

ESTUDIOS DE COMPATIBILIDAD ENTRE CEPAS DE *PLEUROTUS* SPP CON CUERPOS FRUCTÍFEROS DE DIVERSOS COLORES

GUSTAVO VALENCIA DEL TORO¹ & HERMILO LEAL-LARA²

¹Departamento de Química, UPIBI, IPN; División de Investigación, ENEP Iztacala, UNAM, México D.F.

²Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, 04510 Ciudad Universitaria, UNAM, México D.F.

ABSTRACT

COMPATIBILITY STUDIES OF *PLEUROTUS* SPP STRAINS PRODUCING FRUIT BODIES OF DIVERSE COLORS. *Rev. Mex. Mic.* 15: 65-71 (1999). Fruit body and spore print colors of 15 strains of *Pleurotus* spp were studied. Upon cultivation of 6 strains producing colored fruit bodies and 2 commercial strains, the highest yields were produced by the commercial strain PLEUS and 2 strains with gray and pink fruit bodies (IE-136 and POROS), with values of 101, 132 and 116 % respectively. Yields of the other 4 strains with colored fruit bodies, IB-67-1 (77%), RP (78%), P-15 (60%), and ECS-127 (65%) were similar to that of the second commercial stain, INIREB-8 (67%). Upon dikaryotization of 7 strains producing fruit bodies of diverse colors, the two monokaryotic components (neohaplonts) were recovered from 3 strains but only one component of the other 4 strains. By pairing all these neohaplonts, these 7 strains were sorted into 3 intersterility groups. Strains with pink and orange fruit bodies belonged to the first group, while strains with gray fruit bodies were found in the second and third groups. The color of the fruit bodies yielded by each strain remained constant throughout this study.

Key Words: *Pleurotus* spp., dikaryotization, breeding, color.

RESUMEN

Se estableció la coloración de los esporóforos y esporadas de 15 cepas de *Pleurotus* spp. Al cultivar 6 cepas productoras de cuerpos fructíferos de colores diversos y dos cepas comerciales se encontró que las cepas IE-136 y POROS presentaron junto con la cepa comercial PLEUS las mayores productividades, 132, 116 y 101% respectivamente mientras que no se encontraron diferencias significativas entre los rendimientos de la segunda cepa comercial, la INIREB-8 (67%) respecto a las otras cepas con cuerpos fructíferos de diversos colores, la IB-67-1 (77%), RP (78%), P-15 (60%) y ECS-127 (65%). Se dedicarizaron 7 cepas productoras de cuerpos fructíferos coloridos recuperándose los dos componentes monocarióticos (neohaplontes) para tres cepas, y sólo un componente con las otras 4. Al aparear estos neohaplontes se formaron tres grupos interestériles; todas las cepas con cuerpos fructíferos de color rosa y naranja se encuentran en el primer grupo, mientras que las cepas con cuerpos fructíferos grises se encuentran en el segundo y tercer grupos. Se observó que el color de los cuerpos fructíferos obtenidos para cada cepa se mantuvo constante durante este estudio.

Palabras Clave: *Pleurotus* spp., dedicarización, hibridación, color.

Introducción

El auge que a nivel mundial y nacional ha tenido el cultivo de *Pleurotus* spp. (Chang *et al.*, 1995; Martínez-Carrera, 1997) plantea la necesidad de desarrollar tecnologías para el mejoramiento genético de este organismo, con la finalidad de mejorar sus atributos comerciales como el tamaño y el color. Es importante considerar que la diversidad en color de los productos alimenticios genera una respuesta de aceptabilidad de los mismos y dado que México se ha caracterizado desde tiempos ancestrales por el consumo de muy diversos hongos que presentan diferentes sabores y colores, la introducción en el

mercado de setas de colores diversos puede impulsar la comercialización de este hongo. Se han realizado intentos para la producción de cepas coloridas del género *Pleurotus*, habiéndose recientemente introducido una cepa rosa, la cual está ampliamente comercializada en Asia y Europa.

Para la obtención de cepas coloridas estables de *Pleurotus* spp. resulta necesario estudiar la naturaleza del carácter genético que determina el color de los esporóforos. Las bases genéticas del color en macromicetos no han sido a la fecha estudiadas, existiendo únicamente algunos reportes sobre la aparición de mutaciones espontáneas que afectan el color de los esporóforos. Murakami y Takemaru

(1990) al trabajar con 3 cepas rosas de *Pleurotus salmoneostramineus* detectaron la aparición de una mutante con basidiocarpos blancos. La presencia de mutaciones espontáneas que producen basidiocarpos albinos ha sido asimismo reportada en *Lentinus edodes* (Komatsu & Kimura, 1968), en *Pleurotus ostreatus* (Arita, 1974) y en *Auricularia* (Komatsu, 1977), planteándose en los 3 casos que la mutación es controlada por un sólo gen recesivo.

Por otro lado, el color de los esporóforos ha sido tradicionalmente una característica primordial para la clasificación taxonómica de los macromicetos. No obstante, cada día se presentan mayores contradicciones respecto a la validez de este criterio, ya que existe una gran variabilidad en la coloración de esporadas, primordios y esporóforos con la mayoría de los macromicetos y, particularmente, dentro de las especies del género *Pleurotus*. Se reconoce cada vez más que es indispensable incorporar estudios de compatibilidad sexual para la diferenciación de especies. Por ejemplo, Corner (1981) indicó que no hay diferencias esenciales entre *P. salmoneostramineus* y *P. djamor* var. *roseus*, excepto que el primero produce basidiosporas rosas y el último blancas mientras que Neda *et al.* (1988) reportaron que *P. salmoneostramineus* y *P. djamor* son compatibles, sugiriendo una estrecha relación entre ellas. Bresinsky *et al.* (1987) encontraron una completa compatibilidad entre un buen número de cepas de *P. ostreatus* de diferentes partes del mundo, produciéndose en todos los casos híbridos viables con esporóforos totalmente fértiles. Sin embargo, en 1993, Vilgalys *et al.* realizaron estudios de compatibilidad con 170 cepas de *Pleurotus ostreatus* de colecciones de Estados Unidos y Canadá, encontrando que éstas se clasificaban en 3 especies interestériles, *P. ostreatus*, *P. populinus* y *P. pulmonarius*. Estos autores postularon la existencia del complejo *Pleurotus ostreatus*, el cual en Norteamérica estaba integrado por estas 3 especies. Esta controversia se ha agudizado ya que las condiciones medioambientales pueden también afectar la expresión del color de los basidiocarpos (Li, 1980), aceptándose por lo general que se modifica esencialmente el tono o la intensidad más no el color. En función de la temperatura ambiente y de la intensidad de la luz, es posible que estos se oscurezcan o se aclaren (Eger *et al.*, 1976). Con escasa iluminación y bajas temperaturas los esporóforos tienden a adquirir tonos oscuros pero cuando se les cultiva a altas temperaturas o abundante

iluminación llegan a ser blancos aunque es difícil que se presente una coloración distinta (Li, 1980). En este orden de ideas, el estudio de la segregación del color en *Pleurotus* spp. aportaría elementos de importancia para avanzar en la discusión de la controversia con relación a las especies del género, requiriéndose asimismo esclarecer la influencia del medio ambiente sobre la coloración de los esporóforos.

Materiales y métodos

Material biológico.- Las 15 cepas de *Pleurotus* spp. utilizadas en este estudio se encuentran en la colección del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química, UNAM, indicándose en la Tabla 1 el origen y las especies correspondientes. Para el mantenimiento de las cepas y la propagación micelial se utilizó agar extracto de malta (EMA) con 1.5% de extracto de malta y 2% de agar, el cual fue esterilizado en autoclave a 121°C y 15 libras de presión por 20 minutos. Para obtener cultivos miceliales frescos, las cajas petri con EMA se inocularon con un fragmento de agar invadido con micelio proveniente de un cultivo en almacenamiento. Las cajas petri recién inoculadas se incubaron a 28 °C hasta la que el margen del micelio en crecimiento empezaba a tocar las orillas de la caja petri, colocándoseles entonces en el refrigerador.

Fructificación de cepas para determinar eficiencia biológica y coloración.- Para preparar el inóculo, se colocó la mitad de un cultivo micelial de una caja petri en una bolsa de polipropileno con 500 g de trigo estéril y se incubó a 28°C hasta su completa propagación. El substrato se preparó con paja de trigo cortada a un tamaño de 3 a 5 cm. Una vez humedecida a saturación, se colocó 1 kg de paja húmeda en bolsas de polipropileno y se esterilizó por 1 hora a 121°C y 15 libras. Cuando las bolsas se enfriaron a 28°C, se agregaron 200 g de inóculo a cada bolsa, preparándose 10 réplicas por cepa. Las bolsas se incubaron a 28°C en oscuridad y se perforaron después de cinco días de incubación. Una vez que el micelio invadió el substrato se le retiró la bolsa y se colocó en la cámara de fructificación a una temperatura entre 15 y 21°C, humedad de 75-80%, un ciclo de iluminación de 12 h de luz difusa por 12 h de oscuridad y 20 minutos de aireación dos veces al día. De los esporóforos producidos se obtuvieron las esporadas correspondientes determinándose la coloración de acuerdo al Handbook de colores de Korerup y Wanscher (1967) y al Atlas de colores

por Koppers (1979). Para los esporóforos se tomaron por lo menos dos diferentes fructificaciones, considerándose en cada caso la primera cosecha obtenida. La producción de esporóforos (g de hongos frescos por 100 g de sustrato seco) se determinó únicamente hasta la segunda cosecha.

Dedicariorización de cepas.- Siguiendo el procedimiento de Leal-Lara (1980) y Arteaga-Santillán *et al.* (1996) se preparó una solución con 20 g/l de glucosa anhidra y 20 g/l de peptona en agua destilada, colocándose 50 ml en matraces Erlenmeyer de 125 ml que fueron esterilizados a 121°C y 15 lb por 30 minutos. Para inocular estas soluciones se utilizaron cajas petri con colonias en crecimiento que ocupaban 2/3 partes de la caja petri. La totalidad del agar cubierto con micelio de una caja se depositó en un homogeneizador estéril, se añadieron 50 ml de

agua estéril y se homogeneizó por 2.5 minutos. Se tomaron 100 µl del homogeneizado para inocular cada matraz con solución de peptona-glucosa, los que se incubaron a 28°C. Al observarse desarrollo micelial se homogeneizó el contenido del matraz por 30 segundos; 20 µl de este homogeneizado fueron inoculados en cajas petri. Éstas se incubaron a 28°C y al desarrollarse las colonias se determinó microscópicamente la presencia de fibulas. Aquellas que presentaron hifas sin fibula (neohaplontes) fueron sembradas en agar extracto de malta para verificar la ausencia de fibulas al desarrollarse nuevamente. Los neohaplontes obtenidos fueron apareados para identificar los dos componentes de las cepas dicarióticas.

Tabla 1.-Cepas dicarióticas de *Pleurotus* spp. seleccionadas para estudiar la segregación del color.

Cepa	Procedencia(Especie)	Crecimiento Micelial ²		Color ¹	
		(Tipo/Abundancia)		Esporóforo	Esporada
Cepas Comerciales (Controles)					
INIREB-8	Inst. Ecología, Méx. (<i>P. ostreatus</i>)	F	EX	Gris cafésáceo (N ₄₀ A ₃₀ M ₃₀)	Cafésáceo (N ₁₀ A ₁₀ M ₁₀)
PLEUS	XICO, PUEBLA, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	F	EX	Gris cafésáceo (N ₄₀ A ₃₀ M ₃₀)	Cafésáceo (N ₁₀ A ₁₀ M ₁₀)
Cepas Coloridas					
ECS-127	Ecosur Chiapas, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	F	R	Gris (N ₂₀ A ₃₀ M ₁₀)	Cafésáceo (N ₂₀ A ₁₀ M ₂₀)
ECS 130	Ecosur Chiapas, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	F	R	Rosa carey 8A3 (N ₀₀ A ₃₀ M ₄₀)	Durazno (N ₀₀ A ₃₀ M ₃₀)
IB-67-1	U. de Guadalajara, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	A	EX	Naranja grisáceo 5B3, (N ₁₀ A ₁₀ M ₁₀)	Rosáceo 7A2 (N ₀₀ A ₁₀ M ₂₀)
IB-67-2	U. de Guadalajara, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	F	R	Amarillo grisáceo 4B3 (N ₁₀ A ₃₀ M ₂₀)	Rosáceo 7A2 (N ₀₀ A ₁₀ M ₂₀)
IB-67-3	U. de Guadalajara, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	F	R	Gris naranja 5B2 (A ₃₀ M ₁₀ C ₁₀)	Rosáceo 7A2 (N ₀₀ A ₁₀ M ₂₀)
IE-136	Inst. Ecología, Méx. (<i>P. columbinus</i>)	F	R	Gris (N ₄₀ A ₄₀ M ₂₀)	Lila claro (N ₁₀ A ₀₀ M ₂₀)
IE-200	Inst. Ecología, Méx. (<i>P. djamur</i> , var. sal)	A	EX	Blanco (N ₀₀ A ₀₀ M ₀₀)	Durazno (N ₀₀ A ₃₀ M ₃₀)
POROS	Stamets, USA (<i>P. ostreatoroseus</i>)	F	R	Rosa (N ₀₀ A ₃₀ M ₅₀)	Durazno (N ₀₀ A ₃₀ M ₃₀)
P-15	Pleco, Italia (<i>Pleurotus</i> sp)	F	R	Gris 6D1 (N ₅₀ M ₀₀ C ₀₀)	Rosáceo 7A2 (N ₀₀ A ₁₀ M ₂₀)
P-5	Quebec, Canadá (<i>Pleurotus</i> sp)	A	EX	Amarillo grisáceo 4B3 (N ₁₀ A ₃₀ M ₂₀)	Violáceo (A ₃₀ M ₂₀ C ₃₀)
RP	Productor en D.F., Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	A	R	Rosa (N ₁₀ A ₀₀ M ₇₀)	Durazno (N ₀₀ A ₃₀ M ₃₀)
UAP-7	U. de Puebla, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	A	EX	Naranja pardusco 5C4 (N ₄₀ A ₄₀ M ₃₀)	Violeta (A ₂₀ M ₃₀ C ₂₀)
UAP-9	U. de Puebla, Méx. (<i>Pleurotus</i> sp)	A	EX	Beige naranja 6B2 (A ₃₀ M ₁₀ C ₂₀)	Violeta (A ₂₀ M ₃₀ C ₂₀)

(1) El color de cuerpos fructíferos y esporadas se determinó de acuerdo a como se indica en Materiales y Métodos
 (2) Crecimiento micelial. Tipo: A = algodonoso, F = filamentosos, Abundancia, Ex = exuberante, R = regular.

Determinación de los factores de compatibilidad.-

Los neohaplontes recuperados se propagaron individualmente en cajas petri con EMA hasta que el diámetro de las colonias alcanzó 2 a 4 cm. Para determinar la compatibilidad entre colonias monocarióticas, del margen en crecimiento de una colonia se cortó un trozo cúbico de agar con micelio de 4mm de lado, el cual se colocó en una caja con medio EMA. Al lado de este fragmento se colocó otro trozo de igual tamaño proveniente de un monocariote distinto. En cada caja se realizaron 4 apareamientos hasta completar la combinación de todos los neohaplontes. Después de 2 a 5 días de incubación se determinó con la ayuda del microscopio la presencia de fibulas en tres puntos de las colonias formadas por cada apareamiento, identificándose de esta manera los factores de compatibilidad de las diferentes cepas.

Análisis estadístico de resultados.- Para detectar diferencias significativas estadísticamente en la producción de esporóforos se utilizó el análisis de varianza y en caso de encontrar diferencias significativas, se utilizó la prueba de rango múltiple de Tuckey para clasificar a las cepas de acuerdo a su capacidad de producción. Para determinar la proporción en que se recuperaron los dos tipos de neohaplontes se aplicó la prueba de χ^2 .

Resultados

A la fecha se ha logrado establecer una colección importante de cepas dicarióticas de *Pleurotus* spp. que producen cuerpos fructíferos de colores diversos (Tabla 1). En algunos casos la coloración de los esporóforos y de las esporadas que se determino no coincidieron con las reportadas por los donantes, lo cual puede deberse a las diferencias en las condiciones de cultivo utilizadas por los donantes y en este estudio. Se observó por ejemplo que las cepas IB-67-1, IB-67-2 y IB-67-3, que fueron donadas como cepas productoras de esporóforos rosas, su coloración pudo diferenciarse empleando los atlas de colores en coloración naranja grisáceo, amarillo grisáceo y gris naranja, respectivamente. Así mismo la cepa IE-136 reportada por los donantes (Instituto de Ecología, Jalapa) como productora de esporóforos de color azul, los produjo grisáceos. Se observa en la Tabla 1 que las cepas ECS-130, POROS y RP presentaron una coloración rosa, la cual permaneció a lo largo de la primera cosecha, la cepa IE-200 presentó color blanco, mientras que el resto de las

cepas mostraron colores desde gris (ECS-127, IE-136 y P-15), gris "cafesáceo" (INIREB-8 y PLEUS), gris naranja o amarillento (cepas IB-67 y P-5) hasta naranja beige y pardusco (UAP-7 y UAP-9). Se observó asimismo una variación entre las diferentes cepas en el color de sus esporadas. Por lo regular fueron color durazno en las cepas con esporóforos rosas y blanco, rosáceo en las cepas con esporóforos gris y gris claro y violeta o violáceo en las cepas con cuerpos fructíferos de color beige naranja y pardusco.

Tabla 2.-Productividad en paja de trigo de cepas de *Pleurotus* spp.

Cepas	Color	Producción Total* (g/100 g substrato seco)
Cepas Comerciales (Controles)		
INIREB-8	Gris cafesáceo	67.36±4.13 b
PLEUS	Gris cafesáceo	100.7±3.19 a
Cepas Coloridas		
ECS-127	Gris	64.70±2.86 b
IB-67-1	Naranja grisáceo	76.91±2.68 b
IE-136	Gris	132.36±5.43 a
POROS	Rosa	115.58±7.88 a
P-15	Gris	59.53±4.97 b
RP	Rosa	77.7±11.76 b

*Valor promedio de 10 réplicas ± ESM (error estándar de la media). Valores que no compartan la misma letra indican diferencias significativas de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Tukey.

En la Tabla 2 se presentan las productividades al término del segundo brote para ocho cepas dicarióticas, dos de las cuales, INIREB-8 y PLEUS; son actualmente utilizadas en México para la producción comercial. No obstante, dos cepas coloridas, IE-136, POROS presentaron junto con la cepa control PLEUS las mayores productividades, 132, 116 y 101% respectivamente, mientras que las productividades de las otras cepas coloridas, IB-67-1 (77%), RP (78%), P-15 (60%) y ECS-127 (65%) no presentaron diferencias estadísticas significativas respecto a la otra cepa control INIREB-8 (67%). Algunas de las cepas con características de mayor interés para el mejoramiento genético (color y alta productividad) fueron dedicariotizadas y así recuperar sus componentes monocarióticos para después

aparearlos en todas las posibles combinaciones y estudiar la expresión y estabilidad de los colores en los nuevos híbridos. Se recuperaron los dos componentes monocarióticos de las cepas ECS-127, 1B-67-1 e IE-200, en una relación 1:1 de acuerdo a la

prueba de χ^2 , mientras que sólo fue posible recuperar uno de los componentes monocarióticos de las cuatro cepas restantes, ECS-130, IE-136, POROS y RP (Tabla 3).

Tabla 3.- Recuperación de componentes monocarióticos (neohaplotes) de cepas de *Pleurotus* spp.

Cepas Dicarióticas	Neohaplotes Recuperados			Componentes Recuperados	Prueba χ^2 para recuperación simétrica (nh1:nh2 = 1:1)*
	Total	Tipo nh1	Tipo nh2		
ECS-127	12	6	6	2	0.00 (1.000)
1B-67-1	5	2	3	2	0.20 (0.654)
IE 200	15	8	7	2	0.06(0.79)
ECS 130	12	12	0	1	—
IE-136	5	5	0	1	—
POROS	2	2	0	1	—
RP	4	4	0	1	—

*Entre paréntesis se presenta el valor de la significancia (p).

Tabla 4. Tipos de compatibilidad de componentes monocarióticos de cepas de *Pleurotus* spp.

Tipos De Compatibilidad	Grupo 1						Grupo 2		Grupo 3	
	Cepas	A_mB_m			A_nB_n		A_oB_o	A_pB_p	A_qB_q	
		ECS-130 ₁	1B-67-1 ₁	IE-200 ₂	POROS ₁	1B-67-1 ₂	IE-200 ₁	ECS-127 ₁	ECS-127 ₂	IE-136 ₁
A_mB_m	ECS-130 ₁	—	—	—	—	+	+	—	—	—
	1B-67-1 ₁	—	—	—	—	+	+	—	—	—
	IE-200 ₂	—	—	—	—	+	+	—	—	—
	POROS ₁	—	—	—	—	+	+	—	—	—
A_nB_n	1B-67-1 ₂	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	IE-200 ₁	+	+	+	+	—	—	—	—	—
A_oB_o	ECS-127 ₁	—	—	—	—	—	—	+	—	—
A_pB_p	ECS-127 ₂	—	—	—	—	—	—	+	—	—
A_qB_q	IE-136 ₁	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Color en el Dicariote original	Rosa carey	Naranja grisáceo	Naranja pálido	Rosa	Naranja grisáceo	Naranja pálido	Gris	Gris	Gris	Gris

El signo (+) indica formación de fibulas, el signo (-) indica apareamiento incompatible o ausencia de fibulas.

Al aparear los neohaplotes recuperados se observó la presencia de tres grupos interestériles (Tabla 4). Dentro del primero se encuentran las cepas ECS-130, 1B-67-1, IE-200, y POROS agrupándose

sus neohaplotes dentro de 2 tipos de compatibilidad con factores totalmente distintos, el A_mB_m y el A_nB_n . Los 2 componentes de la cepa ECS-127 se ubican dentro de un segundo grupo interestéril con los tipos

de compatibilidad A_oB_o y A_pB_p , observándose una situación similar con el único neohaplonte recuperado de la cepa IE-136 cuyo tipo de compatibilidad sería A_qB_q . No obstante, cabe también la posibilidad de que algunos de estos tipos de incompatibilidad correspondieran a los tipos complementarios de alguno de estos grupos, es decir que los factores del grupo 2 fuesen A_mB_n y A_nB_m . Para elucidar esta situación es necesario obtener los cuatro tipos de compatibilidad de las progenies meióticas de cada cepa dicariótica con lo que ya sería posible verificar sus patrones de interhibridización.

Discusión

En la mayoría de los estudios realizados con cepas productoras de basidiocarpos coloridos no se ha utilizado un patrón de referencia confiable con relación al color, lo que constituye una seria limitación. Esto adquiere mayor importancia al realizar estudios genéticos con el género *Pleurotus*, en donde se han observado cambios de tonalidad en los esporóforos debido a las condiciones del medio ambiente utilizadas ya que esto podría confundirse con un cambio de color debido a una variación genética. Por ello, en este estudio se controlaron las condiciones ambientales para que el color de los esporóforos se mantuviera constante. Al utilizar el atlas de colores se contó asimismo con un parámetro confiable para evaluar el color de los cuerpos fructíferos y comprobar la estabilidad de este parámetro durante el experimento. Como puede observarse con los datos reportados en la Tabla 1, el uso de las claves del atlas de colores es un método objetivo para registrar la coloración de esporóforos y esporadas. De esta forma fue posible confirmar en ciertos casos las coloraciones reportadas por los donantes, aunque algunas cepas mostraron coloraciones distintas a las indicadas.

Las altas productividades obtenidas con las cepas coloridas IE-136 y POROS, iguales a las de la cepa comercial PLEUS, las hacen de gran interés para un programa de mejoramiento genético ya que en ellas se combinan 2 características valiosas (Tabla 2). Las menores productividades presentadas por las otras cepas coloridas no representa una desventaja ya que son comparables a la productividad de la segunda cepa comercial, INIREB-8, la cual es ampliamente utilizada por productores locales de *Pleurotus* y en experimentos previos ha mostrado buenos

rendimientos (102 %) al tercer brote (Valencia del Toro *et al.*, 1997).

En este estudio se confirmó el efecto dedicariotizador de la peptona P (oxid) (Leal-Lara, 1980) que demostró ser muy efectiva con tres de las cepas de *Pleurotus* ya que fue posible recuperar sus 2 componentes monocarióticos aún a partir de un pequeño número de aislamientos (Tabla 3). Si bien nuevamente se observó la diferente susceptibilidad de las cepas a la dedicariotización (Arteaga-Santillan *et al.*, 1996), al aumentar el número de aislamientos es factible que se recuperen ambos tipos de neohaplontes de las 4 cepas que presentaron una dedicariotización asimétrica. Es también probable que aún realizando un gran número de aislamientos no se recupere el segundo componente del dicariote ya que como previamente se ha postulado (Arteaga-Santillan *et al.*, 1996), cada componente monocariótico de una cepa puede presentar diferente susceptibilidad a los distintos fenómenos que se han propuesto para explicar la dedicariotización, ya sea el efecto de sustancias tóxicas o bien la alteración del proceso de reproducción del material nuclear del protoplasma o de la pared celular dicariótica. No obstante las limitaciones anteriores, los componentes monocarióticos de algunas de las cepas coloridas estudiadas en el presente trabajo fueron recuperadas por dedicariotización.

Mediante apareamientos entre los neohaplontes recuperados en este estudio, fue posible precisar ciertas relaciones entre las distintas cepas coloridas, identificándose los 3 grupos de intersterilidad mostrados en la Tabla 4. Si bien existe la probabilidad de que alguno de estos 3 grupos interstériles corresponda a uno de los tipos complementarios, esta es bastante remota dado que se observa una clara separación de las cepas de acuerdo al color de sus esporóforos; las cepas de colores naranja y rosa se encuentran dentro del grupo 1 mientras que las cepas de colores grises se encuentran dentro de los grupos 2 y 3. Por otro lado ya que dentro del grupo 1 se encuentra la cepa IE 200, donada por el Instituto de Ecología como *Pleurotus djamur* var. *salmoneostramineus*, las otras 4 cepas dentro de este primer grupo deberán pertenecer a esta misma especie a pesar de la diferencia en la coloración de esporóforos y esporas (Tabla 1). Estas contradicciones aumentan al considerar que dentro del grupo 1 se encuentra también la cepa POROS, que de acuerdo al donante pertenece a la especie *Pleurotus ostreatoroseus*.

Los resultados anteriores es poco probable que estuvieran influenciados por una pérdida de la capacidad de entrecruzamiento de los neohaplontes ya que no existe evidencia al respecto en investigaciones previas, (Leal-Lara, 1980; Ramírez-Carrillo, 1989; Arias-García, 1998). En todos los casos reportados, fue posible entrecruzar los neohaplontes obtenidos, ya sea entre aquellos de la misma cepa o bien aquellos provenientes de cepas diferentes, así como entre monocariotes meióticos y los neohaplontes recuperados.

En términos generales estos resultados remarcan la importancia de las pruebas de compatibilidad sexual para determinar la ubicación taxonómica de las diferentes cepas de *Pleurotus*, ya que su valor es de mayor peso que las características morfológicas que normalmente se han utilizado para la clasificación taxonómica (Petersen, 1995).

Los híbridos que se obtuvieron al aparear los neohaplontes de las diferentes cepas coloridas de *Pleurotus* son de gran valor. Con sus progenies podrá estudiarse la segregación del carácter que determina el color de los esporóforos en *Pleurotus*. Representan el punto de partida para el desarrollo de cepas con colores estables y novedosos ya que en estos híbridos se encuentra el material genético original de las cepas dicarióticas seleccionadas.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (Proyecto IN 501696) de la DGAPA, UNAM y del proyecto 1019PB del CONACyT, y asimismo a la M. en B. Rebeca Ramírez Carrillo por su apoyo en la evaluación estadística de los resultados y por la revisión crítica del manuscrito.

Literatura citada

Arias-García, A. 1998. Selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* para el cultivo comercial por apareamiento entre neohaplontes. Tesis Maestría en Biotecnología. UNAM. México D.F.

Arita, I., 1974. Genetic study of white fruit-bodies of *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 11:58-68.

Arteaga-Santillán, S. E., R. Ramírez-Carrillo, H. Leal-Lara, 1996. Desdicarización excéntrica de *Lentinus* sp. *Rev. Mex. Micol.* 12: 15-21.

Bresinsky, A., M. Fisher, B. Meixner, W. Paulus, 1987. Speciation in *Pleurotus* *Mycologia.* 79 (2): 234-245.

Byung, M., K. Kyung-Soo, Y. Chang-Hyun, y C. Dong-Yeul, 1994. Variations in mitochondrial DNA of *Peurotus sajor-caju*. *Korean Journal of Mycology.* 22(2): 117-121.

Comer, E. J. H., 1981. The agaric genera *Lentinus*, *Panus*, and *Pleurotus*. *Men. Shiga. Univ.* 23: 37-43.

Chang, S. T., S. H. Kwan, N. Y. Kang, 1995. Collection, characterization, and utilization of germ plasm of *Lentinula edodes*. *Canadian Journal of Botany.* 73 (suppl. 1): 995-961.

Eger, G., G. Eden, E. Wissing, 1976. *Pleurotus ostreatus*, breeding potential of a new cultivated mushroom. *Theor. Appl. Genet.* 47: 155-163.

Komatsu, M., 1977. Fruit-bodies with white pilei of *Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 15: 55-64.

Komatsu, M., K. Kimura, 1968. Studies on abnormal fruit-bodies of himenomicetous fungus. V. Fruit-bodies with white pilei of *Lentinus edodes* (Berk.). *Sing. Rep. Tottori Mycol. Inst.* 6: 9-17.

Kornecrup, A., J. H. Wanscher, 1967. *Methuen Handbook of colour.* Methuen & Co., Ltd., London.

Kuppers, H. 1979. Atlas de los colores. Ed. Blume, Barcelona. España.

Leal-Lara, H., 1980. Sporelessness in basidiomycete *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) Kummer. A genetical study by means of a new dedikarization method. *Ph. D. Dissertation.* Marburg University, Marburg/Lahn.

Li, S. T., 1980. Studies on the tolerance to elevated temperatures in *Pleurotus* (Jack. Ex. Fr.) Kummer. *Bibl. Mycol.* 76: 1-86.

Martínez-Carrera D., 1997. Producción de *Pleurotus* en México. Memorias del VI Congreso Nacional de Micología / IX Jornadas Científicas. Tapachula Chiapas, México.

Murakami, S. T. Takemaru, 1990. Genetic studies of *Pleurotus salmoneostramineus* forming albino basidiocarps. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* 28: 199-204.

Neda, H., H. Furakawa, T. Miyagy, 1988. Two *Pleurotus* species from Okinawa. *Proc. Ann. Meet. Mycol. Soc. Jap.* 51.

Petersen, H. R., 1995. Contributions of mating studies to mushrooms systematics. *Canadian Journal of Botany.* 73 (suppl.): 831-842.

Ramírez-Carrillo, R. 1989. Producción y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* capaces de producir una degradación selectiva de la lignocelulosa. Tesis Maestría en Biotecnología. UNAM México D.F.

Valencia-Del Toro, G, M. E. Garín-Aguilar, S. L. Vázquez, 1997. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa, cascarilla y pajillas del café. *Productos Naturales Vol. 3.* UAM-IZTAPALAPA. ISBN 970-645-120-9.

Vilgalys, R., A. Smith, B. L. Jun, O. K. Muller, 1993. Intersterility groups in *Pleurotus ostreatus* complex from the continental United States and adjacent Canada. *Can J. Bot.* 71: 113-128.

Recibido: 9 de octubre 1999. Aceptado: 18 de diciembre 1999.
Solicitud de sobretiros: Gustavo Valencia del Toro