

Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn

Dulce Salmones
Lucía Mestizo Valdéz
Rigoberto Gaitán-Hernández

Instituto de Ecología, Apartado postal 63, Xalapa, Veracruz 91000, México

Interbreeding and evaluation of carpophores production of *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn varieties

Abstract. Monosporic cultures of three strains of *Pleurotus djamor* vars. *djamor* (IE-116), *roseus* (IE-116) and *salmoneostramineus* (IBUG-75) were obtained, their mating types were determined and the monokaryons with the fast and good mycelial growth were selected to make interespecimen crosses. Parental strains and six crosses were cultivated on barley straw in the pilot plant. Primordia initiation in parental strains were observed between 9 to 11 days and 8 to 13 days in the crosses. On average 3 to 5 flushes were obtained, reaching biological efficiencies of 53.6 to 86.4 % in the parentals strains and 73.6 to 114.4 % in the crosses, while rates of production were 0.89 to 1.44 % and 1.22 to 1.9 % and yields of 11.5 to 17.4 % and 17.5 to 26.9 %, respectively. Fruiting body sizes varied from 2 to 20 cm for pileus diameter, the majority less than 10 cm. Dikaryons of *djamor* vs. *salmoneostramineus*, *djamor* vs. *roseus* and one of *roseus* vs. *salmoneostramineus* exceeded the parental strains productivities, and therefore have possibilities of commercial cultivation.

Key words: *Pleurotus djamor*, mushroom cultivation, genetic interbreeding.

Resumen. Se obtuvieron micelios monospóricos de tres cepas de *Pleurotus djamor* (Fr.)Boedijn vars. *djamor* (IE-116), *roseus* (IE-134) y *salmoneostramineus* (IBUG-7_s), determinándose sus tipos de apareamiento y seleccionándose monocariones de rápido y buen crecimiento micelial para realizar las cruzas interespecimen. Las cepas parentales y seis cruzas fueron cultivadas sobre paja de cebada a nivel piloto. La formación de los primordios se observó entre 9 y 11 días en los parentales y entre los 8 y 13 días en las cruzas. En promedio se obtuvieron de 3 a 5 cosechas alcanzando eficiencias biológicas de 53.6 a 86.4 % en los parentales y de 73.6 a 114.4 % en las cruzas, mientras que las tasas de producción fueron de 0.89 a 1.44% y de 1.22 a 1.9 % y los rendimientos de 11.5 a 17.4 % y de 17.5 a 26.9 %, respectivamente. El tamaño de las fructificaciones varió entre 2 a 20 cm de diámetro de píleo, predominando los menores de 10 cm. Las cruzas de las variedades *djamor* vs. *salmoneostramineus*, *djamor* vs. *roseus*, y una de las variedades *roseus* y *salmoneostramineus* superaron la productividad de sus parentales, por lo que se consideran con posibilidades de ser cultivadas comercialmente.

Palabras clave: *Pleurotus djamor*, cultivo de hongos, entrecruzamiento genético.

Received 25 November 2003; accepted 16 February 2004.
Recibido 25 noviembre 2003; aceptado 16 de febrero 2004.

Autor para correspondencia: Dulce Salmones
dulce@ecologia.edu.mx

Introducción

Pleurotus djamor (Fr.)Boedijn es una especie pantropical, frecuentemente encontrada en África, América, Asia y Australia. En México se le ha colectado abundantemente en zonas cálidas de gran parte del territorio nacional, creciendo sobre troncos en descomposición de diversos árboles, designándose a sus fructificaciones con los nombres populares de “orejas de patancán”, “orejas de izote” u “orejas de cazahuate” [6].

A la fecha, los estudios sobre el cultivo de la especie en México han sido enfocados principalmente a: 1) evaluar su productividad en residuos lignocelulósicos [3-5, 9] y 2) estudiar taxonómicamente la variabilidad de coloración en los basidiocarpos [1, 8]. Aunque se han realizado algunos trabajos de entrecruzamiento de cepas [2, 14, 16, 17], aún son escasos los estudios genéticos de cepas mexicanas, por lo que el objetivo del presente trabajo fue obtener dicariones por entrecruzamiento de micelios monospóricos de cepas silvestres y evaluar su productividad, con la finalidad de seleccionar cepas de rápido desarrollo micelial y alta producción de carpóforos con características aceptables para su comercialización.

Materiales y Métodos

Se emplearon tres cepas mexicanas de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn adscritas a las variedades ecológicas *djamor* (IE-116), *roseus* Corner (IE-134) y *salmonostramineus* (Vass.) Guzmán, Montoya & Bandala (IE-153= IBUG7₁). Las cepas están depositadas en el Cepario de Hongos Comestibles del Instituto de Ecología (Xalapa, México).

Los cultivos monospóricos fueron aislados a partir de diluciones de esporas de cada cepa, sembradas en placas con agar y extracto de malta para las diluciones provenientes

de las cepas IE-116 e IE-134 y, en agar con extractos de malta, trigo y sorgo [3] para la dilución de la cepa IE-153. Previo a su agrupamiento en tipos de incompatibilidad, a cada cultivo monospórico obtenido se le estimó la velocidad de crecimiento, basándose en la medición de los diámetros miceliales desarrollados durante 10 días de incubación a 28°C, con relación a los ejes de un plano cartesiano (abcisas y ordenadas). Los valores obtenidos fueron analizados estadísticamente (ANOVA) y posteriormente se le aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey para agruparlos y determinar diferencias significativas entre los diámetros desarrollados.

El patrón de sexualidad de las cepas se determinó por el apareamiento de 10 cultivos monospóricos entre sí, evitando las cruzas recíprocas [14]. Obtenidos los tipos de incompatibilidad y analizando los resultados de velocidad de crecimiento micelial, se seleccionó un cultivo monospórico de rápido crecimiento micelial por cada tipo de apareamiento, para realizar las cruzas interespecimen.

Para la obtención de las fructificaciones, el inóculo se preparó con semillas de sorgo estériles [5] y el sustrato utilizado, paja de cebada, fue tratado térmicamente por inmersión en agua caliente (80°C) durante 45 min. Preliminarmente y con la finalidad de identificar los dicariones de temprana fructificación, éstos se cultivaron en muestras pequeñas (800 g, peso húmedo) de paja de cebada. Para la evaluación de la productividad de las cepas seleccionadas en la etapa anterior, se utilizaron muestras de paja de cebada (2 k, peso húmedo), colocadas en bolsas de plástico, las cuáles fueron sembradas con 100 g de inóculo e incubadas en la oscuridad a 28°C. Se hicieron 12 réplicas por cepa. Concluido el periodo de incubación y con la aparición de los primeros primordios, las muestras se transfirieron a una área adecuada para el desarrollo de los basidiomas, con las siguientes condiciones ambientales: temperatura ambiental de (25±7°C), humedad relativa de 84±6%, ventilación de 600-900 m³/h e iluminación natural difusa durante 11±1 h. Se

tomaron datos de los días de incubación requeridos por cada cepa para la colonización completa del sustrato, la aparición de los primeros primordios y los días requeridos para el desarrollo de los mismos a estado adulto, así como el número de cosechas obtenidas. La evaluación de los hongos se hizo en términos de eficiencia biológica (EB), es decir peso fresco de los hongos entre peso seco de sustrato [15], tasa de producción (TP) o promedio diario de eficiencia biológica [12] y el rendimiento (R) o cociente entre el peso fresco de los carpóforos y el peso húmedo del sustrato [14]. Todos los valores se expresaron en porcentaje.

Paralelamente, las fructificaciones cosechadas se clasificaron en 4 grupos de acuerdo al tamaño del pileo desarrollado, G1: con hongos menores a 5 cm de diámetro, G2: de 5 a 9.9 cm, G3: de 10 a 14.9 cm y G4: con hongos de 15 o más cm de diámetro del pileo [13]. Adicionalmente se tomaron datos sobre la coloración de las fructificaciones. Los resultados de EB, TP y R de las cepas parentales y cruzas fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza completamente al azar y agrupados con la prueba de comparación de medias de Tukey (=0.05%).

Resultados

Se aislaron de 20 a 25 monospóricos por cepa, de éstos se entrecruzaron 10 para agruparlos en los 4 tipos de incompatibilidad, obteniéndose entre 1 a 7 monocariones por cada tipo (Tabla 1). Los monospóricos de la cepa IE-116 presentaron un rápido desarrollo, alcanzando diámetros miceliales promedio de 54.3 a 82.5 mm en 10 días de incubación. Los cultivos monospóricos de las cepas IE-134 e IE-153, alcanzaron diámetros promedio de 44.2 a 71.8 mm y de 19.6 a 71.3 mm, respectivamente. Basándose en el tipo de incompatibilidad y velocidad de crecimiento micelial, fueron elegidos 4 monocariones por cepa para realizar las cruzas interespecimen: 1, 5, 11 y 4 para la IE-116; 6, 2, 11 y 8 para la IE-134 y 1, 2, 4, 6 para la IE-153 (Tabla 1).

En total se obtuvieron 48 cruzas, que al ser cultivadas en las muestras pequeñas de paja estéril no presentaron gran variabilidad en el tiempo requerido para la presencia de sus primordios (7-9 días), por lo que se decidió elegir las primeras dos cruzas, por cada par de parentales,

Tabla 1. Tipos de compatibilidad de las cepas parentales de *P. djamor* y diámetro micelial promedio (mm) de los cultivos a los 10 días de incubación.

Cepas	Tipos de incompatibilidad	No. de monospórico	Diámetro micelial	Cruzas Seleccionadas
IE-116 <i>Pleurotus djamor</i> var. <i>djamor</i>	^a I	^b 1,3,10,12	^c 76.0,56.6,60.5,59.8	IE-116 vs IE-153 11 x 2 (I) 5 x 3 (II)
	II	5,8,9	82.5,67.7,59.3	
	III	11	54.3	
	IV	4	75.1	
IE-134 <i>P. djamor</i> var. <i>roseus</i>	I	1,3,4,6	64.8,48.2,59.6,71.8	IE-134 vs IE-116 5 x 5 (III) 5 x 11 (IV)
	II	2,5	44.2,59.9	
	III	11	52.3	
	IV	8,10,12	69.5,50.9,50.6	
IE-153 <i>P. djamor</i> var. <i>salmonostramineus</i>	I	1	63.8	IE-134 vs IE-153 5 x 2 (V) 5 x 3 (VI)
	II	2	71.3	
	III	3,5,7,8,9, 10, 11	61.1,57.7,40.7,19.6,20, 20.7,22.8	
	IV	6	26.8	

^a I: A₁B₁ ; II: A₁B₂ ; III: A₂B₂ y IV: A₂B₁ .

^b Los monospóricos en negritas fueron seleccionados para la obtención de las cruzas.

^c Valor promedio de 10 mediciones.

cuyas fructificaciones alcanzaran la madurez en menor tiempo. Así, en planta piloto se evaluaron 6 cruzas más sus respectivos parentales.

En esta última etapa, la aparición de primordios en las cepas progenitoras se presentó entre los 9 y 11 días de incubación, y en las cepas descendientes entre los 8 a 13 días, requiriendo entre 2 (dicarion V) hasta 8 días (IE-134 e IE-153) para que los primordios alcanzaran su madurez. La primera cosecha en las cepas parentales se obtuvo entre los 16 a 19 días después de la inoculación y en las cruzas entre 13 a 18 días. El número de cosechas promedio evaluadas varió de 3 a 5, en ciclos de cultivo de 60 días, con excepción de las cruzas V y II que alcanzaron 2 y 7 cosechas, respectivamente. En promedio, el porcentaje de fructificaciones que se obtuvieron en la primera cosecha llegaron a representar entre el 50 y 60% de la producción total.

En la Tabla 2 se presentan los valores de producción promedio de carpóforos, las cruzas alcanzaron eficiencias biológicas entre 73.6±6.3 a 114.4±5.6% y los parentales de 53.6±13.2 a 86.4±7.2%, mientras que las tasas de producción (TP) fluctuaron entre 0.89±0.22 % para la cepa IE-153 hasta 1.9±0.1% para la craza II. Con respecto al rendimiento (R),

los valores promedio alcanzados por las cepas variaron entre 11.5±0.9% (IE-153) a 26.9±1.9% (cruza II).

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre las productividades de las cepas parentales y 5 cruzas, correspondiendo los valores promedio más altos a estas últimas cepas; sólo la craza V no mostró diferencias de productividad con uno de sus parentales, la IE-134. Con respecto al tamaño de las fructificaciones (Tabla 3), la mayoría de las cepas presentaron altos porcentajes de basidiomas menores de 10 cm (incluyen G1 y G2) de diámetros de píleo, que en promedio correspondieron entre 77.9 a 98.3 % de la producción total de hongos cosechados.

En cuanto a la coloración de los basidiomas, el parental IE-153 (var. *salmonostramineus*) y sus descendientes (dicariones I, II, V y VI) presentaron primordios color rosa a salmón intenso, aunque esta coloración sólo se conservó en los basidiomas adultos de la IE-153 y las cruzas I y V. En las cepas restantes predominaron los primordios y las fructificaciones de color blanquecino a marfil.

Tabla 2. Productividad de las cepas de *P. djamor* en paja de cebada*.

Cepas	Peso fresco total de los basidiomas (g)	Eficiencia biológica (%)	Rendimiento (%)	Tasa de producción (%)
IE-116	5181.2	86.4±7.2c**	17.4±1.6c	1.44±0.12c
IE-134	4049.6	67.5±6.9c	15.7±1.3c	1.12±0.12d
IE-153	3050.4	53.6±13.2d	11.5±0.9d	0.89±0.22e
I	6073.6	101.1±8.3b	23.7±2.7b	1.68±0.14b
II	6862.2	114.4±5.6a	26.9±1.9a	1.90±0.10a
III	5598.1	93.3±11.1b	21.9±2.4b	1.55±0.19b
IV	5941.3	99.1±11.1b	23.2±1.8b	1.65±0.10b
V	3310.9	73.6±6.3c	17.5±2.1c	1.22±0.22d
VI	5778.2	96.3±10b	22.8±2.7b	1.60±0.18b

* Con excepción del peso fresco, los valores son promedio de 12 repeticiones.

** Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas con la prueba de rango múltiple de Tukey ($\alpha=0.05\%$)

Tabla 3. Porcentajes de fructificaciones obtenidas en los diferentes grupos de tamaño y coloraciones observadas durante su desarrollo.

Cepas	G1 %	G2 %	G3 %	G4 %	Coloración de primordios y basidiomas
IE-116	68.2	30	1.7		Primordios y basidiomas blanquecinos
IE-134	38.2	51.5	10.3		Primordios y basidiomas blanquecinos
IE-153	52.2	39	7.9	0.9	Primordios y basidiomas rosa-salmón
I	39.4	38.5	22.1	-	Primordios rosa-salmón. Basidiomas rosa pálido a blanquecinos
II	41.4	46.5	10.7	1.4	Primordios y basidiomas rosa-salmón
III	53.4	37	4.7	4.9	Primordios y basidiomas blanquecinos
IV	30.9	62.7	6.4	-	Primordios y basidiomas blanquecinos
V	50.8	36.5	10.9	1.8	Primordios rosas y basidiomas rosa pálido a blanquecinos con tonos rosas en los márgenes
VI	47.2	46.9	5.3	0.6	Primordios y basidiomas crema a rosa-salmón

G1: 5 mm de diám. del píleo; G2: 5 – 9.9 cm; G3: 10-14.9cm; G4: 15 cm o .

Discusión y conclusiones

Las cepas parentales de *P. djamor* presentaron un patrón de sexualidad heterotálico tetrapolar y completa compatibilidad entre ellas, coincidiendo con lo observado por Neda *et al.* [11] y confirmando que las variedades rosas (*roseus* y *salmostramineus*) son variedades ecológicas, tal como Guzmán *et al.* [8] lo propusieron. Asimismo, los resultados de velocidad de crecimiento micelial de los monospóricos coincidieron con Salmones *et al.* [14]. En la planta piloto los tiempos para la incubación del micelio, formación de primordios y obtención de la primera cosecha, fueron similares a trabajos previos realizados con *P. djamor* [3, 5, 9, 13, 14, 17].

Los valores de eficiencias biológicas promedio logradas por las cepas parentales y las cruzas III, V y VI fueron similares a las obtenidas previamente en paja de cebada [3, 7, 13] así como las tasas de producción coinciden con Hernández-Ibarra *et al.* [9] y Salmones *et al.* [14]. Sin embargo, es importante notar que las cruzas I, II y IV, registraron las eficiencias biológicas más altas hasta ahora

reportados en México para la especie, empleando como sustrato paja de cebada. En cuanto a los rendimientos alcanzados, los porcentajes obtenidos son ligeramente más altos a los citados por Salmones *et al.* (1997) [14], quienes presentaron valores entre 0.34 a 1.44%.

Con respecto al tamaño de los basidiomas (Tabla 3), los promedios de diámetro del píleo obtenidos coinciden con estudios previos [9, 13-14] y superan a Hernández-Ibarra *et al.* [9] y Valencia del Toro *et al.* [17], cuyas fructificaciones fluctuaron entre 6.99 a 9.23 cm de diám. En la coloración de los basidiomas (Tabla 3), la segregación de los tonos rosas en las variedades *roseus* y *salmonostramineus* coincidieron con Murakami y Takemaru [10] quienes sugirieron que la presencia de basidiomas blanquecinos es controlado por un carácter hereditario de genes recesivos, así como con Guzmán *et al.* [8] y Valencia del Toro y Leal-Lara [16], que observaron variaciones e incluso pérdida de la coloración en las formas rosas, cuando fueron fructificadas bajo diferentes condiciones de cultivo.

Debido a que en estudios previos se ha considerado

el color de los basidiomas la clave para diferenciar las variedades de *P. djamor*, se recomienda continuar el entrecruzamiento de cepas y su cultivo bajo condiciones ambientales controladas, que permitan determinar genéticamente el patrón de segregación de colores en las nuevas generaciones de dicariones. Otra característica muy importante a mejorar en las cepas de *P. djamor* es la carnosidad de las fructificaciones, si bien esta variable no se consideró en este estudio, se observaron diferencias entre las consistencias y texturas de las cepas obtenidas. Probablemente la selección de cepas con mejores características de palatabilidad, repercutirán en una mayor demanda de la especie en el mercado nacional.

Finalmente y considerando que el objetivo del trabajo fue obtener cepas de *Pleurotus djamor* con fructificación temprana, alta productividad y tamaño de los carpóforos, se concluye que al menos tres de las cruzas obtenidas presentan características apropiadas para su posible uso comercial.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la M. en C. Rosalía Pérez Merlo su apoyo en las actividades del laboratorio, así como a las autoridades del CONACyT (proyecto 4748-N9406) y del Instituto de Ecología, A. C. su financiamiento para el desarrollo del estudio.

Literatura citada

1. Arias García, A., C. Soto-Velazco y L. Guzmán Dávalos, 1993. Obtención y caracterización de cepas de *P. djamour* cultivadas en bagazo de magueytequiler. I Simposio Latinoamericano de Micología. La Habana, Cuba, 22-26 de junio, p. 65.
2. Arias García, J.A., H. Leal Lara y R. Ramírez Carrillo, 1996. Nuevas estrategias para el mejoramiento

genético de cepas de *Pleurotus* spp. II Congreso Latinoamericano de Micología. La Habana, Cuba, 23-26 octubre, p. 156.

3. Cedano, M., M. Martínez, C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos, 1993. *Pleurotus ostreatorroseus* (Basidiomycotina, Agaricales) in Mexico and its growth in agroindustrial wastes. *Cryptogamic Botany* 3: 297-302.
4. Gaitán-Hernández, R. 1993. Cultivo de *Pleurotus djamor* en zacate buffel, viruta de encino y bagazo de henequén. *Reporte Científico No. Especial* 13: 111-115.
5. Gaitán-Hernández, R. y D. Salmones, 1999. Análisis de la producción de cepas de *Pleurotus djamor*. *Revista Mexicana de Micología* 15: 115-118.
6. Guzmán, G., 2000. Genus *Pleurotus* (Jacq. : Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetideae): Diversity, taxonomic problems, cultural and traditional medicinal uses. *The International Journal of Medicinal Mushrooms* 2: 95-123.
7. Guzmán, G., L. Montoya, V.M. Bandala y D. Salmones, 1993. Studies on the genus *Pleurotus* (Basidiomycotina), II. *Pleurotus djamour* in Mexico and in other Latin-American countries, taxonomic confusions, distribution and semiindustrial culture. *Cryptogamic Botany* 3: 213-220.
8. Guzmán, G., L. Montoya, G. Mata y D. Salmones, 1995. Studies in the genus *Pleurotus*, IV. Observations on the pink forms growing in Mexico based in the interbreeding of two different strains. *Mycotaxon* 53: 247-259.
9. Hernández-Ibarra, H., J. E. Sánchez-Vázquez y L. A. Calvo-Bado, 1995. Estudio de 5 cepas nativas de *Pleurotus* spp. de la región de Tapachula, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Micología* 11: 29-38.
10. Murakami, S. y M. Takemura, 1990. Genetic analysis of *Pleurotus salmoneostramineus* forming albino basidiocarps. *Repports of the Tottori Mycological Institute* 28: 199-204.
11. Neda, H., Furukawa, H. y T. Miyagi. 1988. *Two Pleurotus species from Okinawa*. *Proc. 32nd Annual Meeting Mycological Society of Japan*. p. 51.
12. Royle, D. J., 1989. Factors influencing the production rate of shiitake. *Mushroom Journal for the Tropics* 9: 27-138.
13. Salmones, D., G. Mata, G. Guzmán, M. Juárez y L. Montoya, 1995. Estudios sobre el género *Pleurotus*, V. Producción a nivel planta piloto de ocho cepas adscritas a cinco taxa. *Revista Iberoamericana de Micología* 12: 108-110.
14. Salmones, D., R. Pérez, R. Gaitán-Hernández y G. Guzmán, 1997. Estudios sobre el género *Pleurotus* VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Revista Iberoamericana de Micología* 14: 173-176.
15. Stamets, P. C., 1993. Growing gourmet and medicinal mushrooms. *Mycomedia, Olympia*.
16. Valencia del Toro, G y H. Leal Lara, 2002. Fruit body color in *Pleurotus* spp. hybrid strains obtained by matings of compatible neohaplonts. *In: Sánchez, J.E., G. Huerta y E. Montiel (eds.), Mushroom Biology and Mushroom Products: Proceedings of the Fourth International Conference. UAEM, Cuernavaca*. pp.151-159.
17. Valencia del Toro, G, M. E. Garín Aguilar, J. Jiménez Hernández y H. Leal Lara, 2003. Producción de cepas coloridas de *Pleurotus* spp. en sustrato estéril y pasteurizado. *Revista Mexicana de Micología* 17: 1-5.