que se obtuvieron con los di-monocariones de los grupos A, B y C, comparados con las cepas dicariotizantes y/o parentales (grupo D). Se observó que el di-monocarión $28 \times 12_1$, que corresponde al grupo A, presentó una eficiencia biológica del 11 % en base húmeda y de 1.7 % en base a los carpóforos secos. Referente a la eficiencia biológica de los di-monocariones del grupo B, la más baja fue de 35 % en base húmeda y de 4.0 % en seco para el di-monocarión $7 \times 17_1$. Le siguieron los di-monocariones $7 \times 4_1$, $7 \times 39_9$ y $7 \times 23_1$ con 41, 45 y 47 % en base húmeda y de 4.5, 5.2 y 5.3 % en base seca. El di-monocarión con la más alta eficiencia biológica fué el $7 \times 12_1$ con 52 % con carpóforos frescos y de 5.4 % con hongos deshidratados.

Respecto a los di-monocariones del grupo C, el que más baja eficiencia biológica presentó fué el $9 \times 4_1$ con 17 % en húmedo y 2.4 % en seco. Le siguió el di-monocarión $3 \times 17_1$ con 26 % en base húmeda y 3.5 % en seco. Los di-monocariones $9 \times 23_1$ y $9 \times 17_3$ tuvieron una eficiencia del 30 % en base húmeda, pero diferente en base seca, ya que fué de 4.9 y 2.9 % respectivamente. El di-monocarión $3 \times 4_1$ arrojó una eficiencia biológica de 37 % en húmedo y de 4.4 % en seco. Asimismo con el di-monocarión $1 \times 17_3$ se

obtuvo una eficiencia de 33% en húmedo y de 3.4 en seco. Con los di-monocariones $1 \times 39_9$ y $9 \times 17_1$ se obtuvo una eficiencia biológica del 37 % en húmedo y de 4.0 y 3.5 % en seco, respectivamente. El di-monocarión que presentó la eficiencia biológica más alta en base húmeda, fué el $9 \times 15_3$ con 39 %, pero de 3.4 % en peso seco.

En el caso de las cepas parentales y dicariotizantes que se agrupan en el grupo D, la más baja eficiencia biológica, tanto en base húmeda como en seco, correspondió a la IBUG-1, con 29 % y 2.7 % respectivamente. La cepa IBUG-3 tuvo una eficiencia biológica de 30 % en húmedo y de 4.9% en seco. Le siguió la cepa IBUG-28 con 33 % en húmedo, pero de 3.8 % en seco. Las cepas IBUG-7 e IBUG-9 presentaron una eficiencia biológica en base húmeda de 38 %, pero de 3.3 % y 3.8 % en base seca.

En la tabla 10 se puede observar el tamaño promedio que presentaron los carpóforos de las cepas estudiadas. El tamaño promedio se estableció como porcentaje, en un rango de 5 a 11 cm de diámetro que es el aceptado a nivel comercial. El dicarión $28 \times 12_1$ del grupo A, formó un 44 % de carpóforos en el rango ya mencionado. En el grupo B, el di-monocarión $7 \times 4_1$ tuvo un 66 %, le siguió el 61 % del di-monocarión $7 \times 23_1$. Los carpóforos de los di-monocariones $7 \times 17_1$ y $7 \times 39_9$ tuvieron el 57 % del rango establecido. Los carpóforos del di-monocarión $7 \times 12_1$ presentaron el 52 % dentro de ese promedio.

De los di-monocariones del grupo C (Tabla 10) el di-monocarión $1 \times 39_9$ fué el que mayor porcentaje tuvo de carpóforos en el rango establecido y fue de 77 %. Le siguió el dicarión $3 \times 4_1$ con 65 %. El di-monocarión $9 \times 17_1$ tuvo un 54 % y muy cercano a él, el di-monocarión $9 \times 4_1$ con 53%. Con 51% de sus carpóforos en el rango se encontró el di-monocarión $9 \times 17_3$. Los di-monocariones $3 \times 17_1$ y $9 \times 15_3$ tuvieron un porcentaje del 49 %. De 48 y 47 % los di-monocariones $9 \times 23_1$ y $1 \times 17_1$, respectivamente.

Referente a las cepas parentales la IBUG-7 tuvo 58 % de sus carpóforos en el promedio establecido. Le siguió la IBUG-1 con 56 %, la IBUG-28 con 52 % y la IBUG-9 con 40 %. La cepa que presentó el más bajo porcentaje fué la IBUG-3 con el 24 % de sus carpóforos en el rango de 5 a 11 cm de diámetro.

VI. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los di-monocariones obtenidos comprueban la posibilidad de dicariorizar micelios monocarióticos entre la misma especie y especies estrechamente emparentadas, lo cual posiblemente ocurra en la naturaleza dando lugar al complejo grupo Pleurotus.

De las cepas extranjeras sólo la IBUG-28 (P. ostreatus) nativa de la República Dominicana logró dicariorizar al monospórico 12 de la cepa IBUG-1, lo cual sugiere que existen factores de compatibilidad idénticos entre las cepas nativas de México y las de Las Antillas.

A este respecto es importante señalar, que esta compatibilidad refleja la amplia distribución de esta especie en las zonas tropicales y principalmente en el Caribe, donde las condiciones ambientales son semejantes a algunos lugares de México. La escasa compatibilidad que se encontró entre la cepa de la República Dominicana y los monospóricos de las 3 cepas mencionadas, probablemente también estén resultando una deriva de estos factores hacia la formación de cepas que no puedan cruzarse y que promueva aún más la confusión respecto a la situación taxonómica del grupo Pleurotus. Como se observa en la tabla 3, no se encontró la formación de di-monocariones entre las cepas de Alemania (IBUG-27), de Hong Kong (IBUG-23) y Japón (IBUG-25), lo cual probablemente

reafirme la suposición de cepas no entrecruzables y que se han adaptado a ambientes específicos. Respecto a los di-monocariones formados entre P. ostreatus y P. ostreatoroseus, ya se abía la formación de dicariones entre estas especie al aparear micelios monopóricos (Hidalgo, 1990), de tal modo que con este trabajo se comprobó la dicarionización de micelios monospóricos de P. ostreatus (IBUG-1, IBUG-3 e IBUG-9) y P. ostreatoroseus (IBUG-7). Los di-monocariones formados entre las cepas de P. ostreatoroseus y los monospóricos de las cepas IBUG-1 e IBUG-9 de P. ostreatus, nos indican una afinidad entre especies, que tal vez muestran la formación de una variedad de P. ostreatus. Esta suposición se reafirma por el hecho de que las fructificaciones de P. ostreatoroseus en algunos casos se decoloran y quedan coloraciones gris amarillento a blanquecino, muy semejantes a P. ostreatus. Los apareamientos entre la cepa IBUG-4, que corresponde a Pleurotus var. "Florida", fueron negativos, por lo que se determinó que en realidad esta especie no pertenece al grupo de P. ostreatus como lo suponen algunos autores (Eger, 1974; Zadrazil, 1978).

Con los apareamientos de las cepas monospóricas y sus parentales (Tabla 5) es posible reafirmar algunos suposiciones respecto a cepas no entrecruzables. Es conveniente aclarar que una de las funciones de los tipos de apareamiento es evitar que haya cruza entre especímenes de una misma población, con lo cual se fomenta el intercambio de genotipos entre poblaciones distintas. Si se observa la tabla 5, los monospóricos de la IBUG-9 no formaron

dicariones con la cepa IBUG-3; sin embargo, los monospóricos de la cepa IBUG-3 con la cepa IBUG-9 formaron dos di-monocariones, lo cual concuerda con lo que se mencionó en la introducción, de que a partir de un basidio sólo se pueden formar dos dicariones cuando los tipos de apareamientos presentan similitudes.

En conclusión se puede decir, que de acuerdo al Fenomeno Buller, observado en la formación de los di-monocariones, todas las cepas resultaron ser hemicompatibles.

En general los di-monocariones crecieron más rápidamente en el medio HIT, a excepción de los di-monocariones $1 \times 17_3$ y $3 \times 17_1$, que se desarrollaron más rápidamente en el medio EMA (Tabla 6). El di-monocarión $9 \times 17_1$, fué el que presentó una mayor velocidad de crecimiento en ambos medios de cultivo, con 9 días en EMA y 7 en HIT. En cuanto a su textura, ésta fué de lanosa a algodonosa en la mayoría de los caso. Respecto a las cepas dicariotizantes, la cepa IBUG-28 superó el crecimiento de cualquiera de los di-monocariones, ya que solo duró 5 días en cubrir el medio HIT (Tabla 7). En conclusión se puede decir que el medio HIT es adecuado para el manejo de estas cepas en el laboratorio.

El crecimiento de los micelios di-monocarióticos sobre bagazo de agave concluyó al momento de la fructificación, la cual fué alrededor de los 20 días para algunas cepas (Tabla 8) y para otras

hasta un mes. Es conveniente señalar que una cepa ideal debe fructificar en un periodo de 15 a 20 días (fructificación temprana), lo que permite la obtención rápida de las cosechas de carpóforos. Los di-monocariones 7 x 39₉ y 3 x 17₁ fructificaron a los 20 días, por lo que se consideraron de fructificación temprana. Por otro lado, los di-monocariones 7 x 17₁, 1 x 39₉ y 9 x 4₁, se consideraron de fructificación tardía, ya que formaron sus primordios en un periodo de 30 a 34 días (Tabla 8). En general las cepas parentales mostraron fructificación temprana, siendo la IBUG-3 la que más tempranamente fructificó, después de 17 a 19 días. Por el contrario, la cepa IBUG-28 fructificó hasta los 30 a 32 días.

Con respecto a las eficiencias biológicas, cabe resaltar que las más altas correspondieron a las del grupo B (obtenidos por apareamientos entre especies) y fueron el 7 x 12₁, 7 x 23₁ y el 7 x 39₉, con 5.4, 5.3 y 5.2 % de eficiencia biológica en base seca, respectivamente (Tabla 9). Esto nos indica que, los di-monocariones señalados, pueden aprovechar el substrato donde crecen, hasta en un 50 %. Se observó, en relación a las cepas parentales, que con los di-monocariones se puede obtener una eficiencia biológica más alta, ya que las eficiencias biológicas de los parentales oscilan alrededor del 3.5 % en promedio. Es notable el mayor porcentaje obtenido con estos di-monocariones, que nos indican una mayor producción, superior a la encontrada con dicariones obtenidos por cruzamientos entre monospóricos (Rodríguez, et al. 1991) y por supuesto a la de los parentales.

Es importante señalar que, para decir que un di-monocarión posee una eficiencia biológica alta debe de tomarse en cuenta el peso seco de los carpóforos, ya que nos indica la biomasa formada a partir del substrato en que está creciendo. La eficiencia biológica en peso húmedo, nos da una idea de la producción de hongos frescos formados, expresados como porcentaje. Sin embargo, la cantidad de agua presente en el cuerpo fructífero, varía de acuerdo a las condiciones de cultivo. Como resultado de esto es mejor analizar la eficiencia biológica de una cepa en un substrato, con base al peso seco de la biomasa formada.

A nivel comercial la aceptación de los hongos está en gran medida en función de su tamaño, por tal motivo se evaluó el porcentaje del tamaño que presentaron los carpóforos de los di-monocariones y se comparó con los de las cepas parentales y/o dicariotizantes. Se encontró que algunos di-monocariones superan el porcentaje de los parentales, como el caso del 1 x 39₉ que tuvo hasta un 77 % de hongos en un promedio de 5 a 11 cm de diámetro. Asimismo, los di-monocariones 7 x 4₁, 7 x 23₁ y 3 x 4₁ presentaron porcentajes altos del 66, 61 y 65 %, respectivamente (Tabla 10). Esto resulta importante porque por medio de este tipo de apareamientos y obtención de cepas se puede mejorar el porcentaje de hongos de tamaño adecuado para fines comerciales.

En conclusión los mejores di-monocariones, que se obtuvieron fueron: 7 x 4₁, 3 x 4₁, 1 x 39₉, 7 x 23₁, 7 x 39₉, 7 x 12₁ y

7 x 17₁, en cuanto a eficiencia biológica y a mayor porcentaje de hongos con tamaño adecuado.

Con base a los resultados obtenidos podemos decir que el empleo de este método, para la selección de cepas de Pleurotus, resultó adecuado, por lo que se sugiere su uso de manera continua. Sin embargo, es necesario realizar mas estudios que apoyen estos resultados. Por otro lado el empleo de esta técnica para delimitar una especie no es adecuada, ya que como se observó en algunos casos no hubo obtención de di-monocariones.

Asimismo, por este método se podrian obtener cepas con una alta eficiencia biológica, hasta del 100 %, al realizar apareamientos con cepas con características deseables, o en el mejor de los casos combinar características como fructificación temprana, hongos carnosos y de tamaño idóneo, con mayor porcentaje de proteína, cepas resistentes a altas o bajas temperaturas, a plagas y enfermedades, etc.

Por otro lado este estudio reveló, que dentro de las cepas estudiadas, se tenían poblaciones con genomas relacionados, por la presencia de factores comunes y poblaciones genéticamente diferentes. Dichas poblaciones diferentes son las que deben ser estudiadas profundamente, en busca de características de índole práctica, las cuales podrian conjuntarse posteriormente en una o varias cepas, a través de apareamientos dicarión-monocarión.

LITERATURA CITADA

Anderson, N. A., S. S. Wang y J. W. Schwandt, 1973. The *Pleurotus ostreatus-sapidus* species complex. Mycologia 65:28-35.

Deacon, J. C., 1981. Introducción a la Micología Moderna. Limusa, México.

Eger, G., 1974. Rapid method for breeding *Pleurotus ostreatus*. Mush. Sci. 9: 567-573.

Eger, G., H. D. Gottwald y U. von Netzer, 1974. The action of light on other factors on sporophore initiation in *Pleurotus ostratus*. Mush. Sci. 9: 575-583.

Eger, G., 1978. Biology and Breeding of *Pleurotus*. In: S. T. Chang y W. A. Hayes (eds.), The Biology and Cultivation of Edible Mushroom. Academic Press, Nueva York.

Eugenio, C. P. y N. A. Anderson, 1968. The genetics and cultivation of *Pleurotus ostreatus*. Mycologia 60: 627-634.

Guzmán, G., 1977. Identificación de los hongos comestibles, venenosos y alucinantes. Limusa, México, D. F.

- Guzmán, G., 1983. Los hongos de la Península de Yucatán II. Nuevas exploraciones y adiciones micológicas. Biótica 8: 71-100.
- Hidalgo, E., 1990. Obtención de dicariones híbridos de P. ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kumm. vs. P. ostreatoroseus Sing. y análisis de la capacidad de fructificaciones sobre bagazo de agave tequilero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, U. de G. (en proceso).
- Li, S. F., 1980. Studies on the tolerance to elevated temperatures in Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) Kumm. Bibliotheca Mycologica, Cramer, Vaduz.
- Martínez-Carrera, D., Sobal, M. y Quirarte, M., 1986. Obtención y caracterización de híbridos de cepas mexicanas de Pleurotus ostreatus. Rev. Mex. Mic. 2:227-238.
- Martínez-Carrera, D., 1988. Hibridización entre cepas de Pleurotus ostreatus de México y Guatemala. Rev. Mex. Mic. 4:281-287.
- Mata, M. y G. Guzmán, 1989. Hibridización entre una cepa mexicana de Lentinus boryanus y una asiática de Lentinus edodes. Rev. Mex. Mic. 5: 77-80.

Mori, K., S. Fukay y A. Zennyozzi, 1976. Hybridization of shiitake (Lentinus edodes) between cultivated strain of Japan and wild strains grown in Taiwan and New Guinea. Mush. Sci. 9 (1): 391-403.

Raper, J. R., 1966. Genetics of sexuality in Higher Fungi. Ronald Press, Nueva York.

Rodríguez, O., C. Soto-Velazco y L. Villaseñor. 1991. Evaluación de la producción de carpóforos de dicariones de Pleurotus ostreatus en bagazo de maquey tequilero. IV Congreso Nacional de Micología (resúmenes) Tlaxcala, Tlax.

Sharp, R. F., 1978. Investigative Mycology. Heinemann Educational Books, Londres.

Soto-Velazco, C., L. Guzmán-Dávalos y L. Villaseñor, 1991. Substrates for cultivation of Pleurotus in Mexico, I. Tequila maquey bagasse (Agave tequilana). Mush. J. Tropics, 11:29-33.

Stamets, P. y J. S. Chilton, 1983. The Mushroom Cultivator. Agarikon Press, Olympia.

Tchierpe, H. J. y K. Hartman, 1977. A comparison of different growing methods. Mush. Jour. 60: 404-416.

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.

Villarreal, L. y J. Perez-Moreno, 1989. Los hongos comestibles
silvestres de México, un enfoque integral. Micol. Neotrop.
Apl. 2: 77-114.

Zadrazil, F., 1978. Cultivation of Pleurotus. In: S. T. Chang y W.
A. Hayes (eds.), The Biology and Cultivation of Edible
Mushrooms. Academic Press, Nueva York

FIGURAS Y TABLAS

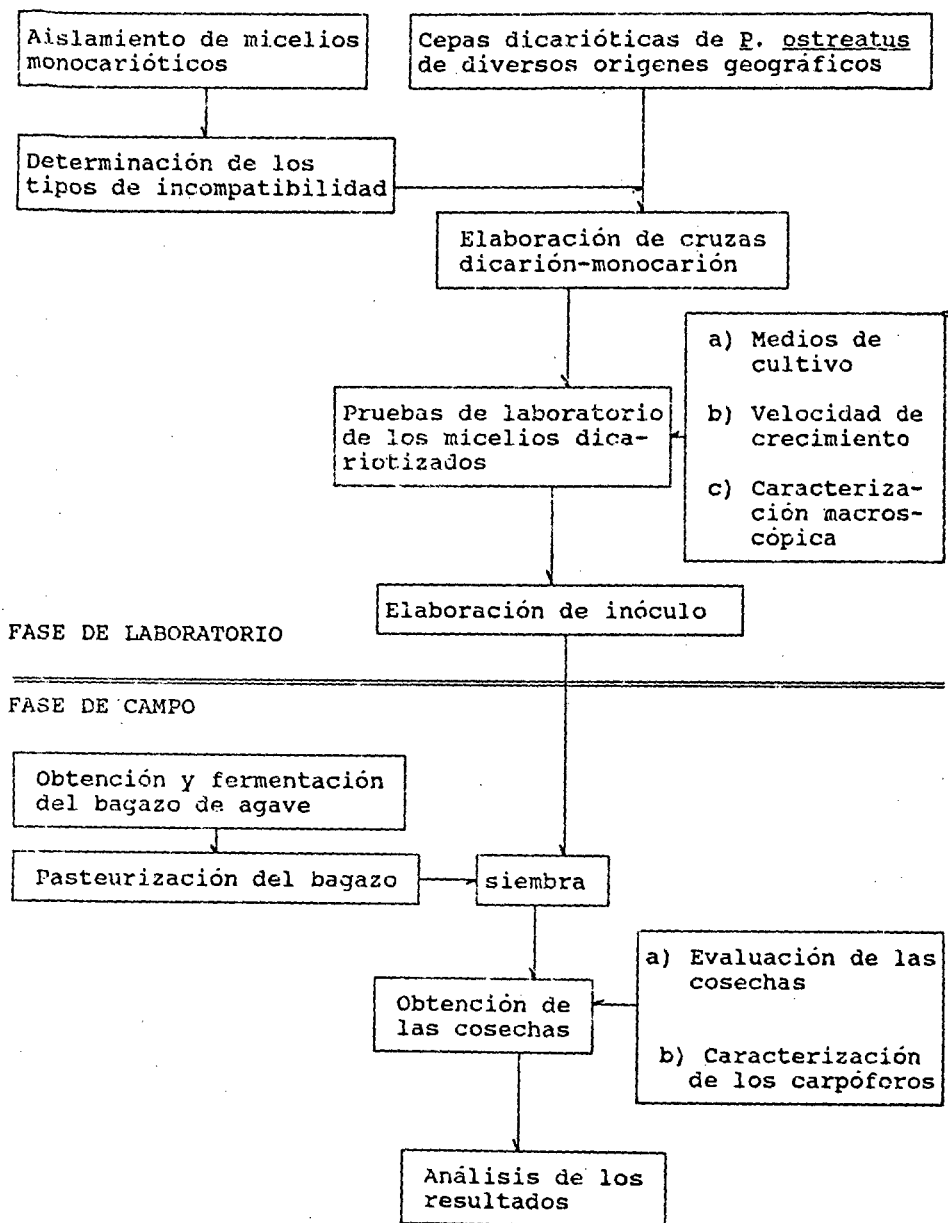


Fig. 1. Esquema general del método.

PARENTAL	MICELIOS MONOSPORICOS			
	I*	II*	III*	IV*
IBUG-1	4	12	17	23
IBUG-3	10	15	16	17
IBUG-9	1	8	39	.63

* Tipo de apareamiento

Tabla 1. Micelios monospóricos obtenidos de las cepas parentales de P. ostreatus que se utilizaron en los apareamientos dicarióticos.

ESPECIE	REGISTRO	ORIGEN
<u>P. ostreatus</u>	IBUG-23	Hong Kong
	IBUG-25	Japón
	IBUG-27	Alemania
	IBUG-28	República Dominicana
<u>P. var "Florida"</u>	IBUG-4	Alemania
<u>P. ostreatoroseus</u>	IBUG-7	Jalisco
<u>P. ostreatus</u>	IBUG-1	Jalisco
	IBUG-3	Jalisco
	IBUG-9	Jalisco

Tabla 2. Cepas dicarióticas de Pleurotus, que se emplearon como agentes dicariotizantes, de los monospóricos de la IBUG-1, IBUG-3 e IBUG-9.

	*	IBUG-23	IBUG-25	IBUG-27	IBUG-28
IBUG-1	4	-	-	-	-
	12	-	-	-	+
	17	-	-	-	-
	23	-	-	-	-
IBUG-3	10	-	-	-	-
	15	-	-	-	-
	16	-	-	-	-
	17	-	-	-	-
IBUG-9	1	-	-	-	-
	8	-	-	-	-
	39	-	-	-	-
	63	-	-	-	-

* Número del monospórico

Tabla 3. Apareamientos de los micelios monospóricos de P. ostreatus nativos de Jalisco con cepas dicarióticas de P. ostreatus de diferente origen geográfico.

PARENTAL	*	IBUG-4	IBUG-7
IBUG-1	4	-	+
	12	-	+
	17	-	+
	23	-	+
IBUG-3	10	-	-
	15	-	-
	16	-	-
	17	-	-
IBUG-9	1	-	-
	8	-	-
	39	-	+
	63	-	-

* Número del monospórico

Tabla 4. Apareamientos de los micelios monospóricos de P. ostreatus nativos de Jalisco con las cepas dicarióticas de P. var "Florida" y Pleurotus ostreatoroseus.

PARENTAL	**	IBUG-1	IBUG-3	IBUG-9
IBUG-1	4	*	+	+
	12	*	-	-
	17	*	+	+
	23	*	-	+
IBUG-3	10	-	*	-
	15	-	*	+
	16	-	*	-
	17	+	*	+
IBUG-9	1	-	-	*
	8	-	-	*
	39	+	-	*
	63	-	-	*

+ Formación del dicarion - No hubo formación del dicarion

* No se realizó apareamiento por ser de la misma cepa

** Número del monospórico

Tabla 5. Apareamientos de los micelios monocarióticos de *P. ostreatus* nativos de Jalisco con los micelios dicarióticos parentales.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO						TEXTURA	
		E M A		H I T		EMA	HIT
GRUPO	DIMONOC.	DIAS*	mm/día	DIAS*	mm/día		
A	28 x 12 ₁	18	5.0	9	10.0	1	1
B	7 x 4 ₁	18	5.0	10	9.0	1-3	1
	7 x 12 ₁	16	5.6	12	7.5	3	1-3
	7 x 17 ₁	21	4.3	15	6.0	1	1
	7 x 23 ₁	20	4.5	16	5.6	3	3
	7 x 39 ₉	19	4.7	9	10.0	3	2
C	1 x 17 ₃	20	4.5	25	3.6	1	1
	1 x 39 ₉	19	4.7	10	9.0	1-3	3-1
	3 x 4 ₁	18	5.0	13	6.9	1	1-3
	3 x 17 ₁	19	4.7	21	4.3	1-3	1
	9 x 17 ₁	9	10.0	7	12.9	1-3	2
	9 x 23 ₁	23	3.9	12	7.5	1	1
	9 x 4 ₁	23	3.9	10	9.0	1	3
	9 x 15 ₃	16	5.6	10	9.0	1-2	1
9 x 17 ₃	12	7.5	9	10.0	1	1	

1 Algodonosa

2 Lanosa

3 Aborlada

* Total de días en cubrir los 90 mm de una caja de petri

Tabla 6. Velocidad de crecimiento y caracterización de los micelios de los di-monocariones del grupo A, B y C, en los medios EMA y HIT.

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO					TEXTURA	
	E M A		H I T		EMA	HIT
PARENTAL	DIAS*	mm/día	DIAS*	mm/día		
IBUG-1	27	3.3	10	9	1	1
IBUG-3	30	3.0	27	3.3	1	1-3
IBUG-7	23	3.9	10	9	1-2	1
IBUG-9	24	3.7	9	10	4	2
IBUG-28	14	6.4	5	18	5	1

1 Algodonosa
4 Cerosa

2 Lanosa
5 Plumosa

3 Aborlada

* Total de días en cubrir los 90 mm de una caja de petri

Tabla 7. Velocidad de crecimiento y características del micelio de las cepas parentales y/o dicarriotizantes (Grupo D), en los medios EMA y HIT.

GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	D I A S
28 x 12 ₁				29-31
	7 x 4 ₁			22-24
	7 x 12 ₁			22-24
	7 x 17 ₁			32-34
	7 x 23 ₁			21-23
	7 x 39 ₉			20-22
		1 x 17 ₃		21-23
		1 x 39 ₉		30-32
		3 x 4 ₁		24-26
		3 x 17 ₁		20-22
		9 x 17 ₁		26-28
		9 x 23 ₁		28-30
		9 x 4 ₁		32-34
		9 x 15 ₃		28-30
		9 x 17 ₃		28-30
			IBUG-1	20-22
			IBUG-3	17-19
			IBUG-7	20-22
			IBUG-9	21-23
			IBUG-28	30-32

Tabla 8. Fructificación de los di-monocariones y cepas parentales y/o dicarriotizantes, a partir de la fecha de inoculación en bagazo de agave.

				EFICIENCIA BIOLÓGICA	
	CEPA	PESO SECO * (kg)	TOTAL ** (gr)	PESO HUMEDO (%)	PESO SECO (%)
A	28 x 12 ₁	1.0	110	11	1.7
B	7 x 4 ₁	1.0	410	41	4.5
	7 x 12 ₁	1.0	520	52	5.4
	7 x 17 ₁	1.0	350	35	4.0
	7 x 23 ₁	1.0	470	47	5.3
	7 x 39 ₉	1.0	450	45	5.2
C	1 x 17 ₃	1.0	330	33	3.4
	1 x 39 ₉	1.0	370	37	4.0
	3 x 4 ₁	1.0	370	37	4.4
	3 x 17 ₁	1.0	260	26	3.5
	9 x 17 ₁	1.0	370	37	3.5
	9 x 23 ₁	1.0	300	30	4.9
	9 x 4 ₁	1.0	170	17	2.4
	9 x 15 ₃	1.0	390	39	3.4
	9 x 17 ₃	1.0	300	30	2.9
D	IBUG-1	1.0	290	29	2.7
	IBUG-3	1.0	300	30	4.9
	IBUG-7	1.0	380	38	3.3
	IBUG-9	1.0	380	38	3.8
	IBUG-28	1.0	330	33	3.8

* Peso seco del bagazo de agave

** Total de 4 cosechas

Tabla 9. Producción de hongos frescos y eficiencia biológica de los di-monocariones estudiados (grupos A, B, y C) y las cepas dicarionizantes y/o parentales (grupo D).

G R U P O	C E P A	TAMAÑO DE CARPOFOROS (5-11 cm) (%)
A	28 x 12 ₁	44
B	7 x 4 ₁	66
	7 x 12 ₁	52
	7 x 17 ₁	57
	7 x 23 ₁	61
	7 x 39 ₉	57
C	1 x 17 ₃	47
	1 x 39 ₉	77
	3 x 4 ₁	65
	3 x 17 ₁	49
	9 x 17 ₁	54
	9 x 23 ₁	48
	9 x 4 ₁	53
	9 x 15 ₃	49
	9 x 17 ₃	51
D	IBUG-1	56
	IBUG-3	24
	IBUG-7	58
	IBUG-9	40
	IBUG-28	52

Tabla 10. Tamaño promedio de los carpóforos, expresado en porcentaje, de las cepas di-monocarióticas, parentales y/o dicariotizantes.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección
 Expediente
 Número

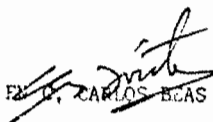
SR. JOSE ARMANDO ARIAS GARCIA
 P R E S E N T E . -

Manifiestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "OBTENCION DE CEPAS DE Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr)-Kumm, POR APAREAMIENTO DICARION-MONOCARION Y SU CULTIVO EN BAGAZO DE AGAVE-TEQUILERO" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como - Director de dicha Tesis el Biol. Conrado Soto Velazco.

A T E N T A M E N T E
 "PIENSA Y TRABAJA"
 AÑO "LIC. JOSE GUADALUPE ZUNO HERNANDEZ"
 Guadalajara, Jal, 6 de Septiembre de 1991.

EL DIRECTOR


 M. EN C. CARLOS CASAS ZARATE



FACULTAD DE
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

EL SECRETARIO


 M. EN C. MARTÍN PEDRO TENA MEZA

c.c.p.- El Biol. Conrado Soto Velazco, Director de Tesis.- Pte.
 c.c.p.- El expediente del alumno

CBZ /MPTM/cg1r,

Al contestar este oficio citese fecha y número



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Instituto de Botánica

Expediente.....

Número.....

M. en C. CARLOS BEAS ZARATE
DIRECTOR DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

Me permito informar a Usted de la manera más atenta, que habiendo revisado la Tesis de Jose Armarobarias García, titulada " OBTENCION DE CEPAS DE PLEUROUS OSTREATUS (Jacq. ex Fr.) Kumm. POR APAREAMIENTO DICARION-HOMOCARION Y SU CULTIVO EN BAGAZO DE AGAVE TEQUILERO.", no existe ningún inconveniente para la impresión de la misma, con el fin de continuar con los trámites necesarios para la obtención del título.

Agradezco de antemano su atención y me es muy grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E.

"PIENSA Y TRABAJA"

" AÑO LIC. JOSE GUADALUPE ZUNO HERNANDEZ "

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco A 18 de noviembre de 1991

BIOL. CONRADO SOTO VELAZCO
DIRECTOR DE LA TESIS