

Recibido: Mayo 25 de 1998

Aceptado: Julio 10 de 1998

Híbridos termorresistentes del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*

María Magdalena Paz Pacheco*

Graciela Huerta Palacios*&

José E. Sánchez Vázquez**

ABSTRACT

In Mexico there are only few research projects aiming at the selection of thermo-resistant strains since this is a problem occurring only in tropical and subtropical regions. For this reason, thermo-resistant strains were chosen from commercial strains of *P. ostreatus* for this work and hybrids among the specimens, which were capable of growing and blooming at high temperatures.

From 1600 monosporic myceliums of *P. ostreatus* exposed to a temperature of 35°C for 72 hours, the ones recovered were the following: 13 from ECS-0107, 8 from ECS-0111, 2 from ECS-0112, 5 from ECS-0114, 1 from ECS-0115, 6 from ECS-152 and 11 from ECS-167. Those with the highest growth rate were ECS-0167,11, 0114-10, 0114-30,0167-1, 0167-7, 0152-177, 0107-34 with 11.98 to 10.30 mm for day. The intercrossings of monospores showed the existence of 9 alleles A and 9 alleles B. This allowed for the production of 160 fertile hybrids, with very wide morphologic differences among them.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, thermo-resistant strains, monosporic, growth rate.

& Autor para correspondencia

* Facultad de Ciencias Químicas. Campus IV. Universidad Autónoma de Chiapas.
Carretera a Puerto Madero Km. 2.0, Tapachula, 30700, Chiapas, México.

** El Colegio de la Frontera Sur
Carretera Antigua Aeropuerto Km. 2.5, Apdo. Postal 36, C.P. 30700, Tapachula, Chiapas
E-mail: esanchez@tap.ecosur.mx

RESUMEN

En México hay pocos trabajos tendientes a la selección de cepas termorresistentes, pues este es un problema que solo se presenta en las regiones tropicales. Por lo que aquí se seleccionaron cepas termorresistentes a partir de cepas comerciales de *P. ostreatus* y se formaron híbridos intra e inter especímenes capaces de crecer y fructificar a altas temperaturas. De 1,600 micelios monospóricos sometidos a 35°C por 72 horas se recuperaron 13 de la cepa ECS-0107, ocho de la cepa ECS-0111, dos de la ECS-0112, cinco de la ECS-0114, una de la ECS-0115, seis de la ECS-0152 y 11 de la ECS-0167. Los de mayor velocidad de crecimiento fueron ECS-0167-11, ECS-0114-10, ECS-0114-30, ECS-0167-1, ECS-0167-7, ECS-0152-177 y ECS-0107-34.

Los entrecruzamientos de monospóricos mostraron la existencia de nueve alelos A y nueve B. Esto permitió producir 160 híbridos con diferencias morfológicas muy marcadas.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, cepas termorresistentes, monospóricos, velocidad de crecimiento.

INTRODUCCIÓN

En Chiapas, donde por lo menos el 70% de la población vive en áreas rurales y desarrolla actividades de tipo agrícola y/o ganadera, existen problemas de escasez de alimento de alta calidad, sobretodo en áreas alejadas de los centros urbanos de acopio. Debido a la abundancia de desechos agrícolas y a las condiciones climáticas que predominan, el cultivo de *Pleurotus* es una alternativa para solucionar este problema. Este hongo crece naturalmente sobre troncos de árboles muertos y se le conoce como hongo blanco. Se colecta para su consumo durante la época de lluvia y es un alimento

apreciado por los lugareños.

A pesar de los logros tecnológicos de su cultivo, la productividad obtenida no es buena. Esto se debe a que las cepas que se cultivan provienen de zonas templadas, adaptadas a crecer y fructificar a temperaturas bajas (15-20°C). Esto ha hecho que la industria incipiente del cultivo de hongos en regiones tropicales y subtropicales se enfrente a serios problemas como la falta de adaptación de las cepas a altas temperaturas y la lenta colonización del sustrato con relación a los contaminantes. Debido a lo anterior es importante generar cepas capaces de soportar la temperatura producida por el sustrato, que continúa fermentando aún después de pasteurizado y de fructificar en las áreas tropicales a temperaturas mayores de 25°C. Estas características permitirán a *Pleurotus* competir eficientemente con la flora natural del sustrato.

Elliot (1989) comentó que para que el cultivo de *Pleurotus* sea factible en los trópicos deben desarrollarse trabajos de mejoramiento tendientes a resolver el problema de fructificación a altas temperaturas. Muller (1988), mencionó que *Pleurotus* tiene una amplia variación genética, que lo capacita para crecer sobre una gran variedad de sustratos y fructificar en un amplio rango de temperaturas. Por otro lado Li (1980) mostró que la respuesta a altas temperaturas puede ser manejada por programas de mejoramiento genético mediante cruza, pues se trata de un carácter dominante gobernado por siete genes.

En México existen pocos trabajos tendientes a la selección de cepas termorresistentes pues este es un problema que sólo se presenta en regiones tropicales y subtropicales. En este trabajo se seleccionaron cepas termorresistentes generadas a partir de esporas y micelios provenientes de cepas comerciales de *P. ostreatus*, formaron híbridos intra e inter especímenes capaces de fructificar a altas temperaturas y con cualidades comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de las cepas de *Pleurotus ostreatus*

Las cepas de *P. ostreatus* estudiadas se enumeran en la tabla 1. Todas ellas fueron donadas por diferentes instituciones. Se obtuvieron por aislamiento vegetativo y actualmente forman parte del cepario de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) de Tapachula Chiapas.

Obtención de esporadas

Fue necesario llevar a producción las cepas estudiadas, para obtener esporadas. Para esto se utilizó la metodología señalada por Stamets y Chilton (1983); usando como sustrato pulpa de café. Se colectaron cuidadosamente basidiocarpos maduros y se colocaron por 2 a 4 horas sobre papel filtro estéril con el himenio hacia abajo. Posteriormente se eliminaron los cuerpos del hongo y se dejaron secar las esporadas para evitar su germinación durante su almacenamiento (Stamets, 1993).

Las esporadas se conservaron en bolsas de plástico con sílica gel y selladas herméticamente. Cada esporada se etiquetó con el número de clave de la cepa y la fecha.

Selección de cepas termorresistentes

La selección de cepas se hizo a partir de esporas termorresistentes o de micelios monospóricos capaces de crecer a temperaturas mayores de 30°C.

Tratamiento a esporadas y selección de termorresistentes

Se sometieron 0.5 cm² de cada esporada a 35, 40 y 45°C por 24, 48 y 72 horas, estos rangos se seleccionaron tomando como base los resultados del trabajo de Li y Eger (1978). Posteriormente cada esporada tratada se sembró por el método de dilución en agar extracto de malta (AEM) a un pH 5.5. Se incubaron por 72 horas. Posteriormente, bajo condiciones de asepsia, fueron observadas al microscopio estereoscópico para reaislar aquellas que resistieron el tratamiento térmico.

Aislamientos monospóricos y tratamiento térmico de micelios

La obtención de monospóricos se logró al colocar 0.5 cm² de esporada en 10 mL de agua destilada estéril. A partir de esta se prepararon otras diluciones hasta lograr tener 50 esporas por 0.1 mL. De esta última dilución se tomaron 0.5 mL y se distribuyeron homogéneamente sobre la superficie de una placa de agar azul de anilina pH 5.5 con la ayuda de una espátula de

Tabla 1. Cepas de *Pleurotus ostreatus*, resguardadas en el cepario de El Colegio de la Frontera Sur, en Tapachula de Córdoba y Ordóñez, Chiapas.

Clave	Origen
ECS - 0152	Colegio de Posgraduados de México.
ECS - 0106	Guatemala
ECS - 0107	Guatemala
ECS - 0111	Cepa comercial de México, D.F.
ECS - 0112	U.A.M.
ECS - 0114	U.A.M.
ECS - 0115	U.A.M.
ECS - 0167	SOCAMA

vidrio estéril (el colorante sólo se usa como contraste). Las cajas se incubaron por 48 horas a 25°C. Finalmente, bajo condiciones de asepsia y con la ayuda de agujas estériles y un microscopio estereoscópico, los micelios provenientes de una sola espora, se pasaron a tubos con AEM (Método modificado de Eger 1979). Se obtuvieron 200 monospóricos de cada cepa, los cuales se codificaron con el número de cepa y el de aislamiento, ejemplo: Cepa ECS-0112-1.

La selección de micelios monospóricos termorresistentes se realizó, al reaislar aquellos micelios que sobrevivieron después de ser incubados por cinco días a 35 y 40 °C. Este ensayo se hizo por triplicado.

Caracterización de monospóricos termorresistentes

Debido a que es importante la selección de monospóricos de mayor vigor fue necesario medir la velocidad de crecimiento y hacer una caracterización morfológica de los mismos. Para esto se sembraron discos de micelio de 3 mm de diámetro por cada cepa, en cajas de Petri con AEM pH 5.5. Se incubaron a 26 °C. Una vez activadas, se midió diariamente el diámetro del micelio con un Vernier. Con estos datos se formaron las curvas de desarrollo y se determinó para cada uno de los casos, la fase logarítmica. Las lecturas que forman la etapa inicial y final de esta fase, se utilizaron para el cálculo de la velocidad de crecimiento según la fórmula propuesta por Mcneil y Harvey, (1989). El experimento se llevó a cabo por quintuplicado.

Los resultados se sometieron al análisis de varianza y comparación de medias de Duncan a 0.01. Sobre este mismo material se hizo la descripción de la morfología colonial.

Identificación de los factores de incompatibilidad en monospóricos termorresistentes

Se aparearon los monospóricos termorre-

sistentes provenientes del mismo cuerpo fructífero en todas las combinaciones posibles y se evito las cruza recurrentes, según la metodología propuesta por Eugenio y Anderson (1968) y Eger (1979);. Para esto, se colocaron pequeñas porciones de micelio, uno frente a otro, de los monospóricos a aparear, en cajas de AEM. Posteriormente se incubaron a 25°C por 5 o 6 días.

Para separar los aislamientos en grupos de incompatibilidad, se revisaron al microscopio compuesto fragmentos de micelios de la parte donde se unen y de los extremos distales de cada colonia. La presencia de fíbulas en el micelio, se interpretó como reacción de compatibilidad y su ausencia como incompatible. La separación de grupos de incompatibilidad se hizo siguiendo las recomendaciones de Eugenio y Anderson, (1968).

Formación de híbridos

Una vez identificado el grupo de incompatibilidad de los aislamientos termorresistentes, se aparearon aquellos que pertenecen al grupo I con los del IV y los del II con los del III. Se formaron híbridos intraespecímenes e interespecímenes.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Selección de esporas termorresistentes

En los tratamientos a 35 y 40 °C por diferentes tiempos la mayoría de las cepas presentaron esporas con capacidad para germinar, este hecho no permitió seleccionar esporas termorresistentes (Tabla 2), pero a 45°C por 72 horas sólo 35 esporas produjeron micelio y de ellas 4 se desarrollaron normalmente al ser transferidas a medio de cultivo. Estas fueron: ECS-0114-1*, ECS-0114-3*, ECS-0114-4* (1%) y ECS-0167-1*(0.4%). Esto demuestra que una temperatura de 45 °C provoca en general daños irreversibles en el metabolismo de las esporas. Algo similar observaron Li y Eger

Tabla 2. Porcentajes de germinación de esporas de *Pleurotus ostreatus* tratadas a 35 y 40°C por diferentes tiempos.

Cepas	35°C			40°C		
	24	48	72	24	48	72
	(horas)			(horas)		
ECS-0106	90.0	32.5	31.0	27.5	17.5	14.5
ECS-0107	15.5	7.5	7.5	28.0	23.75	11.5
ECS-0111	93.5	73.0	22.5	69.25	63.0	30.5
ECS-0112	16.5	12.0	6.0	0.75	0	0
ECS-0114	24.5	27.5	22.0	16.75	11.0	10.0
ECS-0115	8.0	2.5	2.0	11.0	8.5	6.75
ECS-0152	23.5	18.0	15.5	35.75	27.0	20.75
ECS-0167	7.5	3.5	1.5	6.25	4.5	1.5
C.V.	17.69	14.37	12.99	9.91	9.09	9.88

(1978), quienes mencionaron que la germinación de las esporas de *Pleurotus* se reduce rápidamente al incrementar la temperatura. Ellos observaron que no hubo germinación de esporas cuando las esporas se sometieron a 40 °C por tres días; y que al prolongar el tratamiento por tres semanas las esporas se vacuolaron y perdieron su viabilidad.

La sensibilidad de las esporas de cepas comerciales de *P. ostreatus* a la temperatura, explica el por qué estos especímenes no se han establecido naturalmente en las áreas cercanas a las plantas productoras de hongos, que se localizan en áreas tropicales y subtropicales.

Selección de micelios termorresistentes

De 1600 micelios monospóricos provenientes de ocho cepas de *P. ostreatus* sometidos a 35°C por 72 horas, se recuperaron 45 (3.3%). De los sometidos a 40°C ninguno sobrevivió. De los recuperados 13 pertenecen a la cepa ECS-0107, 8 a la ECS-0111, 2 a la ECS-0112, 5 a la ECS-0114, 6 a la ECS-152 y 11 a la ECS-167 (Tabla 3). Aquí mismo se puede observar que la recuperación de micelios termorresistentes fue mas frecuente en las cepas ECS-0107 (6.85) y ECS-

0167 (5.91%). La baja frecuencia de micelios recuperados indicó que el tratamiento fue eficiente para seleccionar a los monospóricos termorresistentes y ratifica que la temperatura letal para el micelio es 40°C por 72 horas (Zadrazil, 1978; Li y Eger, 1978).

Caracterización de monospóricos termorresistentes

El análisis de varianza de las velocidades de crecimiento de los monospóricos termorresistentes muestra que existen diferencias altamente significativas entre las velocidades de crecimiento observadas (Tabla 4): Al hacer la comparación de medias por Duncan a 0.01, se encontró que hay diferencias muy marcadas entre la velocidad de crecimiento que presentan los monospóricos termorresistentes, por lo que logran separarse 23 grupos. Los que mayor velocidad de crecimiento presentaron fueron ECS-0167-11, 0114-10, 0114-30, 0167-1, 0167-7, 0152-177, 0107-34 con velocidades de 11.98 a 10.30 mm/día forman los grupos a, b y c. Tienen una velocidad media las cepas 0107-34, 0107-40, 0107-3, 0114-12, 0167-36, 0107-31, 0107-16, 0152-64, 0107-9, 0107-121, 0167-66, 0167-27, 0167-

Tabla 3. Monospóricos termorresistentes de cepas comerciales de *Pleurotus ostreatus* seleccionados a 35°C por cinco días.

Cepas	% de Germinación	Micelios tratados	Micelios termorresistentes	Frecuencia (en %)
ECS-0106	86	180	0	0
ECS-0107	89.5	175	2, 3, 5, 8, 9, 11, 16, 27, 31, 34, 40, 121, 144	6.85
ECS-110	0	0	0	0
ECS-0111	91.5	182	2, 20, 27, 29, 33, 35, 51, 81	4.39
ECS-0112	19.75	101	1, 2	1.98
ECS-0114	84.5	160	5, 10, 12, 16, 24	3.12
ECS-0115	61.8	190	0	0
ECS-0152	84	177	32, 49, 64, 85, 138, 177	3.38
ECS-0167	100	186	1, 7, 11, 20, 27, 34, 36, 60, 66, 70, 80	5.91

20, 0107-2, 0152-49, 0107-11, los cuales tienen una velocidad entre 10.30 y 8.53 mm/día y forman el grupo d, e, f, g, h, i, j. Entre las de más lento crecimiento se encuentran los monospóricos 0112-1, 0111-33, -29, -20, -2, -51, -81, -27, -35 y 0114-24, con velocidades que van de 5.33 mm/día a 2.22 mm/día del grupo s, t, u, hasta x.

En relación a la morfología colonial, los monospóricos de la cepa ECS-0167 y ECS-0107 formaron micelios densos, abundantes, de aspecto algodonoso y aéreo. Mientras que ECS-0112, ECS-0114, ECS-0111 y ECS-0115 presentaron micelios poco densos y pegados al medio. Los de la cepa ECS-0152 tuvieron un micelio de densidad intermedia y aéreo.

Grupos de incompatibilidad y entrecruzamiento de las cepas termorresistentes

Se lograron diferenciar los cuatro grupos de incompatibilidad entre los monospóricos de las cepas ECS-0107, -0111, -0114, y -0167. En la cepa ECS-0152, solo se encon-

traron tres grupos y en la ECS-0112 dos. La separación por grupos está representada en el tabla 5. Con esto se confirma que el control de la sexualidad en las cepas estudiadas es bifactorial y tetrapolar, según lo reportaron Eugenio y Anderson, 1968.

Los resultados de entrecruzamientos mostraron la existencia de nueve alelos para los factores A y B en los micelios termorresistentes de las cepas estudiadas (Tabla 6). Esto concuerda con lo reportado por Bresinsky et al. (1976), quienes mencionaron que los factores de incompatibilidad en *Pleurotus* son multialélicos en A y B. En México, algo similar encontraron Sobal y Martínez en 1988, al revisar los alelos de 10 líneas de *P. ostreatus*. Ellos reportaron la presencia de 16 factores A y 18 B y calcularon que la población que ellos estudiaron podría contar con 48 A y 95 B en la naturaleza.

En esta misma tabla se puede observar que los monospóricos termorresistentes presentaron un alto porcentaje de compatibilidad: las cepas ECS-0107 y ECS-0114 mos-

Tabla 4. Velocidades de crecimiento (V.C.) de micelios termorresistentes.

Cepas termo- rresistentes	V.C. en mm/día	Cepas termo- rresistentes	V.C. en mm/día	Cepas termo- rresistentes	V.C. en mm/día
0167-11	11.98 a**	0167-27	8.92 efgh	0114-3*	6.70 nopq
0114-10	11.77 ab	0167-20	8.91 efgh	0167-80	6.43 opqr
0114-30	11.76 ab	0107-2	8.87 efgh	0167-60	6.01 pqrs
0167-1	11.58 ab	0152-49	8.81 efghi	0112-2	5.88 qrst
0167-7	11.32 ab	0107-11	8.53 fghij	0107-27	5.54 rst
0152-177	10.85 bc	0152-138	8.34 ghijk	0112-1	5.33 stu
0107-34	10.30 cd	0152-32	8.01 hijkl	0111-33	4.93 tuv
0107-40	9.88 de	0107-144	7.83 ijklm	0111-29	4.45 uvw
0107-3	9.87 de	0114-16	7.73 jklmn	0111-20	4.39 uvw
0114-12	9.72 de	0167-70	7.67 jklmn	0114-24	4.16 vw
0167-36	9.57 def	0107-8	7.61 jklmn	0111-2	3.95 vw
0107-31	9.55 def	0114-1*	7.48 klmn	0111-51	3.82 w
0107-16	9.48 def	0167-34	7.31 lmno	0111-81	2.74 x
0152-64	9.43 def	0107-5	7.14 lmno	0111-27	2.58 x
0107-9	9.14 efg	0167-1*	6.93 mnop	0111-35	2.22 x
0107-121	9.11 efg	0114-5	6.73 nopq		
0167-66	8.94 efgh	0114-4*	6.72 nopq		

C.V.=5.57%

* Cepas que provienen de esporas termorresistentes

** Letras iguales indican velocidades de crecimiento estadísticamente iguales: a P, 0.01.

traron un 80%, la ECS-0152 un 90%, ECS-0111 y ECS-0167 95 y 94% respectivamente. Solo la ECS-0112 tuvo 100%. Esto corroboró que todas las cepas trabajadas pertenecen a la misma especie y que las diferencias entre los porcentajes de compatibilidad se deben a que presentan factores del mismo tipo. Así las cepas ECS-0114 y ECS-0107 tienen en común los factores A_1B_1 , A_2B_2 , A_2B_1 y A_1B_2 . Los monospóricos ECS-0167-34, ECS-0167-60 comparten el factor A_3 con los Monospóricos ECS-0152-49 y ECS-0152-138. Mientras que las cepas ECS-0111-20, -33 y -51 comparten el B_5 con el monospórico ECS-0152-138.

Fertilidad de los híbridos

En este trabajo se produjeron un total de 160 híbridos, de los cuales todos formaron cuerpos fructíferos con diferencias morfológicas muy marcadas entre si. Por tanto se recomienda estudiar las características de productividad de los más sobresalientes, como una estrategia para seleccionar aquellos que tengan buena adaptabilidad al substrato y rápida colonización de éste, fructificación temprana y alta productividad. Aunque dichas características se presentan en forma independientes podrían conjuntarse en algunos de ellos, dado el elevado potencial de entrecruzamiento de las cepas.

Tabla 5. Determinación de grupos de incompatibilidad sexual en micelios termorresistentes de *Pleurotus ostreatus*.

CEPA	GRUPO DE INCOMPATIBILIDAD	MONOSPORICOS
ECS-0107	I	2, 9, 11
	II	5, 27, 40
	III	8, 144
	IV	3, 16, 31, 34, 121
ECS-0111	I	2, 29
	II	33
	III	51
	IV	20, 27, 35, 81
ECS-0112	I	1
	IV	2
ECS-0114	I	1*, 3*, 24
	II	12
	III	10, 16
	IV	4*, 5
ECS-0152	I	32, 49, 85, 177
	II	138
	III	
	IV	64
ECS-0167	I	1*, 1, 11
	II	7, 60, 70
	III	20, 27, 36, 80
	IV	34, 66

Tabla 6. Entrecruzamiento de micelios termorresistentes provenientes de seis cepas de *Pleurotus ostreatus*.

		0167				0111				0107				0152			0112		
		1	34	60	27	2	20	33	51	2	16	5	144	49	64	138	1	2	
		A ₄	A ₃	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₅	A ₆	A ₂	A ₁	A ₁	A ₂	A ₃	A ₇	A ₃	A ₈	A ₉	
		B ₃	B ₄	B ₃	B ₄	B ₆	B ₅	B ₅	B ₆	B ₁	B ₂	B ₁	B ₂	B ₇	B ₅	B ₅	B ₈	B ₉	
0	A ₁ B ₁	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-?	+	+	+	+	+
1	A ₂ B ₂	5	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-?	-	+	+	+	+	+	+
1	A ₂ B ₁	12	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
4	A ₁ B ₂	10	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
	0	A ₄ B ₃	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	A ₃ B ₄	34	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
	6	A ₃ B ₃	60	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
	7	A ₄ B ₄	27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	A ₅ B ₆	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	A ₆ B ₅	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
	1	A ₅ B ₅	33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	1	A ₆ B ₆	51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-?	+	+	+
	0	A ₂ B ₁	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1	A ₁ B ₂	16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	A ₁ B ₁	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	7	A ₂ B ₂	144	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	A ₃ B ₇	49														+	+	
	1	A ₇ B ₅	64														+	+	
	5	A ₃ B ₅	138														+	+	
	2																		

AGRADECIMIENTOS

Los autores tienen a bien agradecer al Sistema Institucional de investigación de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIINV-UNACH), y a ECOSUR el apoyo otorgado para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

BRESINSKY, A., O. Hilber y H. P. Molitoris. 1976. The genus *Pleurotus* as an aid for understanding the concept of species in basidiomycetes. In: Clemencón (ed.) 1977. The concept in Hymenomycetes. Proceedings of a herpetology symposium held at the University of Lausanne, Switzerland. 1976-1977. J. Cramer Vaduz. 16-20

EGER, G. 1979. Biology and breeding of *Pleurotus*. In: S.T. Chang y T.H. Quimio (Eds.). The biological

and cultivation of edible mushroom. Academic Press. New York. 497-519.

ELLIOTT T. J. 1989. Genetics and breeding of cultivated mushrooms. In S.T. Chang y T. H. Quimio (Eds). Tropical Mushrooms and cultivation. The Chinese University Press. Hong Kong. p.11-30.

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

LI, S.F. y G. Eger. 1978. Characteristics of some *Pleurotus* strains from Florida, their practical and taxonomical importance. Mushroom Science X. Proceedings of the Tenth international congress on the science and cultivation of edible fungi. France. 155-169.

LI, S.F. 1980. Studies on the tolerance to elevated temperatures in *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fr.) Kummer. A contribution to taxonomy and the

genetics of the fruiting process. J. Cramer Fl-9490 Vaduz. 89 p.

LÓPEZ, A. A.; G. Huerta y J.E. Sánchez. 1996. Contamination encountered during various phases of cultivation of *Pleurotus ostreatus* in tropical Mexico. In: D.J. Royse (ed). Mushroom biology and mushroom products. Proceedings of the second international conference. University park, Pennsylvania. 495-502.

MCNEIL B. y L. M. Harvey. 1989. Fermentation a practical approach. D. Rickwood y B. D. Hames. 226 p.

MULLER J. 1988. Genetics potential of *Pleurotus ostreatus*: relevance to the disposal of agro-wastes. Mic. Neotrop. Aplic. 1 :29-44.

STAMETS P. y J. S.Chilton.1983. The Mushroom cultivator. A practical guide to growing mushrooms at home. Agarikon Press, Olimpia.

STAMETS P.1993. Growing gourmet an medicinal mushrooms. Ten speed Press and Mycomedea. Hong Kong. 21-34.

SOBAL M. y D. Martínez-Carrera. 1988. Potencial de entrecruzamiento de diferentes cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* aisladas a partir de diversos substratos. Mic. Neotrop. Aplic. 1:21-27.

ZADRAZIL F.1978. Cultivation of *Pleurotus*. In S.T. Chang y W. A. Hayes. The biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press Inc. U.S.A.