



00361
22

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS**

**AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN
Y EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE CULTIVO
DE Pleurotus opuntiae (Dur. & Lév.) Sacc.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO
ACADÉMICO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA)**

P R E S E N T A:

LETICIA / ROMERO BAUTISTA

**DIRECCIÓN: M. en C. Ricardo Valenzuela Garza
CODIRECCIÓN: M. en Biot. Rebeca Ramírez Carrillo**

MÉXICO, D. F., NOVIEMBRE DE 2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Con profundo agradecimiento a mis padres, pero
especialmente a la vida por permitirme la dicha
de continuar recibiendo su cariño y apoyo.

A Caro, Xanath,
Mariana y Juan Carlos
Con amor

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

Mis directores:

A Rebe, por sus brillantes conocimientos compartidos con paciencia y por ser tan bella persona.

A Ricardo por su amistad de siempre.

Mis tutores:

Arturo Estrada Torres y Mercedes Sobal Cruz y por sus atinadas observaciones y crítica constructiva a mi trabajo.

A Margarita Villegas Ríos, Sigfrido Sierra Galván y Joaquín Cifuentes Blanco, por su tiempo empleado en la corrección de este trabajo.

A mis queridísimas colegas y amigas, Ana Laura, Consuelo e Irene.

A mis tesisistas y amigos Arturo Islas Hernández y Joel Roldán Gómez por su apoyo incondicional en el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos Otilio A. Acevedo, Roberto Villagomez Ibarra y Ernestina Vigiano Vargas por haberme facilitado el material, equipo y espacio, gracias a los cuales pude concluir este trabajo

Al Maestro Mario Segura Almaráz por apoyarme en la captura e impresión de las imágenes presentadas en este trabajo

A Manuel González Ledesma, por la identificación de *Agave salmiana* donde crece *P. opuntiae*

A Oscar Flores Villela por todo el apoyo que me brindó siempre.

A la gente de las diferentes comunidades que me ayudaron a la cuantificación y localización de los ejemplares, así como con sus conocimientos, especialmente a la Sra. Herminia Hernández, mil gracias.

Este trabajo fue apoyado a través de una Beca-Tesis de PROMEP



ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

RELACIÓN DE TABLAS, FIGURAS, FOTOGRAFÍAS, MAPAS Y

ANEXOS

ABREVIATURAS

RESUMEN

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	5
2.1	Diversidad biológica y cultural de México	5
2.1.1	Diversidad biológica	5
2.1.2	Diversidad cultural	7
2.2	Las zonas áridas y semiáridas de México	8
2.2.1	Aspectos generales de los agaves	9
2.2.2	Aspectos taxonómicos de los agaves	10
2.2.2.1	Descripción de <i>Agave salmiana</i>	10
2.2.2.2	Clasificación taxonómica	12
2.2.3	Interacción <i>Pleurotus-Agave</i>	13
2.2.4	Producción de residuos agrícolas en México	14
2.3	El género <i>Pleurotus</i>	19
2.3.1	El cultivo de <i>Pleurotus</i> spp.	19
2.3.2	Los hongos comestibles de México	23
2.3.3	El cultivo de los hongos comestibles en México	25
2.3.4	Propiedades medicinales de <i>Pleurotus</i>	27
2.3.5	Propiedades nutrimentales	27
2.3.6	Aspectos taxonómicos	28
2.3.6.1	El concepto de especie fúngica	28
2.3.6.2	Problemática taxonómica del género <i>Pleurotus</i>	30
2.3.6.3	Nombres científicos, en castellano y en lenguas indígeas	32
2.3.6.4	Algunas especies de <i>Pleurotus</i>	34
2.3.6.5	Descripción del género <i>Pleurotus</i>	34

2.3.6.6 Descripción de <i>P. opuntiae</i>	38
2.3.6.7 Clasificación taxonómica	43
2.4 Aspectos fisiológicos en el crecimiento de <i>Pleurotus</i>	44
2.4.1 Nutrición	44
2.4.2 El micelio	46
2.4.3 La reproducción en los hongos	46
2.4.4 Factores de crecimiento	49
2.4.5 Dinámica de crecimiento	54
2.4.6 Eficiencia biológica	58
3. JUSTIFICACIÓN	61
4. OBJETIVOS	64
4.1 Objetivo general	64
4.2 Objetivos específicos	64
5. ÁREA DE ESTUDIO	65
5.1 Características generales	65
5.2 Aspectos generales de los municipios de donde procede el material biológico	67
5.2 Ubicación geográfica	70
6. METODOLOGÍA	73
6.1 Trabajo de campo y laboratorio	75
6.1.1 Trabajo de campo	75
6.1.2 Trabajo de laboratorio	
6.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con <i>P. opuntiae</i>	80
6.3 Determinación de ejemplares	80
6.4 Morfología, micelial	81
6.4.1 Morfología micelial	
6.5 Velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial	81
6.5.1 Velocidad de crecimiento micelial	81
6.5.2 Diámetro micelial	83

6.5.3 Biomasa micelial	83
6.6 Colonización y agregaciones miceliales	85
6.6.1 Colonización micelial	87
6.6.2 Agregaciones miceliales	87
6.7 Eficiencia biológica	
7. ANÁLISIS DE RESULTADOS	
7.1 Trabajo de campo y laboratorio	91
7.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con <i>P. opuntiae</i>	93
7.3 Determinación de ejemplares	95
7.4 Morfología, micelial	101
7.5 Velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial	107
7.5.1 Velocidad de crecimiento micelial	107
7.5.2 Diámetro micelial	110
7.5.3 Biomasa micelial	114
7.6 Colonización y agregaciones miceliales	117
7.6.1 Colonización micelial	117
7.6.2 Agregaciones hifales	118
7.7 Eficiencia biológica	122
8. DISCUSIÓN	
8.1 Trabajo de campo y laboratorio	126
8.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con <i>P. opuntiae</i>	126
8.3 Determinación de ejemplares	127
8.4 Morfología, micelial	128
8.5 Velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial	129
8.6 Colonización y agregaciones miceliales	130
8.7 Eficiencia biológica	131
9. CONCLUSIONES	132
ANEXOS	
LITERATURA CONSULTADA	

RELACIÓN DE TABLAS, FIGURAS, FOTOGRAFÍAS, MAPAS Y ANEXOS

TABLAS

- Tabla 1.** Resultados del año agrícola 1997. Cultivos sembrados en el estado de Hidalgo relacionados con la producción de hongo seta (sustrato y/o semilla)
- Tabla 2.** Especies de *Pleurotus* que han sido cultivadas en diferentes épocas (Chang, 1993).
- Tabla 3.** Comparación de la producción mundial de hongos comestibles cultivados de 1986 a 1991 (Chang, 1993).
- Tabla 4.** Producción estimada (peso fresco) de *Pleurotus* spp. en algunos países de América (Sánchez y Royse, 2002).
- Tabla 5.** Historia taxonómica del género *Pleurotus* (Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/Default.htm).
- Tabla 6.** Número de cajas de petri preparadas con diferente medio de cultivo para cada una de las cepas.
- Tabla 7.** Datos generales de recolección de *Pleurotus opuntiae*
- Tabla 8.** Número de agaves donde se encontraron carpóforos de *P. opuntiae* colectados por localidad sobre *A. salmiana* por mes (año 2000) de una muestra de 100 agaves totales por localidad.
- Tabla 9.** Morfología micelial de las cepas de *P. opuntiae* (UAEH-1 y UAEH-2) y *P. ostreatus* (UAEH-11-15 y CPG-105) de acuerdo con los diferentes tratamientos.
- Tabla 10.** Velocidad de crecimiento micelial (mm/2 días) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con los diferentes tratamientos ($X \pm \sigma^2$) y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).
- Tabla 11.** Diámetro micelial (mm) de de crecimiento micelial (mm/2 días) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con los diferentes tratamientos ($X \pm \sigma^2$). y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).

- Tabla 12.** Biomasa micelial ($m\mu$) a los 8 días de crecimiento de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 2) y 6 cepas de *P. opuntiae* (3-8) con los diferentes tratamientos ($X \pm \sigma^2$). y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).
- Tabla 13.** Colonización y aregaciones hifalesl ($mm/2$ días) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con los diferentes cereales tratamientos ($X \pm \sigma^2$). y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).
- Tabla 14.** . Eficiencia biológica acumulada (g) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con los diferentes tratamientos ($X \pm \sigma^2$) y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).

FOTOGRAFÍAS

- Fotografía 1.** *Agave salmiana*, Acatlán, Hgo.
- Fotografía 2.** *Pleurotus opuntiae* (Durrieu and Léveillé) Saccardo. [*P. "agaves:"* Vilgalys et al., 1996] (viz. Petersen and Krisai-Greilhuber, 1999). MEXICO, Est. Tlaxcala, date unknown, coll. A. Estrada-Torres (no. 3313). ET3313:8 = A1B1; ET3313:11 = A2B2; ET3313:7 = A1B2; ET3313:10 = A2B1.
- Fotografía 3.** Medición del diámetro micelial
- Fotografía 4.** Carpóforos de *P. opuntiae* extraídos de la base de *Agave salmiana* viva en la comunidad "La Mora" comunidad de Singuilucan, Hgo.
- Fotografía 5.** Ejemplar pequeño de *P. opuntiae*. La Mora, Singuilucan, Hgo
- Fotografía 6.** Ejemplares totalmente desarrollados y extendidos de *P. opuntiae*. La Mora, Singuilucan, Hgo.
- Fotografía 7.** Cepa UAEH-1 (PDA, SDA, EMA)
- Fotografía 8.** Cepa UAEH-3 (PDA, SDA, EMA)
- Fotografía 9.** Cepa CPG-105 (PDA, SDA, EMA)

- Fotografía 10.** Cepa UAEH-11 (PDA)
- Fotografía 11.** Cepa UAEH-11 (EMA)
- Fotografía 12.** Cepa UAEH-11 (SDA)
- Fotografía 13.** Cepa UAEH-11 (PDA)
- Fotografía 14.** Cepa UAEH-12 (EMA)
- Fotografía 15.** Cepa UAEH-12 (SDA)
- Fotografía 16.** Cepa UAEH-13 (PDA)
- Fotografía 17.** Cepa UAEH-13 (EMA)
- Fotografía 18.** Cepa UAEH-13 (PDA)
- Fotografía 19.** Cepa UAEH-14 (EMA)
- Fotografía 20.** Cepa UAEH-14 (PDA)
- Fotografía 21.** Cepa UAEH-14 (EMA)
- Fotografía 22.** Cepa UAEH-15 (PDA)
- Fotografía 23.** Cepa UAEH-15 (EMA)
- Fotografía 24.** Cepa UAEH-15 (PDA)
- Fotografía 25.** Aspecto general del micelio en los diferentes granos
- Fotografías 26 y 27** Aspecto del crecimiento morfológico de *P. opuntiae* sobre el sustrato

FIGURAS

- Figura 1.** Ciclo reproductivo de un *Pleurotus* (Oliver, *et. al.*, 1991)

- Figura 2.** Balance de materia durante el cultivo de un hongo (Sánchez y Royse, 2001)
- Figura 3.** Modificación de la metodología para cuantificar biomasa. Sánchez y Viniegra, (1996), modificada por Ramírez Carrillo (comunicación personal)
- Figura 4.** Medidas tomadas para el carpóforo de *P. opuntiae* (ilustración tomada de Becker, 1983)

MAPAS

- Mapa 1.** Municipios del estado de Hidalgo donde se recolectó el material biológico.
- Mapa 2.** Ubicación de las localidades donde se recolectaron los carpóforos para la obtención de las cepas de *Pleurotus opuntiae* (escala 1:500,000)

ANEXOS

- Anexo 1.** Valor nutritivo estimado de las especies de *Pleurotus*, comparada con otras especies de hongos comestibles (Bano y Rajarathnam, 1988).
- Anexo 2.** Composición aproximada de las especies de *Pleurotus*, comparada con otras especies de hongos (Bano y Rajarathnam, 1988)
- Anexo 3.** Clave para identificar algunas especies del género *Pleurotus* (Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/default.htm).

ABREVIATURAS

Medios de cultivo

Medio 1 (PDA)	Papa Dextrosa Agar
Medio 2 (EMA)	Extracto de Malta Agar
Medio 3 (SDA)	Sabouraud Dextrosa Agar

Temperaturas

1	22°C
2	25°C
3	27°C

Cepas

UAEH-1	<i>Pleurotus ostreatus</i> (cultivada)
UAEH-3	<i>Pleurotus ostreatus</i> (cultivada)
UAEH-11	<i>Pleurotus opuntiae</i> (nativa)
UAEH-12	<i>Pleurotus opuntiae</i> (nativa)
UAEH-13	<i>Pleurotus opuntiae</i> (nativa)
UAEH-14	<i>Pleurotus opuntiae</i> (nativa)
UAEH-15	<i>Pleurotus opuntiae</i> (nativa)
CPG-105	<i>Pleurotus opuntiae</i> (nativa)

Localidades (Municipio)

1	Alcholoya (Acatlán)
2	Santa Mónica (Epazoyucan)
3	Huasca de Ocampo
4	Lajas Grandes (Santiago Tulantepec)
5	La Mora (Singuilucan)

1. INTRODUCCIÓN

Durante casi 4,000 millones de años, un período que difícilmente podemos entender, la vida sobre la tierra se ha hecho cada vez más compleja siguiendo una serie de etapas evolutivas. Infinidad de organismos han nacido, se han desarrollado y se han extinguido. Han ocurrido cambios de clima y catástrofes naturales, especies depredadoras han assolado los continentes, pero la vida se ha mantenido y evolucionado en millares de especies de tamaños y formas diferentes. Los organismos han interactuado de modo complejo para lograr sobrevivir y la organización biológica que hoy conocemos responde a la asociación de unas cuantas moléculas, esencialmente las mismas en todas las plantas y animales (Molina, 1998).

En el mundo actual, la comprensión de las interacciones (abióticas y bióticas) ha alcanzado gran importancia; los componentes vivos de los ecosistemas (plantas, animales, hongos y microorganismos) sostienen relaciones con los componentes no vivos (agua, aire y minerales) y de esta manera se establece una serie de vías entrelazadas que los enlazan en un sistema llamado "red alimentaria" (Challenger, 1998). La vida misma del hombre sobre la tierra depende del entendimiento del papel que juega en esta intrincada red de relaciones; prueba de ello es que resulta cada vez más relevante el aprovechamiento y rescate del conocimiento y formas de uso que poseen diversas etnias sobre todo en lo que se considera sus propios recursos naturales.

La diversidad cultural del país queda también de manifiesto por el asentamiento de la mayor parte de las culturas mesoamericanas prehispánicas, representadas actualmente por más de 50 grupos étnicos (Toledo *et al.*, 1985). Sin embargo, su enorme riqueza biológica y cultural contrasta gravemente con los escasos esfuerzos para su conservación, así como con el acelerado deterioro de sus ecosistemas terrestres, sobre todo tropicales, donde habita un gran número de hongos, en su mayoría saprófitos y con enorme potencial de cultivo (Martínez-Carrera *et al.*, 1993).

El uso de los hongos comestibles silvestres tuvo sin duda gran importancia en la forma de vida y el desarrollo de las sociedades cazadoras-recolectoras del período preneolítico, aunque no existen registros materiales que apoyen esto, es posible encontrar diversas evidencias sobre el consumo de hongos comestibles en la literatura etnográfica mundial.

Los hongos comestibles silvestres forman parte de la diversidad biológica y cultural de México, ya que han constituido parte importante de una estrategia tradicional de subsistencia la cual data de épocas prehispánicas y que se basa en el uso múltiple de los recursos naturales (Villarreal y Pérez-Moreno, 1989). Además, existe en buena parte de su territorio, una fuerte tradición culinaria que está siendo aprovechada y enfocada a la experimentación en el cultivo de hongos silvestres saprótrofos consumidos por las comunidades en donde se desarrollan.

El conocimiento que poseen las comunidades de México, ha sido transmitido de generación en generación, por lo que se ha convertido en el aprendizaje cultural por excelencia donde han establecido relaciones con el medio natural en un proceso gradual.

El valor nutrimental de los hongos comestibles es notable, ya que constituyen una magnífica fuente de proteínas por contener hasta 35% en base seca (Martínez-Carrera *et al.*, 1993).

El cultivo de los hongos silvestres comestibles presenta dificultades cuando se pretende domesticar a la mayor parte de ellos, ya que sólo algunas especies se han podido aislar en medios artificiales y una menor cantidad han logrado ser llevadas a diferentes sustratos para obtener cuerpos fructíferos; esto se debe a que la gran mayoría son micorrízicas (asociación de naturaleza simbiótica y ampliamente distribuida en el reino vegetal, donde el hongo y la planta reciben beneficios mutuos).

Nuestro país se encuentra inmerso dentro de un proyecto económico que prevé un acelerado proceso de industrialización y modernización en todos sus ámbitos. La población que habita en las grandes áreas rurales de México, superior al 50%, se enfrenta al difícil reto de adaptarse a las nuevas condiciones culturales y socioeconómicas, o quedar en un estado de mayor marginación y rezago. La producción de alimentos en el país es notablemente deficitaria y se enfrenta a problemas complejos de producción, manejo, conservación, abasto y comercialización, lo cual ha provocado una creciente importación de productos básicos (Martínez-Carrera *et al.*, 2000).

El cultivo de los hongos ha sido considerado como un cultivo sustentable, que utiliza una tecnología sencilla, incluyendo el manejo de plagas y enfermedades que podrían afectarlo. Conserva los nutrimentos de su entorno, disminuyendo la necesidad de expansión de áreas agrícolas, asegurando así la permanencia de la flora y fauna silvestres, por lo que se convierte en un componente más en la rehabilitación de suelos. También va acompañado de beneficios sociales y económicos directos e indirectos, constituyendo un valioso alimento humano, del que además se aíslan compuestos bioquímicos y agentes terapéuticos importantes para la salud del hombre. Por otra parte, presenta buenas oportunidades de inversión y generación de empleos, ofreciendo un ingreso adicional para las familias dedicadas al campo u otras actividades dentro de la ciudad.

Por otra parte, las relaciones que se establecen entre los hongos con el maguey (*Agave* spp.), se han manifestado con un efecto mayor o menor en cada una de las etnias de nuestro país, donde los agaves han establecido una relación entre la diversidad biológica y cultural dentro de una amplia perspectiva agroecológica y económica a través de los que Gentry (1982) ha considerado la simbiosis "hombre-agaves". Por ello, su conocimiento, usos, beneficios y aprovechamiento por los diversos grupos humanos, se ha transformado conforme se desarrollaron las grandes culturas mesoamericanas hasta llegar a un aprovechamiento integral y racional de cada una de las partes que lo conforman. Entre ellas se encuentra el consumo de *Pleurotus opuntiae* que es conocido

comúnmente en México como "hongo de maguey" u "hongo blanco de maguey", entre otros nombres.

Independientemente del valor comercial de los agaves, el beneficio ecológico que representan para la conservación de los suelos debería ser una razón más para su conservación, pero así como muchas otras plantas, son objeto de una explotación desmesurada que ha traído como consecuencia la disminución de sus poblaciones y por ende la de los organismos asociados con ellos, tal es el caso del hongo de maguey, cuyo crecimiento se presenta en sólo algunos individuos de una población en particular.

En el presente trabajo se realizó la caracterización y evaluación del potencial de cultivo de un hongo comestible silvestre (*Pleurotus opuntiae*) que crece en la base de magueyes cultivados en algunas regiones de México y que además pertenece a un género, donde la mayoría de sus especies han logrado cultivarse en diferentes tipos de sustratos lignocelulósicos.

Actualmente se sabe que la tecnología y las prácticas regenerativas y de conservación en la agricultura pueden generar beneficios tanto ecológicos como económicos para los agricultores, las comunidades y las naciones. Un sistema alimentario sano debe basarse en una agricultura ambiental y económicamente sustentable y tener la capacidad de permanecer productivo por un periodo de tiempo considerablemente amplio.

2. ANTECEDENTES

2.1 Diversidad biológica y cultural de México

La República Mexicana está situada en el continente americano. De acuerdo con el ecuador, se localiza en el hemisferio norte y con respecto al meridiano de Greenwich, en el hemisferio occidental entre los paralelos 14°33' N y 32°43' N y entre los meridianos 86° 46' O y 118° 20' O. Su superficie continental es de aproximadamente dos millones de kilómetros cuadrados y por su extensión territorial ocupa el décimo tercer lugar entre los países más grandes del mundo. Es atravesado por el trópico de cáncer por lo que el país se extiende a lo largo de dos zonas térmicas; no obstante, debido a las cadenas montañosas y a los sitios que se encuentran a gran altura, el clima imperante al sur del Trópico es templado y tropical sólo en las costas; en cambio, al norte del mismo se presenta clima árido o seco (Trillas Atlas, 1980).

México es considerado entre los 11 países megadiversos del mundo, con una amplia variedad de reptiles, anfibios y mamíferos principalmente. Presenta también una variedad muy grande de condiciones fisiográficas que determinan regímenes climáticos muy característicos, debido a su particular ubicación geográfica, ya que en propias palabras de Ramamoorthy *et al.* (1988), gran parte del territorio se encuentra dentro del "cinturón genético" que circunda el mundo y se ubica entre los trópicos de cáncer y capricornio que le confieren parte de esas condiciones particulares.

2.1.1 Diversidad biológica

El número total de especies del globo terráqueo es tema de acaloradas discusiones, que resultan en el incremento de este número tras casi toda nueva investigación al respecto (Challenger, 1998).

La diversidad de especies no se distribuye uniformemente en el planeta; las regiones tropicales son las que albergan la mayor proporción de la diversidad del globo. Quizás de 50 a 80% de la diversidad biológica del mundo se localice en unos seis o doce países, en donde México forma parte de ellos, pues se calcula que alberga entre 8 y 12 % del total de las especies que se distribuye en los seis principales hábitats terrestres del país (Mettermeir, 1988; Toledo y Eccardi, 1989; Mettermeir y Mettermeir, 1992 citados por Challenger, 1998).

Este patrón es válido para los grupos de organismos mejor conocidos, es decir, plantas, vertebrados terrestres y mariposas (Toledo y Ordoñez, 1998), no así para el grupo de hongos.

Las estimaciones mundiales más aceptadas del número total de especies de hongos varían considerablemente entre 1 y 1.5 millones, por lo que sólo se conoce entre el 4 y el 4.5% de su biodiversidad mundial. Se ha utilizado una relación 6:1 entre las especies de hongos y plantas para arribar a las estimaciones más altas, considerando además la relación que existe entre ellos con los insectos y otros animales (Hawksworth 1991, 1993, May, 1996). Varios micólogos que están trabajando en zonas tropicales consideran que esta relación, así como la estimación mundial de 1.5 millones de especies de hongos calculada sobre esa base, son todavía muy bajas (Lodge, 2001).

En México se conocen actualmente más de 6,000 especies de hongos repartidas en aproximadamente 2,000 micromicetos y 4,000 macromicetos, incluyendo en estos últimos los líquenes y los mixomicetos lo que representa el 6% de la micobiota nacional. Para el cálculo total se han considerado diferentes criterios considerando los organismos saprobios, simbioses y parásitos de fanerógamas y animales de donde se obtiene una cifra de 175,000 especies (Guzmán, 1995).

2.1.2 Diversidad cultural

La pluralidad cultural del México contemporáneo se refleja en la resistencia y permanencia de la civilización mesoamericana, expresada en los 56 grupos indígenas, que se encuentran dispersos en los aproximadamente 2 millones de kilómetros cuadrados del territorio nacional, con una población de 9 millones (INEGI, 2000) es decir, el 10 % de los cerca de 95 millones de habitantes de todo el país.

Existe una relación muy estrecha entre los asentamientos indígenas y las concentraciones de los recursos naturales de valor ambiental y de la biodiversidad. Más del 30% de las áreas clave protegidas en el país están asociadas con poblaciones indígenas y se ha demostrado que en algunos grupos culturales, los sistemas indígenas de conocimiento de la naturaleza y los sistemas de taxonomía folk pueden tener un papel vital en muchos aspectos prácticos de su subsistencia tradicional (Toledo *et al.*, 1985); en Michoacán por ejemplo, los purépechas tienen un sistema completo de clasificación de los hongos o *terekuicha* (flores de la tierra), basado en la forma, el color, la consistencia y el hábitat, que son las mismas características que utiliza la ciencia occidental (Mapes *et al.*, 1981).

Aunque cada grupo étnico indígena presenta características propias, por lo general todos ellos ocupan áreas que destinan a varias actividades, como la agricultura, ganadería, pesca y silvicultura. Tienen un gran conocimiento del medio que los rodea y del aprovechamiento de plantas, hongos y animales, ya sea como alimento o bien como medicamento.

México ha sido considerado un país multicultural, multilingüístico y megabiodiverso. La pluralidad indígena, interactuando con las diferentes poblaciones mestizas, así como con su entorno, han permitido evidenciar este hecho.

2.2 Las zonas áridas y semiáridas de México

Las zonas áridas y semiáridas comprenden la más extensa zona ecológica con una superficie de casi la mitad del territorio nacional (Toledo y Ordóñez, 1998). Sin embargo, su baja productividad biológica y la escasez de vegetación significan que su diversidad florística total es pobre respecto al área que ocupa. Aunque esos factores contribuyen a generar la creencia popular de que los ecosistemas de matorral xerófilo son comunidades bastante desoladas desde el punto de vista biológico, a esa idea se contraponen el hecho de que el endemismo de la flora y fauna alcanza más del 60%. Su biodiversidad local y regional está relacionada con fenómenos sucesionales casi desconocidos fuera de las comunidades del matorral xerófilo, así como con adaptaciones que permiten a las plantas sobrevivir en los ambientes más extremos. Estos ecosistemas se cuentan entre los de mayor complejidad ecológica a pesar de que también están entre los de mayor sencillez estructural (Flores-Villela y Gerez, 1994; Challenger, 1998).

Aunque las selvas húmedas son el hogar de cerca de la mitad de las especies del mundo (Challenger, 1998), desde una perspectiva biogeográfica los matorrales xerófilos y los pastizales semidesérticos de las zonas áridas y semiáridas tienen una flora y fauna en que abundan los endemismos. Según los datos que se presentaron en una reciente revisión acerca del estado de conservación de los ecosistemas de México (basada en fuentes gubernamentales como SAHOP, 1981, y SARH, 1992 citados en Flores Villela y Gerez, 1994), cerca de una tercera parte de la vegetación de matorral xerófilo ha sido alterada por las actividades antropogénicas, de modo que las dos terceras partes restantes contienen vegetación primaria intacta y representan más de la mitad de toda la vegetación natural que queda en México; es precisamente en estos sitios donde crecen los agaves, sobre los cuales se desarrolla *Pleurotus opuntiae*, motivo del presente estudio.

2.2.1 Aspectos generales de los agaves

México tradicionalmente ha sido considerado como el centro de origen de muchos taxa y el centro mundial más importante de evolución de los cactus, particularmente de la familia Agavaceae, a la cual pertenecen ocho géneros. De las 273 especies descritas de esta familia que se distribuye en el continente americano –desde Dakota del Norte, EUA, hasta Bolivia y Paraguay– en México se encuentra la mayor diversidad con 205 especies, de las cuales 151 son endémicas. Los estados más ricos en número de especies son Oaxaca, Chihuahua, Sonora, Coahuila, Durango y Jalisco (Gentry, 1982; Challenger, 1998; García Mendoza, 1999).

El maguey, tan importante en la vida de lo aztecas no sólo por el octli (pulque) que extraían de él sino por sus muchos usos, fue deificado con el nombre de Mayahuel, la diosa, que tenía cuatrocientos pechos para alimentar a sus cuatrocientos hijos con los que simboliza su poder nutritivo y su capacidad para reproducir la vida. Hoy día, como desde hace siglos, los magueyes o agaves caracterizan los paisajes de las zonas áridas y semiáridas de nuestro país. Su aprovechamiento es impresionante ya que se realiza sobre cada una de las partes que integran este recurso, así como también algunos organismos asociados con ellos, además de resaltar el hecho de que a través de las diferentes estaciones del año, siempre se han tenido elementos de recolección. (Bahre, y Bradbury, 1980; Rangel, 1987).

Tanto los grupos recolectores-cazadores del Altiplano Mexicano hasta los grupos sedentarios con prácticas agrícolas ya definidas, muestran la importancia que han tenido y siguen teniendo estos vegetales dentro de una economía de subsistencia y como parte intrínseca de sus culturas, así mismo los antiguos pobladores dieron al agave un nuevo medio en donde lo cultivaron y cuidaron con esmero a la vez que fue mejorado por hibridación y selección (Gentry, 1982).

2.2.2 Aspectos taxonómicos de los agaves

En la Altiplanicie Mexicana es donde se encuentran los agaves con caracteres más primitivos y de alta variabilidad genética, particularmente en las zonas áridas y semiáridas. Estos vegetales bajo todas estas condiciones, han originado que sean objeto de una multitud de usos además de que han sido sometidos a diferentes presiones de selección por algunos grupos humanos influenciados por la necesidad y aprovechamiento de la gran variación de ambientes en donde ellos crecen, así como por la gran plasticidad que presentan (Rangel, 1987). Tal vez por estas características, no sólo por el aguamiel y el pulque, sino por la planta misma es que fueron muy apreciados por los antiguos náhuas. Las especies de las cuales se obtiene el pulque son *Agave salmiana*, *A. mapisaga* y *A. atrovirens*, los cuales se distribuyen principalmente en el Valle de México en los estados de México, Tlaxcala, Hidalgo y Puebla (Rangel, 1987; Challenger, 1998).

2.2.2.1 Descripción de *Agave salmiana*

Agave salmiana Otto ex Salm.-Dyck
= *A. cochlearis* Jacobi

Planta comúnmente con vástagos, roseta laxa, de 80 cm a 2 m de alto por 1.2 a 2.5 m de diámetro; hojas linear-lanceoladas o lanceoladas ocasionalmente oblanceoladas, de 70 cm a 2 m de largo por 16 a 40 cm de ancho, hacia la base marcadamente convexas en la cara exterior y cóncavas o hasta acanaladas en la cara interior, ápice largamente acuminado y con una curvatura sigmoidea más o menos marcada, carnosas o casi rígidas, de color verde claro, a veces verde-amarillentas o verde-glaucas, en este último caso la cara exterior puede ser zonada, las impresiones de los dientes de las hojas adyacentes son evidentes, espina terminal de 4.5 a 10 cm de longitud, recta, excavada en su cara interior, ampliamente decurrente, en ocasiones hasta la mitad o por todo el margen de la hoja, márgenes repandos, ocasionalmente mamilados o casi rectos, dientes de 5 a 10 (17) mm de largo, planos, de color café rojizo oscuro a grisáceos, rectos o más a menudo recurvados; inflorescencia con panícula amplia, de 3.5 a 8 m de largo, con (9) 15 a 20 ramas, pedúnculo fuerte, cubierto por brácteas carnosas e

imbricadas; flores de 7 a 11 cm de largo, de color amarillo o amarillo-verdoso, tubo de (13) 17 a 24 mm de largo, surcado, segmentos de perianto lanceolados, de 21 a 25 (33) mm de longitud por 3.5 a 6 mm de ancho, ápices cuculados y pilosos, márgenes involutos, los de la serie interna ampliamente aquillados; anteras linear-oblongas, de 30 a 35 mm de longitud; cápsula oblonga elipsoide, de 5.5 a 7 cm de largo por 2 a 2.4 cm de diámetro, apiculada, estipitada, de color café oscuro; semillas lacrimiformes, de (6) 8 a 9 mm e longitud por 5 a 7 mm de ancho, muesca hiliar somera, apical. Representa la especie de maguey más ampliamente explotada en la región pulquera. Se conoce de Coahuila a Oaxaca (Rzedowski y Calderón, 2001).

Dentro de las especies productoras de aguamiel, sin duda *A. salmiana* es la especie que presenta formas muy numerosas dentro de las poblaciones cultivadas y silvestres. La especie es reconocida generalmente por sus hojas de color verde con largos ápices acuminados y sigmoideos, anchas, fuertes y carnosas; brácteas pedunculares grandes, y panículas grandes de forma piramidal. Las flores son muy carnosas; los tépalos dimorfos, estrechos doblados hacia el interior. Esta variedad es la más ampliamente cultivada en todo el estado de Hidalgo; su distribución comprende los estados de Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, San Luis Potosí, Querétaro, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos, Durango, Zacatecas, Colima y el Distrito Federal, (Gentry, 1982). A este maguey se le encuentra de preferencia plantado en terrenos planos, aunque también montañosos, desde suelos profundos a superficiales del tipo castañozem cálcico, vertisol crómico, feozem háplico, rendzina y litosol; en alturas que van de 1,500 a 2,400 msnm (Rzedowski, 1978).

Se reproduce por semilla o por yemas que brotan del tallo, produciendo de esta manera hijuelos que están unidos por medio del rizoma a la planta madre en número de 10 a 20. La roseta alcanza el estado de madurez entre los 8 y 13 años de edad; en septiembre y octubre nace el escapo y crece hasta alcanzar su altura normal al mismo tiempo que se produce el desarrollo de las panículas florales; en mayo y junio se presenta la floración (antesis) las cápsulas llegan a la madurez en octubre y noviembre (Rangel, 1987).

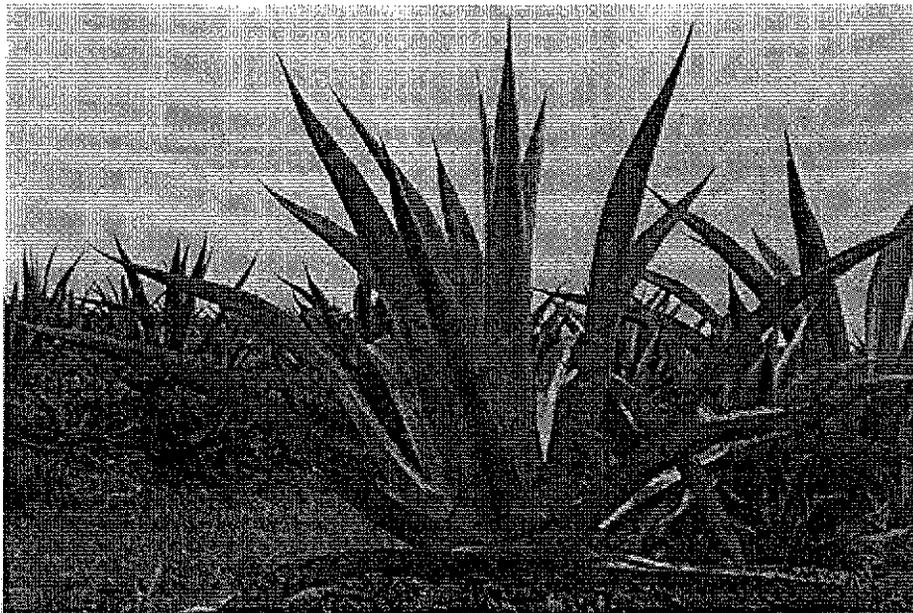
A. salmiana correspondió en todos los casos, a la especie donde crecen los basidiocarpos de *P. opuntiae* recolectados para la realización de este trabajo (Fotografía 1).

2.2.2.2 Clasificación taxonómica

Supereino: Eucariota
Reino: Plantae
División: Anthopyta
Clase: Monocotiledónea
Orden: Liliales
Familia: Agavaceae
Género: *Agave*
Subgénero: *Agave*
Especie: *A. salmiana*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(Rzedowski y Calderón, 2001)



Fotografía 1. *Agave salmiana*, Acatlán, Hgo.

2.2.3 Interacción *Pleurotus-Agave*

Las interacciones entre organismos vivos se establecen entre dos ó más especies y pueden variar en su naturaleza e intensidad pudiendo ser de dependencia absoluta o de relación facultativa. Son determinadas por diferentes factores físicos, químicos y/o biológicos y en su forma más simple pueden ser negativas o positivas, para una o ambas especies.

Las relaciones entre las especies nacen a lo largo de miles y millones de años a través del proceso de selección natural, que parecen ser un componente esencial de la estrategia de vida de los organismos, permitiéndoles adquirir una porción adecuada de los recursos del ambiente para crecer, sobrevivir y en última instancia, reproducirse, seleccionando además diferentes características (morfología, fisiología, conducta) en cada especie para una mayor y mejor descendencia. Esta relación puede ser saprótrofa, simbiote o parásita y muchas veces son la clave de la sobrevivencia de una o de todas las especies involucradas (Starr y Taggart, 1978 citados en Challenger, 1998).

Los primeros en invadir las hojas vivas son endófitos simbiotes, algunos de los cuales son hospedero específicos. Muchos son parásitos que causan enfermedades pero como infecciones leves y han sido descritos como simbiotes neutrales

En el estado de Hidalgo particularmente, algunos de los organismos que crecen asociados con los agaves, son los hongos. En el Valle del Mezquital crece uno conocido como "hongo rojo" u "hongo de maguey" (el cual hasta el momento no ha sido determinado) que es utilizado para la tos y el "sarampillo". Se toma una infusión hecha de este hongo, en la mañana y en la noche diariamente tanto para niños como para adultos hasta que el enfermo sane (Rangel, 1987). Este mismo autor reporta dos hongos comestibles; por un lado otro "hongo rojo" al que conocen como "thenjot'a" en otomí, que crece extendido como tortilla en la base y sobre ambas caras de la hoja y que se prepara y come igual que el hongo blanco que se menciona a continuación;

pertenece a la familia Tremellaceae; se recolecta fresco de agosto a octubre y seco en los otros meses de año.

Por otro lado, el hongo blanco o bien "t'axjot'a", crece sobre las hojas basales más cercanas al suelo y también dentro de la cavidad de los magueyes. Se prepara y come en mole, también horneado y envuelto en un pedazo de hoja tierna de maguey u hoja de elote, se le pone cebolla, ajo, chile y sal, tarda una hora en cocerse. Se recolecta en tiempos de aguas, generalmente de agosto a octubre. También es secado y molido para preparar quesadillas agregándole chile. Este hongo crece asociado a *Agave salmiana* y se trata de *Pleurotus opuntiae*, aunque el tipo de interacción que se establece entre ellos no ha sido establecido.

2.2.4 Producción de residuos agrícolas en México

La historia de la alimentación en México se relaciona directamente con la agricultura; el maíz, la calabaza, el chile y el jitomate que fueron los primeros alimentos del mexicano ya que crecían en forma silvestre. Por su resistencia a condiciones variables, el maíz pudo ser cultivado junto con el frijol y la calabaza, así, surge un tipo de agricultura que estaba destinada a alimentar a la población. Diez por ciento del territorio mexicano (unos 20 millones de hectáreas) se dedica a la producción agrícola (Toledo, 1998). Los cultivos de frutas, verduras y granos que abastecen a la ciudad de México, Guadalajara y otros se concentran sobre todo en las selvas altas templadas del centro del país (Challenger, 1998).

México refleja el cambio de una economía de producción primaria, basada en actividades agropecuarias y mineras, hacia una nación semi-industrializada. Cerca del 28% de la fuerza de trabajo mexicana se dedica a la agricultura y un número sustancial de trabajadores agrícolas trabajan en propiedades ejidales o comunales. La producción agrícola está sujeta a grandes variaciones en los regímenes de lluvia, por lo que, a grandes rasgos, debe considerarse a la República Mexicana como un país semiárido. No

obstante, no sólo genera los productos para la mayoría de sus necesidades básicas, sino que también exporta parte de su producción. Al comienzo de la década de 1990 los principales productos agropecuarios de México fueron: maíz (13,5 millones), trigo (4,1 millones), cebada (584,000), arroz (354,000), frijol o judía (1,4 millones), papas (999,000), café (299,000), algodón (202,000), caña de azúcar (36,7 millones), frutas y verduras, así como ganado (SAGAR, 2000).

La agricultura, la explotación forestal, la caza y la recolección tradicionales en pequeña escala dentro de los ecosistemas de zonas áridas, no sólo permite obtener una subsistencia generalmente adecuada, al mismo tiempo que se conserva, sino que en ciertas circunstancias llega a incrementar la heterogeneidad del hábitat y la biodiversidad asociada con éste (Reichhardt *et al.*, 1994 citado por Challenger, 1998).

En las áreas de matorral xerófilo que no padecen de aridez extrema se intenta de cuando en cuando la agricultura de temporal. Aparte del maíz, los cultivos que se siembran con mayor frecuencia son la cebada y el sorgo; en Hidalgo, Tlaxcala y el Estado de México, las plantaciones de *Agave salmiana* y *A. atrovirens* destinadas a la producción de pulque, cubren extensas áreas de los cerros (Rzedowski, 1978). Estas especies tienen especial importancia en las partes semiáridas y templadas subhúmedas del altiplano meridional (es decir, Querétaro, Hidalgo y el Valle de México) donde quizá fueron domesticados (Challenger, 1997). La producción indígena de pulque se incrementó durante el periodo colonial y debió surgir como consecuencia de la pérdida de humedad de suelo, ya que hacia finales del periodo colonial, algunas de las que habían sido las mejores tierras de cultivo se dedicaron a producir pulque (Gibson, 1967 citado en Challenger, 1998).

Los sustratos usados para cultivar hongos generalmente provienen de productos de desechos, tales como la paja, aserrín, bagazo, etc. Esto ofrece al productor una forma de aprovechar los residuos antes de ser reciclados o en el peor de los casos formar parte de contaminación.

En el estado de Hidalgo, por ejemplo, se generan enormes cantidades de estos desechos lignocelulósicos contenidos en residuos tales como la cebada y el trigo principalmente; estos materiales constituyen excelentes sustratos en la producción de hongos como *Pleurotus* spp. (Tabla 1). Todos estos residuos son un recurso renovable que representa una fuente de materia prima para la producción de alimento humano, animal y energía. Gran parte de la lignocelulosa disponible, es de bajo valor y es subutilizada, sin embargo, es la generada por la producción agrícola y forestal (Lu *et al.*, 1988).

Tabla 1. Resultados del año agrícola 1997

Cultivos sembrados en el estado de Hidalgo relacionados con la producción de hongo seta (sustrato y/o semilla)

CULTIVOS	SEMBRADA (HAS)	SINIESTRADA (HAS)	COSECHADA (HAS)	VOLUMEN PRODUCCIÓN (TON)	RENDIMIENTO OBTENIDO (TON/HAS)	VALOR DE LA PRODUCCIÓN (PESOS \$)
GRANOS						
MAIZ	292,588.28	78,182.50	214,405.78	465,225.38	2.17	620,584,633.00
FRIJOL	52,039.97	15,810.75	36,229.22	22,328.78	0.62	139,849,775.00
TRIGO	19,930.00	4,071.81	15,858.19	31,547.15	1.99	38,085,035.00
CEBADA	102,776.44	2,430.00	100,346.44	135,770.48	1.35	184,492,574.00
AVENA	584.02	0.00	584.02	1,294.43	2.22	1,514,145.00
HABA	266.61	5.00	261.61	184.12	0.70	1,077,840.00
ARVEJON	422.15	0.00	422.15	413.44	0.98	2,072,960.00
GARBANZO	18.00	0.00	18.00	46.00	2.56	120,000.00
SORGO	90.00	0.00	90.00	999.50	11.11	1,017,100.00
HORTALIZAS						
HABA VERDE	401.50	92.00	309.50	814.30	2.63	2,031,990.00
FRIJOL EJOTERO	2,216.00	157.75	2,058.25	11,344.00	5.51	33,928,500.00
CHICHARO	1,141.00	127.00	1,014.00	3,536.00	3.49	14,038,700.00
FORRAJES						
CEBADA	2,505.00	740.00	1,765.00	25,989.50	14.72	3,460,254.00
NABO (COLZA)	1,225.00	10.00	1,215.00	13,988.00	11.51	4,579,230.00
SORGO	10.00	0.00	10.00	87.00	8.70	52,400.00
MAIZ	419.00	0.00	419.00	17,555.00	41.90	3,281,520.00
PASTO	569.00	0.00	569.00	43,311.00	76.12	2,757,315.00
AVENA	4,916.50	69.25	4,847.25	70,545.73	14.55	14,587,443.00
TRIGO	260.00	0.00	260.00	1,880.00	7.23	1,989,000.00

instalaciones económicas con una biotecnología sencilla provocando un bajo impacto ecológico; obtención de alimento con alto valor nutritivo que ha demostrado tener una buena aceptación por parte de los consumidores, entre otros (Chang y Quimio, 1982).

Los países de oriente fueron los primeros en desarrollar algunas de las técnicas de cultivo de hongos comestibles. Desde hace por lo menos dos milenios, chinos y japoneses cultivan muchas especies, entre ellas el famoso shiitake (*Lentinula edodes*) y dos siglos antes de Cristo los griegos ya cultivaban champiñones sobre estiércol (Blumenfeld, 1998).

Según los registros históricos, la primera especie que se cultivó a nivel mundial en el año 600 d. C. fue *Auricularia auricula*, (Chang, 1993), y es a principio del siglo XX cuando se da inicio al cultivo de *Pleurotus ostreatus*, que ya era recolectado y consumido en diversas regiones de Europa durante la posguerra; se trataba de producir alimentos ricos en proteínas. Desde 1948, su cultivo se expandió notablemente con base en los trabajos de investigación realizados en Alemania, Checoslovaquia y Hungría (Blumenfeld, 1998).

Tabla 2. Especies de *Pleurotus* que han sido cultivadas en diferentes épocas (Chang, 1993).

Año	Especies
1900	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.: Fr.) Kumm.
1958	<i>Pleurotus florida</i> Eger
1962	<i>Pleurotus flabellatus</i> (Berk. & Br.) Sacc.
1969	<i>Pleurotus cystidiosus</i> Miller
1974	<i>Pleurotus sajor-caju</i> (Fr.) Sing.
1981	<i>Pleurotus citrinopileatus</i> Sing.

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* se inició bajo condiciones naturales, es decir, sobre troncos y tocones, expuestos a las variaciones ambientales, posteriormente se realizó en casas de cultivo bajo condiciones menos adversas y en el mejor de los casos, controladas. Al mismo tiempo, se inicia la utilización de sustratos alternativos ricos en lignocelulosa como pajas, aserrines, bagazo, etc.

Como se menciona más adelante, diversos sustratos se han estado probando al mismo tiempo que otras especies y variedades de *Pleurotus*, de acuerdo con la cronología que se presenta en la tabla 2.

Tabla 3. Comparación de la producción mundial de hongos comestibles cultivados de 1986 a 1996 (Chang, 1996).

Especies	1986		1996		Incremento %
	1000 ton	%	1000 ton	%	
<i>Agaricus bisporus/bitorquis</i>	1,215	55.8	1,846	37.6	51.9
<i>Lentinus edodes</i>	320	14.7	826	16.8	158.1
<i>Volvariella volvacea</i>	178	8.2	299	6.1	68
<i>Pleurotus spp.</i>	169	7.8	797	16.3	371.6
<i>Auricularia spp.</i>	119	5.5	420	8.5	301
<i>Flammulina velutipes</i>	100	4.6	230	4.7	130
<i>Tremella fuciformis</i>	40	1.8	156	3.2	290
<i>Pholliota nameko</i>	25	1.1	27	0.6	8
<i>Hypsizygus marmoreus</i>	-	-	55	1.1	-
<i>Grifola frondosa</i>	-	-	14	0.3	-
Otros	10	0.5	239	4.8	2,290
TOTAL	2,176	100.0	4,909	100.0	125.6

La producción de hongos en los últimos 5 años ha aumentado en un 96.5%, con un incremento anual del 19.3%. La producción entre 1986 y 1991 revela que el cultivo de todos los hongos se ha incrementado en este período en un 30.9% para *Agaricus* y sobre un 442.6% para *Pleurotus*. Por otra parte, los porcentajes totales en el mundo, en cuanto a la producción de *Agaricus* y *Lentinus* han descendido a consecuencia del incremento en la producción de otros hongos comestibles cultivados, particularmente *Pleurotus* (Chang, 1993). Actualmente, este género se sigue colocando en los primeros lugares, después de *Agaricus* (Tabla 3).

España es el mayor productor de *Pleurotus* spp. de todos los países hispanohablantes, produciendo aproximadamente 11,640 toneladas en 1998 (alrededor del 1.5% del total mundial); cerca de tres veces la producción total de todas las demás naciones americanas (Sánchez y Royse, 2001).

En el cultivo comercial de hongos comestibles, continuamente se investigan nuevos sustratos para aumentar los rendimientos y disminuir los costos de producción (Martínez-Carrera *et al.*, 1990). Diferentes trabajos han demostrado que los hongos comestibles se pueden cultivar con éxito en residuos agrícolas y/o industriales. Particularmente, el género *Pleurotus* ha sido cultivado en diferentes sustratos como: paja de trigo, rastrojo de haba y frijol, paja de cebada y trigo, lirio acuático, pañal desechable, bagazo de caña de azúcar, bagazo de citronela, bagazo de maguey tequilero, pulpa y desechos del procesamiento del café, desechos de cáscara de cocoa, cascarilla de algodón, tamo, hoja y olote de maíz, paja de arroz, madera y residuos de lino, entre otros. También han sido utilizadas algunas especies de plantas donde se ha reportado el crecimiento de este género: troncos vivos de higuera (*Ricinus comunis* L.), palo mulato (*Bursera simaruba* Sarg.), yuca (*Yuca elephantipes* Regel), cazahuate e izote (Imbernon *et al.*, 1983; Guzmán y Martínez-Carrera, 1985; Martínez Carrera *et al.*, 1985; Lanzy, 1986; Guzmán-Dávalos *et al.*, 1987 a, b; Acosta-Urdapilleta *et al.*, 1988; Thielke, 1989; Senyah *et al.*, 1989; Kalkarni, 1989; De León-Choocoj, 1990; Martínez-Carrera *et al.*, 1990; Sobal *et al.*, 1993; Rinker, 1991; Bernabé *et al.*, 1993; Bermúdez *et al.*, 1994; Bernabé, *et al.*, 1994).

2.3.2. Los hongos comestibles en México

El hombre ha utilizado los hongos como alimento y algunos de éstos han sido considerados delicadezas gastronómicas cuando se consumen entre los ingredientes principales del material nutritivo o, simplemente, como elementos complementarios (Herrera y Ulloa, 1990) por lo que claramente han jugado un papel muy importante en el curso de la culturas mexicanas. Esto ha quedado manifiesto desde épocas prehispánicas, plasmados en códices indígenas, en la época colonial con las descripciones de soldados y misioneros españoles del siglo XVI (Dubovoy, 1968) y a finales del siglo XIX y principios del siglo XX, con los trabajos de algunos naturalistas extranjeros.

Fue precisamente Fray Bernardino de Sahagún en la "Historia General de las Cosas de la Nueva España" el que describe algunas esculturas y pinturas prehispánicas e informa sobre la existencia del hongo divino o "Teonanacatl", haciendo mención también de la utilidad que los hongos tuvieron en la medicina, en festividades y prácticas religiosas, así como en su alimentación (Dubovoy, 1968).

Los indios de México agrupaban a los hongos en una gran familia denominada "nanacame" o "nanácatl". Dentro de esta familia ellos distinguieron diversos tipos de hongos. Los comestibles eran llamados "iztanacame", y se dividían en cuatro categorías basándose principalmente en su color: iztanacame: hongos blancos, tlapalnanacame: hongos rojos, chimalnanacame: hongos amarillos, teyhuinti: hongos donde el color va de rojo a negro; o bien según su forma: tzontecomananácatl: hongo redondo y grande, xelhuauznanácatl: hongo cilíndrico y estriado, chimalnanácatl: hongo redondo, blanco, en forma de ostra y frágil; comestible y medicinal, zacananácatl: hongo con el estípote largo, delgado y pardo, píleo aplanado; comestible y medicinal, cuahnnanácatl: hongo comestible, se le come asado, xochinanácatl: hongo flor, tepexinanácatl: hongo de montaña, ixtlahuacannanácatl: hongo de la pradera, mazahuacananácatl: hongo de los lugares frecuentados por los ciervos, y

teyhuintinanácatl: hongo que produce embriaguez (Pérez-Silva, 1978). Posiblemente el género *Pleurotus* fuese llamado chimalnanacatl.

Los aztecas conocían más de 50 especies de hongos en su mayoría comestibles (Martín del Campo, 1968). Actualmente se conocen 204 especies agrupadas en 77 géneros y 32 familias (Villarreal y Pérez Moreno, 1989).

México también ha sido considerado como micófilo, por lo que muchas de estas tradiciones se mantienen hasta nuestros días mediante prácticas familiares de recolección en épocas debidamente caracterizadas.

Cuando existen productos sobrantes de su trabajo, la comunidad los vende en mercados locales, donde se concentra la gente; es el caso de los hongos nativos, cuya recolección ha sido considerada como una actividad extra-agrícola y como resultado, aportan beneficios económicos complementarios. Representan una proporción del 0.2-19.2% de todos los beneficios obtenidos de las actividades agrícolas y extra-agrícolas. De la misma manera, la biotecnología de los hongos puede ser adoptada y adaptada a estas comunidades manteniendo un balance con sus propias actividades ofreciendo beneficios económicos, oportunidades de trabajo y alimento (Aguilar *et al.*, 2002; Pellicer-González *et al.*, 2002).

Estas prácticas desarrolladas por los "hongueros", como se le conoce a los recolectores de hongos, se realizan con fines de autoconsumo o comercialización a baja escala, en los mercados populares de poblaciones aledañas; de la misma manera como seguramente se realizaba en los mercados prehispánicos. Sin embargo, dicha tradición, vasto conocimiento y riqueza de especies se está perdiendo paulatinamente debido a la destrucción de las regiones boscosas del país y al proceso de transculturación a que están siendo sometidos los grupos étnicos, (Villarreal y Pérez Moreno, 1989).

2.3.3. El cultivo de los hongos comestibles en México

En épocas recientes se ha presentado en México un marcado interés por la producción comercial de hongos comestibles, en particular por las especies del género *Pleurotus*, debido a las diversas ventajas que presenta, y en especial por la posibilidad de producir alimentos de alto valor nutritivo empleando residuos agrícolas como sustrato (Zadrazil y Kurtzman, 1982).

La tecnología que se ha desarrollado en México para este hongo, ha sido tomada de diferentes países como Estados Unidos, Japón, Alemania y Holanda, entre otros, por lo que ha sufrido cambios constantes en el proceso, pero independientemente de ello ha tenido gran aceptación sobre todo en el sector rural.

El cultivo de hongos comestibles en nuestro país por primera vez tuvo lugar en 1933, en un rancho cercano a Texcoco, Estado de México (Martínez-Carrera *et al.*, 1991), iniciándose con el champiñón, pero la tecnología para producir *Pleurotus* spp. es introducida a mediados de los setenta con un gran número de productores pequeños que han surgido y desaparecido sucesivamente. Actualmente su producción está en aumento en diferentes estados de la república. La empresa Hongos Leben, que es considerada como la principal productora de setas, con una producción de 4 toneladas por día, representa el 80% del producto que llega al mercado (Leal-Lara 1998, *com. pers.*).

En América Latina y específicamente en México, su cultivo ha sido considerado, como una tecnología poco desarrollada (Villegas de Gante, 1996), a pesar de la potencialidad que existe en la región para cultivar hongos que crecen en forma silvestre y por la tradición por su consumo.

A México se le ha considerado como el principal productor de *Pleurotus* spp. en América (Tabla 4); durante el periodo 1990-1997 se observó un incremento en la producción de esta especie superior al 400%. En este último año se estimó una producción de 1,825 toneladas, lo cual significó un nivel de producción comercial de una 5 ton/día (Martínez-

Carrera, 1997; Sobal *et al.*, 1997; Leal Lara 1998, este último citado por (Sánchez y Royse, 2001).

Existen en nuestro país diferentes instituciones que se han abocado al estudio de diferentes aspectos de investigación de los hongos comestibles. Se espera que estos grupos evolucionen y se consoliden en el transcurso de los próximos 5-10 años, para poder contribuir científica y tecnológicamente al desarrollo de la producción rural y comercial de los hongos comestibles (Martínez-Carrera *et al.*, 2000).

Tabla 4. Producción estimada (peso fresco) de *Pleurotous* spp. en algunos países de América (Sánchez y Royse, 2001).

PAÍS	TONELADAS	%
México	1,825	47.53
Estados Unidos	908	23.65
Canadá	568	14.79
Brasil	450	11.72
Guatemala	22	0.57
Venezuela	18	0.47
Cuba	12	0.31
Colombia	9	0.23
Otros	28	0.73
Total (AMER)	3,846	100.00

Actualmente, su cultivo se está desarrollando de manera rápida en el entendido de que las técnicas de cultivo no deben copiar a los sistemas sofisticados de los países industrializados, sino adaptarse a las condiciones regionales, basándose en las técnicas sencillas que resulten de la investigación local, combinadas con un buen programa de extensión y asesoría coordinado por instituciones y/o organismos estatales y federales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.3.4 Propiedades medicinales de *Pleurotus*

El uso de los hongos dentro de la medicina ha sido una práctica común entre las diferentes etnias de México, aún antes de la colonia, llegándose a emplear en algunos lugares de la República Mexicana, como el estado de Oaxaca, donde en la época de los 70's tomaron gran auge saliendo a la luz las prácticas mágico-religiosas que realizaba María Sabina, considerada como la chamana más importante en lo que al uso de hongos alucinógenos se refiere.

Aunque los efectos medicinales de los hongos comestibles y de otros macromicetos no han sido explotados, no por eso han dejado de ser explorados. Al género *Pleurotus* se le han encontrado diferentes propiedades medicinales: compuestos antibacterianos como poliacetilenos, efectos antitumorales (Cochran, 1978), cura el efisema pulmonar y ayuda al mejor funcionamiento del hígado y de los riñones, así como en los desórdenes digestivos, constipación, fiebre, presión arterial y aún contra la viruela (Oso, 1977; Singer, 1986; Stamets, 1983, Stamets, 1993). También se ha investigado que *P. ostreatus* previene el progreso de la hipercolesterolemia, así como la acumulación de colesterol en el hígado (Bobek *et al.*, 1995).

Algunas empresas como Fungi Perfecti, han estado introduciendo al mercado diferentes productos de especies de hongos medicinales en diferentes presentaciones (cápsulas, té, extractos y hongos secos) y aunque no se venden propiamente como medicamento, se especifican algunas de sus propiedades antitumorales, reforzadores del sistema inmune, entre otras.

2.3.5 Propiedades nutrimentales

Aunque los hongos han sido apreciados por su sabor y textura y algunos por sus atributos medicinales o tónicos, el reconocimiento de su valor nutritivo es muchos más reciente. Actualmente se sabe que el valor nutrimental de los hongos comestibles es

notable, ya que constituyen una magnífica fuente de proteínas por contener hasta 35% en base seca. Este dato es significativo si se compara con el 13.2% del trigo y 25.2% de la leche. Contienen vitaminas como la B₁, B₂, B₁₂, C, D, niacina y ácido pantoténico, así como ácidos grasos insaturados y un bajo contenido calórico; tienen una alta proporción de ácidos grasos insaturados, además de fibra y minerales; son bajos en calorías, sodio, grasas y colesterol). El valor de las proteínas es determinado por la clase de aminoácidos que las forman y se caracterizan por contener casi todos los aminoácidos esenciales (Bassous *et al.*, 1989; Oei, 1991; Martínez-Carrera *et al.*, 1993).

Por otra parte resulta complicado comparar los resultados obtenidos por diferentes investigadores, aunque ellos estén trabajando con la misma especie, dado que la composición de dichas especies es afectado por muchas variables (Crisan y Sands, 1978 *In* Chang, 1978). En los anexos 1 y 2 se presentan algunas propiedades nutrimentales para el género *Pleurotus*, presentadas por (Bano y Rajarathnam, 1982) quienes lo comparan con otras especies de hongos comestibles y el huevo.

Diversos estudios han demostrado que distintos grupos de hongos contienen cantidades apreciables de ergosterol que es una sustancia precursora de la vitamina D₂ (Turner y Aldridge, 1983, citados por Trigos y Martínez-Carrera, 1992) encontrado en bajas cantidades en *P. ostreatus* que se incrementan en ausencia de luz hasta en un 200% (Trigos *et al.*, 1994 a y b).

2.3.6 Aspectos taxonómicos

2.3.6.1 El concepto de especie fúngica

Aunque se han hecho numerosos intentos para encontrar un concepto de especie que sea ampliamente aplicable a todos los reinos, cada grupo de organismos plantea problemas especiales para los investigadores y el concepto de especie que se ha desarrollado para un grupo de organismos puede no ser completamente aplicable para otros (Carson, 1985).

Los hongos poseen problemas especiales en la diferenciación de las especies, ya que poco se conoce acerca de qué los constituye como individuos; su variación dentro de las poblaciones no ha sido ampliamente examinada; presentan complejidad en la variedad de sus ciclos de vida, los cuales pueden estar sujetos a diferentes procesos evolutivos y como su reproducción (asexual o sexual) es extremadamente compleja, pueden afectar los patrones evolutivos en caminos que no entendemos (Petersen, 1999).

Los tres conceptos de especie que plantea Petersen (1999) y que son los más aplicables para los hongos son: el morfológico (las diferencias morfológicas reflejan las profundas diferencias genéticas y puede implicar un hiatus genético entre dos grupos), el filogenético (las poblaciones pueden estar agrupadas y alinearse como especies sólo si ellas comparten un linaje evolutivo, usualmente expresado como un nodo terminal en un árbol filogenético) y el biológico (la capacidad de los individuos para entrecruzarse).

Tradicionalmente, los caracteres utilizados para identificar a los hongos han sido tomados de la macro y micromorfología del basidioma, entonces la sistemática de los hongos ha estado fundada en el concepto morfológico de especie (Smith, 1968; Clemencón, 1977 citados por Petersen, 1999). Sin embargo, el uso de la morfología para determinar los límites entre las especies ha demostrado ser inadecuado por varias razones: todos los caracteres están basados sólo sobre una parte del ciclo de vida y el cuerpo fructífero es relativamente simple; los hongos de linajes evolutivamente divergentes, pueden compartir caracteres morfológicos similares como consecuencia de su evolución convergente y, finalmente, la plasticidad fenotípica de los hongos es, en gran parte, desconocida debido a que la mayoría de los cuerpos fructíferos son efímeros. El resultado de este problema ha sido una clasificación intuitiva en la que cada taxónomo agrupa y alinea a su propia manera (Petersen, 1999). Por ejemplo, en muchos casos, las diferencias fenotípicas del cuerpo fructífero son muy sutiles y existe desacuerdo si dos grupos son diferentes especies o apenas grupos localmente adaptados pero que llevan a cabo entrecruzamientos.

Uno de los pasos más importantes para determinar las especies de macromicetos, es la detallada y correcta descripción de la morfología de los especímenes cuando éstos están frescos. Para ello, se han desarrollado una multitud de términos descriptivos para cada uno de los caracteres con valor taxonómico (Delgado, 1989). Para esta determinación taxonómica-morfológica, los especialistas han recurrido al uso de muchas características, tanto macro como micromorfológicas, además de reacciones del cuerpo fructífero a varios agentes químicos y aún a la detección de sustratos específicos con papel indicador de pH. La factibilidad con que se obtienen y la utilidad de tales características es muy variable y es muy discutida actualmente por las razones consideradas anteriormente.

Aún así, las identificaciones que se basan exclusivamente en caracteres macroscópicos son aplicables en mayor o menor grado dependiendo del género involucrado, ya que en muchos de ellos los caracteres generalmente son constantes para una especie dada y muy variables de una especie a otra. Por tal motivo, se ha concluido que es necesario utilizar todas aquellas características que lleguen a parecer razonablemente constantes y que sean heredadas de una generación de micelio a la siguiente. Año con año los especialistas siguen encontrando nuevos caracteres y al mismo tiempo reevalúan todos aquéllos que ha sido usados previamente.

El género *Pleurotus* ofrece un excelente sistema para el análisis de la especiación en basidiomicetos por lo que se han llevado a cabo diversos estudios de incompatibilidad en especies como *P. ostreatus* (Sánchez y Royse, 2001).

2.3.6.2 Problemática taxonómica del género *Pleurotus*

La taxonomía del género es muy compleja debido a un alto grado de variabilidad morfológica de los basidiocarpos, la plasticidad fenética y la variabilidad genética, por lo que se han hecho enormes esfuerzos para clasificar las especies por medio de criterios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y genéticos (Sánchez y Royse, 2001). Debido a esta situación, una misma especie puede ser identificada bajo diferentes nombres; es

por ello que los cultivadores, bioquímicos, y aún algunos taxónomos, no utilizan el nombre taxonómico correcto (Hilber, 1989; Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/Default.htm). Esto plantea problemas verdaderamente serios al momento de trabajar con alguna de las especies pertenecientes a este género. Petersen (*op. cit.*) realizó un recuento de la historia taxonómica del género; los investigadores involucrados, los diferentes grupos, el grupo donde se fueron colocando, así como los caracteres que utilizaron para ello (Tabla 4).

Hilber en 1989, cita los nombres no válidos y válidos de algunos taxa para el género *Pleurotus* y sugiere que los taxa dudosos se resuelvan utilizando modernos métodos biosistemáticos.

Tabla 5. Historia taxonómica del género *Pleurotus* (Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/Default.htm).

Micólogo	Año	Grupo	Caracteres
Nees von Esenbeck	1816	<i>Agaricus</i>	Por presentar láminas y estípites
Persoon	1801	<i>Pleuropus</i> (porción de división)	Basidioma sobre madera, estípites lateral o sin estípites)
Fries	1821	Serie <i>Leucosporus</i> dentro de la tribu XII: <i>Pleurotus</i> (infragénero)	Por el color de las esporas y las esporadas
Quélet (aceptado por Fries)	1872	<i>Pleurotus</i> (género)	
Kummer	1871	<i>P. ostreatus</i> es considerada como la especie tipo	

En general, *Pleurotus* spp. presenta un píleo liso convexo, raramente redondo, casi siempre en forma conchado. Puede presentar escamas hacia el centro o en la base y los cuerpos fructíferos en general son concrecentes. El píleo puede medir entre 5 y 12 cm de diámetro. Su color es muy variable, negro violáceo, pardo ceniciento, gris, amarillo, rosa, según la especie. Sus laminillas son muy decurrentes, anastomosadas en la base, anchas, blancas y algunas veces amarillas. El estípite es corto, excéntrico o lateral, engrosado gradualmente hacia el lado del sombrero o píleo, algunas veces no se presenta. Generalmente mide alrededor de 2 cm de largo, 1-2 cm de grosor y es blanquecino y de contexto blanco. Las esporas son de color lila o crema en masa, elipsoide con una talla promedio de 9.5 x 3.5 micras (Guzmán, 1990).

Actualmente, muchos caracteres han sido utilizados para circunscribir el género, pero las especies que se han estudiado han presentado caracteres que sobrepasan en gran medida a los que inicialmente presentaba este género. Por ejemplo, el estípite puede ser centrado y no solamente lateral. Su sistema hifal puede ser monomítico, dimítico o trimítico; monomítico como en *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. populinus*, y *P. eringii*. Las láminas decurrentes son dudosas en algunas especies como *P. calyptratus*. El basidioma pleurotoide no se extiende del basidioma del estípite central tal como en *P. drynus* o *P. levis*. El color de las esporas también puede adquirir diferentes tonalidades y no solamente blanco (como inicialmente se consideraba) como las esporas de *P. pulmonarius* y *P. cornucopiae*, las cuales son generalmente violáceas. Por otra parte, un complejo velo parcial se ha encontrado presente en *P. drynus* así como en *P. calyptratus* y *P. levis* (Hilber, 1997; Petersen, y Krisai-Greilhuber, 1999; Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/default.htm).

2.3.6.3 Nombres científicos, en castellano y lenguas indígenas

Al género *Pleurotus* pertenecen diversas especies de hongos comestibles, que crecen sobre un gran número de substratos de carácter lignocelulósico, tanto en zonas templadas como tropicales. Singer (1975) había calculado alrededor de 39 especies pertenecientes a este género, pero a pesar de la complejidad del grupo, se han logrado

clasificar más de 50 especies, entre las cuales podemos mencionar a las siguientes (sin considerar su estado anamorfo): *P. abscondens*, *P. albastrigulella*, *P. albolanatus*, *P. angustatus*, *P. applicatus*, *P. astreatus*, *P. atrocaeruleus*, *P. atropellitus*, *P. australis*, *P. calyptratus*, *P. columbinus*, *P. cornucopiae*, *P. corticatus*, *P. cystidiosus*, *P. dictyorrhizus*, *P. dryinus*, *P. eous*, *P. eryngii*, *P. flabellatus*, *P. geogenius*, *P. griseus*, *P. levis*, *P. lignatilis*, *P. mastrucatus*, *P. nebrodensis*, *P. níger*, *P. opuntiae*, *P. ostreatus*, *P. passeckerianus*, *P. petaloides*, *P. porrigens*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-caju*, *P. sapidus*, *P. septicus*, *P. serotinus*, *P. smithii*, *P. spathulatus*, *P. spodoleucus*, *P. subareolatus*, *P. suberis*, *P. subpalmatus*, *P. sulphureoides*, *P. ueniarius* y *P. ulmarius*.

Guzmán (1997) realizó una revisión de los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en Iberoamérica. En su trabajo se encuentran diferentes nombres en castellano y en lenguas indígenas para el género *Pleurotus*, de acuerdo con los siguientes aspectos:

- ❖ **Sustrato donde son cultivados:** hongo de paja, hongo de pulpa de café, hongo de rastrojo, hongo de bagazo de caña de azúcar, pleuroto, hongo ostión, pletorious erectus y seta.
- ❖ **Sustrato natural o a su aspecto morfológico:** éstos han sido utilizados en diferentes partes de México, principalmente en Puebla, Morelos, Veracruz, Chiapas e Hidalgo: hongo de izote, hongo blanco de mayo, sacita, oreja de izote, hongo de jonote, hongo de madroño, hongo de palo, hongo de encino, hongo de chonotl, trompa de palo, oreja de cazahuate (=cuahzahuátic), oreja rosada, oreja de palo, oreja de patancán, hongo blanco, mazajielle de agua, hongo de palo mulato; hongo de tejomate, tecomate o tejomite, hongo de cochuite.
- ❖ **Nombres en lenguas autóctonas de México:** kewaru owaru (mazahua), jetch (tzeltzal), iztanacatl (náhuatl), iawakamazlat (náhuatl), mezonanácatl, menananácatl lawakamazlat (náhuatl), cuahzahuáticxumpililomazlar (náhuatl), utuxa yekua (huichol), tua tasnara (tepehua), tepetomannácatl o

tepetomananácatl (náhuatl), matomananácatl (=honguillo el naranjillo), techalonanácatl (náhuatl), tasnara (tepehua), sakitah (tzotzil), pobnec (mixe), Malhat-Kiwi (hongos de palo en totonaco), Chilla malhat (hongo blanco), esto dos últimos citados por Chacón, (1988).

- ❖ **Crecen en la base de los magueyes:** pechuga de maguey, oreja de maguey, hongo de maguey, magueyero, kju wada (otomí = hongo de maguey), “‘axjot’a”, este último citado por Rangel, (1978). En estos casos podría tratarse de *P. opuntiae*.

2.3.6.4 Algunas especies de *Pleurotus*

Las claves abundan sobre todo para el complejo *P. ostreatus* (Vilgalys *et. al.*, 1993; Pilát, 1935; Kühner y Romagnesi, 1953; 1953; Hilber, 1982, 1993, 1997 citados por Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/default.htm) y proponer una para este grupo está lleno de problemas, (integrar los colores del basidioma, el hospedero y las dimensiones); la distribución geográfica es a menudo amplia y por lo tanto se traslapa; especialmente existe desacuerdo en separar *P. pulmonarius* de sus hermanas monomíticas y pleurotoides *P. ostreatus* y *P. populinus*. Con estos problemas en mente, Petersen (*op. cit.*) propone una clave de especie biológica (Anexo 3).

2.3.6.5 Descripción del género *Pleurotus*

La descripción que se presenta a continuación fue tomada de Hilber (1997).

Género *Pleurotus* (Fr.) Kummer, Führ. Pilzk. 24: 104, 1871

Etimologías

Pleura (Gr.) = lado, costado + *otos* (Gr.) = oreja

Género Tipo (deshidratado para su conservación):

Agaricus ostreatus Jacq. ex Fr.

Basónimo

Agaricus trib. *Pleurotus* Fr., Sist. Mycol. 1: 178, 1821

CARACTERÍSTICAS EN CULTIVO

Micelio dicariótico

Crecimiento rítmico (con anillos concéntricos) a arrítmico (crecimiento como brocha); con o sin un típico anamorfo (coremioide, aleuriospórico), blanco a color café; con o sin gotas color naranja; hifas generativas 1.5 – 7 µm de diámetro, pared delgada a engrosada, con frecuentes conexiones fibulares; la fructificación se forma sin un choque térmico; monomítico o dimítico. Hifas esqueléticas con pared delgada a engrosada, sin septos o con septos secundarios. Con un distintivo olor como a anís o neutral.

Micelio monocariótico

Crecimiento más lento que el micelio dicarionte.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

Carpóforos

Grupos imbricados (pequeños o grandes) raramente solitarios.

Píleo

Transversalmente de 1.5–20 cm de diámetro; incurvado a plano, posteriormente recurvado. Margen entero, traslúcido estriado. Con un estípite de excéntrico a lateral. Color blanco, gris, amarillo, café, negro, violeta-marrón, azul o verde. La cutícula generalmente opaca, seca y lisa, raramente areolada, algunas veces radiada con zonas higrófanos. Frecuentemente pubescente en la depresión. Carne sólida, elástica, algunas veces frágil, blanca, que posteriormente se puede tornar color amarillo o con puntos color ocre. A menudo con un área higrófana adyacente a las láminas.

Láminas

Decurrentes a lo largo de la tercera parte del estípite y frecuentemente reducidas hacia el extremo del píleo. Apretadas a subdistantes, angostas a moderadamente anchas, frágiles, hendidas y anastomosadas al final en la región del estípite. La cara de las láminas de blanca a gris o azulada (*Pleurotus ostreatus* var. *columbinus*); con puntos naranja cuando envejecen; conectadas transversalmente en la base; con margen concolor a blanco o levemente más oscuro que la cara; lisas a onduladas.

Velo

Presente en el subgéneros *Lentodiopsis*. El velo, que se forma cubriendo las láminas cuando jóvenes, puede presentar remanentes formando anillos.

Estípite

Más o menos cilíndrico, de lateral a excéntrico, algunas veces con una base engrosada con numerosos estípites: ramificado dicotómicamente; puede ser liso, longitudinalmente estriado a acanalado, blanco o concolor; contexto sólido blanco, grisáceo o gris-café.

Esporada

Blanca, crema a violácea

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

Esporas

Subcilíndricas, cilíndricas, cilíndrico-elípticas, amigadaliformes, lado ventral recto, cóncavo o convexo; lado dorsal recto a convexo. Pared delgada y lisa, inamiloides, pared en azul de cresilo débilmente metacromática, con o sin gotas de grasa amarillas.

Basidios

Normalmente llevan 4 (tetraspóricos) y algunas veces 2 esporas. Presentando un sistema tetrapolar.

Tiene un ciclo sexual heterotálico tetrapolar, es decir, la compatibilidad de los individuos está gobernada por dos factores (A1, B1, y A2, B2) presentes en diferentes cromosomas y sólo aquellos con factores diferentes serán compatibles.

Láminas

Con un subhimenio con la trama evidentemente irregular.

Sistema hifal de la trama

Dimítico: las generativas con pared delgada ramificadas y con fibulas y las esqueléticas sin fibulas, sin septos y más engrosadas.

Cistidios

No metuloides especialmente en el Subgénero *Coremiopleurotus*.

Cutícula del píleo

Hifas generativas entretrejidas, sobre todo de pared delgada o con amplias incrustaciones espirales cafés. Con frecuentes fibulas.

CARACTERÍSTICAS DE LA FORMA ANAMORFA

Características microscópicas de los estados asexuales (anamorfos) en estado natural y en cultivo

Conidios en todos los taxa de *Pleurotus*, o coremios o aleuriosporas en el subgénero *Coremiopleurotus* y en el subgénero *Lentodiopsis* (sección *Lepiotarii*) sobre el teleomorfo y alrededor del sustrato. Formados por micelio heterocariótico en todas las partes del carpóforo.

ECOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Saprófitos a débilmente parásitos sobre todos los árboles de angiospermas y gimnospermas; parásitos sobre miembros de Apiceae y Labiatae en todas las áreas del mundo.

INFORMACIÓN ADICIONAL

Reacciones químicas

Sólo en *Pleurotus eringyji* se presenta una reacción azul sobre el micelio de los carpóforos (especialmente en la base del estípite) con solución de Guayacol.

Naturaleza química de los pigmentos de *Pleurotus*

Desconocida

Distribución

Coosmopolita

Ventajas prácticas y daños

Hongos comestibles, fácilmente cultivables. Algunas especies tales como *P. ostreatus*, produce Penicilina V-Acylasa.

Muchas especies destruyen la madera. Las basidiosporas de algunas especies pueden causar alergias y problemas respiratorios. La propia posición taxonómica de el género *Pleurotus* está todavía sin resolver.

2.3.6.6 Descripción de *Pleurotus opuntiae*

A continuación se presenta la descripción general de *Pleurotus opuntiae* realizada por Petersen y Krisal-Greilhuber (1999).

***Pleurtous opuntiae* (Durieu & Lév.) Sacc.**

El nombre de *Pleurotus opuntiae* ha sido utilizado para representar las últimas tres interpretaciones: 1) un *Pleurtous* del Norte de África; 2) basidiomas frescos con prominente estípite presentándose en la parte basal de un gran *Agave* en las tierras altas de México; y 3) basidiomas con muy reducido estípite, reportados como parásitos de *Cordyline* (árbol de berza) en Nueva Zelanda.

Después del primer reporte sobre la incompatibilidad sexual entre variantes morfológicas dentro de *P. djamou*, monocariontes, junto con aislamientos de otros basidiomas con similar morfología, se estableció una sexualidad compatible dentro del grupo con aislamientos monocarióticos de otras formas macromorfológicas representados por otros nombres, por ejemplo *P. djamour* de un blanco pálido oliváceo de *P. ostreatoroseus*, *P. flabelatus*, *P. salmoneostramineus* para las formas rosadas, resumió la situación morfológica y todas estas formas podrían estar representadas por el viejo nombre *P. djamour*.

A fin de probar el uso del nombre de *P. opuntiae* en trabajos mexicanos, es que fue necesario examinar el espécimen tipo y así compararlo con el material mexicano presentando una descripción más completa:

Píleo

110 mm de ancho, distintamente fibriloso radilamente, ocasionalmente areolado por la edad, pálido ocráceo a ligeramente blanco, margen no estriado e incurvado en todas las edades y muy enrollado en los inmaduros.

Contexto

Con 12 mm de ancho cerca del estípite y parcialmente se va adelgazando hacia el exterior, blanco, sólido, homogéneo, tiende a la proliferación de insectos.

Láminas

Profundamente decurrentes, de muy juntas a juntas, poco profundas (<4 mm de profundidad), no reticuladas o anastomosadas, concolor con el estípite.

Estípite

Robusto (120 x 23 mm), adherido al tejido de la planta hospedera, correoso, estrigoso en la base, "rosa-canela pálido" con distinto tomento "gris humo pálido", con ninguna evidencia de producción de esporas asexuales, anillo o velo parcial ausente. Olor y sabor distintamente pleurotoide.

Hifas del píleo

2.0-6.5 μm de diámetro más o menos paralelas, hialinas con pared delgada, comúnmente septadas con fíbulas, elevándose, por lo común en forma de clava; cistidios de 35-48 x 7-11 μm con depósitos de cristales en el margen; hifas generativas en la superficie del píleo y esqueléticas (1.2 μm de grosor), regularmente septadas con fíbulas entretrejidas apretadamente y poco más o menos adheridas; hifas esqueléticas ausentes en el margen.

Hifas del estípite

Píleo y trama himenoforal de dos tipos: 1) generativas, 1.5-4.5 μm de grosor, hialina, con pared delgada, comúnmente septada con fíbulas entretrejidas apretadamente en píleo y estípite, flojamente entrelazadas en la trama himenoforal y 2) esqueléticas, 1.5-4.0 μm de diámetro, pared gruesa, amarillentas en KOH al 5%, refrigentes, aseptadas, en todos los tejidos de la trama, ápice aciculado, < 1 μm de ancho.

Subhimenio

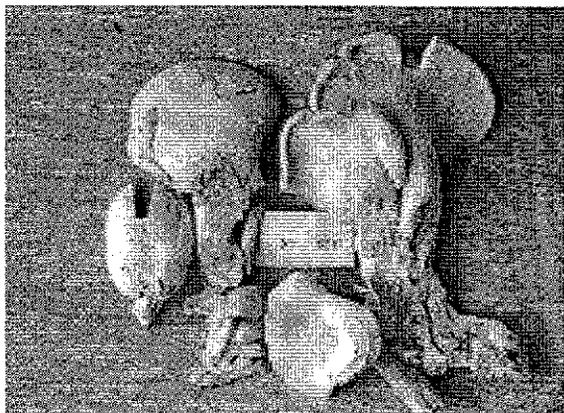
Rudimentario pseudoparenquimatoso. Basidios de 26-33 μm de largo x 7-8 μm de ancho, clavados a subcilíndricos, hialinos, con fíbulas; esterigmas de 4 a 6 μm de longitud, subcornudos, muy delgados. Sin pleurocistidios: queilocistidios fuertemente basidiolares, 28-34 x 5.6-6.4 μm subclavados, frecuentemente irregulares alrededor del ápice, hialinos y con pared delgada, con fíbulas, no lectiformes. Basidiosporas 9.2-12 x 4.4-5.6 μm (Q = 1.77-2.42; E = 2.10; Lm = 10.75 μm), de cilíndricas a elongadas elipsoidalmente, lisas, hialinas, con pared delgada: contenido heterogéneo pero amorfo; apéndice hilar lateral, no prominente.

Características en cultivo

Material utilizado: México: edo. Tlaxcala. ET-3313, basidiomas en herbario *Estrada-Torres*, Universidad Autónoma de Tlaxcala; cultivo polispórico dicarión. Colonias: crecimiento rápido morfológicamente algodonoso extendiéndose no muy densamente como abanico y en las colonias con crecimiento lento también en forma de abanico pero más compacto.

Todas las colonias producidas por lo común presentaron abundantes microgotas, con dos notables características: 1) microgotas que fueron extremadamente largas (5-17 μm de diámetro) cuando se compararon con aquéllas que fueron producidas por otras especies, incluyendo *P. djamour*; y 2) las microgotas se formaron sobre las hifas extremas, así como sobre el lado corto de las ramificaciones, contrario a otros taxa que producen microgotas sólo sobre las cortas; sistema de producción (mismo espécimen utilizado: aislamientos monocariontes derivadas de la esporada) Las basidiosporas fueron aisladas y apareadas en todas sus combinaciones, un sistema de producción tetrapolar fue encontrado. Aislamientos 2,5,6,8,9,12*,14 = $A_1B_1:3^*$,11 = $A_2B_2:7^*$ = $A_1B_2:10^*$ = A_2B_1 . Aislamiento 4 = dicarion. Varios aislamientos crecieron muy lentamente y finalmente produjeron esta zona de contacto, no fue un patrón con varios seres compatibles. Ninguna evidencia morfológica de zona de contacto fue encontrada, así los tipos de producción subordinada fueron asignados arbitrariamente.

Especímenes examinados. México. Ciudad Tlaxcala, etiquetado. 18.VII.93 *RHP& K: W: Hughes* 6276 (TENN no. 52369). alrededor de Tlaxco, 12.VII.93, coll. *K: W: Hughes* 6241 (TENN no. 52368) sobre la base de hojas de Agave: misma localidad, fecha, colector, no. 6277 (TENN s.n.), (Fotografía 2).



Fotografía 2. *Pleurotus opuntiae* (Durrieu and Lévillé) Saccardo. [*P. "agaves:"* Vilgalys et al., 1996] (viz. Petersen and Krisai-Greilhuber, 1999). MEXICO, edo. Tlaxcala, date unknown, coll. A. Estrada-Torres (no. 3313). ET3313:8 = A_1B_1 ; ET3313:11 = A_2B_2 ; ET3313:7 = A_1B_2 ; ET3313:10 = A_2B_1 .

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.3.6.7 Clasificación taxonómica

Supereino: Eucarionta
Reino: Fungi
División: Eumycota
Subdivisión: Basidiomycotina
Clase: Holobasidiomycetes
Subclase: Hymenomycetidae
Orden: Agaricales
Familia Tricholomataceae
Género: *Pleurotus*
Especie: *P. opuntiae*

(de acuerdo con Singer, 1986)

2.4 Aspectos fisiológicos en el crecimiento de *Pleurotus*

2.4.1 Nutrición

Los miembros del reino Fungi tienen un modo de nutrición muy característico y altamente exitoso, en su mayoría son aerobios pero todos son heterótrofos, obtienen su energía a partir de la oxidación de compuestos tales como glucosa y maltosa. El análisis químico proximal de los hongos demuestra que contienen proteínas, carbohidratos, lípidos y sustancias nitrogenadas en formas tanto orgánicas como inorgánicas (principalmente NH_4^+ y NO_3^-) y la presencia de minerales necesarios para su crecimiento P, K, Mg, S, B, Mn, Cu, Mo, Fe y Zn. Producen un número distintivo de polisacáridos como el glicógeno, el cual también es una reserva energética y la quitina, que se presenta como constituyente de la mayor parte de la pared celular de muchos hongos así mismo como enzimas que se presentan en los exudados extracelulares (Margulis y Schwartz, 1998; Alexopoulos *et al.*, 1996; Moore-Landecker, 1996; Deacon, 1997).

En las reacciones catabólicas de la respiración y fermentación, los hongos tienen que utilizar la energía de los carbohidratos obtenidos como nutrimentos de su ambiente o de sus reservas celulares. Utilizando un número de reacciones anabólicas o sintéticas, los hongos fabrican una variedad de carbohidratos que son utilizados para tales propósitos como fuente de energía o para la pared celular (Moore-Landecker, 1996).

Aunque estos organismos sean capaces de sintetizar sus aminoácidos, grasas y vitaminas, Deacon (1997) considera que la heterotrofia los limita a un papel de degradadores de uno u otro material.

Se ha inferido a través del registro fósil que la actividad descomponedora de los hongos y en general su asociación con las plantas (fundamental para la transición de éstas al ambiente terrestre) data desde hace 200-300 millones de años (Bold *et al.*,

1980 citados por Margulis y Schwarts, 1998). Estos organismos, junto con las bacterias y otros eucariontes heterótrofos, son los descomponedores de la biósfera y sus actividades son tan necesarias como las de los productores primarios para su existencia.

Distintos hongos tienen diferentes requerimientos nutricionales y de crecimiento, por lo que existen saprobios obligados, facultativos y parásitos obligados. De acuerdo con sus hábitos ecológicos y nutricionales pueden ser divididos en tres grandes grupos: biotrofos, necrotrofos y saprotrofos. Por otra parte de acuerdo con su asociación o no asociación con las plantas se dividen en micorrízicos y no micorrízicos, respectivamente.

En cualquiera de estos casos, no ingieren sus alimentos sino que los absorben, es decir, toman las sustancias nutritivas en solución, las cuales deben ser de un peso molecular más bien bajo para que puedan difundirse a través de las paredes y membranas celulares; cuando se trata de moléculas muy complejas, éstas son degradadas a monómeros más sencillos a través de la acción de enzimas extracelulares secretadas por el hongo. Así, su sistema enzimático determina en gran medida su habilidad para utilizar ciertos sustratos como nutrimentos (Alexopoulos *et al.*, 1996).

La mayoría de las especies comestibles que se pueden cultivar son aquellas que viven sobre troncos en descomposición, en el suelo de las praderas, en los bosques, o sobre los esquilmos y residuos agrícolas e industriales (Guzmán *et al.*, 1993). Estas especies pueden ser saprobias obligadas o facultativas, no micorrízicas.

El cultivo artificial de los hongos silvestres no es hoy, como lo era hasta hace pocos años, un problema de difícil solución. Naturalmente han sido necesarias un sin número de observaciones en su hábitat natural para interpretar y traducir en términos experimentales, los aspectos más íntimos del desarrollo de estas especies, particularmente las relacionadas directamente con su crecimiento (nutrición, factores ambientales, etc.).

2.4.2 El Micelio

Es la forma vegetativa del hongo a partir de la cual se desarrollan las estructuras reproductivas, asexuales y/o sexuales. En la mayoría de los hongos, los órganos reproductores surgen de una porción del talo continuando el resto del mismo con la ejecución de funciones somáticas (Alexopoulos *et al.*, 1996).

El micelio de los basidiomicetos está formado por hifas bien desarrolladas y con septos. Éstas crecen a través del sustrato obteniendo así su alimento.

El desarrollo micelial y la fructificación de los hongos comestibles es afectada por una amplia variedad de factores físicos, químicos, biológicos y ambientales. Entender su respuesta fisiológica a dichos factores es primordial para escalar el cultivo y diseñar las tecnologías apropiadas para su producción comercial, siempre y cuando éstas demuestren ser redituables, por lo que este proceso puede optimizarse si se tiene conocimiento profundo del metabolismo del organismo estudiado, así como de las características especiales del sustrato.

La variación de la forma de crecimiento será introducida a través de los cambios en el metabolismo y morfológicamente se expresa con frecuencia, macroscópicamente por ejemplo, a través de un aspecto pulvurulento, afelpado o lanoso de la superficie de la colonia, y microscópicamente por la aparición de micelios aéreos, conidios u órganos de fructificación (Müller y Loeffler, 1976).

2.4.3 La reproducción de los hongos

La reproducción es la formación de nuevos individuos con características típicas de la especie y para los hongos podemos observar que hay dos formas para dar origen a nuevos individuos: la sexual y la asexual. A esta última se le conoce también como somática o vegetativa, debido a que no involucra fusión de núcleos y es la forma de

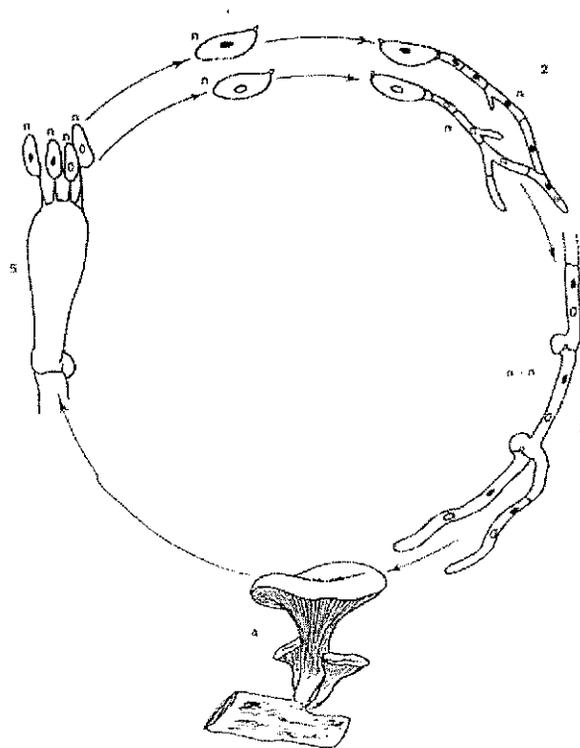
reproducción más utilizada para producir hongos comestibles en condiciones experimentales, pues permite mantener las características de la cepa que se pretende cultivar y conservar (Herrera y Ulloa, 1990).

El ciclo de vida del género *Pleurotus* (Figura 1), se inicia con la germinación de las basidiosporas cuando entran en contacto con un sustrato y encuentran una temperatura, pH, y humedad adecuados para su crecimiento (1). Los nuevos compartimentos uninucleados (n) se dividen muchas veces para dar origen al micelio primario conocido como homocarión, por tener un solo tipo de núcleos generalmente haploides. Para que el cuerpo fructífero se desarrolle, es necesario que dos micelios homocarióticos compatibles se fusionen. El micelio heterocarión es capaz de crecer vigorosamente y de multiplicarse vegetativamente. Esto ha permitido mantener las características de alta producción, color, sabor y excelente calidad culinaria de muchas de las cepas de hongos comestibles que en la actualidad se cultivan comercialmente en diferentes partes del mundo.

En hongos comestibles, las hifas que forman el micelio actúan como gametos y su sexualidad está determinada por genes nucleares que confieren un carácter genético conocido como compatibilidad sexual. Esto hace que sólo aquellas hifas provenientes de micelios compatibles se fusionen y den origen por somatogamia a un compartimento hifal con dos tipos de núcleos diferentes (2). La formación del micelio secundario o heterocarión ($2n$) se produce por división de los núcleos en la célula binucleada, seguida por la migración de los núcleos hijos a través de las estructuras especializadas llamadas fíbulas (3). El micelio terciario es representado por los tejidos organizados y especializados que comprenden los carpóforos (4). Los tejidos que lo forman son hifas dicarióticas bien empaquetadas y su formación es regulada por la influencia de un gran número de factores, algunos de los cuales se conoce muy poco. La cariogamia generalmente se presenta tiempo después de la somatogamia, por lo que el micelio heterocariótico se puede multiplicar y mantener; se realiza en las puntas de las hifas que forman la capa fértil del basidiocarpo (himenio), (5). La fusión de núcleos sólo se dará en el basidio, el cual originará por meiosis las esporas de origen

sexual (basidiosporas) generalmente haploides y con un solo tipo de núcleo. Estas últimas una vez liberadas por el viento, insectos, agua, animales y otros factores, vuelven a dar origen a hifas somáticas uninucleadas y así iniciar nuevamente el ciclo de vida (Herrera y Ulloa, 1990; Alexopoulos, 1996; Sánchez y Royse, 2001).

Figura 1. Ciclo reproductivo de un *Pleurotus* (Oliver *et al.*, 1991)



1. Basidiosporas uninucleadas
2. Germinación de las basidiosporas y fusión de dos micelios compatibles
3. Micelio dicariótico con formación de fíbulas.
4. Carpóforo
5. Basidio con 4 basidiosporas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La reproducción sexual en hongos permite la variación genética y capacita a las especies para ocupar nuevos nichos o sobrevivir en condiciones adversas y les permite además, tener una vida más larga que aquéllos que sólo se reproducen asexualmente (Oliver *et al.*, 1991)

2.4.4 Factores de crecimiento

El crecimiento no puede ser definido de una manera precisa; una definición provisional operativa es el incremento en masa de células o del número de ellas (peso seco); es un proceso balanceado que implica generalmente el mantenimiento más o menos constante de la composición química de un organismo, va acompañado de procesos de desarrollo y diferenciación y es muy diferente de la simple acumulación de reservas, alargamiento o engrosamiento físico (Griffin, 1993).

El ambiente juega también un importante papel; la humedad del aire, la ventilación, luminosidad o sombreado y la temperatura, junto con las condiciones internas del sustrato, determinan que el micelio del hongo deseado pueda crecer sobre el sustrato y, en el mejor de los casos, fructificar.

Las especies seleccionadas por algún interés particular, deben ser sometidas a un análisis detallado sobre su hábitat, forma de vida, etc., para así llevarlas a la fase del laboratorio, donde serán caracterizadas (Cochrane, 1958 citado por Sobal *et al.*, 1989a), enfrentándose a cada uno de los factores que se mencionan a continuación y que son determinantes en el crecimiento micelial y en la germinación de esporas.

pH

Si un sustrato es demasiado ácido o demasiado alcalino, puede detener, inhibir o estimular el desarrollo vegetativo de un hongo, dependiendo de la especie; lo cual da una idea de la importancia del factor pH en la actividad fúngica. Se ha reportado que la absorción y producción de vitaminas esenciales, absorción de ácidos orgánicos y asimilación de minerales, así como la reducción de antibióticos pueden ser

influenciados en forma significativa por el pH del medio en el que se desarrollen los hongos (Cochrane, 1958; Lilly y Barnett, 1951 citados por Sobal *et al.*, 1989a). En general los hongos comestibles prefieren un pH poco ácido a neutro.

Dadas las condiciones, los hongos pueden crecer al máximo dentro de un margen inicial de valores de pH del medio, pero es un hecho que no es un factor unitario; el mecanismo de su acción está en función de las diferentes concentraciones de iones hidrógeno. Por ejemplo, una parte de la curva pH-crecimiento puede reflejar el efecto de un pH bajo sobre el sistema enzimático y otro el efecto de un pH alto sobre metales solubles. La acidez puede también afectar la entrada de vitaminas esenciales, las reacciones metabólicas de la superficie, así como la entrada y salida de ácidos orgánicos y minerales de la célula (Cochrane, 1958).

Además, el pH es afectado por actividades metabólicas, incrementándose por la absorción de aniones o producción de amonio y decreciendo por la formación de ácidos orgánicos o la absorción de cationes.

La curva de pH-crecimiento no es constante y puede ser afectada por la temperatura, edad del micelio, los niveles de calcio y magnesio así como la fuente de nitrógeno (Moore-Landecker, 1996).

Para el crecimiento de las especies de *Pleurotus* se han citado rangos de crecimiento entre 4 y 7 de pH, con un óptimo entre 5 y 6 que puede variar dependiendo de las cepas de las especies (Sánchez y Royse, 2001).

Sustrato

Los hongos se encuentran en todos lados, pueden vivir en el suelo, en aguas dulces y marinas y sus esporas son abundantes en el aire. Existen muy pocos sustratos libres de hongos y para alimentarse secretan enzimas sobre el sustrato donde se encuentran, lo degradan en sustancias simples y absorben los nutrientes necesarios para su desarrollo. Los que producen este tipo de cambios se conocen como saprofitos, debido

a que se alimentan de cuerpos muertos o de desechos de organismos. Algunos de los saprotrofos pueden vivir como parásitos si se les presenta la oportunidad, mientras que otros son siempre parásitos y no pueden vivir de otra manera (Herrera y Ulloa, 1990; Sánchez y Royse, 2001).

Las propiedades de un sustrato determinan el tipo de hongos y de microorganismos que pueden crecer sobre él. Estos sustratos contienen materiales derivados de plantas o animales (pajas, rastrojos, plumas, etc.). Generalmente provienen de productos de desechos, por lo que ofrecen al productor una forma de aprovechar los residuos antes de ser reciclados o convertirse en productos de desecho.

La pared celular de los tejidos vegetales está compuesta de celulosa, además de hemicelulosa y lignina, que son sustancias químicas muy complejas, difíciles de degradar y solamente organismos como los hongos y las bacterias los degradan debido a que poseen enzimas que rompen tales moléculas y liberan a la celulosa y a la hemicelulosa de la lignina. De estas sustancias, la lignina es la más difícil de degradar y dependiendo de cómo los hongos la ataquen se clasifican en hongos de pudrición blanca, oscura (o de color café) y suave.

La degradación de la celulosa o lignina por *Pleurotus ostreatus*, depende de muchos factores, tales como la actividad enzimática, la composición del sustrato, la cepa, el genotipo y el estado de morfogénesis; además, tiene la capacidad de metabolizar totalmente la lignina (Bisko, 1992; Guzmán *et al*, 1993). La degradación de la lignina no ha sido totalmente entendida, pero la actividad extracelular de la polímero oxidasa está asociada con la pudrición blanca de los basidiomicetes que degradan la lignina. Ciertamente se ha establecido que cuando *P. ostreatus* degrada la paja que se utiliza como sustrato, la eficiencia de la oxidación de la lignina es reducida si los fenoles solubles en el agua que inducen la formación de la lacasa son removidos (Haars, Chet and Huttermann, 1981; Platt, Hadar y Chat, 1983 citados por Dix y Webster, 1995).

Medios de cultivo

Los hongos requieren varios elementos específicos para su crecimiento y reproducción. Para el cultivo y desarrollo de los hongos comestibles en el laboratorio, es necesario utilizar determinados medios que le proporcionen los nutrimentos como azúcares, proteínas, vitaminas y minerales que pueden ser fácilmente asimilados. Comúnmente se emplean medios sólidos con agar los cuales actúan como sustrato al solidificarse, pero también pueden ser líquidos o semisólidos.

Algunos medios se consideran naturales y tienen la ventaja de ser relativamente económicos y fáciles de preparar, pero para poder tener un mayor control, es necesario utilizar un medio químicamente puro o los más cercano posible. Los medios de cultivo sintéticos tiene la ventaja de que cada componente y su concentración puede ser controlada como se desee y pueden adquirirse con algún proveedor. Podemos mencionar al PDA (Papa-Dextrosa-Agar) y al EMA (Agar-Extracto de Malta), entre otros, e incluso pueden contener antibióticos. Estos medios, ya sea sintéticos o naturales, contienen todos los elementos necesarios para el buen desarrollo de los hongos y ya no es necesario añadirles ni vitaminas ni micronutrimentos. Los medios de cultivo que se utilizan dependen del tipo de hongo que se quiere cultivar, ya que cada especie tiene sus propios requerimientos nutricionales (Ulloa y Hanlin, 1978).

Temperatura

Entre los factores físicos, la temperatura es uno de los más importantes; aunque los hongos comestibles cultivados pueden tolerar desde 20°C hasta 35°C, la temperatura óptima de fructificación es normalmente menor que la del desarrollo micelial en todas las especies y puede afectar directamente la síntesis de vitaminas, aminoácidos u otros metabolitos (Moore-Landecker, 1996)

El efecto de la temperatura recae en el crecimiento, germinación de esporas y en la reproducción, por lo que influye significativamente en todas las actividades del organismo. Existe un comportamiento lineal, donde el crecimiento micelial se incrementa directamente con la temperatura. La curva temperatura-crecimiento que se

considera óptima (22°C-24°C) tiende a ser casi simétrica, pero no todos los hongos siguen este patrón. Es importante hacer notar que el término óptimo no es de hecho muy claro; sin embargo lo que si es claro, es que la temperatura óptima y los márgenes reportados son válidos sólo dentro de condiciones específicas de tiempo, medio y método de medición. No existe una única temperatura óptima (Cochrane, 1958).

Humedad

La presencia de agua es un requisito indispensable para el crecimiento de los hongos. La requieren alrededor de sus células para que puedan difundirse los nutrimentos y las enzimas hacia su interior. Pero también puede ser una limitante para la esporulación de los hongos filamentosos. El agua es una importante fuente de oxígeno e hidrógeno que son necesarios para la síntesis de moléculas orgánicas, asimilación de nutrimentos y otras actividades dentro de la hifa. La humedad relativa y la humedad del sustrato son también importantes, lográndose resultados óptimos a 80-90% y 70-80% respectivamente (Garraway y Evans, 1991; Moore-Landecker, 1996).

Nitrógeno, oxígeno, dióxido de carbono y producción de etileno

Por otra parte, el oxígeno y el dióxido de carbono son de vital importancia para el crecimiento de los hongos. Su concentración influye significativamente, tanto en el desarrollo micelial, como en la producción de cuerpos fructíferos y germinación de esporas. Asimismo, pueden inhibir o estimular la presencia de organismos benéficos o perjudiciales al cultivo. Los hongos son comúnmente estrictamente aerobios y esta opinión es básicamente correcta donde la relación cuantitativa de crecimiento y suplementación de oxígeno varía de manera considerable entre las diferentes formas.

El carbono es necesario porque es la fuente directa de energía para su metabolismo; así mismo, es necesario para la formación de las diferentes partes y estructuras celulares. Dada la importancia que tiene para la vida de la célula, este elemento es el que el hongo requiere en mayores cantidades (Sánchez y Royse, 2001).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por otra parte, Sobal *et al.* (1989b); (1991) identificaron el etileno como un metabolito volátil producido por *P. ostreatus* en cultivo axénico que mostró un patrón de producción que puede correlacionarse con el desarrollo del cuerpo fructífero.

Luz

El crecimiento de muchos hongos aparentemente no es afectado por la luz, sin embargo una luz demasiado fuerte puede destruir las vitaminas requeridas para su crecimiento, además de afectar la formación de las estructuras reproductivas o afectar su orientación fototrófica. *P. ostreatus* no puede fructificar en oscuridad continua, para poder hacerlo requiere ser expuesto a longitudes de onda inferiores a 600 nm; sin embargo, la sensibilidad tanto a la cantidad como a la calidad de la luz depende de las especies. La sensibilidad a la luz es máxima desde momentos previos hasta horas después de que el micelio ha colonizado el sustrato. Por otra parte, una exposición diaria de 20 minutos a la luz es suficiente para que *P. pulmonarius* fructifique. Por otra parte, *P. ostreatus* no puede fructificar en oscuridad continua y la sensibilidad de la cantidad y calidad de la luz depende de las especies y de la fase de crecimiento (Eger, 1974; Karma y Zadrazil, 1986 citados por Sánchez y Royse, 2001).

2.4.5. Dinámica de crecimiento

Existen dos objeciones para el cultivo de los hongos en superficie: las células que se desarrollan pueden crecer de manera aérea y sumergidas. Las aéreas están más alejadas de los nutrientes y en contacto con la atmósfera, encontrándose en un ambiente aerobio. Las células sumergidas por el contrario están en íntimo contacto con los nutrientes y con los productos metabólicos solubles; se encuentran en un ambiente parcialmente anaerobio. Las hifas sumergidas se presentaron altamente vacuoladas presentando deficiencia de oxígeno que se demuestra por la utilización de azúcar que se incrementa en la superficie de crecimiento de la mayoría de los hongos (Cochrane, 1958).

Debe de considerarse también que la morfología del micelio puede variar con el género, aún dentro de la misma especie, así como también con el medio utilizado.

El tiempo de crecimiento: Las típicas curvas de crecimiento de los hongos se caracterizan por cuatro fases (Cochrane, 1958; Garraway, 1991; Griffin, 1993; Gow, 1995; Sánchez y Royse, 2001).

1. Fase de latencia (sin aparente crecimiento):

Aparentemente tiene dos componentes: una genuina fase lag antes de la germinación de esporas o crecimiento hifal y otra fase en la cual el crecimiento ocurre pero no se detecta por los métodos convencionales. Es una etapa de adaptación en la que no hay crecimiento aparente, sino más bien una síntesis de componentes celulares para iniciar la elongación celular.

2. Fase exponencial (con rápido crecimiento lineal):

Está representada sólo por la síntesis de polisacáridos. Se incrementa la biomasa linealmente con el tiempo sobre una mayor porción de período. El hongo alcanza la tasa de crecimiento máxima que varía con las condiciones del medio y que sirve para hacer comparaciones o predicciones sobre el comportamiento entre cepas o sustratos diferentes.

Eventos químicos durante la fase de crecimiento rápido:

- Utilización de carbohidratos, nitrógeno y fosfato.
- Productos metabólicos (ácidos)
- La actividad respiratoria se encuentra en su máximo

3. Fase de declinación (sin crecimiento o de autólisis):

La tercera fase se caracteriza por una declinación en el peso micelial y la aparición de nitrógeno y fosfato como sustancias de desecho que alcanzan niveles que limitan su crecimiento. Es una fase propicia para que aparezcan mutaciones celulares ya que el organismo pierde algunas capacidades y modifica otras por mutación.

4. Fase estacionaria (muerte celular):

El crecimiento cesa, aunque todavía prevalece un metabolismo celular de mantenimiento; hay un consumo de glucosa y otros nutrimentos. El hongo es capaz de reiniciar crecimiento si es resembrado en un medio propicio, aunque tendrá un periodo de latencia más o menos largo según las condiciones. Empiezan a aparecer diversos tipos de enzimas autolíticas que conducen a la muerte del hongo.

2.4.5.1 Medición del crecimiento micelial y de la biomasa

La precisa definición del crecimiento de los hongos depende del método de medida utilizado. Muchos métodos determinan directa o indirectamente el incremento en masa micelial del inóculo después de la incubación en el medio específico. El incremento en masa o el número de células puede, además, ser utilizado en una definición operativa de crecimiento. (Cochrane, 1958; Griffin, 1993).

No existe un método general que pueda ser aplicado para todos los hongos, y la manera de medir el crecimiento está determinada por diferentes factores, entre ellos la naturaleza del hongo (filamentoso o no filamentoso), el medio de cultivo que se utilice (sólido, semisólido o líquido), o si el inóculo es colocado superficialmente o sumergido.

El método más ampliamente utilizado es medir el peso seco del micelio es decir su biomasa. La principal limitación es que el peso puede ser engañoso y reflejar más bien la acumulación de polisacáridos u otros materiales de reserva más que la síntesis de un nuevo protoplasma (Cochrane, 1958).

El crecimiento linear sobre agar es un método aparentemente sencillo para estimar el crecimiento. El crecimiento radial de una colonia en una caja de petri o el avance linear en un tubo de ensaye son los más frecuentemente utilizados. El crecimiento es comúnmente expresado como una tasa constante establecida después del periodo inicial de crecimiento lento. El crecimiento de las cepas sobre agar, no siempre refleja un incremento en peso seco. El método de agar, es adecuado para los estudios de

algunos factores medioambientales, por ejemplo temperatura y, probablemente, composición de la atmósfera, aunque aún en estos experimentos el resultado no siempre se correlaciona con el peso seco (Cochrane, 1958; Garraway, 1991).

Varios procedimientos pueden ser utilizados para la determinación del peso seco. Frecuentemente, el micelio se remueve de un medio líquido, se lava y seca en un contenedor para ser pesado. Más frecuentemente se requiere de una filtración; el papel filtro es tarado protegido de la humedad atmosférica en una embudo de porcelana, se filtra con vacío, o bien el micelio puede ser separado por centrifugación. Posteriormente se seca, pero el secado es generalmente afectado por las altas temperatura (70-80°C). El remover el agar con agua caliente, también da como resultado una significativa pérdida de peso seco (Cochrane, 1958; Sánchez y Viniegra-González, 1996).

Velocidad y medición de crecimiento

En condiciones óptimas, el crecimiento de un hongo se presenta de manera constante y el incremento como una fracción de la población celular presente en el medio. Es decir,

$$Dx/dt=\mu x$$

Lo cual mediante integración conduce a la siguiente expresión:

$$\ln x = x_0 + \mu t$$

Considerando que los hongos filamentosos tienen una "unidad de crecimiento" que se duplica a una tasa constante, Trici (1974) citado por Sánchez y Royse, 2002, dedujo que las hifas individualmente se extienden a una tasa constante, lineal, mientras que la totalidad del micelio crece de manera exponencial; es decir:

$$Kr = \mu w$$

Lo cual indica que la tasa radial de crecimiento colonial (Kr) está en relación directa con la tasa específica de crecimiento (μ) y con la zona periférica de crecimiento (w), siempre y cuando esta última permanezca constante. Dado que es muy difícil determinar K , por medio del incremento del crecimiento radial de una colonia, se utiliza frecuentemente como una forma indirecta de estimar μ y sus variaciones; sin embargo, para que esto sea válido, se debe tener especial cuidado en confirmar que bajo las condiciones de estudio w permanecen constantes.

Para el caso de las cepas de hongos, es de particular interés el estudio de la velocidad de colonización, por lo que es frecuente el análisis del crecimiento micelial a través del incremento radial de la colonia. Esta es una técnica sumamente sencilla y ampliamente utilizada para determinar la influencia de la temperatura, el pH, o la composición química del medio de cultivo sobre el crecimiento (Brancarto y Golding, 1953 citado por Sánchez y Royse, 2001)

2.4.6 Eficiencia Biológica

Cuando el micelio ha crecido lo suficiente sobre el sustrato y las condiciones del medio ambiente lo permiten, las hifas se agregan para formar cuerpos fructíferos, cuya función es diseminar esporas. Sin embargo, es claro que se requiere la modificación del crecimiento hifal para que converjan en un órgano diferenciado (Moore, 1995 citado por Sánchez y Royse, 2002).

La eficiencia biológica (EB) es la medida del porcentaje de producción de hongos frescos con respecto al peso seco de sustrato. Una eficiencia biológica del 100% es equivalente a decir que de un sustrato con un contenido de agua del 75%, el 25% de su masa será recogido en hongos frescos, cuyo contenido de agua está entre el 80 y 90% (Lu *et al.*, 1988).

La EB es un factor importante para determinar la factibilidad de la producción de un cepa específica en nuestro sustrato de interés y se calcula de la siguiente forma:

$$E. B. = \frac{\text{Peso fresco del hongo cosechado}}{\text{Peso seco del sustrato empleado}} \times 100$$

Una eficiencia porcentual como ésta evita la necesidad de especificar las unidades (libras, gramos, kilogramos, etc.) pero habrá que recordar que esto presupone implícitamente que, las condiciones de valoración de ambos elementos de la proporción, sean idénticas.

Por otra parte, el balance de la materia para el crecimiento de los hongos, puede ser delineado de la manera que se presenta en la figura 3 (Sánchez y Royse, 2002).

$$\text{Para la fase biótica: } X_1 + Y(S_1) + Y(S_2) = X_2,$$

en donde:

S_1 = Substrato en el inóculo (g)

S_2 = Substrato para fructificación (g)

X_1 = Substrato degradado (g)

X_2 = Biomasa producida (g)

Y = Rendimiento

X_2 es el total de hongo producido como micelio (X_m) + los cuerpos fructíferos (X_3)

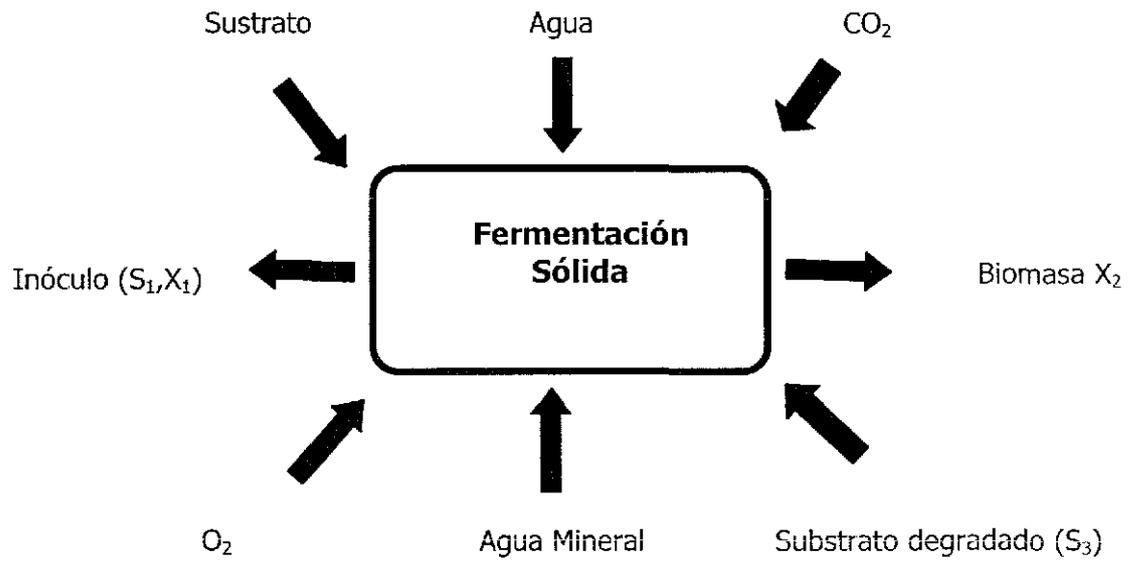
Como $S_1 \ll S_2$ y $X_1 \ll X_2$ el rendimiento del proceso puede considerarse como $Y = X_2 / S_2$

Sin embargo, para este caso especial de producción de carpóforos es más interesante estimar:

$$Y_1 = X_2 / S_2$$

Que es la fórmula que se utiliza para calcular el rendimiento de un sistema de cultivo de hongos comestibles.

Figura 2. Balance de materia durante el cultivo de un hongo (Sánchez y Royse, 2002)



3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de los hongos comestibles ha sido considerado como un cultivo sustentable, enfocado hacia diversas tecnologías. Conserva los nutrientes de su entorno, disminuyendo la necesidad de expansión de áreas agrícolas, asegurando así la permanencia de la flora y fauna silvestres por lo que se convierte en un componente más en la rehabilitación de suelos. También va acompañado de beneficios sociales y económicos directos e indirectos, constituyendo un valioso alimento humano de alto contenido proteico, del que además se obtienen productos bioquímicos útiles y agentes terapéuticos importantes. Por otra parte, ofrece buenas oportunidades de inversión y de generación de empleos, ofreciendo un ingreso para las familias dedicadas al campo u otras actividades.

Algunas especies de hongos comestibles (entre ellos el género *Pleurotus* spp.), han sido cultivadas a gran escala a partir de residuos agropecuarios de carácter lignocelulósico que transforman en productos mucho menos nocivos para el ambiente (gracias a la amplia variedad de enzimas extracelulares capaces de degradar este complejo), tanto en zonas templadas como tropicales, alcanzando dimensiones económicamente atractivas para muchos países en vías de desarrollo.

Dentro de los diferentes problemas a los que se enfrenta la industria nacional de hongos comestibles y que ha limitado su crecimiento, se encuentran los relacionados con el estudio de las características propias de una cepa y cómo éstas pueden influir sobre la producción y comercialización.

La morfología de los cuerpos fructíferos y de las cepas, así como el comportamiento de estas últimas en el laboratorio han permitido realizar diversos estudios genéticos, fisiológicos y de caracterización de diversas especies de *Pleurotus*, los cuales demuestran que este comportamiento puede variar de acuerdo con la temperatura, luz y sustrato sobre el cual crecen.

Los hongos comestibles forman parte de la diversidad biológica y cultural de México y para su conservación se requiere un trabajo de investigación enfocado a su mantenimiento y conservación. Para ello se sigue una metodología científica que va desde su recolección, identificación, caracterización, así como su manejo y conservación en el laboratorio.

Es importante caracterizar las cepas estudiadas, como una estrategia para seleccionar características diferentes y útiles para la producción industrial de hongos comestibles, como son la alta capacidad de formación de cuerpos fructíferos, fructificación temprana o rápida velocidad de crecimiento. Dichas características aunque se presentan en forma independiente, podrían conjuntarse mediante la hibridación, dado el elevado potencial de entrecruzamiento de las cepas estudiadas (Sobal y Martínez-Carrera 1988; Martínez-Carrera *et al.*, 1999).

Sabemos que la reducción de la población de una especie causa pérdidas de la variabilidad genética y disminuye la potencialidad para sobrevivir a las alteraciones del ambiente. A esto hay que añadir el efecto que también tienen las especies relacionadas con ella, tal es el caso del hongo de maguey, *Pleurotus opuntiae* (Durieu & Lév.) Sacc., que crece asociado con agaves pulqueros, los cuales han disminuido sus poblaciones considerablemente en los últimos años.

Los basidiocarpos de *Pleurotus opuntiae* pueden encontrarse a la venta en algunos mercados locales, no representan un valor comercial significativo, sin embargo es ampliamente consumido por los pobladores del estado de Hidalgo quienes lo consumen fresco o bien seco y molido.

Debido a esto y a los pocos estudios sobre especies nativas para zonas áridas, se realizó el presente trabajo con la finalidad de aislar, caracterizar y evaluar el potencial de cultivo de 5 cepas silvestres de *P. opuntiae*. Las cepas de esta especie deben ser caracterizadas, seleccionadas y estudiadas a nivel laboratorio porque representan un

potencial genético desconocido que puede contribuir a resolver el problema de introducción de especies de *Pleurotus* para cultivo (Benitez *et al.*, 1998).

Superar los principales problemas sociales, erradicar el hambre y la desnutrición, garantizar la educación y el enriquecimiento cultural, acabar con la ignorancia, combatir la pobreza son acciones fundamentales de la vía humanista de desarrollo que se enfrenta a la arrolladora velocidad de la globalización.

El impacto regional se establece considerando la evidencia empírica sobre la tradición micófaga en México, la diversidad de especies fúngicas, la variedad climática, y la abundancia de materia prima, la baja inversión en planta, la rentabilidad favorable y el mercado prometedor, se considera que introducir y manejar especies silvestres del género *Pleurotus* muestra posibilidades de viabilidad en el país, pero sobre todo en las comunidades que deben resultar las más beneficiadas por ser ellas de donde se extraen estas especies, pero principalmente por ser el sector que demanda un mayor apoyo económico y alimentario.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Mediante un análisis comparativo con otras cepas, establecer y evidenciar la importancia del germoplasma de *Pleurotus opuntiae* (Durieu & Lév.) Sacc. (1887), como un hongo nativo potencialmente cultivable.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar la presencia de *P. opuntiae* en los sitios de recolección.
2. Recolectar, aislar, caracterizar y evaluar el desarrollo micelial de cinco cepas nativas de *P. opuntiae* considerando su crecimiento y la producción de biomasa.
3. Analizar la Eficiencia Biológica de las cepas nativas y compararlas con dos cepas comerciales de *P. ostreatus* y una cepa no comercial de *P. opuntiae* y conservarlas *in vitro*.

5 Área de Estudio

5.1 Características generales

La vegetación del matorral xerófilo ocupa aproximadamente 40% del territorio de México (Rzedowski, 1978). Su distribución predomina en el norte del país, donde cubre la mayor parte de la Península de Baja California y el oeste de Sonora, así como la mayor parte del Altiplano mexicano, que abarca las porciones orientales de los estados de Chihuahua, Durango y Zacatecas, casi todo Coahuila, el norte y el sur de Nuevo León, parte del occidente de Tamaulipas, la mayor parte de San Luis Potosí, parte del Norte de Guanajuato, la mayor parte del Norte de Querétaro y casi todo el Centro de Hidalgo (Rzedowski, 1978).

Los sitios de recolección para este trabajo se realizaron en la zona semiárida del estado de Hidalgo siempre sobre agaves cultivados. Las características generales de la vegetación que rodean los sitios de colecta (Rzedowski, 1978) fueron las siguientes:

A veces la especie dominante constituye la única planta leñosa de la comunidad y debido a la espesura, por lo común prosperan pocas especies herbáceas y es frecuente que los clones de *Quercus* dejen entre sí espacios irregulares que aprovechan otros componentes del matorral tal es el caso del Matorral de *Quercus microphylla* ("encino chaparro") que se localiza cerca de Singuilucan.

El matorral crasicaule con fisonomía de nopalera (*Opuntia* spp.) se localiza en una pequeña zona al sur de Tulancingo. En áreas muy reducidas dominan sobre el nopal, *Stenocereus* sp., o el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), además presenta elementos como *Zaluzania augusta*, *Mimosa biuncífera* y algunas reminiscencias de *Yucca filifera* y *Y. decipiens*.

En los municipios de Mezquititlán, Huasca de Ocampo y sureste de Metztitlán, encontramos sobre las laderas de la sierra elementos de *Cephalocereus senilis* (viejitos), lo que le da al matorral crasicale una fisonomía de cardonal. El resto del matorral presenta fisonomía de subinierme.

Los bosques de pino, que se presentan preferentemente en zonas de climas templados y fríos, tienen una distribución semejante a los de encino, los encontramos generalmente al lado de éste o intercalados; se encuentran en la zona de clima templado, al sur de Acatlán y Huasca de Ocampo, al norte de Agua Blanca y al suroeste de Tenango de Doria. Entre las especies que lo forman destacan: *Pinus ayacahuite*, *Pinus leiophylla*, *Pinus patula*, *Pinus montezumae*, *Alnus jorullensis* y otros elementos.

Los bosques de táscate (*Juniperus*) se encuentran al este de Actopan y al norte de Huasca de Ocampo, en pequeños manchones y suelen ser sustitutos de otros bosques anteriores o se encuentran intercalados con bosques de encino y pino. Sus árboles varían de altura, entre 5 y 15 m, como los localizados al norte de Huasca de Ocampo, constituyendo un bosque bastante abierto, están formados principalmente por *Juniperus* spp. con algunos elementos de matorrales y pastizales; el *Juniperus flacida*, es el que mejor representa al bosque.

Los pastizales son una asociación vegetal constituida por individuos gramínoles y que pueden ser naturales, como los localizados al sur de Nopala de Villagrán y al suroeste de Alfajayucan, en condiciones de clima templado subúmido o bien los inducidos, que se distribuyen en terrenos agrícolas en abandono o en bosques talados con introducción de fuego. Se encuentran en cualquier geoforma con especies como *Aristida* sp. o *Muhlenbergia rigida*.

En la parte central de Tulancingo existe una comunidad arbustiva de *Quercus* spp., *Adenostoma* spp. y *Arctostaphylos* spp. denominada chaparral, que por lo regular se encuentran entre los límites entre climas secos y templados y son muy resistentes a las bajas temperaturas y al fuego.

En todas las localidades visitadas, *Agave salmiana* se encuentra cultivada, y entre los hongos asociados con esta especie, se encuentra *Pleurotus opuntiae*.

5.2. Aspectos generales de los municipios de donde procede el material estudiado

El material biológico fue recolectado en 5 comunidades, cada una de ellas correspondientes con 5 diferentes municipios del estado de Hidalgo (Mapa 1). Estos municipios fueron: Acatlán (Alcholoya), Epazoyucan (Santa Mónica), Huasca de Ocampo, Santiago Tulantepec (Lajas Grandes) y Singuilucan (La Mora). A continuación se describen las características generales de cada uno de estos municipios.

Acatlán, municipio de Hidalgo, limita con Tulancingo y Pachuca. Región evangelizada por Agustinos en 1569. Principales actividades: agropecuarias, manufactura y construcción. Acatlán viene de las raíces nahuas "acatl" y "tlan": Locativo. "Lugar donde abundan las cañas". Ubicado dentro del parque del mismo nombre a sólo 29 kilómetros de Pachuca.

Latitud norte: 20° 12' 52"

Longitud oeste: 98° 44' 52"

Superficie: 174.70 km²

Población: 18,595 habitantes

Clima: Frío templado

Altitud: 2120 m

Precipitación pluvial: 1506 mm

Temperatura: 14°C

El material fue recolectado a orilla de la carretera donde *Agave salmiana* es cultivada.

Epazoyucan, municipio aledaño a la capital del estado. Tierra llana, poco productiva. Dedicados a la agricultura, especialmente al cultivo del maguey. Epazoyucan viene de "epazotl": "Epazote" y "yo": partícula unitiva. Lugar que tiene epazote. Entre las artesanías se encuentran la alfarería, artículos de obsidiana, tejidos de lana y objetos de barro y entre sus platillos destacan los escamoles, chichas de maguey, mole de panza , quesadillas de flor de calabaza y huitlacoche, tlacoyos, pan de pulque y nata, y como bebida el pulque.

Latitud norte: 20° 01' 05"

Longitud oeste: 98° 38' 03"

Superficie: 174.70 km²

Población: 11033

Clima: frío

Altitud: 2300 m

Precipitación pluvial: 600 mm

Temperatura: 15°C

El material fue recolectado a orilla de la carretera donde *Agave salmiana* es cultivada; junto con ella se encontraban cultivos de maíz y de frijol.

Huasca de Ocampo, quiere decir lugar de alegría y fue fundado entre los años 1760 y 1780 por Don Pedro de Romero de Terreros. Entre sus artesanías destacan los objetos de barro, de obsidiana y de madera, así como prendas de lana; entre sus platillos la barbacoa, los chinicuiles, escamoles, chichas de maguey, mole de panza, quesadillas de huitlacoche y flor de calabaza, tlacoyos y sopas, pan de pulque y nata, dulces de leche y de calabaza y como bebida el pulque. Relieve plano y clima templado. Principal producto agrícola: el maguey.

Latitud norte: 20°, 12' 10"

Longitud oeste: 98°, 34',55"

Superficie: 305.8 km²

Población: 15248 habitantes

Clima: semifrío
Altitud: 2048 m
Precipitación pluvial: 1206 mm
Temperatura: 14°C

El material se colectó en los alrededores de la cabecera municipal.

Santiago Tulantepec, ubicado al sureste del estado. Clima templado; producción de cebada y maderas; su nombre viene de Tulantepec, palabra compuesta inventada poco antes de formarse el municipio, con las raíces de dos poblaciones vecinas: Tulan (de Tulancingo) y Tepec (de Cuautepec).

Latitud norte: 20° 02' 18"
Longitud oeste: 98° 21' 21"
Superficie: 89.90 km²
Población: 26,157
Clima: templado
Altitud: 21180 m
Precipitación pluvial: 567
Temperatura: 15°C

El material fue recolectado a orilla de la carretera donde *Agave salmiana* es cultivada.

Singuilucan, municipio de Hidalgo. Región árida y plana. Produce maguey. Singuilucan (Tzihuiquilocan, Tzinquilucan) quiere decir: "Donde se tiritita de frío" o "Lugar de mucho lodo". Es famoso por sus platillos como los escamoles, chinicuiles, moronga, huasontles, hongos y esquites, todos ellos formaban parte de la dieta de los antiguos mexicanos.

Latitud norte: 19° 58' 00"
Longitud oeste: 98° 31' 08"

Superficie: 384.89 km²

Población: 13319 habitantes

Clima: frío

Altitud: 2640 m

Precipitación pluvial: 647 mm

Temperatura: 15°C

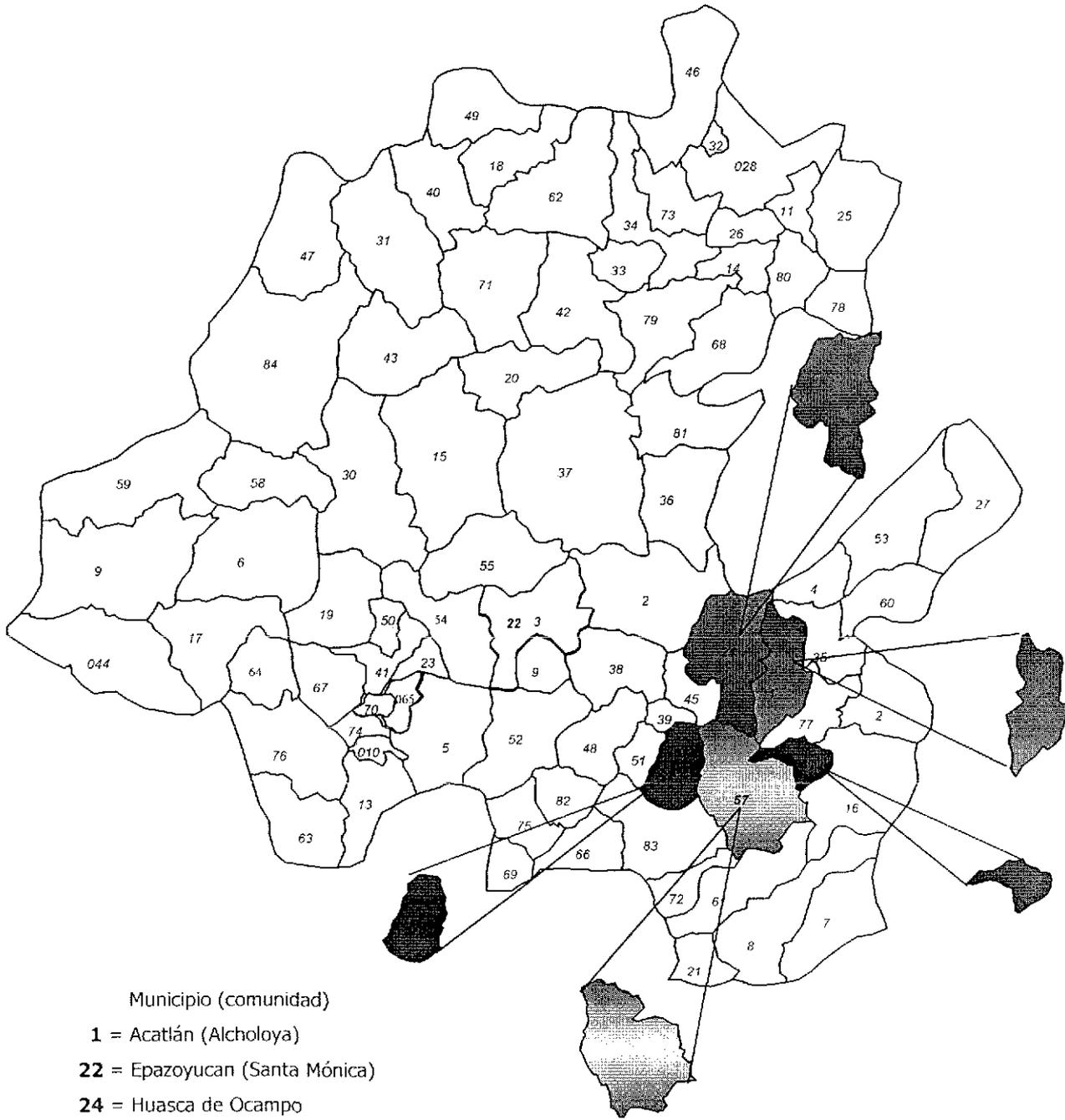
Actualmente la vegetación natural se encuentra perturbada en la mayoría de las partes donde se recolectaron los especímenes, debido principalmente a la influencia de la agricultura, a la tala inmoderada y a la ganadería, las cuales representan sólo algunas de las actividades humanas

El material no fue recolectado a orilla de la carretera sino más bien hacia adentro de la milpa, donde se siembra también frijol, chícharo y cebada. En esta comunidad también *A. salmiana* se cultiva.

5.3. Ubicación geográfica

En el mapa 1 se localizan los municipios donde se recolectó el material biológico y en el mapa 2, se ubican las localidades en forma más detallada y a una escala de 1: 500,000.

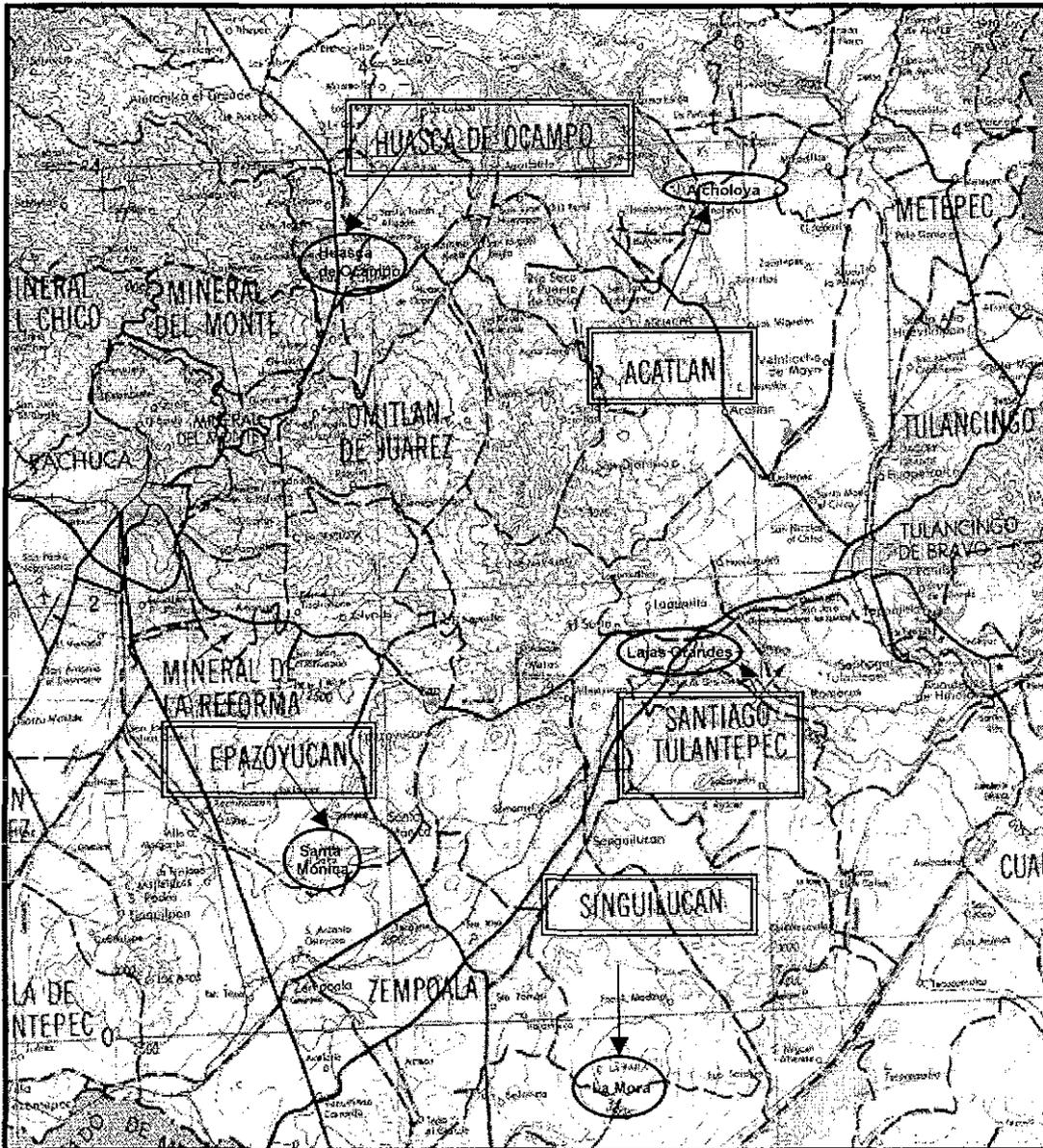
Mapa 1. Municipios del estado de Hidalgo donde se recolectó el material biológico



- Municipio (comunidad)
- 1 = Acatlán (Alcoholoya)
 - 22 = Epazoyucan (Santa Mónica)
 - 24 = Huasca de Ocampo
 - 56 = Santiago Tulantepec (Lajas Grandes)
 - 57 = Singuilucan (La Mora)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Mapa 2. Ubicación de las localidades donde se recolectaron los carpóforos para la obtención de la cepas de *Pleurotus opuntiae* (escala 1:500,000)



Huasca de Ocampo (Huasca de Ocampo), Acatlán (Alcholoya), Santiago Tulantepec (Lajas Grandes), Epazoyucan (Santa Mónica), Singuilucan (La Mora).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6. METODOLOGÍA

Se realizaron diferentes actividades y pruebas experimentales, ordenados de la forma que se describe a continuación:

- 6.1 Trabajo de campo y laboratorio
- 6.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con *P. opuntiae*
- 6.3 Determinación de ejemplares
- 6.4 Morfología micelial
- 6.5 Velocidad, diámetro y biomasa micelial
- 6.6 Colonización y agregaciones hifales
- 6.7 Eficiencia biológica

6.1 Trabajo de campo y laboratorio

6.1.1 Trabajo de campo

A) Recolección del material biológico

Se realizaron 8 recorridos de reconocimiento entre los años 1990 y 2000 en la temporada de lluvias (mayo-octubre), con la finalidad de localizar y detectar los sitios donde *P. opuntiae* se encontraba creciendo en el estado de Hidalgo.

Se recolectaron 5 cepas de *P. opuntiae* entre 1999 y 2000, tres de ellas en el mes de mayo y dos en el mes de agosto. Las cepas provienen de 5 localidades pertenecientes a 5 municipios del estado de Hidalgo (ver ubicación geográfica en el apartado 5.3).

Los municipios y las localidades donde se obtuvo el material fueron: Huasca de Ocampo (Huasca de Ocampo), Santiago Tulantepec (Lajas Grandes), Epazoyucan (Santa Mónica), Singuilucan (La Mora) y Acatán (Alcholoja).

Las localidades fueron geo-referenciadas con la ayuda de un geoposicionador para poder establecer la altitud y las coordenadas geográficas de los lugares donde fue recolectado el material.

B) Material biológico

El material biológico utilizado fue:

- ❖ 5 cepas de *P. opuntiae* recolectado en diferentes localidades del estado de Hidalgo UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13, UAEH-14 y UAEH-15).
- ❖ 1 cepa de *P. opuntiae* donada por el Colegio de Posgraduados (CPG 105) que sirvió como punto de comparación (Martínez Carrera *et al.*, 1999).
- ❖ 2 cepas comerciales de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Qué. (1871), (UAEH.1 y UAEH-3) cuyo origen es incierto, pero que sin embargo se han venido trabajando en el Laboratorio de Micología de la UAEH por más de 3 años en diferentes plantas establecidas en el estado de Hidalgo y forman parte del cepario de la UAEH. Estas cepas también se utilizaron para fines comparativos (Benitez *et al.*, 1998).

6.1.2 Trabajo de laboratorio

El material recolectado se trabajó en el laboratorio donde fue conservado (esporada, carpóforos y cepas) y para poder efectuar cada uno de los experimentos se realizó lo siguiente:

A) Obtención de la esporada

Se recortaron varios círculos de papel filtro (8 cm de diámetro) que fueron introducidos en una caja de petri y se esterilizaron en seco durante 2 horas a 100°C. Posteriormente cuando se enfriaron, el carpóforo se colocó directamente sobre el papel filtro (himenio en contacto con el papel). Las cajas de petri con los carpóforos se mantuvieron aisladas de corrientes de aire dentro de una estufa a la temperatura ambiente. Después de 6 horas, se retiraron los carpóforos.

Las esporadas se secaron a 27°C durante 24 horas, se colocaron dentro de una bolsa de plástico sellada y se etiquetaron, agregando la fecha de la obtención de la esporada a los datos previamente recabados que se presentan como resultados en la (Tabla 7). Posteriormente se depositaron y almacenaron en el refrigerador a 4°C en el cepario del Laboratorio de Micología de la UAEH para futuras investigaciones.

B) Secado de carpóforos

Una vez que se obtuvo la esporada, los ejemplares se deshidrataron en una secadora hasta obtener una consistencia quebradiza. Este material servirá para corroborar la identificación de la especie y queda como referencia de las cepas aisladas. Se depositaron en la micoteca de la UAEH con todos sus datos de la misma forma que la esporada (Tabla 7).

C) Preparación de material y reactivos

Para poder continuar con el proceso de aislamiento de las cepas, el material y los reactivos se sometieron al siguiente proceso:

Esterilización: Tanto el material como los medios de cultivo se esterilizaron de dos formas (húmeda y seca) de acuerdo con su naturaleza.

- ❖ **Esterilización húmeda:** Se utilizó una esterilizadora vertical, así como un autoclave vertical. El tiempo varió de acuerdo con el tipo de material que fue sometido a la esterilización. Los medios de cultivo y las puntas de pipeta se sometieron a 121°C y 15 libras de presión durante 15 minutos.
- ❖ **Esterilización seca:** Se utilizó una estufa a 100 °C donde se esterilizaron durante dos horas las cajas de petri de vidrio y las pipetas serológicas, así como los filtros utilizados para obtener las esporadas como la determinación de las biomásas (en estos últimos para eliminar la humedad).

Preparación de medios de cultivo: Se utilizaron los siguientes medios de cultivo comerciales sólidos de la marca BIOXON presentación en polvo: PDA (Papa-Dextrosa-Agar), EMA (Agar-Extracto de Malta) y SDA (Agar-Dextrosa -Sabouraud). El

medio se colocó en un matraz limpio y seco, previamente tarado para su pesada. Para la cantidad y manera de preparar cada uno de los medios, se siguieron las instrucciones de los frascos que de manera general es la siguiente:

Se debe utilizar agua destilada para disolver la presentación en polvo de los medios; una vez disuelto se calienta y se agita constantemente. Se deja hervir durante un minuto hasta que el líquido se torna transparente. Los matraces con el medio de cultivo líquido se ponen a esterilizar (esterilizado húmedo) durante 15 minutos a 15 libras de presión y 121°C. Finalmente se vacían a las cajas de petri como se menciona posteriormente. Los medios de cultivo comerciales registran un pH al terminar la preparación del medio, es decir una vez esterilizado; éste se midió antes y después de la esterilización para cada uno de los medios y se presentan en el anexo 4 junto con su composición.

D) Obtención de cepas

La obtención de las cepas a partir de carpóforos se puede hacer por dos mecanismos: a partir de las esporas o bien directamente del contexto. En este trabajo las cepas se obtuvieron directamente del contexto (aislamiento somático), previa descripción (macroscópica y microscópica) y secado de los especímenes recolectados. Sin embargo también se obtuvieron cultivos monospóricos con fines de caracterización para la descripción de la especie.

Aislamiento monospórico: Se partió de la esporada obtenida de cada uno de los carpóforos recolectados en campo y con un bisturí, se cortó un cuadro de 1cm² y se colocó dentro de tubo de ensaye con 10 ml de agua destilada estéril y se mezcló para obtener una suspensión de esporas. Posteriormente se tomaron 0.1 ml de la suspensión de esporas y se vertió nuevamente en otro tubo de ensaye conteniendo 10 ml de agua destilada estéril; se repitió nuevamente la operación hasta obtener una suspensión más diluida. Con esta última dilución se tomó 1 ml para verterla en las diferentes placas preparadas previamente con EMA. Se prepararon 9 placas para cada esporada, es decir para cada cepa y se incubaron a las tres temperaturas empleadas (22°C, 25°C y 27°C) colocando tres cajas en cada una de ellas. Se

revisaron diariamente con un microscópio esteroscópico y las contaminadas se descartaron.

Aislamiento somático: Bajo condiciones asépticas (dentro de una campana de flujo laminar), el carpóforo se abrió por la mitad y se extrajeron pequeños fragmentos del contexto (con un utensilio estéril), mismos que fueron depositados en el centro de la caja de petri que previamente contenía el medio de cultivo (EMA); las cajas se mantuvieron dentro de una incubadora a temperatura ambiente (25°C). Este fue el tipo de micelio que se utilizó en este trabajo para los todos los experimentos (morfología micelial, velocidad, diámetro y biomasa micelial, colonización y agregaciones hifales y eficiencia biológica).

Obtención de micelio: Una vez que el micelio de cada una de las cepas invadió las cajas, se procedió a extraer círculos de 8 mm de diámetro utilizando puntas de pipeta estériles. Cada círculo fue colocado en el centro de las cajas de prueba, que se marcaron y sellaron con parafilm.

Selección del medio de cultivo: Es importante mencionar que de manera inicial se utilizó agar-agar como medio primordial, pero el crecimiento que se obtuvo para todas las cepas fue muy lento y en la mayoría de los casos no se presentó crecimiento por no contener los nutrimentos que contienen los otros medios de cultivo (peptona, dextrosa, etc.) por lo anterior, no se obtuvo biomasa suficiente para la realización de las pruebas. Se optó por utilizar EMA por ser el medio que más se reporta en la literatura para el cultivo de cepas de *Pleurotus* spp. (Bernabé *et al.*, 1993; Sobal, *et al.*, 1988; Acosta-Urdapilleta *et al.*, 1995; Paredes *et al.*, 1996).

Llenado de cajas con medio de cultivo: Dentro de una campana de flujo laminar y con la ayuda de un dosificador automático y con pipetas serológicas de 25 ml, se llenaron con 12 ml de EMA cuatro cajas de petri desechables y estériles (8.5 cm de diámetro de 10 x 100) para cada cepa (32 cajas en total) las cuales se sellaron con parafilm y se pusieron a incubar a 27°C hasta que el micelio invadió las cajas y fuese suficiente para tomar los círculos de las diferentes cepas que se pondrían sobre los diferentes medios de cultivo. Posteriormente se les aplicó la

prueba de esterilidad durante 2 días para poder detectar aquellas cajas que estuviesen previamente contaminadas.

Se evaluaron tres medios de cultivo (PDA, EMA y SDA) a tres temperaturas (22°C, 25°C y 27°C) por lo que para cada cepa se prepararon un total de 45 cajas considerando las repeticiones (Tabla 6).

Tabla 6. Número de cajas de petri preparadas con diferente medio de cultivo para cada una de las cepas.

Temperatura (°C)	MEDIOS DE CULTIVO		
	PDA (cajas)	EMA (cajas)	SDA (cajas)
22	5	5	5
25	5	5	5
27	5	5	5
Subtotal	15	15	15
TOTAL	45 CAJAS		

Las cepas evaluadas fueron 8, por lo que fueron 360 el total de cajas que se prepararon. Todas las cepas se corrieron al mismo tiempo.

6.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con

P. opuntiae

En el año 2000, se realizaron 6 salidas de campo (una por mes) visitando todas las localidades para establecer el número de agaves sobre los que crecían carpóforos de *P. opuntiae*, tomando en cuenta además que *A. salmiana* es cultivada, por lo que se aprovecharon las líneas surcadas tanto para establecer la población y realizar el marcaje de muestreo.

DISEÑO ESTADÍSTICO

El muestreo se realizó en 5 localidades, de acuerdo con lo indicado en los apartados 5.2 y 5.3. Para cada localidad se tomó una muestra 100 agaves, los cuales fueron seleccionados al azar, utilizando una tabla de números aleatorios (Christensen, 1990). Estos fueron marcados con rafia de color blanco y aquéllos donde se localizaron carpóforos de *P. opuntiae*, se marcaron con rafia roja para no volver a contabilizarlos (Tabla 7). La variable que se manejó fue nominal y dicotómica (presencia o ausencia de carpóforos en el maguey). Se contó con la participación de los habitantes de las localidades.

6.3 Determinación de ejemplares

Los carpóforos de los ejemplares rerecolectados "*in situ*", es decir, las cinco cepas silvestres de *P. opuntiae*, (UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13, UAEH-14 y UAEH-15), se caracterizaron en cultivo, macroscópica y microscópicamente. Las demás cepas: *P. opuntiae* del Colegio de Posgraduados (CPG-105) y las dos cepas comerciales de *P. ostryatus* (UAEH-1 y UAEH-3) fueron caracterizadas a nivel de crecimiento micelial en caja (sin el aislamiento espórico), así como también fueron utilizadas en todos los demás experimentos junto con las otras cepas.

CARACTERÍSTICAS EN CULTIVO

Cultivo monocariótico

El micelio monocariótico fue caracterizado de acuerdo con Sobal *et al.* (1989a) y la metodología se describe en el apartado 6.1. Los resultados que se presentan son sólo a nivel de caracterización en la descripción de la especie.

Cultivo dicariótico

Para la caracterización del micelio dicariótico (ver apartado 7.4) se siguió también la metodología de Sobal *et al.*, (1989a) y la metodología se presenta en el apartado 6.1.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

Se utilizó el glosario propuesto por Delgado (1989), quien considera el hábitat, tamaño, píleo, estípite y contexto entre otros caracteres, como importantes para la determinación de la especie. Además, se realizaron pruebas químicas con KOH al 5 % o Melzer en cada una de las partes (píleo, estípite, contexto e himenio). Los colores fueron definidos con la ayuda de la guía de colores de Kornerup y Wanscher (1978).

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

Para la caracterización microscópica de los carpóforos de *P. opuntiae*, se midieron estructuras como las esporas, los basidios y sistema hifal, con la ayuda de un microscopio fotónico, a los que se les tomó el color, la forma, así como también algunas reacciones químicas con Melzer o KOH.

6.4 Morfología micelial

Una vez que concluyeron los experimentos de velocidad y diámetro micelial y antes de realizar la evaluación de la biomasa, las cepas fueron caracterizadas morfológicamente en las cajas de petri con base en los conceptos de color, textura, densidad y micelio aéreo, de acuerdo con los criterios propuestos por Sobal *et al.*, (1989).

6.5 Velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial

DISEÑO ESTADÍSTICO

Para los experimentos donde se evaluó: velocidad, diámetro y biomasa micelial (6.5); colonización y agregaciones hifales (6.6) y eficiencia biológica (6.7) se consideraron como variables independientes la temperatura de incubación (22, 25 y 27°C) y el medio de cultivo (PDA, EMA y SDA).

El análisis estadístico utilizado para la interpretación de los resultados fue por medio de los diseños de cuadrado latino (aleatorio y en bloques) y factorial (aleatorio y en

bloques). En los casos en donde la interacción entre las variables fue significativa se consideró el diseño factorial para la interpretación de los resultados. Cuando la interacción entre las variables no fue significativa, la interpretación se realizó considerando el diseño de cuadrado latino. El efecto de las repeticiones en todos los casos fue considerado a través de los diseños en bloques, es decir si las repeticiones presentaron un efecto significativo en los diseños en bloques, estos fueron los diseños utilizados para la interpretación de los resultados.

Cuando se encontraron diferencias significativas para los niveles de las variables independientes estudiadas o para las interacciones se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan ($\alpha = 0.05$) que evita la comisión de errores inherentes al empleo indiscriminado de la prueba de diferencia significativa mínima y requiere valores progresivamente mayores para la significación entre medias, en la medida en que éstas se encuentran más ampliamente separadas en el arreglo (Little y Hills, 1976).

Las pruebas experimentales de velocidad, diámetro y biomasa miceliales, fueron interpretadas por medio de un diseño factorial de bloques, debido a que la interacción entre las variables (temperatura, medio de cultivo y las repeticiones) resultó significativa o altamente significativa. Además se interpretó por separado el efecto de cada variable (cepas, temperaturas y medios de cultivo). Por otro lado se aplicó una prueba de correlación entre el diámetro y la biomasa.

6.5.1 Velocidad de crecimiento

Se sembraron discos de 8 mm de diámetro en las 45 cajas que se prepararon por cepa en los diferentes medios de cultivo y se colocaron dentro de las incubadoras a diferentes temperaturas. A cada una de las cajas se le midió con un vernier su diámetro de crecimiento (Fotografía 3) cada 48 horas durante ocho días, cuya lectura siempre fue realizada a partir de las 12 h.

Los datos de crecimiento diario de la colonia se calcularon con la ecuación de la recta ($Y = mx + b$) en coordenadas semilogarítmicas que describe el crecimiento del hongo sobre cada uno de los medios de cultivo.

Las medidas observadas en los extremos de esta fase se utilizaron para el cálculo de la velocidad de crecimiento, así como también en la medida para el diámetro final una vez transcurridos los ocho días. Todo esto acorde con la siguiente fórmula (Benitez *et al.*, 1998):

$$\text{Velocidad de crecimiento} = (Df - Di) / (Tf - Ti).$$

En donde

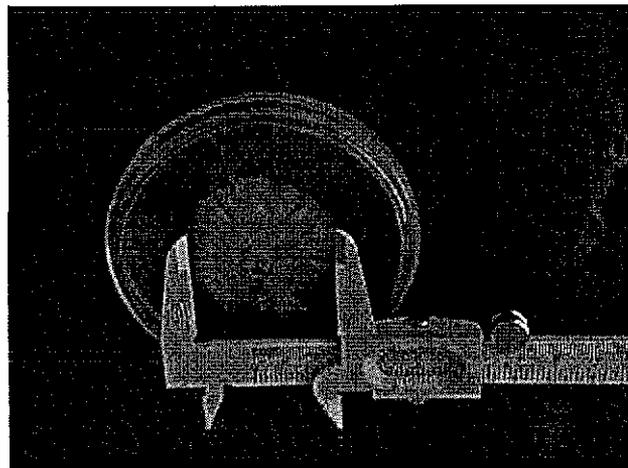
Df = Diámetro final de crecimiento

Di = Diámetro inicial de crecimiento

Tf, Ti – Días de crecimiento micelial

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fue importante que el inóculo tuviera el mismo estado fisiológico, la misma viabilidad y que el medio de cultivo se preparara y trabajara en una sola sesión. Por otra parte, se evitó tomar inóculo de la parte central por corresponder con el micelio más viejo.



Fotografía 3. Medición del diámetro micelial

6.5.2 Diámetro micelial

El diámetro final también se midió con un vernier una vez transcurridos los ocho días, para posteriormente evaluar cualitativamente la morfología micelial y posteriormente cuantitativamente la biomasa.

6.5.3 Biomasa micelial

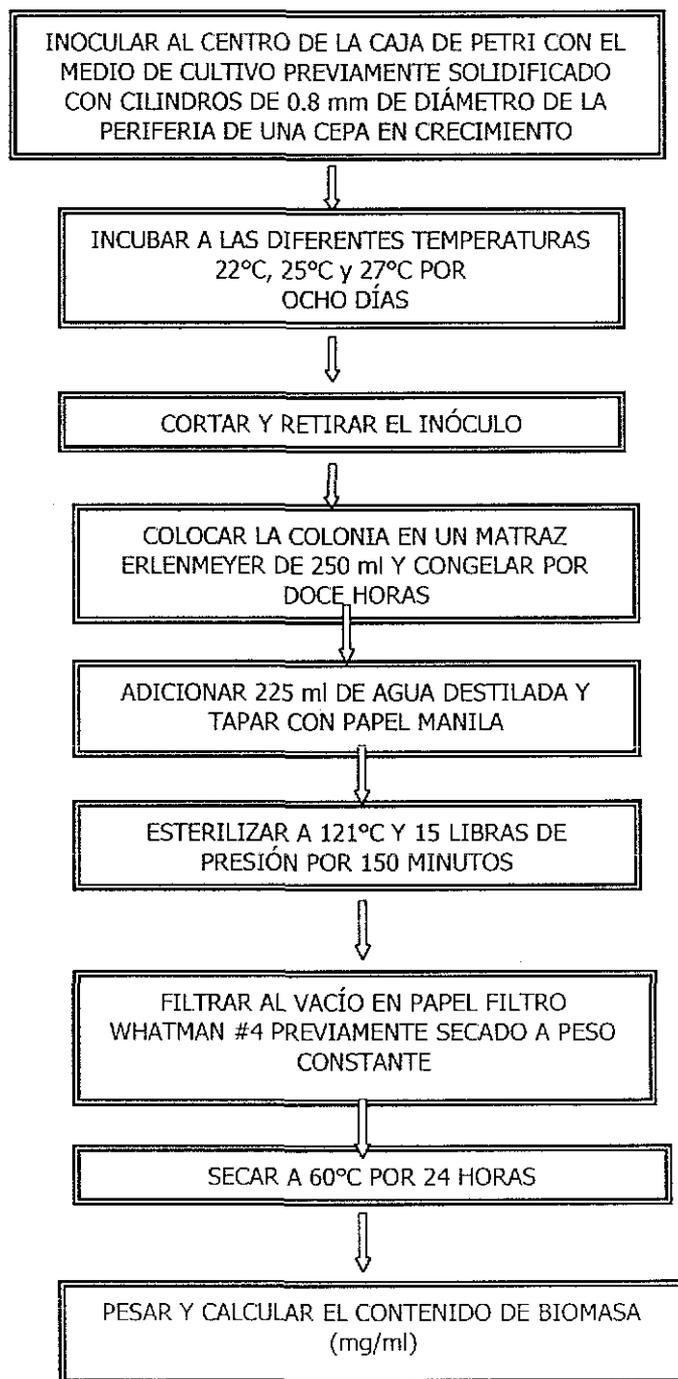
Una vez que se midió el diámetro final y se observaron las características morfológicas de las cepas, se determinó la biomasa utilizando la técnica reportada por (Sánchez y Viniegra, 1996), modificada por Ramírez- Carrillo, (comunicación personal) que se esquematiza en la figura 2.

Primeramente se cortó y retiró el inóculo con todo y el medio de cultivo que lo contenía, solamente cuando las cepas crecieron invadiendo toda la caja, se extrajo todo el contenido de la caja (cepa y medio). Estos se colocaron en matraces Erlenmeyer de 250 ml y se colocaron en un congelador por un período de 12 horas. No fue necesario continuar con las condiciones estériles debido a que lo que interesaba era evaluar la biomasa hasta este punto, donde el crecimiento fue interrumpido para realizar las mediciones.

Se adicionaron 225 ml de agua destilada y se taparon con papel manila utilizando una liga. Se esterilizaron durante 150 minutos a 121°C y 15 libras de presión. Previo a este proceso, se colocaron los filtros Whatman #4 en una estufa a 60°C durante 24 horas para eliminar la humedad; éstos fueron etiquetados con los datos de la cepa, temperatura y medio correspondiente y pesados en una balanza analítica.

Con la ayuda de un sistema de vacío, se filtró la biomasa y el medio de cultivo disuelto de todos los matraces. Se secaron nuevamente todos los filtros conteniendo ahora la biomasa por 24 horas a 60°C y finalmente se volvieron a pesar. Para controlar la absorción de la humedad del ambiente, se utilizó un desecador.

Figura 3. Modificación de la metodología para cuantificar biomasa
Sánchez y Viniegra, (1996) modificada por Ramírez Carrillo (comunicación personal)



Las cepas se mantienen actualmente a 4°C para evitar su envejecimiento, es decir, retardar hasta donde fuera posible los cambios degenerativos normales que ocurren en las células. Se debe tener en cuenta que cuando se obtiene una cepa, ésta se tendrá que estudiar (caracterizar) para conocer su capacidad productora. Para ello, se buscará mantener constantes las características genéticas que proporcionan dicha cualidad. Para evitar esto las cepas se continúan transfiriendo periódicamente a nuevos recipientes una vez que han cubierto completamente el sustrato en que se encuentran (Guzmán *et al.*, 1993).

6.6 Colonización y agregaciones miceliales

Estas pruebas experimentales requirieron de los siguientes pasos para su evaluación:

Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo se utilizó la metodología seguida por varios autores (Chang y Hayes, 1978; Stamets y Chilton, 1983; Guzmán *et al.*, 1993; Sánchez y Royse, 2001).

Crecimiento micelial

De manera inicial, el crecimiento de las cepas se realizó en EMA durante 10 a 15 días a una temperatura de 27°C; los días variaron de acuerdo con las cepas y al tiempo que tardaron en cubrir las cajas de petri.

Selección de grano

Se probaron previamente 3 granos antes de elaborar el inóculo que sería utilizado para evaluar la eficiencia biológica: trigo, sorgo y cebada.

Los granos de sorgo y de trigo fueron adquiridos en la Central de Abasto de la ciudad de Pachuca, mientras que la cebada fue donada por la Impulsora Agrícola, S. A. de C. V., donde además se proporcionó información técnica sobre la calidad y procedencia de la misma como se describe a continuación:

- ❖ Zona: Pachuca
- ❖ Fecha: 18/08/00
- ❖ Variedad: Esperanza
- ❖ Embarcador: José Morales
- ❖ Destino: CCM (Silos Pachuca)
- ❖ No. de furgón: 072TX2
- ❖ Remitente: ASA CV
- ❖ Grano maltero: 95
- ❖ Impurezas: 1.0
- ❖ Grano pelón y/o quebrado: 4.0
- ❖ Viabilidad: 96
- ❖ Peso específico: 59.85
- ❖ Humedad total: 11

Una vez realizada la prueba para la selección de grano, se optó por la utilización de grano de cebada para el corrimiento de la prueba para la evaluación de la eficiencia biológica.

Remojo

La grano se lavó previamente y después se remojó durante 24 horas. Se retiraron todas las semillas muertas que flotaban en el agua y se lavó nuevamente.

Calentamiento

El grano se calentó hasta el punto en que al apretarlas se deshicieran fácilmente; el grano se dejó escurrir durante toda la noche. La humedad relativa del grano fue del 60% calculada con el peso húmedo restada con el peso seco al introducir el grano a una estufa de secado.

Adición de sales

Al sustrato se le agregó CaCO_3 (Analytyka de México, S.A. de C. V.) al 0.3 % y CaSO_4 al 1.3% (Baker Analyzed) peso húmedo (Paredes *et al.*, 1996).

Esterilización

El grano se esterilizó en bolsas de polipapel con 200 g a 121°C a y 15 libras de presión durante 60 minutos.

Incubación

Una vez que el grano estaba tibio, se colocaron 10 círculos de micelio de 0.8 cm de diámetro en cada una de las bolsas de grano de 200 g (utilizando la campana de flujo laminar) y se pusieron a incubar a 27°C de 15 a 30 días en completa oscuridad; el tiempo dependió de cada una de las cepas.

DISEÑO ESTADÍSTICO

Para los experimentos donde se evaluó colonización y agregaciones hifales (6.6), se consideraron como variables independientes el tiempo que tardó en presentarse la colonización y las agregaciones hifales.

El análisis estadístico utilizado para la interpretación de los resultados fue por medio de los diseños de cuadrado latino (aleatorio y en bloques) y factorial (aleatorio y en bloques). En los casos en donde la interacción entre las variables fue significativa se considero el diseño factorial para la interpretación de los resultados. Cuando la interacción entre las variables no fue significativa, la interpretación se realizó considerando el diseño de cuadrado latino. El efecto de las repeticiones en todos los casos fue considerado a través de los diseños en bloques, es decir si las repeticiones presentaron un efecto significativo en los diseños en bloques, estos fueron los diseños utilizados para la interpretación de los resultados.

Cuando se encontraron diferencias significativas para los niveles de las variables independientes estudiadas o para las interacciones se utilizó la prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$).

Los experimentos de colonización y agregaciones hifales fueron interpretados por medio del diseño de cuadrado latino en bloques, debido a que la interacción entre las variables (cereales y días) no fue significativa.

En estas pruebas experimentales se consideraron 5 repeticiones para suministrar una estimación del error experimental y brindar una medición más precisa del efecto de las variables independientes estudiadas. Las 8 cepas evaluadas tuvieron las mismas probabilidades de recibir un tratamiento, por lo que se obtuvieron estimaciones imparciales de medias de tratamientos y del error experimental.

6.6.1 Colonización micelial

Las bolsas fueron monitoreadas diariamente por lo que alrededor de los círculos que se depositaron en los granos se pudo observar la colonización, es decir el momento en el que el micelio comenzó a invadir el grano. Esta colonización fue medida en días.

6.6.2 Agregaciones miceliales

Las bolsas fueron volteadas cada semana con la finalidad de obtener un crecimiento homogéneo por que (de acuerdo con previas observaciones) el micelio invade más rápidamente la parte superior por lo que también se consideró el tiempo de la formación de las agregaciones hifales, es decir lo que se conoce como botones.

6.7 Eficiencia Biológica

Esta prueba experimental requirió de los siguientes pasos para su evaluación:

Preparación del inóculo con grano de cebada

Para la preparación del inóculo se optó por el grano de cebada donde se utilizó directamente el inóculo "master" es decir, el obtenido del cereal inoculado con el micelio creciendo en las cajas de petri. A nivel comercial este micelio puede volver a ser utilizado para preparar más micelio (f1) y a su vez este último para volver a preparar más cereal inoculado (f2) siguiendo la técnica anteriormente descrita.

Preparación de sustrato

Se utilizó paja de cebada que es un sustrato ampliamente utilizado en la producción comercial de los hongos en México, particularmente de *P. ostreatus*, y que nos

permitiera realizar las pruebas comparativas, además de conseguirse fácilmente por producirse en el estado de Hidalgo. Se aseguró que fuera fresca, es decir cosechada en el año corriente.

Picado de sustrato

La paja fue previamente picada a una longitud de entre 3-5 cm con la ayuda de un cortador de martillos.

Prefermentación

El sustrato se extendió sobre una plancha de concreto y se remojó durante 4 días. La paja fue removida diariamente para favorecer la fermentación.

Aditamento de sales

Al sustrato se le agregó CaCO_3 al 0.3 % (Analytyka de México, S.A. de C. V): y CaSO_4 al 1.3% (yeso comercial) peso húmedo (mismos porcentajes utilizados para grano).

Esterilización del sustrato

Sabiendo que la pasteurización es un proceso que elimina o detiene parcialmente la actividad microbiana natural presente en los sustratos empleados para la producción de hongos comestibles, es decir, que no logra eliminar la totalidad de los microorganismos presentes en el sustrato, sino que la mayoría sólo detienen temporalmente su actividad y que además muchos de estos microorganismos, principalmente mohos y bacterias, son capaces de producir etileno, es que se optó por esterilizar el sustrato (paja) introduciéndolo en bolsas de polipapel. Se utilizó una esterilizadora horizontal a una temperatura de 121°C a 15 libras de presión durante 1 hora.

Medición de la humedad

Una muestra del sustrato fue deshidratado en una estufa a 60°C durante 2 horas para poder medir el porcentaje de humedad posterior a la esterilización y previo a la inoculación y fue de 65% de humedad.

Siembra

Las bolsas de siembra (de 40 x 70 cm) fueron perforadas previamente con una aguja de disección. Una vez que el sustrato se encontraba tibio, se mezcló con el inóculo homogéneamente en las siguientes proporciones: 1.800 Kg de sustrato húmedo con 200 g de inóculo para darnos un total de 2 kg por bolsa (10 % en base al peso húmedo (Sobal *et al.*, 1989b). En todos los tratamientos, las réplicas se hicieron por quintuplicado.

Incubación

Las bolsas ya inoculadas se colocaron en un espacio de 2.5 x 1.20 m distribuyéndolas en entropaños de madera aleatoriamente para que las condiciones ambientales afectaran de igual forma a todas las cepas. La iluminación fue natural e indirecta. El tiempo de incubación varió de acuerdo con las cepas, pero se sometieron a 27°C en un área a total oscuridad y a una humedad de 72%. Las bolsas que tardaron más tiempo en presentar los botones se dejaron más tiempo. El tiempo de incubación para cada bolsa concluyó cuando el sustrato fue invadido en su totalidad. Las bolsas fueron perforadas durante la fase de incubación; realizándoles tres líneas de perforación por lado de aproximadamente 1 cm de diámetro (Lanzi, 1986).

Fructificación

Una vez que las bolsas mostraron una invasión total y la presencia de botones, se colocaron en otra área con una humedad entre el 73 y 78% y con una iluminación de 170-410 lux durante el día, todo esto para inducir la fructificación. Al aparecer los primordios, se retiró la bolsa de plástico y se regó periódicamente para mantener constante y uniforme tanto la humedad del sustrato como la humedad ambiental.

Cosecha

Se obtuvieron tres oleadas, sin embargo se continuaron regando las bolsas y cortando los esporóforos durante un periodo de 4 meses. La cosecha se realizó en el momento en que los carpóforos alcanzaron su máximo tamaño o bien se retiraba todo el racimo junto. Se registró el número y el peso de los hongos por bolsa y día

de corte, para evaluar las características de cada cepa de acuerdo con los valores promedio para cada semana de producción. La eficiencia biológica se expresó de acuerdo con Tschierpe y Hartman (1977). La cosecha se realizó cuando los carpóforos mantenían una apariencia fresca.

Eficiencia Biológica

DISEÑO ESTADÍSTICO

Para eficiencia biológica (6.7) se considerará como variables la producción de carpóforos (g) por semana.

El análisis estadístico utilizado para la interpretación de los resultados fue por medio de los diseños de cuadrado latino (aleatorio y en bloques) y factorial (aleatorio y en bloques). En los casos en donde la interacción entre las variables fue significativa se consideró el diseño factorial para la interpretación de los resultados. Cuando la interacción entre las variables no fue significativa, la interpretación se realizó considerando el diseño de cuadrado latino. El efecto de las repeticiones en todos los casos fue considerado a través de los diseños en bloques, es decir si las repeticiones presentaron un efecto significativo en los diseños en bloques, estos fueron los diseños utilizados para la interpretación de los resultados.

Finalmente la eficiencia biológica acumulada se determinó en primer lugar para cada cepa por medio de un análisis de varianza aleatorio o en bloques, si existían diferencias significativas entre las semanas de corte y por medio de la Prueba de Duncan se determinó la semana de corte donde se alcanzó la máxima eficiencia biológica. A partir de estos valores se realizó nuevamente un análisis de varianza para todas las cepas y nuevamente con la prueba de Duncan se identificaron las cepas más productivas.

En todas las pruebas experimentales se consideraron 5 repeticiones para suministrar una estimación del error experimental y brindar una medición más precisa del efecto de las variables independientes estudiadas. Las 8 cepas evaluadas

tuvieron las mismas probabilidades de recibir un tratamiento, por lo que se obtuvieron estimaciones imparciales de medias de tratamientos y del error experimental.

Para todos los análisis estadísticos se utilizó el paquete SPSS y se revisó como literatura básica: Little y Hills, 1983; Christensen, 1990 y Ramírez, 1994.

Se calculó la eficiencia biológica Acumulada tomando en cuenta el porcentaje de humedad del sustrato (65%), el peso fresco de los hongos obtenidos y el peso seco del sustrato utilizando la siguiente fórmula:

$$E. B. = \frac{\text{Peso fresco del hongo cosechado}}{\text{Peso seco del sustrato empleado}} \times 100$$

7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

7.1 Trabajo de campo y laboratorio

Los carpóforos de donde se obtuvieron las cepas se encontraron creciendo en ejemplares adultos y vivos de la especie *Agave salmiana* Otto ex Salm.-Dick. Esta especie (Fotografía 4) fue identificada por el M. en C. Manuel González Ledesma investigador de Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH y sus aspectos generales se pueden revisar en el apartado 2.2.1.

El material fue caracterizado y depositado en la micoteca de la UAEH. Se muestran como resultados el levantamiento de los datos correspondientes de cada una de las cepas (Tabla 7).

Las cepas obtenidas se preservan actualmente en PDA (por ser uno de los medios donde el crecimiento micelial fue más lento). Se mantienen a 4°C para evitar su envejecimiento y retardar, hasta donde sea posible, los cambios degenerativos normales que ocurren en las células.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fotografía 4. Carpóforos de *P. opuntiae* extraídos de la base de *Agave salmiana* viva en la comunidad "La Mora" comunidad de Singuilucan, Hgo.

Tabla 7. Datos generales de recolección de *Pleurotus opuntiae*

CEPAS	UAEH-11	UAEH-12	UAEH-13	UAEH-14	UAEH-15
Recolector	L. Romero				
No. de recolección	345	347	356	357	358
Fecha	15/08/99	15/08/99	25/05/00	25/05/00	25/05/00
Localidad	Huasca de Ocampo	Lajas Grandes	Santa Mónica	La Mora	Alcoholoya
Municipio	Huasca de Ocampo	Santiago Tulantepec	Epazoyucan	Singuilucan	Acatlán
Altitud (m)	2,130	2,460	2,580	2,720	2,100
Coordenadas geográficas	98° 38' 58.8" 20° 10' 19.8"	98° 22' 07.0" 20° 04' 53.9"	98° 24' 38.0" 20° 06' 52.3"	98° 22' 04.9" 20° 04' 46.8"	98° 27' 35.4" 20° 11' 35.4"

7.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con *P. opuntiae*

El número total de agaves para todas las localidades donde se encontraron carpóforos de *P. opuntiae* creciendo sobre ellos fue de 49 de un total de 500 agaves (100 por localidad). El número promedio de agaves con *P. opuntiae* fue de 9.8%.

Las localidades que presentaron mayor número de agaves conteniendo *P. opuntiae* fueron La Mora y Huasca de Ocampo; la que menos presentó fue Santa Mónica, con solamente 6.

El mes de junio seguido por el mes de julio, con 12 y 10, respectivamente, fueron los meses donde se presentaron mayor cantidad de agaves conteniendo carpóforos de *P. opuntiae*. El mes que presentó el menor número de agaves con carpóforos fue octubre, con solamente 3 (Tabla 8).

Tabla 8. Número de agaves colonizados con carpóforos de *P. opuntiae* recolectados por mes (año 2000) de una muestra total de 100 agaves por localidad y porcentaje total de agaves colonizados.

Agaves donde se encontraron carpóforos de <i>P. opuntiae</i>							
Localidad	MESES						
	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Totales
1 (100)	2	2	1	1	2	1	9
2 (100)	0	2	2	1	1	0	6
3 (100)	2	2	3	2	2	1	12
4 (100)	1	3	2	1	2	1	10
5 (100)	3	3	2	2	2	0	12
500 agaves	8	12	10	7	9	3	49
						%	9.8

7.3 Determinación de ejemplares

La especie motivo de este estudio, crece en diferentes regiones del estado de Hidalgo, así como de nuestro país. Es conocido con diferentes nombres (magueyero, hongo de maguey, oreja de maguey y/o pechuga de maguey, entre otros) y corresponde con *Pleurotus opuntiae* (Durieu & Lév.) Sacc. (1887).

La recolección de este hongo se realiza en la temporada de lluvias (julio-agosto), pero es posible encontrarlo en el estado de Hidalgo desde el mes de mayo, e inclusive en noviembre, siempre y cuando se hayan presentado lluvias considerables y que el frío no haya sido demasiado intenso. Sus carpóforos no representan una ganancia económica significativa, pero se puede encontrar a la venta en las cabeceras municipales de los municipios cercanos a las zonas donde se produce, ofreciéndose al consumidor junto con otras especies de hongos comestibles y algunos otros productos del campo.

Las características en cultivo, macroscópicas y microscópicas que presentaron las cinco cepas silvestres de *P. opuntiae* (UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13, UAEH-14 y UAEH-15) se describen a continuación tomando en cuenta cada una de las partes que conforman al carpóforo, así como también las estructuras microscópicas morfológicamente más relevantes. Todas las características tanto en cultivo como las macroscópicas y microscópicas, están basadas en los ejemplares recolectados en campo.

7.3.1 Descripción de *Pleurotus opuntiae* recolectado

Se presenta la descripción de la especie siguiendo el orden de Hilber (1997) y las características propuestas por Delgado (1989).

CARACTERÍSTICAS EN CULTIVO

Micelio monocariótico

De manera inicial se realizaron cultivos monospóricos con las cepas de los carpóforos recolectados. Se obtuvo un crecimiento concéntrico, un poco más lento que en el cultivo dicariótico.

Micelio dicariótico

Crecimiento rítmico con anillos concéntricos; sin anamorfos, blanco con gotas hialinas y en algunas cepas con exudados color café; su textura es algodonosa y lanosa, su densidad de escasa a abundante y presentan micelio aéreo (Tabla 9); sus hifas con abundantes fíbulas.

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

Carpóforos

Tipo de unión al sustrato: los ejemplares recolectados, en el mayor de los casos, fueron subestipitados, aunque también se encontraron algunos sésiles e imbricados.

Hábito: En el campo, crece solitario y, en algunos casos, se pueden observar dos ó tres carpóforos juntos, pero nunca desarrollándose a partir de un estípote común (connados).

Píleo

Tamaño: Se tomaron las medidas del ejemplar más pequeño hasta el más grande (ambos en estado maduro) para tener un mayor conocimiento de su grado de variabilidad (Smith y Hesler; 1968; Smith 1971; Hesler y Smith, 1979). Su tamaño fluctuó entre 5 a 176 mm tomando la medida del punto donde se encuentra el estípote hacia afuera por 12 a 81 mm de ancho (ver figura 4).

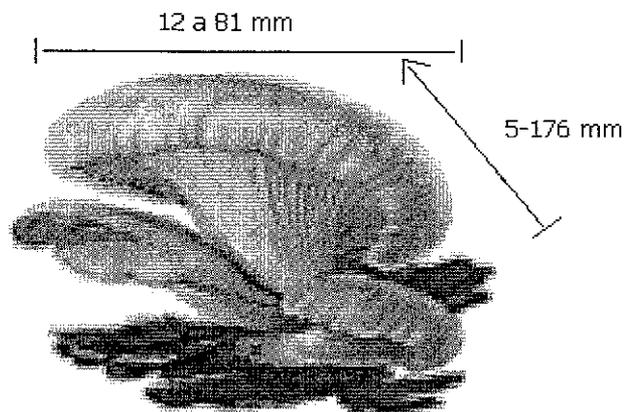


Figura 4. Medidas tomadas para el carpóforo de *P. opuntiae*
(ilustración tomada de Becker, 1983)

Color: el color puede atenuarse con la edad y aún cambiar totalmente; por ello se anotó la variación del color de los especímenes viejos y jóvenes; todos los ejemplares mostraron una tonalidad blanquecina que de acuerdo con la guía de color de Methuen fue de 4A1-4A3.

Olor/sabor: todos presentaron un sabor y olor semejante a *P. ostreatus*, es decir, anís-afrutado.

Forma: la mayoría presentó una forma connada convexa y sólo en un ejemplar recolectado en Acatlán, fue solitario y plano-espátulado.

Margen: en la mayoría de los ejemplares fue delgado y de recto a enrollado y entero, con excepción del ejemplar solitario que fue recto a incurvado y entero. En los ejemplares jóvenes se presenta un mayor enrollamiento que en los maduros (ver Fotografías 5 y 6)

Superficie: en todos los casos fue húmeda y mate, es decir, no refleja la luz.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Reacciones químicas: sin reacción cuando se les agregó KOH o Melzer.

Láminas:

Forma y tamaño: decurrentes y estrechas de 2 a 2.7 mm de ancho.

Color: el color que presentaron las láminas fue de blanco a amarillo pálido y de acuerdo a la guía de color correspondió de 4A3 a 4A2, concolor con el estípite.

Frecuencia: se consideró en todos los casos como juntas.

Unión con el estípite: en todos los ejemplares, se encontraron adheridas y arqueado decurrentes. No se observó presencia de velo parcial.

Borde: se encontró de liso a ligeramente ondulado.

Reacciones químicas: sin reacción cuando se les agregó KOH o Melzer.

Esporada

Abundancia: esta se tomó sólo de los ejemplares que se utilizaron para el aislamiento, así como de aquéllos que forman parte de la colección. En la mayoría de ellos las esporas fueron abundantes, mientras que para algunos fueron escasas; esto tiene relación con la madurez de los ejemplares.

Color: En todos los casos el color fue amarillento, entre los tonos 4A4 a 4B4 de acuerdo con la guía de color de Methuen .

Estípite

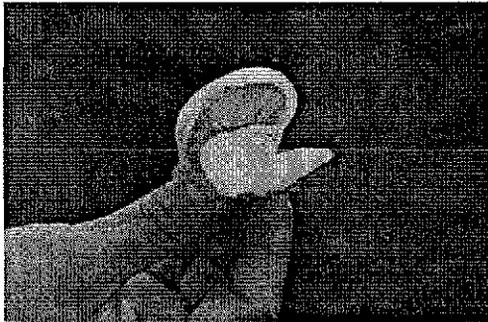
Tamaño: En todos los caso el estípite fue pequeño (7-18 mm de ancho por 12-18 mm de largo) tomando la medida desde donde terminan las láminas hasta la base que estuvo unida al agave.

Unión, Forma y consistencia: en todos los ejemplares fueron laterales al píleo y homogéneos con el contexto cilíndrico y carnoso, respectivamente; adherido fuertemente al hospedero; el contexto fue más correoso en el estípite que en el píleo.

Tipo de unión al cuerpo fructífero: la mayoría de los ejemplares fueron subestipitados y sólo en uno de los casos imbricado.

Reacciones químicas: sin reacción cuando se les agregó KOH o Melzer.

Contexto, consistencia y color: en todos los ejemplares se presentó homogéneo, carnoso con color de blanco a crema que de acuerdo con la guía de color de Methuen correspondieron con 4A1 a 4A2, de 7 a 15 mm de ancho; tiende a adelgazarse hacia el exterior. En cuanto a sus características particulares, todos presentaron perforaciones ocasionados por insectos, como lo mencionan Petersen y Krisal-Greilhuber, (1999).



Fotografía 5. Ejemplar pequeño de *P. opuntiae*. La Mora, Singuilucan, Hgo.



Fotografía 6. Ejemplares totalmente desarrollados y extendidos de *P. opuntiae*. La Mora, Singuilucan, Hgo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los caracteres que se tomaron en cuenta para la descripción macroscópica de *P. opuntiae*, se realizaron considerando ejemplares pequeños y completamente abiertos y desarrollados (Fotografías 4 y 5).

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

Esporas

Tamaño: 7.4-8.8 x 11.4-14.8 µm de largo X 5.8-6.8 x 7.4-8.0 µm de ancho.

Forma: en todos los casos fueron elipsoidales, lisas y hilainas con pared delgada.

Reacciones químicas: sin reacción cuando se les agregó KOH o Melzer.

Basidios

Tamaño: el tamaño correspondió con 18.3-21.9 x 23.8-27.3 µm de largo por 5.8-6.8 x 7.4-8.0 de ancho, de clavados a subcilíndricos, fibulados con esterigmas de 4.3-6.2 µm de longitud, muy delgados; tetrasporados.

Reacciones químicas: sin reacción cuando se les agregó KOH y Melzer.

Cistidios: se pudieron observar algunos cistidios en los ejemplares correspondientes con las cepas UAEH-12 y 13.

Hifas

Tipo y tamaño de las hifas en la trama del píleo: dimítico; las generativas fibuladas tuvieron un tamaño de 0.8-4.2 µm, mientras que las esqueléticas de 1.2-4.6 µm de ancho.

Tipo y tamaño de las hifas en la trama del estípite: dimítico; las generativas fibuladas tuvieron un tamaño de 1.2-5.1 µm, mientras que las esqueléticas de 1.8-5.6 µm de ancho.

Reacciones químicas: sin reacción cuando se les agregó KOH o Melzer.

ECOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Tipo de vegetación: matorral xerófilo donde se cultiva *Agave salmiana*.

Sustrato: Saprofitos; los carpóforos se localizaron principalmente en la base (hojas senescentes), pero también entre la brácteas e incluso en el centro donde los magueyes habían sido “despencados”.

Hábitat: todas los carpóforos se localizaron sobre *Agave salmiana* viva y cultivada.

7.4 Morfología micelial

Cepas comerciales:

La cepa UAEH-1 y UAEH-3 (*P. ostreatus*) presentaron una textura algodonosa con una densidad abundante y un micelio aéreo también abundante en SDA, no así en PDA que presentó una textura lanosa, con una densidad escasa y un micelio aéreo escaso.

Cepas nativas:

La cepa UAEH-11 presentó una textura lanosa con una densidad abundante pero con micelio aéreo escaso en PDA; en EMA la textura fue lanosa, la densidad regular al igual que el micelio aéreo; en SDA la textura fue lanosa, la densidad escasa y el micelio aéreo regular. En este último medio se presentó un exudado de color café que puede apreciarse en la fotografía 12 y que fue responsable de la tonalidad café claro de la cepa.

La cepa UAEH.12 presentó una textura algodonosa, una densidad escasa y la presencia de micelio aéreo escaso en PDA; en EMA, la textura fue lanosa con densidad regular y

micelio aéreo regular; en SDA el micelio adquirió una textura algodonosa-lanosa, la densidad regular y el micelio aéreo también regular.

La cepa UAEH-13 en PDA mostró una textura y densidad algodonosa y abundante con micelio aéreo escaso. En EMA la textura también fue algodonosa pero la densidad fue escasa y el micelio aéreo regular; en SDA, de la misma manera que para el PDA, la textura, densidad y micelio aéreo fue algodonosa, escasa y escaso respectivamente.

La cepa UAEH-14 en PDA presentó un micelio con textura algodonosa, densidad escasa y micelio aéreo regular; en EMA la textura fue lanosa con densidad también escasa y micelio aéreo escaso; en SDA, el micelio presentó una textura algodonosa-lanosa con una densidad escasa y un micelio aéreo abundante.

La cepa UAEH-15 presentó una textura lanosa con una densidad escasa y un micelio aéreo escaso; en EMA, también su textura fue lanosa pero su densidad y micelio aéreo fue abundante y regular respectivamente; en SDA la textura fue lanosa, en cuanto a la densidad, abundante y el micelio aéreo escaso.

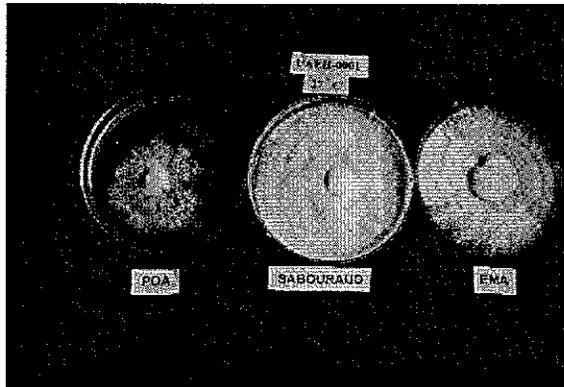
Finalmente la cepa CPG-105 en PDA presentó una textura algodonosa, una densidad escasa, así como también un micelio aéreo; en EMA la textura fue algodonosa-lanosa, la densidad regular y el micelio aéreo regular; en SDA el micelio adoptó una textura algodonosa, una densidad y micelio aéreo abundante.

En la siguientes páginas se muestra el comportamiento del micelio en los diferentes medios de cultivo y en las diferentes temperaturas (Tabla 9 y Fotografías 7-17). Para estas fotografías se seleccionaron aquellas cajas que representaron el comportamiento general para cada cepa.

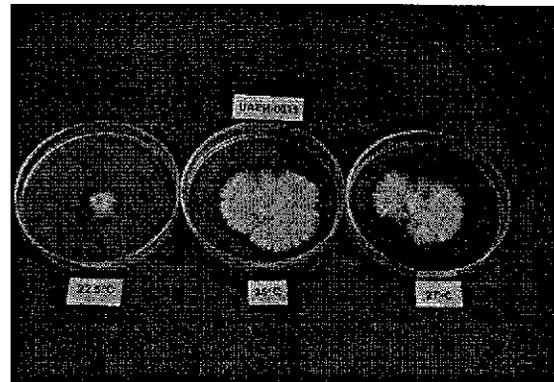
Tabla 9. Morfología micelial de las cepas de *P. opuntiae* (UAEH-1 y UAEH-2) y *P. ostreatus* (UAEH-11-15 y CPG-105) de acuerdo con los diferentes tratamientos.

CEPA/ MEDIO	COLOR	TEXTURA	DENSIDAD	MICELIO AÉREO
UAEH-1				
PDA	blanco	lanosa	escasa	escaso
EMA	blanco	algodonosa	regular	regular
SDA	blanco	algodonosa	abundante	abundante
UAEH-3				
PDA	blanco	lanosa	escasa	escaso
EMA	blanco	lanosa	regular	regular
SDA	blanco	algodonosa	abundante	abundante
UAEH-11				
PDA	blanco	Lanosa	abundante	escaso
EMA	blanco	lanosa	regular	regular
SDA	blanco café claro	lanosa	escasa	regular
UAEH-12				
PDA	blanco	algodonosa	escasa	escaso
EMA	blanco	lanosa	regular	regular
SDA	blanco	algodonosa lanosa	regular	regular
UAEH-13				
PDA	blanco	algodonosa	abundante	escaso
EMA	blanco	algodonosa	escasa	regular
SDA	blanco	algodonosa	abundante	escaso
UAEH-14				
PDA	blanco	algodonosa	escasa	regular
EMA	blanco	lanosa	escasa	regular
SDA	blanco	algodonosa lanosa	escasa	abundante
UAEH-15				
PDA	blanco	lanosa	escasa	escaso
EMA	blanco	lanosa	abundante	regular
SDA	blanco	lanosa	abundante	escaso
CPG-105				
PDA	blanco	algodonosa	escasa	escaso
EMA	blanco	algodonosa lanosa	regular	regular
SDA	blanco	algodonosa	abundante	abundante

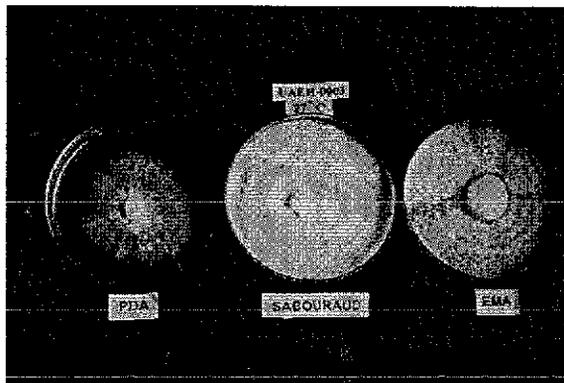
Fotografías 7-24. Morfología micelial de las cepas con los diferentes tratamientos



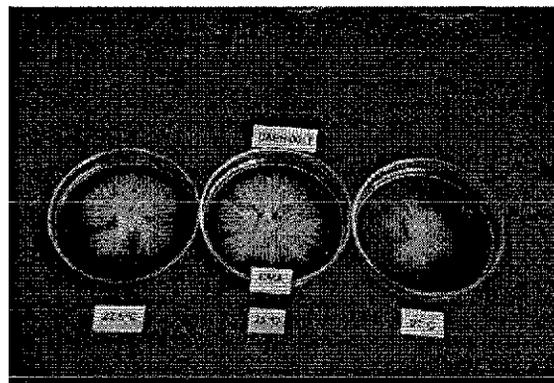
Fotografía 7. Ceba UAEH-1 (PDA, SDA, EMA)



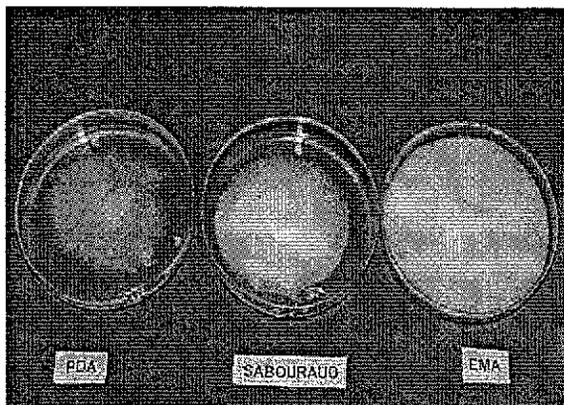
Fotografía 10. Ceba UAEH-11 (PDA)



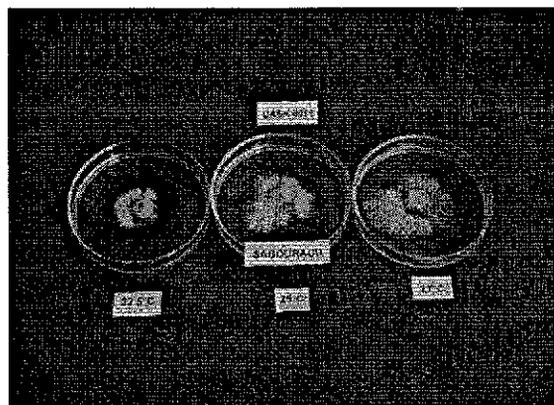
Fotografía 8. Ceba UAEH-3 (PDA, SDA, EMA)



Fotografía 11. Ceba UAEH-11 (EMA)

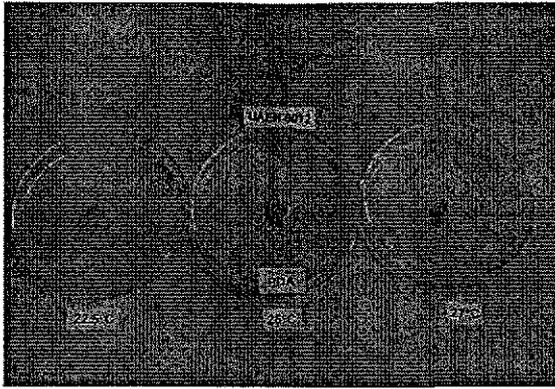


Fotografía 9. Ceba CPG-105 (PDA, SDA, EMA)

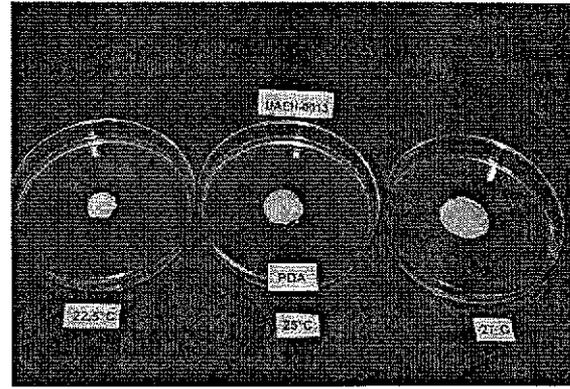


Fotografía 12. Ceba UAEH-11 (SDA)

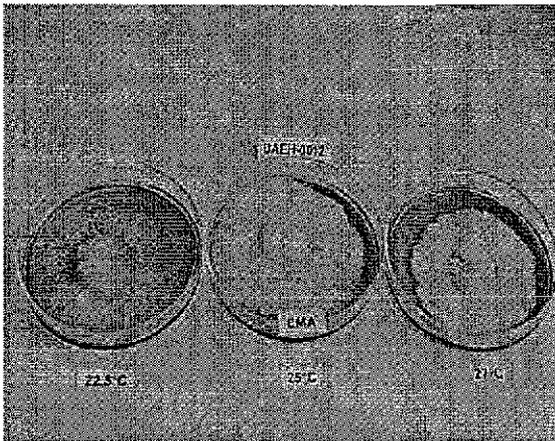
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



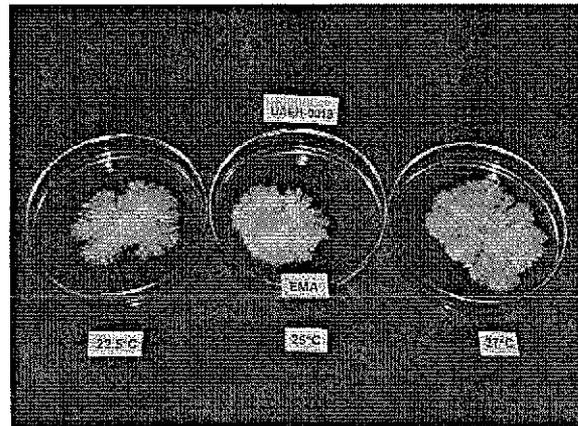
Fotografía 13. Ceba UAEH-12 (PDA)



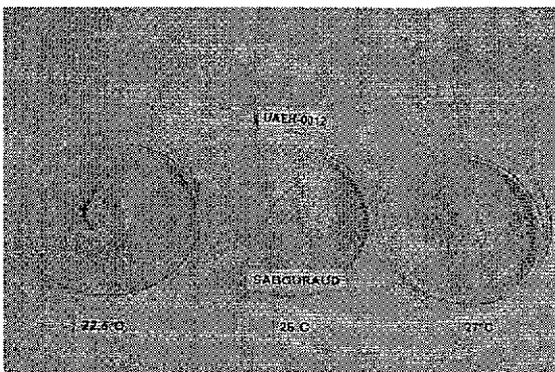
Fotografía 16. Ceba UAEH-13 (PDA)



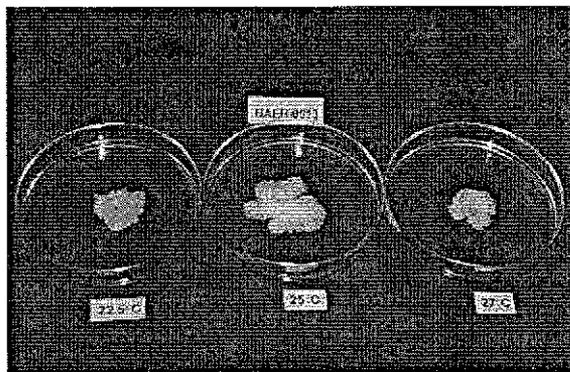
Fotografía 14.. Ceba UAEH-12 (EMA)



otografía 17. Ceba UAEH-13 (EMA)

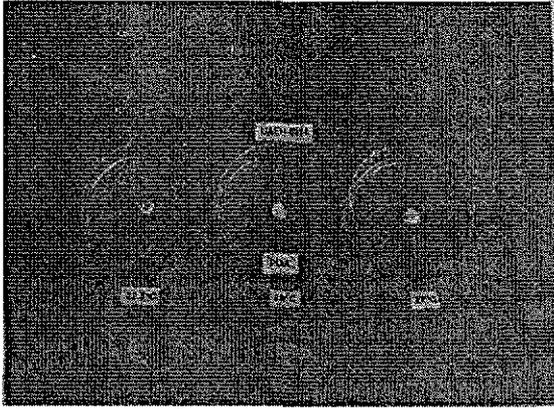


Fotografía 15. Ceba UAEH-12 (SDA)

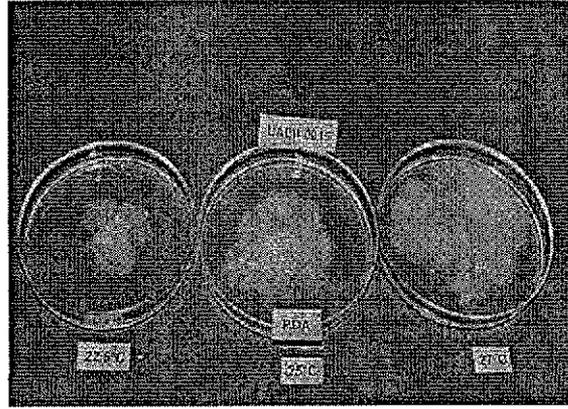


Fotografía 18. Ceba UAEH-13 (SDA)

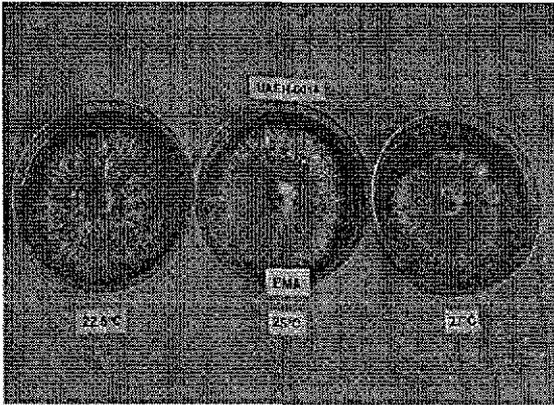
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



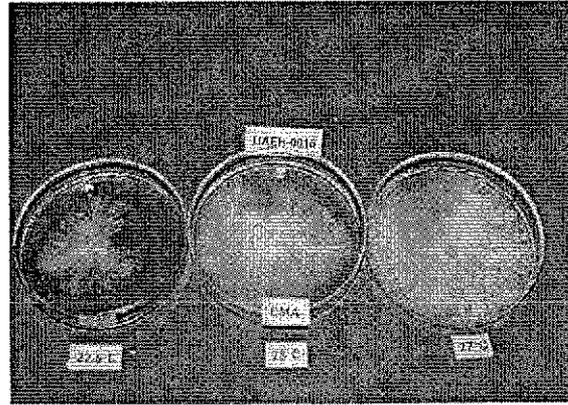
Fotografía 19. Ceba UAEH-14 (PDA)



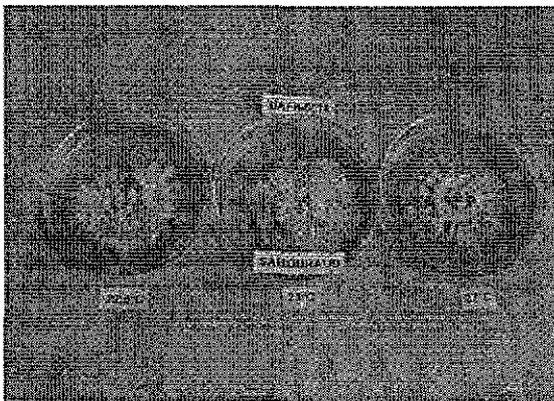
Fotografía 22. Ceba UAEH-15 (PDA)



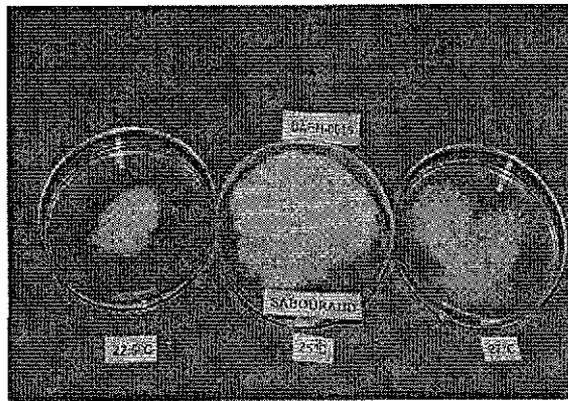
Fotografía 20..Ceba UAEH-14 (EMA)



Fotografía 23. Ceba UAEH-15 (EMA)



Fotografía 21. Ceba UAEH-14 (SDA)



Fotografía 24. Ceba UAEH-15 (SDA)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

7.5 Velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial

7.5.1 Velocidad de crecimiento micelial

Para este parámetro, después de realizar un análisis de varianza de tipo factorial se encontraron diferencias altamente significativas para la interacción entre las cepas, medios de cultivo y temperaturas de incubación. Por ello se utilizó la prueba de Duncan para identificar las condiciones óptimas en las cuales cada cepa presenta su máxima velocidad de crecimiento. Como resultado de esta prueba se obtuvieron 24 grupos, es decir, la velocidad de crecimiento de las cepas fluctuó entre 1.3 y 10.62 mm/ 2 días (Tabla 10).

Las cepas que presentaron la mayor velocidad de crecimiento micelial fueron: UAEH-1 en EMA con las tres temperaturas de incubación (22°C, 25°C y 27°C) con una velocidad de crecimiento de 10.31, 10.4 y 10.46 mm/2 días respectivamente; en SDA a 25°C con 10.4 mm/2 días y UAEH-3 en EMA con dos temperaturas de incubación (25°C y 27°C) con una velocidad de crecimiento de 10.24 y 10.62 mm/2 días, respectivamente (grupo x). La cepa que presentó la menor velocidad de crecimiento micelial fue UAEH-14 en PDA incubada a temperaturas de 22°C o 25°C con una velocidad de crecimiento de 1.68 y 1.34 mm/2 días respectivamente (grupo a y ab).

Otras cepas que también presentaron velocidades de crecimiento mayores fueron (grupo w): UAEH-1 en medio PDA a 25°C; UAEH-3 en medio EMA a 22°C; UAEH-12 en medio EMA a 27°C; UAEH-15 en medio EMA a 27°C y CPG-105 en medio SDA a 25 o 27°C y en medio EMA en cualquiera de las tres temperaturas (con velocidades de crecimiento entre 8.99 a 9.43 mm/dos días).

Interpretación de los valores promedio de las variables: cepas, medios de cultivo y temperaturas de incubación.

Al considerar los valores promedio de cada variable estudiada, se observa que las velocidades de crecimiento más altas correspondieron con las cepas UAEH-1, UAEH-3 (*P. ostreatus*) y CPG-105 (*P. opuntiae*) con velocidades de 9.13, 9.0 y 8.39 mm/2 días respectivamente. La cepa UAEH-13 (*P. opuntiae*) fue la que presentó la velocidad de crecimiento menor (3.78 mm/2 días).

El medio de cultivo donde se presentó la mayor velocidad de crecimiento micelial fue EMA con 8.14 mm/2 días y la menor velocidad en el medio de PDA con 4.76 mm/2días.

Las temperaturas donde las cepas presentaron una mayor velocidad de crecimiento fueron a 25°C y 27°C con 6.88 y 6.97 mm/2días respectivamente y a 22°C correspondió la velocidad significativamente menor con 5.87 mm/2 días.

7.5.2 Diámetro micelial

Para este parámetro, después de realizar un análisis de varianza de tipo factorial, se detectaron diferencias altamente significativas para la interacción entre las cepas, medios de cultivo y temperaturas de incubación. Se utilizó la prueba de Duncan para identificar la condiciones óptimas en las cuales cada cepa presenta su diámetro mayor. Como resultado de esta prueba se obtuvieron 24 grupos, es decir, los diámetros variaron entre 11.5 y 85.75 mm (Tabla 11).

Las cepas que presentaron el diámetro mayor diámetro correspondieron con el último grupo (x) y fueron estadísticamente independientes. Estas cepas fueron la UAEH-1 y la UAEH-3. La UAEH-1 a 22°C con un diámetro de 83.25 mm, a 22°C, 25°C y 27°C en EMA con 83.25, 83 y 84.5 mm respectivamente y a 25°C en SDA con 84 mm la UAEH-3 a 25 y 27°C en EMA y 27°C en SDA con un diámetro de 82.75 a 85.75 mm. La UAEH-3

en EMA a 25°C con 85.75 mm y en SDA a 25°C y 27°C con 85 mm para ambas temperaturas. La cepa con el menor diámetro correspondió a la UAEH-14 a 22°C y 25°C con un diámetro de 14.25 y 11.5 mm (grupos a y ab).

Otras cepas que también presentaron un diámetro mayor fueron (grupo w): UAEH-1 a 27°C en SDA con 76.25 mm y la CPG-105 en EMA a 22°C con 75 mm y 27°C en SDA, con un diámetro de 75.75 mm.

Interpretación de los valores promedio de las variables: cepas, medios de cultivo y temperaturas de incubación

Al considerar los valores promedio para el diámetro, las cepas se clasificaron en tres grupos; los medios de cultivo también en tres y las temperaturas de incubación en dos grupos (Tabla 11). Para las cepas, el diámetro promedio micelial mayor correspondió con las cepas UAEH-1 y UAEH-3 (*P. ostreatus*) con 73.86 y 72.83 mm, respectivamente, y a la CPG-105 con 67.91 mm; el diámetro menor lo obtuvo la UAEH-13 con un diámetro promedio de 31.05 mm.

El medio de cultivo donde se presentó el diámetro mayor fue en EMA con un promedio de 65.99 mm; el diámetro menor fue para el PDA con 38.91 mm. Las temperaturas donde las cepas presentaron el diámetro mayor fueron a 25 y 27°C con un diámetro promedio de 55.84 y 56.49 mm, por lo que a 22°C las cepas presentaron el diámetro menor con un promedio de 47.80 mm.

7.5.3 Biomasa micelial

Después de realizar un análisis de varianza de tipo factorial se encontraron diferencias altamente significativas para la interacción entre las cepas, medios de cultivo y

temperaturas de incubación. Se utilizó la prueba de Duncan para identificar las condiciones óptimas en las cuales cada cepa presenta su biomasa mayor. Con esta prueba se obtuvieron 24 grupos, es decir, la biomasa varió entre 4.40 y 59.55 μg (Tabla 12).

Las cepas que presentaron las biomásas más altas se concentraron en el grupo F y fueron las siguientes: la UAEH-1 a 25°C en SDA con 52.73 μg y la UAEH-3 en SDA a 25°C y 27°C con 52.88 y 59.55 μg respectivamente. El grupo con la menor biomasa correspondió al grupo A con las UAEH-12 a 25°C en PDA con 4.40 μg , UAEH-13 a 22°C con 4.88 μg en PDA y la UAEH-14 a 22°C y 25°C en PDA con biomásas de 5.05 y 5.10 μg . Otras cepas que presentaron un diámetro considerable fueron (grupo E): UAEH-1 en EMA a 22°C y 25°C con 42.8 y 41.93 μg respectivamente y CPG a 27°C en SDA con 42.8 μg .

Interpretación de los valores promedio de las variables: cepas, medios de cultivo y temperaturas de incubación

Al considerar los valores promedio de cada variable estudiada se observa que la biomasa promedio mayor correspondió con UAEH-1 (*P. ostreatus*) con 37.12 μg ; la biomasa menor correspondió a las cepas UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13 y UAEH-14 (*P. opuntiae*) con 15.77, 12.16, 13.14 y 13.14 μg respectivamente (Tabla 12).

El medio de cultivo donde se presentó la biomasa mayor fue en SDA con un promedio de 26.3 μg ; la biomasa menor fue para el PDA con 14.4 μg promedio. Las temperaturas donde las cepas presentaron la biomasa mayor fueron 25 y 27°C con una biomasa promedio de 22.30 y 23.42 μg respectivamente, por lo que a 22°C las cepas presentaron el diámetro menor con un promedio de 47.80 mm.

Prueba de correlación Diámetro-Biomasa

Para calcular la correlación entre la velocidad de crecimiento y la biomasa y entre el diámetro y la biomasa se utilizó el coeficiente de correlación de rango de Spearman cuyo "r" para ambos casos fue de 0.807 que es considerado como alto, por lo que se registró una correlación positiva, es decir se presentó un incremento sostenido en la biomasa a medida que aumenta el diámetro o a medida que aumenta la velocidad de crecimiento.

Tabla 10. Velocidad de crecimiento micelial (mm/2 días) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con diferentes medios de cultivo y temperaturas de incubación y clasificación por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).

Cepas	MEDIOS												Promedio cepas
	PDA			EMA			SDA			25°C	27°C	27°C	
	22°C	25°C	27°C	22°C	25°C	27°C	22°C	25°C	27°C				
UAEH-1	6.9±0.74	9.09±0.51	8.46±0.33	10.31±0.28	10.40±0.10	10.46±0.7	6.87±0.28	10.40±0.10	10.53±0	9.43±0.34	9.1±1.43		
UAEH-3	5.4±0.51	8.15±0.68	7.96±0.46	9.12±0.19	10.24±0.33	10.62±0.06	8.49±0.06	10.53±0	10.53±0	1.053±0	9.0±1.68		
UAEH-11	2.43±0.6	4.49±0.30	4.71±0.26	7.93±0.28	5.03±0.27	5.65±0.10	6.46±0.55	5.46±0.36	4.09±0.16	5.1±1.49			
UAEH-12	2.87±0.21	1.84±0.7	1.93±0.12	7.71±0.22	8.15±0.23	9.24±0.31	6.46±0.16	6.68±0.21	6.43±0.28	5.7±2.67			
UAEH-13	1.84±0.7	2.24±0.19	2.87±0.16	3.4±0.37	6.31±0.39	6.9±0.40	3.18±0.16	2.93±0.37	4.37±0.21	3.8±1.7			
UAEH-14	1.68±0.19	1.34±0.7	1.90±0.23	8.65±0.27	8.46±0.43	7.59±0.16	6.43±0.28	8.15±0.23	7.21±0.16	5.7±3.0			
UAEH-15	4.49±0.28	5.56±0.41	4.59±0.24	5.28±0.18	7.68±0.21	8.99±0.21	3.4±0.32	5.68±0.39	5.59±0.36	5.7±1.64			
CPG-105	6.68±0.53	8.18±0.28	8.74±0.48	9.28±0.27	9.06±0.84	9.24±0.16	5.74±0.21	9.21±0.16	9.37±0.12	8.4±1.3			
Promedio medios	A			C			B			B			
	4.76±2.65			8.14±1.9			6.8±2.3			6.96±2.67			
Promedio Temp.	22°C A			25°C B			27°C B			27°C B			
	5.87±2.48			6.88±2.78			6.96±2.67			6.96±2.67			

*Letras iguales indican grupos estadísticamente iguales

Tabla 11. Diámetro micelial (mm) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con diferentes medios de cultivo y temperaturas de incubación y clasificación por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).

Cepas	MEDIOS												Promedio cepas
	PDA			EMA			SDA			27°C	Promedio		
	22°C	25°C	27°C	22°C	25°C	27°C	22°C	25°C	27°C				
UAEH-1	56±5.94 no	73.5±4.04 uvw	68.5±2.65 st	83.25±2.22 x	83±2 x	84.5±0.58 x	55.75±2.22 no	84±0.82 x	76.25±2.75 w	73.9±11.36 C			
UAEH-3	44±4.08 kl	66±5.48 rs	64.5±3.7 qr	73.75±1.5 uvw	82.75±2.63 x	85.75±0.5 x	68.75±0.5 st	85±0 x	85±0 x	72.8±13.43 C			
UAEH-11	20.25±1.26 de	36.75±2.36 hi	38.5±2.08 ij	64.25±2.22 qr	41±2.16 jk	46±0.82 l	52.5±4.43 mn	44.5±2.89 kl	33.5±1.29 n	41.9±11.96 B			
UAEH-12	23.75±1.71 ef	15.5±0.58 bc	16.25±0.96 bc	62.5±1.73 pqr	66±1.83 rs	74.75±2.5 vw	52.5±1.29 mn	54.25±1.71 mn	53.75±1.26 mn	46.5±21.36 B			
UAEH-13	15.5±0.58 bc	18.75±1.5 cd	23.75±1.26 ef	28±2.94 g	51.25±3.10 m	56±3.16 no	26.25±1.26 fg	24.25±2.99 f	35.75±1.71 hi	31.0±13.57 A			
UAEH-14	14.25±1.5 ab	11.5±0.58 a	16±1.82 bc	70±2.16 stu	68.5±3.42 st	61.5±1.3 pq	52.25±2.22 mn	66±1.82 rs	58.5±1.3 op	46.5±23.99 B			
UAEH-15	36.75±2.22 hi	45.25±3.30 l	37.5±1.91 ij	43±1.41 kl	62.25±1.71 pqr	72.75±1.7 uvw	28±2.58 g	46.25±3.10 l	45.5±2.89 l	46.4±13.13 B			
CPG-105	54.25±4.27 mn	66.25±2.22 rs	70.75±3.86 tuv	75±2.16 w	73.25±6.7 uvw	74.75±1.26 vw	46.75±1.71 l	74.50±1.29 vw	75.75±0.96 w	67.9±10.40 C			
Promedio Medios	38.91±21.21 A			65.99±15.20 C			55.23±18.35 B						
Promedio Temp.	47.80±19.85 22°C A			55.84±22.23 25°C B			56.49±21.4 27°C B						

*Letras iguales indican grupos estadísticamente iguales

Tabla 12. Biomasa micelial (μg) a los 8 días de crecimiento de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 2) y 6 cepas de *P. opuntiae* (3-8) con 3 medios de cultivo y 3 temperaturas de incubación y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$) para la interacción de las tres variables y para los valores promedio de cada variable.

Cepas	MEDIOS												Promedio cepas
	PDA			EMA			SDA			Promedio			
	22°C	25°C	27°C	22°C	25°C	27°C	22°C	25°C	27°C				
UAEH-1	18.60±0.67 pq	30.48±0.59 za	33.40±0.74 bcd	42.8±0.47 e	41.93±0.31 e	33.40±0.74 d	29.55±2.22 yz	52.73±0.46 f	59.55±0.41 f	50.20±1.05 e	37.12±0.13 c		
UAEH-3	14.85±1.13 fghijk	21.28±2.40 tu	23.85±0.72 vw	18.85±0.26 qrs	24.15±1.44 vwx	28.55±0.58 y	31.60±0.67 ab	52.88±0.28 f	59.55±0.41 f	42.80±2.95 d	30.62±1.47 b		
UAEH-11	5.80±0.36 ab	11.35±0.31 cd	14.23±0.56 fghij	15.68±0.50 hijklm	25.75±1.71 x	16.53±0.30 klmnop	15.40±0.57 hijkl	20.70±0.51 stu	16.53±0.36 klmnop	15.77±0.54 a			
UAEH-12	7.58±0.62 b	4.40±0.45 a	6.10±0.29 ab	13.15±0.45 defg	13.78±0.32 efghi	18.53±0.66 opqr	15.83±0.31 ijklm	14.95±0.58 fghijk	15.15±0.34 ghijkl	12.16±0.47 a			
UAEH-13	4.88±0.53 a	7.05±0.47 b	13.88±2.01 fghi	13.30±0.55 efg	14.90±0.26 fghijk	16.23±0.79 jklmn	15.73±0.67 hijklm	14.35±0.47 fghij	18±0.37 nopqr	13.14±0.42 a			
UAEH-14	5.05±1.06 a	5.10±0.55 a	6.30±0.53 ab	13.30±0.32 efg	17.60±0.86 mnopq	13.70±0.26 efgh	15.03±0.60 ghijk	22.48±0.66 uv	19.75±0.93 rst	13.14±0.61 a			
UAEH-15	10.85±0.86 c	12.88±0.54 def	11.85±0.47 cde	16.50±0.50 klmno	16.75±0.67 klmnop	17.20±0.56 lmnopq	17.83±0.34 nopqr	18.23±0.32 mnopqr	18.23±0.32 nopqr	15.54±0.27 a			
CPG-105	17.68±0.77 mnopq	25.65±1.31 wx	33.45±0.70 bcd	31.93±0.51 abc	31.73±5.49 ab	33.75±1.04 cd	19.10±0.421 qrs	34.80±2.58 d	42.80±2.95 e	30.10±0.79 b			
Promedio Medios	A			B			C						
	14.4±9.16			22.10±9.28			26.3±14.33						
Promedio Temp.	22°C A			25°C			27°C B						
	17.11±8.89			22.30±13.02			23.42±13.32						

*Letras iguales indican grupos estadísticamente iguales

7.6 Colonización y agregaciones miceliales

7.6.1 Colonización

Después de realizar un análisis de varianza tipo factorial se encontraron diferencias altamente significativas entre las cepas y los cereales. Se utilizó la prueba de Duncan para identificar las condiciones óptimas en las cuales cada cepa presenta más tempranamente la colonización en los cereales. La prueba de Duncan clasificó los resultados en 7 grupos, es decir, los días que tardaron las cepas en colonizar los cereales variaron entre 4.2 y 23 días (Tabla 13).

Las cepas que presentaron la colonización temprana de los cereales fueron (grupo a): UAEH-1 a los 4.2, 4.6 y 4.8 días en cebada, trigo y sorgo respectivamente, la UAEH-3 a los 4.4, 4.2 y 5.4 días en cebada, trigo y sorgo respectivamente. La cepa que presentó la colonización más tardía (grupo g) fue la UAEH-13 a los 21.8, 22 y 23 días en cebada, trigo y sorgo, respectivamente.

La cepa CPG-105 (grupo b) también presentó una colonización relativamente temprana en comparación con las otras cepas a los 8, 8.2 y 9.6 días en cebada, trigo y sorgo, respectivamente.

Interpretación de los valores promedio de las variables: tiempo y cereales

Considerando los valores promedio las cepas que presentaron una colonización temprana fueron UAEH-1, UAEH-3 (*P. ostreatus*) a los 4.5 y 4.7 días respectivamente (grupo A); la cepa con la colonización más tardía fue la UAEH-13 a los 22.3 días (grupo G).

Los cereales no presentaron diferenciación de medias por lo que al realizar la prueba de Duncan, se agruparon en un solo grupo (A).

7.6.2 Agregaciones hifales

Al realizar un análisis de varianza tipo factorial se encontraron diferencias altamente significativas entre las cepas y los cereales. Se utilizó la prueba de Duncan para identificar las condiciones óptimas en las cuales cada cepa presenta más tempranamente las agregaciones hifales en los cereales. La prueba de Duncan clasificó los resultados en 7 grupos, es decir, los días que tardaron las cepas en presentar agregaciones hifales que variaron entre 7.2 y 30.2 días (Tabla 13).

Las cepas que presentaron la colonización más temprana de los cereales fueron (grupo a): UAEH-1 a los 7.4, 7.8 y 7.5 días en cebada, trigo y sorgo, respectivamente, la UAEH-3 a los 7.8, 7.2 y 7.4 días en cebada, trigo y sorgo, respectivamente. La cepa que presentó una colonización tardía (grupo g) fue la UAEH-13 a los 29.8, 30.2 y 29.7 días en cebada, trigo y sorgo, respectivamente. La cepa CPG-105 también presentó agregaciones hifales tempranas (grupo b) comparada con las otras cepas, a los 12.4, 15.6 y 13.5 días en cebada, trigo y sorgo, respectivamente.

Interpretación de los valores promedio de las variables: tiempo y cereales

Considerando los valores promedio, las cepas que presentaron las agregaciones hifales primero fueron: UAEH-1, UAEH-3 (*P. ostreatus*) a los 7.5 y 7.4 días respectivamente (grupo A); la cepa con la colonización más tardía fue la UAEH-13 a los 29.7 días (grupo G).

Los cereales no presentaron diferenciación de medias por lo que al realizar la prueba de Duncan, se agruparon en un solo grupo (A).

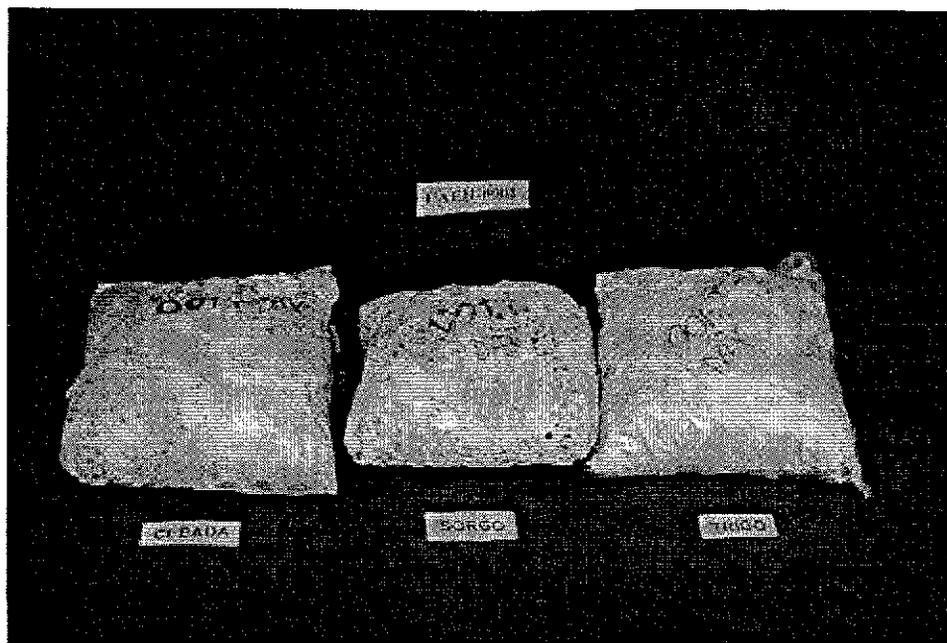
En la fotografía 25 se muestra el aspecto general de los diferentes cereales que se utilizaron para evaluar tanto colonización como formación de agregaciones hifales.

Tabla 13. Colonización y agregaciones hifales (mm/2 días) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con diferentes cereales y clasificación por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).

Cepas	CEREALES									
	COLONIZACIÓN					AGREGACIONES				
	Cebada	Trigo	Sorgo	Promedio cepas	Cebada	Trigo	Sorgo	Promedio cepas		
UAEH-1	4.2±0.84 a	4.6±1.82 a	4.8±0.84 a	4.5±1.19 A	7.2±1.48 a	7.4±1.14 a	7.8±0.84 a	7.5±1.13 A		
UAEH-3	4.4±1.89 a	4.20±1.30 a	5.40±1.14 a	4.7±1.18 A	7.2±1.48 a	7.8±0.84 a	7.2±0.84 a	7.4±1.06 A		
UAEH-11	15.6±1.52 e	16.4±1.14 e	17±1.58 e	16.33±1.45 E	23.8±3.42 d	24.2±5.26 d	26.8±1.1 d	24.9±3.67 E		
UAEH-12	19.40±2.07 f	20.20±2.39 f	21.4±2.97 f	20.3±2.47 F	26.6±3.29 e	28.8±1.48 e	28.2±1.3 d	27.9±2.3 F		
UAEH-13	21.8±0.84 g	22±1.87 g	23±4.36 g	22.3±2.63 G	29±1.58 e	29.8±0.84 e	30.2±1.64 e	29.7±1.4 G		
UAEH-14	14.20±0.84 d	14.20±1.30 d	14.4±1.14 d	14.27±1.03 D	21.60±1.67 d	21.8±3.77 d	23.2±1.92 c	22.2±2.54 D		
UAEH-15	11±2 c	11.20±1.92 c	11.8±1.92 c	11.3±1.84 C	15.2±1.3 c	18±1.58 c	16.4±1.52 b	16.5±1.81 C		
CPG-105	8±1.58 b	8.20±1.64 b	9.6±2.07 b	8.6±1.80 B	12.4±1.52 b	12.4±1.82 b	15.6±1.14 b	13.5±2.10 B		
Promedio Cereales	12.3±6.37 A	12.6±6.60 A	13.4±6.78 A		17.9±8.34 A	18.8±8.73 A	19.4±8.63 A			

* Letras minúsculas iguales indican cereales estadísticamente iguales,
Letras mayúsculas iguales indican cepas estadísticamente iguales.

En la fotografía 25 se muestra el aspecto general de los diferentes cereales que se utilizaron para evaluar tanto colonización como formación de agregaciones hifales.



Fotografía 25. Aspecto general del micelio en los diferentes cereales (cebada, sorgo y trigo)

7.7 Eficiencia Biológica

Al considerar el efecto de las interacciones entre las semanas de fructificación (2, 4, 6, 8 y 10) de las diferentes cepas, la prueba de Duncan clasificó los resultados en 12 grupos. Las cepas que presentaron la eficiencia biológica acumulada mayor, fueron las cepas UAEH-1 y UAEH-3. La cepa UAEH-1 con el 97.29, 116.24, 128.4 y 136.95%; la cepa UAEH-3 con 99.60, 120.41, 132.26 y 140.61% para las semanas 4, 6, 8 y 10, respectivamente (Tabla 14).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

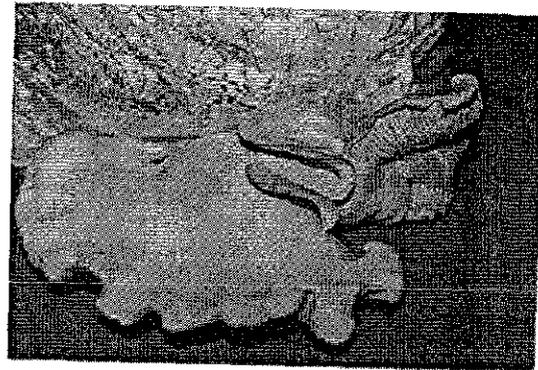
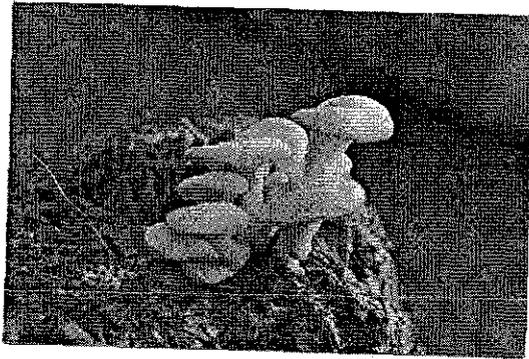
La columna de la semana 10 corresponde con el porcentaje de la eficiencia biológica total y al aplicar la prueba de Duncan para la separación de medias, las cepas se agruparon en dos grupos. El grupo con la eficiencia biológica mayor (B) correspondió con las cepas UAEH-1 y UAEH-3 con 178 y 182% respectivamente; todas las demás cepas correspondieron con el otro grupo (A): UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13, UAEH-14, UAEH-15 y CPG-105 con 83.18, 79.43, 76.68, 83.67, 83.36 y 87.75%, respectivamente.

Tabla 14. Eficiencia biológica acumulada (g) de 2 cepas de *Pleurotus ostreatus* (1 y 3) y 6 cepas de *P. opuntiae* (11-15 y CPG-105) con los diferentes tratamientos ($X \pm \sigma^2$) y comparación de medias por el método de Duncan ($\alpha = 0.05$).

SEMANAS (%)						
Cepas	2	4	6	8	10	Grupos de columna 10
UAEH-1	58.07±7.64	97.29±8.46	116.24±7.41	128.40±5.36	136.95±4.34	B
UAEH-3	60.61±5.22	99.60±6.70	120.41±8.34	132.26±7.98	140.61±8.43	B
UAEH-11	27.44±0.88	43.51±1.29	54.46±2.58	62.39±4.36	63.98±3.85	A
UAEH-12	24.53±2.43	41.61±2.20	53.46±2.99	59.71±4.29	61.10±4.43	A
UAEH-13	26.02±1.86	42.99±2.65	52.49±3.65	56.86±5.15	58.99±6.13	A
UAEH-14	28.49±1.49	45.36±2.68	57.62±3.11	62.87±3.66	64.36±4.99	A
UAEH-15	25.31±1.98	44.35±1.76	55.77±2.80	61.32±7.88	64.12±8.55	A
CPG-105	26.98±1.13	44.83±2.22	56.08±2.43	64.42±4.36	67.50±4.81	A

Las cepas que presentaron la eficiencia biológica más baja fueron UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13, UAEH-14, UAEH-15 y CPG-105 con 27.44, 24.53, 26.02, 28.49, 25.31 y 26.98, respectivamente, todas ellas en la semana dos.

En las fotografías 26 y 27 se muestra el aspecto morfológico de *P. opuntiae* en el sustrato. La fotografía 26 particularmente fue el primer carpóforo que creció y perteneció a la cepa UAEH-13.



Fotografía 26 y 27. Aspecto del crecimiento morfológico de *P. opuntiae* sobre el sustrato

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. DISCUSIÓN

8.1 Trabajo de campo y laboratorio

Las especies de *Pleurotus* son consideradas productoras de pudrición blanca porque son capaces de degradar materiales ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa por lo que Zandrazil (1974) concluyó "que todos los materiales que contengan celulosa y lignina, pueden ser usados como sustratos para estas especies". La interacción que se establece entre *Agave salmiana* y *Pleurotus opuntiae*, puede ser considerada como una asociación parásita (por tratarse de organismos vivos en el caso de los agaves), sin embargo también puede considerarse como saprótrófica por encontrarse creciendo sobre las partes muertas. Hilbert en 1997, menciona que algunas especies del género *Pleurotus* pueden ser "débilmente parásitas".

8.2 Preevaluación porcentual de agaves colonizados con *P. opuntiae*

El mayor número de carpóforos se obtuvieron en el mes de junio (12) y el menor en el mes de octubre (3). Las localidades que mayor número de carpóforos presentaron fueron La Mora y Huasca de Ocampo con 12 de ellos y la de menor número fue Santa Mónica con únicamente 6. El promedio general para las 5 localidades fue de 9.8% de agaves colonizados con *P. opuntiae*. En los meses de junio y julio se presentó el número mayor de agaves con *P. opuntiae* sobre sus hojas.

Independientemente del valor comercial de los agaves, el beneficio ecológico que representan para la conservación de los suelos debería ser una razón más para su conservación, pero han sido objeto de una explotación desmesurada que ha traído como consecuencia la disminución de sus poblaciones (Gentry, 1982).

Para poder emitir un juicio acerca de la población de *P. opuntiae* que crece sobre *A. salmiana* es importante considerar diferentes puntos. Este hongo se desarrolla sobre

agaves cultivados y no se cuenta con suficiente información acerca de su situación dentro de la escala evolutiva, es decir el momento inicial en el que se presentó esta asociación. Por otra parte, tampoco se cuenta con suficientes datos sobre los agaves nativos y el crecimiento sobre sus hojas de *P. opuntiae* previo a la domesticación de estos agaves por el hombre.

8.3 Determinación de ejemplares

Los ejemplares recolectados que fueron caracterizados en cultivo, macroscópica y microscópicamente correspondieron con la especie *P. opuntiae* caracterizada por Petersen y Krisal-Greilhuber (1999), mencionando que los caracteres macro y micromorfológicos del espécimen tipo de *P. opuntiae* y el material mexicano son similares por lo que *P. opuntiae* fructifica en el norte de África y México.

Los caracteres macroscópicos de los ejemplares de *P. opuntiae* revisados coinciden en su totalidad con los caracteres diagnóstico para esta especie propuestos por Petersen y Krisal-Greilhuber (1999): 1) basidiomas pleurotoides; 2) láminas profundamente decurrentes, no reticuladas; 3) estípote prominente; 4) superficie del píleo pálida; 5) construcción hifal dimítica; y 6) contexto carnoso.

La cepa CPG-105 (que fue donada por el Colegio de Posgraduados) es identificada como *Lentinus levis* Berk & Curtis (Murr.) por Sobal *et al.* (1997) y fue recolectada sobre maguey en los alrededores de Puebla (comunicación personal con el Dr. Martínez-Carrera). En este trabajo fue identificada como *P. opuntiae* por las características morfológicas y de crecimiento que presentó tanto en la formación de cepas, como en su fructificación. En esta última etapa no se observó el velo que cubre a las láminas en las primeras fases de la formación del cuerpo fructífero y que la define como *L. levis* (Sobal *et al.*, 1997).

Por otra parte, *L. levis*, presenta un sistema hifal dimítico, estípote prominente, colores pálidos y produce un velo parcial, al menos en algunas fructificaciones. La producción

de un velo parcial y pileo tricodermatoide separa a *L. levis* de *P. opuntiae*. (Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/Default.htm).

Aparentemente *P. opuntiae* no había sido reportada para el estado de Hidalgo; sin embargo Villarreal y Pérez-Moreno (1989) reportan a *P. cornucopiae* (Paulet) Rollandl, a *P. levis* (Berk. & M.A. Curtis) Singer., por lo que particularmente la primera podría corresponder con *P. opuntiae*, ya que mencionan que estos autores mencionan que se encuentra creciendo sobre magueyes o nopales. Por otra parte, Martínez y Tamayo, 1988 identifican al hongo que crece sobre las hojas de agave como *P. cornucopiae*

Por otra parte, Estrada Torres y Aroche (1987) también mencionan a *P. opuntiae* para el estado de México, con la interrogante de su crecimiento sobre nopales. Debido al tratamiento que ha tenido esta especie, también es probable que haya recibido otros nombres en otros trabajos, incluso como *P. ostreatus*.

8.4 Morfología micelial

Las cepas que presentaron una textura algodonosa, una densidad abundante, así como un micelio aéreo abundante fueron las cepas UAEH-1, UAEH-3 y CPG-105, todas ellas en SDA. Las dos primeras correspondieron con las cepas comerciales de *P. ostreatus* y la última a la cepa de *P. opuntiae* donada por el Colegio de Posgraduados. En las tablas de resultados promedio (10, 11 Y 12) se observa que estas mismas cepas presentaron la mayor velocidad de crecimiento, así como el mayor diámetro micelial. En cuanto a la biomasa, los resultados también fueron semejantes, solamente la cepa UAEH-1 se separa como grupo con la biomasa mayor (grupo C) y las cepas UAEH-3 y CPG-105 como el segundo grupo con las biomásas más altas (B); de igual manera coinciden con las temperaturas que permitieron los resultados de velocidad y diámetro micelial mayores (25°C y 27°C), así como los medios de cultivo (EMA y SDA).

8.5 Velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial

En cuanto a la velocidad y diámetro micelial promedio, las cepas se agruparon de manera idéntica: cepas UAEH-1, UAEH-3 y CPG-105 (grupo C) que presentaron la mayor velocidad y el diámetro mayor; las cepas UAEH-11, UAEH-12, UAEH-14 y UAEH-15 correspondieron con el grupo B y la cepa UAEH-13 en el grupo C, es decir la cepa que presentó la menor velocidad de crecimiento y la menor biomasa micelial.

Para la biomasa micelial, también las demás cepas se agruparon juntas (grupo A) por lo que la interpretación en cuanto a sus características morfológicas (color, textura, densidad y micelio aéreo), también parece tener relación con los resultados obtenidos en estos experimentos.

En lo que corresponde a la biomasa micelial, aunque los grupos formados no fueron idénticos como entre la velocidad de crecimiento y el diámetro micelial, las cepas UAEH-1, UAEH-3 y CPG-105 fueron también las que presentaron la biomasa mayor, solamente que la primera de ellas formó el grupo C y las dos últimas el grupo B. Las demás cepas correspondieron al grupo A, por lo que la cepa UAEH-13 que había formado un grupo independiente para velocidad de crecimiento y diámetro micelial, quedó integrada para el caso de la biomasa, con todas las demás cepas.

Los medios de cultivo formaron grupos idénticos en la velocidad de crecimiento, y diámetro micelial: EMA (grupo C) con la velocidad de crecimiento y diámetro micelial promedio mayores, y PDA (grupo A) con la velocidad de crecimiento y diámetro micelial promedio menores, sin embargo, para la biomasa no fue así por lo que el SDA (grupo C) fue el que presentó la biomasa micelial promedio mayor: el PDA (grupo A) también fue el medio que presentó la biomasa menor.

Las temperaturas formaron grupos idénticos en la velocidad de crecimiento, biomasa y diámetro micelial: 25°C y 27°C (grupo B) con la velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa promedio mayor, y 22°C (grupo A) con la velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial promedio menores.

Los medios de cultivo formaron grupos idénticos para la velocidad de crecimiento y diámetro micelial siendo el EMA el medio de cultivo que presentó tanto la velocidad de crecimiento como el diámetro mayor, no así para la biomasa, en donde el valor más alto se presentó en SDA.

Delmas *et al.* (1974) determinaron la influencia de la temperatura sobre el crecimiento micelial de diferentes especies de *Pleurotus* (*P. ostreatus*, *P. florida*, *P. eringii* y *P. cornucopiae*) encontrando un crecimiento promedio óptimo entre los 20° y 30°C. De la misma manera, Sohi y Upadhyay (1989) utilizaron diferentes especies de *Pleurotus* encontrando el crecimiento óptimo para *P. sajor-caju*, *P. ostreatus*, *P. sapidus*, *P. sp. cfr. florida*, *P. fabellatus*, *P. membranaceus*, *P. citrinpileatus*, *P. eringii* y *P. sp.* a 30°C, y para *P. fossulatus* y *P. drynus* a 20°C.

Martínez y Tamayo (1988) aislan también a *P. opuntiae* utilizando como medios de cultivo EMA, PDA y APA (extracto de agar-cáscara de agave); de la misma manera utilizaron hojas secas de agave como sustrato para el crecimiento de los carpóforos variando el pH, la temperatura, la proporción de las mezclas del sustrato y la intensidad de la luz.

8.6 Colonización y agregaciones hifales

Las cepas comerciales (UAEH-1 y UAEH-3) correspondientes con *P. ostreatus*, presentaron tanto la colonización como la presencia de agregaciones hifales más temprana, seguidas en ambos casos también por la CPG-105, correspondiente con *P. opuntiae* y la UAEH-13 resultó la que tardó mayor tiempo en colonizar y presentar agregaciones hifales (grupo g y e respectivamente). A estas últimas también se sumó la cepa UAEH-12 tanto en cabada como trigo (grupo e).

El efecto de los cereales tanto en la colonización como en la formación de agregaciones miceliales fue independiente para todas las cepas, es decir no hubo diferencias entre ellos.

El periodo de incubación varió dependiendo de la cepa entre 8 a 30 días. Es importante mencionar que cada especie mostró comportamientos diferentes cuando fueron expuestas a condiciones similares, esto es debido a que se trabajó con especies ta de especies diferentes y como tales presentan características intrínsecas y particulares para cada una de ellas.

8.7 Eficiencia Biológica

La eficiencia biológica acumulada (E. B. A.) fue mayor para las cepas comerciales (UAEH-1 y UAEH-3) de *P. ostretarus* durante las semanas 4, 6, 8 y 10 no así para la semana 2.

Por otra parte, todas las cepas de *P. opuntiae* presentaron una E. B. A. menor en las semanas 2 y 4, incrementándose en las semanas 6, 8 y 10. En cuanto a las cepas más productivas, éstas correspondieron con las comerciales (*P. ostreatus*).

Una fase importante en el cultivo de los hongos comestibles, se refiere a la selección y adaptación de las cepas, ya que de esta manera se garantizará la cantidad y calidad de los cuerpos fructíferos producidos a escala comercial y un aumento de la demanda y el consumo de estos hongos podría resultar del cultivo de cepas nativas transformadas en comerciales con características novedosas y de amplia aceptación en el mercado nacional y de exportación (Martínez-Carrera *et al.*, 1986; Paredes *et al.*, 1996). Sería relevante implementar el cultivo de *P. opuntiae* sobre todo considerando la baja producción de esporas que presenta

Prueba de correlación diámetro-biomasa

En esta prueba se vuelve a encontrar similitud de valores en la velocidad de crecimiento y el diámetro micelial.

9. CONCLUSIONES

Todos los ejemplares que se recolectaron en el campo, se encontraron creciendo en la base y entre las brácteas de plantas vivas de *Agave salmiana* viva; sin embargo, también fueron observados creciendo sobre hojas muertas por lo que al parecer, *P. opuntiae* tiene la capacidad de establecerse en las partes viva y muertas de este agave cultivado. El tipo de relación que se establece entre *A. salmiana* y *P. opuntiae* será quizá, motivo de estudio.

Para poder emitir una conclusión acerca del número de agaves que tienen creciendo carpóforos de *P. opuntiae* en alguna de sus partes, será necesario incrementar los sitios de muestreo en diferentes localidades del estado, así como evaluar algunas localidades de la República Mexicana donde se localice esta especie. En este experimento, sólo se realizó una preevaluación cuyos datos pudieran servir a futuros trabajos que evalúen la situación de la población de *P. opuntiae* relacionada con las poblaciones de las diferentes especies de *Agave* sobre las que se desarrolla.

Los carpóforos de los ejemplares colectados "in situ", es decir, las cinco cepas silvestres (UAEH-11, 12, 13 14 y 15) que se caracterizaron en cultivo, macroscópica y microscópicamente correspondieron con *Pleurotus opuntiae*, de acuerdo a las características propuestas por Petersen y Krisai-Greilhuber (1999) cuando hacen una revisión de algunos especímenes tipo de *Pleurotus*, entre ellos *P. opuntiae*. La realización de pruebas moleculares arrojarán mayor información en lo que corresponde a la determinación taxonómica.

La morfología que presentaron las cepas UAEH-1, UAEH-3 y CPG-105, (textura algodonosa, densidad abundante y micelio aéreo abundante) correspondieron con los resultados de las cepas que presentaron la mayor velocidad, el mayor diámetro y la biomasa micelial promedio mayor, por lo que es muy importante la observación y

evaluación cualitativa de las cepas en cuanto a su selección junto con la evaluación de la velocidad de crecimiento, diámetro y biomasa micelial.

Las cepas que presentaron la mayor velocidad de crecimiento, el mayor diámetro micelial y la biomasa mayor fueron: UAEH-1, UAEH-3 y CPG-105 correspondientes las dos primeras a la cepa comercial de *P. ostreatus* y la segunda con la cepa nativa de *P. opuntiae*. Las cepas UAEH-11, UAEH-12, UAEH-13, UAEH-14 y UAEH-15 correspondientes a *P. opuntiae* presentaron semejanzas en los tres tipos de pruebas

Las similitudes encontradas en la mayoría de los grupos para velocidad, diámetro y biomasa micelial indican la correlación que existe entre ellos, es decir, los resultados para las tres variables están correlacionados positivamente, a medida que aumenta una, la otra también se incrementa de la misma manera que cada uno de ellos con la biomasa.

Las cepas que presentaron la colonización y agregaciones hifales tempranas fueron las cepas comerciales UAEH-1 y UAEH-3 correspondientes con *P. ostreatus*, seguidas de la CPG-105 y la más tardía fue la UAEH-13, ambas pertenecientes a *P. opuntiae*.

Los cereales no presentaron diferenciación de medias por lo que se puede utilizar cualquiera de estos cereales para la elaboración de micelio considerando su disponibilidad y su costo.

La E.B.A. Acumulada fue mayor par las cepas comerciales (UAEH-1 y UAEH-3) de *P. ostreatus* durante las últimas cuatro semanas no así para la primera semana. Todas las cepas de *P. opuntiae* presentaron una E. B. A. menor en las dos primeras semanas y esta varió con las últimas tres semanas.

Al agrupar las cepas en cuanto a su E.B.A., las cepas nativas presentan un comportamiento similar, es decir, su E. B. A. mayor fue de un 67.5 % que quizá no

represente un buen comportamiento como sería el caso de las cepas comerciales sin embargo su potencialidad debe ser analizada desde diferentes puntos de vista.

Evaluar si existen diferencias entre las semanas permite conocer el tiempo donde cada cepa alcanza su máximo rendimiento y así no dejarla producir más tiempo del que es necesario e inútil para fines comerciales.

Estos ensayos permitieron evidenciar la potencialidad de las cepas comerciales sobre las silvestres; sin embargo, se debe considerar que las especies nativas pudiesen aportar aspectos interesantes para futuras investigaciones como la realización de hibridaciones tomando en cuenta que la cantidad de esporas que presenta *P. opuntiae*, es mucho menor que para *P. ostreatus* considerando los problemas de salud que éstas han generan en las plantas productoras (Sánchez y Royse, 2000).

Por otra parte, esta especie presenta diferentes ventajas:

- ◆ Sabor particularmente apreciado por las comunidades.
- ◆ Mayor duración, ya que por su consistencia "correosa" su vida de anaquel se incrementa.
- ◆ Conservación, ya que se puede consumir deshidratada y/o molida.
- ◆ Su utilización fresca o seca la cual se muele y se preparan diferentes platillos o bien como condimento (agregándola a la masa por ejemplo).
- ◆ Su baja producción de esporas cuando se le compara con cepas comerciales de *P. ostreatus* por ejemplo.
- ◆ Su potencialidad para la obtención de cepas mejoradas.

LITERATURA CONSULTADA

- Acosta-Urdapileta, L., G. Bustos-Zagal y D. Portugal-Portugal, 1988. Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostratus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el estado de Morelos. *Rev. Mex. Mic.* 4: 13-20.
- Acosta-Urdapileta, L., N. Bautista, L. López, D. Portugal, E. Montiel an V. M. Mora, 1995. Low Temperature storage of spore prints and its influence on the mycelial growth of several multispore culture of *Pleurotus ostratus* . *Mic. Neotrop. Apl.* 8: 65-71.
- Aguilar, A., D. Martínez-Carrera, A. Macías, M. Sánchez, L. I. de Bauer & A. Martínez, 2002. Fundamental trends in rural mushrooms cultivation in México & their significance for rural development. pp. 421-431 *In: Sánchez, G. Huerta & E. Montiel (eds.) Mushrooms Biology and Mushrooms Products. Proceedings Fourth International Conference, Cuernavaca, Mexico, February 20-23.*
- Alexopoulos, C. J., C. W. Mims & M. Blackwell, 1996. *Introductory Mycology*. 4rd ed., John Wiley & Sony Inc. New York.
- Atlas Trillas geográfico (físico, económico, político), 1989. Trillas, México.
- Becker, G., 1989. *El gran libro de las setas*. Susaeta Ediciones, S. A., Madrid.
- Bahre, C. J. y D. E. Bradbury, 1980. Manufacture of Mescal in Sonora, Mexico. *Econ. Bot.* 34(49): 391-400
- Bano, Z. & S. Rajarathnam, 1982. Pleurotus mushrooms as a nutritious food. *In: Chang, S. T., & T. H. Quimio (eds.), 1982. Tropical Mushrooms Biological nature and cultivation methods.* The Chinese University Press. Hong Kong.
- Bassous, C. D. S. Chahal & L. G. Matheiu, 1989. Bioconversión of stover into fungal biomass rich in protein with *Pleurotus sajor-caju*. *Mushroom Science XII* (part II). Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science & Cultivation of Edible Fungi.
- Bentitez, F., G. Huerta y J. Sánchez, 1998. Producción de 18 cepas de *Pleurotus djamour* del Soconusco, Chiapas. *Quehacer científico en Chiapas, Vol 1* No. 2 Agosto.
- Bermúdez, R. C., J. A. Traba, M. J. Verdecia y P. Gross, 1994. Producción de *Pleurotus* sp. Cfr. Florida sobre residuales de a agroindustria cafetalera en cuba. *Mic. Neotrop. Apl.* 7: 47-50.
- Bernabé, T. y M. Domínguez y S. Bautista, 1993. Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* var. florida sobre fibra de coco y pulpa de café. *Rev. Mex. Mic.* 9: 13-18.
- Bernabé, T. y J. M. Arzeta Gómez, 1994. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre cáscara de cacahuete y hoja seca de maíz. *Rev. Mex. Mic.* 9: 13-18, 1993.

- Bisko, N. A. y V. T. Bilay, 1992. Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* sobre materiales lignocelulósicos. *Micol. Neotrop. Apl.* 5: 49-57
- Blumenfeld, S. N., 1998. *Cultivo de hongos comestibles sobre residuos agroindustriales*. Imprenta Malvinas Argentina. Buenos Aires.
- Bobek, P., O. Ozdin & M. Mikus, 1995. Dietary Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Accelerates Plasma Cholesterol Turnover in Hypercholesterolaemic Rat *Physiol. Res.* 44(5): 287-291.
- Carson, H. L., 1985. Unification of speciation theory in plants and animals. *Systematic Botany* 10: 380-390
- Censo General de población y vivienda 2000. Resultados Preliminares. INEGI, México.
- Chacón, S., 1988. Conocimiento etnológico de los hongos del Palmar, Municipio de Papantla, Veracruz, México. *Micol. Neotrop. Apl.* 1: 45-54.
- Challenger, A., 1998. *Utilización y conservación de los Ecosistemas Terrestres de México, pasado y presente*. CONABIO, UNAM, Agrup. Sierra Madre, México, D. F.
- Chang, S. T., & T. H. Quimio (eds.), 1982. *Tropical Mushrooms. Biological nature and cultivation methods*. The Chinese University Press. Hong Kong.
- Chang, S. T., 1993. Mushroom biology: the impact on mushroom production & mushroom products. First International Conference on Mushroom Biology & Mushroom Products, Hong Kong.
- Chang, S. T., 1996. Mushroom research and development – equality and mutual benefit. pp. 1-10. *In: D. J. Royse (ed.) Mushroom Biology and Mushroom products*, Proceedings of the Second International Conference, University Park, Pensilvania, June 9-12.
- Chang, S. T. & W. A. Hayes, 1978. *The biology & cultivation of edible mushrooms*. Academic Press, Inc. San Diego, California.
- Christensen, H. B., 1990. *Estadística paso a paso*. Trillas. 2^{ed} México, D. F.
- Cochrane, V. W., 1958. *Physiology of fungi*. John Wiley & Sons, New York.
- Cochran, K. W., 1978. Medical Effects, *In: Chang, S. T. & W. A. Hayes (eds). The biology & cultivation of edible mushrooms*. Academic Press, Inc. pp 169-181. San Diego, California.
- Crisan, E. V. & A. S&s, 1978. Nutritional Value, *In: Chang, S. T. & W. A. Hayes (eds). The biology & cultivation of edible mushrooms*. Academic Press, Inc. pp 137-165. San Diego California.
- Deacon, J. W., 1997. *Modern Micology*. 2rd ed., Cambridge.

- De León-Choocoj, R., 1990. Cultivo de los hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre lirio acuático y determinación de metales pesados en la muestra obtenida. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D. F.
- Delgado, A., 1989. Glosario ilustrado de los Términos morfoespecíficos de los caracteres macroscópicos en el orden Agaricales (Basidiomycetes). Tesis de Licenciatura. UNAM. México, D. F.
- Delmas, J., J. Laborde, M. Imbernon y N. Poitou, 1974. Premier resultants d'essais de culture de *Pleurotus ostreatus* sur substrats á base d'écorces de feuillus et de résineux. *Acad. Agriculture de France*. 113-118.
- Dix, N. & J. Webster, 1995. *Fungal Ecology*. Chapman & Hall. Gread Britain.
- Dubovoy, C., 1968. Conocimiento de los hongos en el México antiguo. *Bol. Inf. Soc. Mex. Mic.* 2: 16-24
- Estrada-Torres, A, y R. M. Aroche, 1987. Acervo etnomicológico en tres localidades del Municipio de Acambay, Estado de México. *Rev. Mex. Mic.* 3: 109-131
- Flores-Villela, O. y P. Gerez, 1994. *Biodiversidad y conservación en México: Vertebrados, vegetación y uso de suelo*. Conabio y UNAM, México
- García-Mendoza, A., 1999. "Riqueza y endemismos de la familia Agavaceae en México", *In* Linares, E., P. Dávila, F. Chiang, R. Bye, y T. Elias (comps.),
- Garraway, M. & R. Evans, 1991. *Fungal nutrition*. Krieger Publishing Company, Florida.
- Gentry, H. S., 1982. *Agaves of Continental North America*. Univ. Ariz. Press., Tucson.
- Gow, N. A. R., & G. M. Gad, 1995. *The growing fungi*. Chapman and Hall.
- Griffin, D., 1993. *Fungal Physiology*. 2nd ed., Wiley-Liss, New York
- Guzmán, G., y D. Martínez-Carrera, 1985. Planta productora de hongos comestibles sobre pulpa de café. *Ciencia y Desarrollo* 65: 41-48.
- Guzmán, G., 1990. Identificación de los hongos: comestibles, venenosos y alucinantes. Editorial Limusa-Noriega, México.
- Guzmán, G., G. Mata, D. Salmones, C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos, 1993. *El cultivo de los hongos comestibles*. IPN, Dirección de bibliotecas y publicaciones, México, D. F.
- Guzmán, G., 1995. La diversidad de hongos en México. *Ciencias* 39: 52 -57, julio-septiembre.
- Guzmán, G., 1997. *Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina*. Instituto de Ecología, A. C. Jalapa, Ver.
- Guzmán-Dávalos L., C. Soto y D. Martínez-Carrera, 1987(a). El bagazo de caña de azúcar como sustrato para la producción de *Pleurotus* en Jalisco. *Rev. Mex. Mic.* 3: 79-82.

- Guzmán-Dávalos L., P. Morales, D. Martínez-Carrera y C. Soto 1987 (b). El cultivo de hongos comestibles (*Pleurotus*) sobre el bagazo del maguey de la industria tequilera. *Rev. Mex. Mic.* 3: 47-49.
- Hawksworth, D. L., 1991. The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance and conservation. *Mycological Research* 95: 641-665.
- Herrera, T. y Ulloa, M., 1990. *El Reino de los Hongos, Micología básica aplicada*. Fondo de Cultura Económica, México, D. F.
- Hilber, O., 1997. *The Genus Pleurotus* (Fr.) Kummer (2). Erschienen im Selbstverlag.
- Hilber, O., 1989. Valid, Invalid & composing taxa of the genus *Pleurotus*. *Mushroom Science XII* (part II). Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi.
- Ibernon, M., C. Brian & S. Grant, 1983. New strains of *Pleurotus*. *Mushroom Journal* 124:117-123
- Kornerup, A. y J. H. Wanscher, 1978. *Methuen H&book of colour*. 3rd ed. London.
- Kalkarni, R., 1989. Cultivation of *Pleurotus* species on cotton waste. *Mushroom Science XII* (part II). Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science & Cultivation of Edible Fungi.
- Kurtzman, R. H. & F. Zadrazil, 1982. Physiological and taxonomic considerations for cultivation of *Pleurotus* mushrooms. *Int. Chang, S. T. y T. H. Quimio* (eds.). *Tropical mushrooms, biological nature and cultivation methods*. The Chinese University Press, Hong Kong.
- Lanzi, G., 1986. The cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Italy. Proc. Int'l. Sym. Scientific & Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi. The Penna. State Univ. University Park, PA. USA. 443-447.
- Leal, H., 1998. Comunicación personal.
- Little, T., y J. Hills, 1976. *Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura*. Editorial Trillas, México.
- Longe, D. L., 2001. Diversidad mundial y regional de hongos. Compiladores: H. M. Hernández, A. N. García Aldrete, F. Álvarez & M. Ulloa (comps). *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. Ediciones Científica Universitarias. Instituto de Biología, UNAM y Fondo de Cultura Económica, México pp. 291-304.
- Lu, S. I., T. J. Leonard, S. Dick y G. F. Leatham, 1988. A new strategy for genetic improvement of edible fungi through enhancement of their lignocellulose degrading and fruiting abilities. *Mic. Neotrop. Appl.* 1: 5-19
- Mapes, C., G. Guzmán y J. Caballero, 1981. *Etnomicología purépecha: el conocimiento y uso de los hongos en la cuenca de Pátzcuaro, Michoacán*. Cuadernos de Etnobiología, núm 2, SEP, México.

- Margulis, L., K. V. Schwartz, 1998. *Five Kingdoms: An Illustrated Guide to The Phyla of Life on the Earth*. 3rd ed., WH FREEMAN. San Francisco 519 p.
- Martín del Campo, R., 1968. Contribución al conocimiento de la nomenclatura micológica náhuatl. *Bol. Inf. Soc. Méx. Mic.* 2: 25-36.
- Martínez-Carrera, D., C. Soto y G. Guzmán, 1985. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en pulpa de café con paja como sustrato. *Rev. Mex. Mic.* 1: 101-108
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal y. Quirarte, 1986. Obtención y caracterización de híbridos de cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Mex. Mic.* 2: 145-155.
- Martínez-Carrera, D., P. Morales y M. Sobal, 1990. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de caña enriquecido con pulpa de café o paja de cebada. *Mic. Neotrop. Aplíc.* 3: 49-52
- Martínez-Carrera, D., R. Leben, P. Morales, M. Sobal y A. Larqué-Saavedra, 1991. Perspectivas del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. *Ciencia y Desarrollo* 96: 33-43.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, P. Morales, M. Sobal, W. Martínez y A. Aguilar, 1993. Los hongos comestibles de México: biotecnología para su reproducción. *Ciencia y Desarrollo* 108: 41-49.
- Martínez-Carrera, D., M. Sobal, W. Martínez & M. Bonilla, 1998. Contribution of myshroom biotechnology to food production, sustainable agriculture, and rural development in Latin America. Workshop Proceedings on Application of Biotechnology Research in Latin America, IFS, Stockholm.
- Martínez-Carrera, D., M. Bonilla, M. Sobal, A. Aguilar, W. Martínez & A. Larqué-Saavedra, 1999. A culture collection of edible mushrooms and its significance for germoplasm preservation, breeding, and the development of mushroom cultivation in Mexico. *Micol. Neotrop. Apl.* 12: 23-40.
- Martínez-Carrera, D., A. Larqué-Saavedra, M. Aliphath, A. Aguilar, M. Bonilla y W. Martínez, 2000. La biotecnología de hongos en la seguridad y soberanía alimentaria de México. II Foro sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria, Hermosillo, Sonora. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT. México, D.F.
- Martínez, P. & R. Tamayo, 1998. Isolation, growth in artificial culture media, and fruiting body production of *Pleurotus cornucopiae* in agave cactus leaves. Solid state fermentation in bioconversion of aground. Raw Materials. Edit. Maurice Raimbault-Orstom. Proceedings of the seminary. Orstom_Montpellier (France), 25-26 July.
- May, R. M., 1996. Conceptual aspects of quantification of the quantification of the extent of biological diversity. pp. 13-20. *In*: D. L. Hawksworth (ed.). *Biodiversity measurement and estimation*. Chapman & Hall in association with The Royal Society, Oxford.

- Molina, S., 1998. *Turismo y ecología*. 6^{ed} ed., Trillas, México, D. F.
- Moore Landeker, E., 1996. *Fundamentals of the fungi*. 4rd ed., Prentice-Hall, Inc. New Jersey.
- Müller, E. & Loeffler, W., 1976. *Micología. Manual para naturalistas y médicos*. Ed. Omega, Barcelona.
- Oei, P., 1991. *Manual on Mushroom Cultivation*. Techniques, species & opportunities for comercial applications in developing countries. Ed. TOOL/CTA, Amsterdam.
- Oliver, J. M., J. Laborde, J. Guinberteau, N. Poitou & G. Houdeau, 1991. *La culture des champignons*. Arman Colin, Paris.
- Oso, B. A., 1977. *Pleurotus tuber-regium* from Bigeria. *Mycologia* 69: 271-279
- Paredes, P., H. Leal, R. Ramírez y A. Arias-García, 1996. Criterios de selección de cepas de *Pleurotus* spp. Para mejorar la competitividad de la producción comercial. *Mic. Neotrop. Aplic.* 9: 67-79.
- Pellicer-González E., D. Martínez-Carrera, M. Sánchez, M. Aliphath & A. Estrada-Torres, 2002. Rural management and marketing of wild edible mushrooms in Mexico. pp. 433-443. *In: Sánchez, G. Huerta & E. Montiel (eds.). Mushrooms Biology & Mushrooms Products*. Proceedings Fourth International Conference, Cuernavaca, Mexico, February 20-23.
- Pérez-Silva, E., 1978. Les champignons comestibles du Mexique. Mushroom Science X (Part II). Proceedings of the Tenth International Congress on the Science & Cultivation of Edible Fungi, France.
- Petersen, R. H., & Krisai-Greilhuber, 1996. An epitype specimen for *Pleurotus ostreatus*. *Mycol. Res.* 100:229-235
- Petersen, R. H., 1999. Species and speciation in mushrooms: development of a species concept poses difficulties. *Bioscience*. Vol. 49, No. 6: 440-452.
- Petersen, R. H., & Krisai-Greilhuber, 1999. Type specimen studies in *Pleurotus*. *Persoonia* 17(2):1-20
- Ramamoorthy, T. P., J. E. Fa y R. Bye, 1988. Introducción. Simposio sobre la diversidad biológica de México (resúmenes). Oaxtepec, Morelos.
- Ramírez, C., 1994. *Manual para el curso de diseño de experimentos*. Departamento de alimentos y biotecnología. Facultad de Química, UNAM.
- Rangel, S., 1987. Etnobotánica de los Agaves del Valle del Mezquital. Tesis de Licenciatura, UNAM. México, D. F.
- Rinker, D. L., 1991. Residuo de Lino como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. *Mic. Neotrop. Aplic.* 4: 1-7
- Rzedowski, J. y G. Calderón de Rzedowski, 2001. *Flora fanegámica del Valle de México*. 2ed. Instituto de Ecología. Centro Regional de Bajío, Patzcuaro, Mich. 494 p.

- Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Limusa. México, D. F.
- Sánchez, C. & G. Viniestra-González, 1996. Detection of highly productive strains of *Pleurotus ostreatus* by their tolerance to 2-deoxy-D-glucose in starch-based media. *Mycol. Res.* 100 (4): 455-461
- Sánchez, J. E., D. Royse, 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Limusa, México, D. F.
- Senyah, J. K., R. K. Robinson y J. F. Smith, 1989. The cultivation of the oyster mushroom – *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) Kummer- on cocoa shell waste. *Mushroom Science XII* (part II). Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi.
- Singer, F., 1975. *The Agaricales in Modern Taxonomy* 3rd ed. J. Cramer, Vaduz.
- Singer, R., 1986. The Agaricales in Modern Taxonomy. 4th ed. Koeltz Scientific Book, FDR
- Síntesis Geográfica del Estado de Hidalgo, 1992 Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Hidalgo. Breviario Demográfico. México, D. F.
- 1980-1998: Sistema Agropecuario de Consulta 1998, SAGAR, México, 2000
- Sobal, M. y D. Martínez-Carrera, 1988. Potencial de entrecruzamiento de diferentes cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*, aisladas a partir de diversos sustratos. *Mic. Neotrop. Aplic.* 1: 21-27.
- Sobal, M., P. Morales y D. Martínez-Carrera, 1989a. Efecto el pH sobre el crecimiento de diversas cepas mexicanas y extranjeras de hongos comestibles en el laboratorio. *Micol. Neotrop. Apl.* 2:19-39.
- Sobal, M., M. Soto-Hernández, A. Larqué-Saavedra y D. Martínez-Carrera, 1989b. Producción de etileno por *Pleurotus ostreatus* empleando sustratos pasteurizados. *Micol. Neotrop. Apl.* 5: 59-66.
- Sobal, M., A., Larqué-Saavedra y M. Soto-Hernández, 1991. Producción etileno por *Pleurotus ostreatus* en cultivo axénico empleando la pulpa de café como sustrato. *Micol. Neotrop. Apl.* 4: 111-117.
- Sobal, M., P. Morales y D. Martínez-Carrera, 1993. Utilización de los rastrojos de haba y frijol como sustratos para el cultivo de *Pleurotus*. *Mic. Neotrop. Aplic.* 6: 137-141.
- Sobal, M., P. Morales, W. Martínez, D. N. Pegler & D. Martínez-Carrera, 1997. Cultivation of *Lentinus levis* in Mexico. *Mic. Neotrop. Aplic.* 10: 63-71.
- Sohi, H. S. & R. C. Upadhyay, 1989. Effect of temperature on mycelial growth of *Pleurotus* species and their yield performance on selected substrates. *Mushroom Science XII* (part II). Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science & Cultivation of Edible Fungi.

- Stamets, P. & J. S. Chilton, 1983. *The mushroom cultivator*. A Practical Guide to growing mushrooms at home. Agarikon Press. Olympia Washington
- Stamets, P., 1993. *Growing gourmet and Medicinal Mushrooms*. Ten Speed
- Thielke, Ch., 1989. Cultivation of edible fungi on coffee grounds. *Mushroom Science XII* (part II). Proceedings of the Twelfth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi.
- Toledo, V. M., J. Carabias, C. Mapes, y C. Toledo, 1985. *Ecología y autosuficiencia alimentaria*. Siglo XXI, México, D. F.
- Toledo, V. M. y M. de J. Ordóñez, 1998. El panorama de la biodiversidad de México: una revisión de los hábitats terrestres. *In: Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., y Fa, J. (ed), Diversidad Biológica de México, orígenes y distribución*. UNAM, México, D. F.
- Trigos, A. y D. Martínez Carrera, 1992. Identificación de ergosterol en *Pleurotus ostreatus*. *Micol. Neotrop. Apl.* 5: 11-15.
- Trigos, A., L. Ortuño, P. Morales y M. Sobal, 1994 (a). Influencia de la luz natural en el contenido de ergosterol de *Pleurotus ostreatus*. *Micol. Neotrop. Apl.* 7: 51-53
- Trigos, A., T. Zayas, L. Ortuño, M. Sobal y P. Morales, 1994 (b). Contenido de Ergosterol en algunas especies cultivadas de *Pleurotus*. *Micol. Neotrop. Apl.* 7: 43-46
- Tschierpe, H. J. y K. Hartmann, 1977. A comparison of different growing methods. *Mushroom Journal* 60: 404-416
- Ulloa, M. & Hanlin, 1978. *Atlas de Micología Básica*. Concepto. México.
- Ulloa, M., 1991. *Diccionario Ilustrado de Micología*. UNAM
- Villarreal, L. y J. Pérez-Moreno, 1989. Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micol. Neotrop. Apl.* 2: 77-114.
- Villegas de Gante, A., 1996. *Biotecnología Intermedia en México. La producción de Hongos comestibles*. CIESTAAM, Universidad Autónoma de Chapingo. México.
- Zandrazil, F., 1974. The ecology and industrial production of *Pleurotus ostreatus*, *P. florida*, *P. cornucopiae* and *P. eringii*. *Mush. Sc.* 9: 621-652.
- Zandrazil, F. & R. H. Kurtzman, 1982. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. *In: Chang, S. T., & T. H. Quimio (eds.), 1982. Tropical Mushrooms Biological nature and cultivation methods*. The Chinese University Press. Hong Kong.

ANEXOS

Anexo 1. Valor nutritivo estimado de las especies de *Pleurotus*, comparada con otras especies de hongos comestibles (Bano y Rajarathnam, 1988).

Especies	Índice de Aminoácidos	Valor Biológico	Digestibilidad In vitro	Índice Nutricional	Recor Proteínas
<i>P. eous</i>	95.7	92.7	89	16.7	59.7
<i>P. florida</i>	84.5	80.4	79	15.9	67.4
<i>P. flabellatus</i>	82.7	78.4	87	17.8	47.0
<i>P. sajor-caju</i>	70.9	59.2	63	14.4	67.6
<i>P. ostreatus</i>	64.8	58.9	nd	13.6	40.0
<i>Agaricus bisporus</i>	55.8	49.1	nd	17.0	43.1
<i>Volvariella diplassia</i>	87.9	84.1	nd	25.1	58.1
<i>Lentinus edodes</i>	55.8	49.1	nd	9.8	Nd

Nd = no determinada

* utilizando al huevo como proteína de referencia

Anexo 2. Composición aproximada de las especies de *Pleurotus*, comparada con otras especies de hongos (Bano y Rajarathnam, 1988)

Especies	Humedad inicial	Proteína cruda (N x 4.38)	Grasas	Carbohidratos	Fibra	Cenizas	Energía
<i>P. eous</i>	92.2	17.5	1.0	59.2	12.0	9.1	261
<i>P. florida</i>	91.5	18.9	1.7	58.0	11.5	9.3	265
<i>P. flabellatus</i>	91.0	21.6	1.8	57.4	11.9	10.7	271
<i>P. ostreatus</i>	73.3	10.5	1.6	81.8	7.5	15.8	367
<i>P. opuntiae</i>	58.0	8.9	2.4	72.9	7.5	15.8	330
<i>P. limpidu</i>	93.0	38.7	9.4	46.6	27.6	5.3	313
<i>Agaricus bisporus</i>	89.5	26.3	1.8	59.9	10.4	12.0	328
<i>Volvariella diplassia</i>	90.4	28.5	2.6	57.4	17.4	11.5	304
<i>Lentinus edodes</i>	90.0	17.5	8.0	67.5	8.0	7.0	387

Anexo 3. Clave para identificar algunas especies del género *Pleurotus* (Petersen, fp.bio.utk.edu/mycology/default.htm).

1. Esporas anamórficas producidas en el basidioma o asociadas al micelio vegetativo.....**2**
1. Esporas anamórficas, si presentan, no asociadas al basidioma.....**4**
2. El estado anamórfo produce conidióforos simples, produciendo artrosporas negras, inicialmente secas, pero después viscosas; Australia, Nueva Zelanda..... ***P. australis***
2. Anamórfica coremioide, con negro, cabeza de artrosporas viscosa..... **3**
3. Píleo de pálido a café; distribución pantropical.....***P. cystidiosus***
3. Píleo oliva profundo, negro-oliva, ocasionalmente con tintes púrpura, Nueva Zelanda y Australia.....***P. purpureo olivaceo***
4. Estípite central a ligeramente excéntrico **5**
4. Estípite fuertemente excéntrico a lateral **11**
5. Píleo, café, rojizo, usualmente cóncavo **6**
5. Píleo gris perla, blanco, o amarillo plátano**8**
6. Basidioma originado de un esclerocio ***P. tuber-regium***
6. Basidioma sin esclerocio **7**
7. Parásito de raíces, píleo café: Europa ***P. eringii***
7. Sobre madera podrida; píleo café, generalmente con tintes rojizos ..
..... ***P. cornucopiae***

8. Píleo y estípote gris a gris perla 9
8. Píleo amarillo plátano, estípote blanco (forma de *citrinopileatus*)
.....***P. cornucopiae***
9. Estípote cercanamente lateral; sobre *Agave opuntiae*; norte de África y México
..... ***P. opuntiae***
9. Estípote central; todas las partes del basidioma blancas 10
10. Superficie del píleo velutinoso a afelpada; climas cálidos; anamorfo desconocido..... ***P. levis***
10. Superficie del píleo estrigosa a lanoso, climas cálidos y fríos; anamorfos cafés en cultivo ***P. drynus***
11. Contexto del estípote dimítico 12
11. Contexto del estípote monomítico 14
12. Velo parcial presente sobre las láminas jóvenes..... ***P. calyptratus***
12. Velo parcial ausente 13
13. Basidioma generalmente decurvado, superficie del píleo café o rojiza
..... ***P. cornucopiae***
13. Basidioma pleurotoide; superficie del píleo blanca, amarillo oliva, café, café oliva, rosa o gris***P. djamour***
14. Sobre madera de coníferas, noreste de China. Cerca del este de Rusia
..... ***P. abieticola***
14. Sobre madera de árboles deciduos (principalmente) 15
15. Píleo y láminas amarillo claro, laminas subdistantes, esporada café claro; esporas 9-12 x 3-5 μm ; Norteamérica, generalmente sobre madera de *Populus*

9-12 x 3-5 μm ; Norteamérica, generalmente sobre madera de *Populus*
..... ***P. populinus***

15. Varias partes del píleo de blancas, cafés, gris profundo, azul oliva, negro oliva, esporda color avellana; esporas de 7-10 μm de largo; de amplia distribución mundial; generalmente sobre madera de árboles deciduos
..... **16**

16. Fructificación predominante a principios de invierno; píleo café, café gris, negro-oliva; zona templada del norte ***P. ostreatus***

16. Fructifica predominantemente a finales de verano (Europa, Asia, este de Norteamérica) o en primavera (Oeste de Norteamérica); píleo blanco, café gris; zona templada del norte ***P. pulmonarius***

Anexo 4. Composición de los medios de cultivo utilizados

MEDIO	COMPOSICIÓN	CANTIDAD
Agar-Dextrosa y Papa (PDA)	Infusión de papa (sólidos).....	4.0 g
	Dextrosa.....	20.0 g
	Agar.....	15.0 g
	pH inicial.....	6.0
	pH final.....	6.4
Agar-Extracto de Malta (EMA)	Extracto de malta	12.75 g
	Dextrina.....	2.75 g
	Glicerina.....	2.76 g
	Peptona de gelatina.....	0.78 g
	Agar.....	15.0 g
	PH inicial	5.4
	pH final.....	5.6
Agar-Dextrosa-Sabouraud (SDA)	Dextrosa.....	40.0 g
	Peptonas de carne.....	5.0 g
	Peptonas de caseína.....	5.0 g
	Agar.....	15.0 g
	pH inicial.....	6.0
	pH final.....	6.3