

Sobal, M., P. Morales, M. Bonilla, G. Huerta & **D. Martínez-Carrera**. 2007. El Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados. Capítulo 2.1, 14 pp. In: *El Cultivo de Setas Pleurotus spp. en México*. J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata & H. Leal (Eds.). ECOSUR-CONACYT, México, D.F. ISBN 978-970-9712-40-7.

El Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados^a

M. Sobal¹, P. Morales¹, M. Bonilla¹, G. Huerta² y **D. Martínez-Carrera**¹

¹ Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Campus Puebla, Biotecnología de Hongos Comestibles, Puebla 72001, Puebla, México. Correos electrónicos: msobal@colpos.mx, dcarrera@colpos.mx

² El Colegio de la Frontera Sur, Apartado Postal 36, Tapachula, Chiapas, México

RESUMEN

El Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) cuenta con un programa de mantenimiento, conservación y caracterización del germoplasma nativo procedente de diversas regiones del país. Las cepas se mantienen mediante diversas técnicas establecidas, incluyendo también esporadas, elementos moleculares del ADN en sus diversas modalidades y bases de datos asociadas. Se presenta un listado de los recursos genéticos y colecciones especiales que se mantienen actualmente, representando los géneros *Agaricus* (72 cepas), *Pleurotus* (136 cepas), *Lentinula* (22 cepas), *Neolentinus* (2 cepas), *Ganoderma* (3 cepas), *Calvatia* (4 cepas), *Auricularia* (2 cepas), *Stropharia* (1 cepa), *Volvariella* (1 cepa), *Laetiporus* (1 cepa), *Armillaria* (1 cepa), *Hypsizygus* (2 cepas), *Flammulina* (3 cepas), *Coprinus* (1 cepa) y *Coprinopsis* (1 cepa). Se describen las relaciones filogenéticas de una muestra seleccionada de germoplasma del género *Pleurotus*, con base en información genética y molecular. El análisis de secuencias del ADN (región ITS), derivado de una matriz de distancia genética con grupo externo, generó un dendrograma cuya topología permitió la identificación en México de los siguientes grupos interestériles (GI): *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (GI-I), *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn (GI-V), *P. cystidiosus* O. K. Mill. (GI-VII) y *P. levis* (Berk. & M. A. Curtis) Singer (GI-VIII). También se describen otras líneas de investigación que se desarrollan en el CREGENHC, tales como el desarrollo de programas de mejoramiento genético, así como la identificación, caracterización y expresión de genes productores de enzimas y genes involucrados en los procesos de fructificación. Además, el CREGENHC apoya diversas actividades de vinculación con productores rurales y la industria.

Palabras clave: Hongos comestibles, recursos genéticos, germoplasma, diversidad genética, México.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 20 años, la biotecnología moderna ha impactado notablemente la manipulación genética de diversos microorganismos, plantas y animales. Ya se comercializan organismos genéticamente modificados y existen grandes programas biotecnológicos internacionales (*e.g.*, el genoma humano, los genomas de diversas especies de interés económico). Tarde o temprano, el paradigma biotecnológico (*i.e.*, la búsqueda de una propiedad específica dentro de una serie de organismos seleccionados para generar procesos o productos comerciales), fortalecido con los grandes avances de la bioinformática, generará beneficios considerables para la sociedad. En este contexto, los Centros de Recursos Biológicos han adquirido gran relevancia económica, ecológica y social en virtud de su importancia no tan sólo para proveer servicios a la comunidad académica, sino también para la conservación de la biodiversidad y el desarrollo de la industria biotecnológica (Bull *et al.*, 2000).

La falta de recursos humanos de alto nivel, así como de apoyos económicos para la operación e infraestructura, ha limitado el desarrollo de la biotecnología moderna aplicada a los hongos comestibles en los países en desarrollo, sobre todo en Latinoamérica (Martínez-Carrera, 2002). Avances recientes en este campo demuestran la necesidad de modificar esta tendencia. Por citar sólo algunos ejemplos, ya se han desarrollado sistemas eficientes de transformación genética para el champiñón (*Agaricus*; Mikosch *et al.*, 2000), las setas (*Pleurotus*; Kim *et al.*, 1999), y el shiitake (*Lentinula*; Sato *et al.*, 1998), los hongos comestibles de mayor

^a Financiado por el Plan Rector de Investigación del Colegio de Postgraduados, Línea de Investigación sobre Biotecnología Microbiana, Vegetal y Animal.

importancia social, ecológica y económica. Los sistemas de transformación genética están basados en marcadores genéticos dominantes de resistencia a la higromicina, la carboxina, al 5-fluoroindol, y al bialophos, así como en el uso del marcador de selección basado en auxótrofos de uracilo (Mikosch *et al.*, 2000; Yani *et al.*, 1996; Jia *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1999; Honda *et al.*, 2000; Irie *et al.*, 2001). Con el sistema de transformación basado en la resistencia a la carboxina, se ha logrado la sobre-expresión de genes recombinantes productores de enzimas degradadoras de lignina, tales como la manganeso-peroxidasa (Honda *et al.*, 2000). El ADN nuclear y el ADN mitocondrial han sido ampliamente estudiados y caracterizados en los hongos comestibles. El cariotipo electroforético ha indicado un número cromosómico de 6-13, con tamaño cromosómico de 20.8-39.5 megabases (Sonnenberg *et al.*, 1991). Se cuenta con un número confiable de marcadores genéticos, funcionales y anónimos, *e.g.*, RFLPs, RAPDs, SCARs, SSRs (Iracabal y Labarere, 1994; Khush *et al.*, 1995). El sistema enzimático extracelular, caracterizado por la producción de lacasas, celulasas, manganeso-peroxidases y veratril-alcohol oxidadas, ha sido ampliamente estudiado a nivel bioquímico y molecular (Cullen, 1997; Leonowicz *et al.*, 1999; Martínez, 2002; Ruiz-Dueñas *et al.*, 2001; Varela *et al.*, 2001; Whiteford y Thurston, 2000).

Con base en los ejemplos mencionados, puede concluirse que existen actualmente las bases teóricas, metodológicas y de información para el establecimiento y desarrollo de programas de investigación con biotecnología moderna aplicada a los hongos comestibles en México. En este sentido, el COLPOS-Campus Puebla, ha iniciado el establecimiento de un Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) a partir del 2004, con los siguientes objetivos centrales: 1) Mantener y conservar el germoplasma nativo procedente de diversas regiones del país; 2) Caracterizar el germoplasma nativo a nivel molecular, principalmente el correspondiente al champiñón (*Agaricus*), las setas (*Pleurotus*) y el género *Lentinula*, generando sus bases de datos asociadas; y 3) Establecer un programa de mejoramiento genético que combine herramientas de genética clásica y molecular para desarrollar una nueva generación de cepas comerciales de hongos comestibles en México. Se parte de la definición general de recursos genéticos, la cual incluye todos aquellos materiales genéticos, con valor real o potencial, que contienen unidades funcionales hereditarias y que provienen de microorganismos, plantas, animales u otros (OCDE, 1997). El término considera tanto a los materiales que ya han sido descubiertos, como aquellos materiales aún por descubrirse.

Como continuación natural de trabajos previos (Martínez-Carrera *et al.*, 1999, 2001), el desarrollo del CREGENHC (**Fig. 1**) se ha realizado con el apoyo del CONACYT, a través de los proyectos: 1) 28985-B Conservación de germoplasma y mejoramiento genético de especies silvestres de champiñón, el hongo comestible cultivado de mayor importancia social y económica en México (1999-2000); 2) 0062 Investigación básica y aplicada para fortalecer la producción rural y comercial de hongos comestibles en México (1999); 3) 36085-B El genoma de los hongos comestibles comercialmente cultivados en México: caracterización molecular de la diversidad genética del germoplasma nativo (2001-2004); 4) I39163-B Proyecto de instalación (2001-2003); así como de los siguientes apoyos complementarios: 5) International Foundation for Science (IFS), Research Grant Agreement E/1743-1 (1989-1990); y 6) Ingresos propios (1996-2003) por la venta de “semilla” mejorada y servicios a productores de hongos comestibles. Los componentes principales del CREGENHC se describen en las siguientes secciones.

RECURSOS GENÉTICOS DE HONGOS COMESTIBLES

El CREGENHC cuenta con un total de 112 cepas nativas de hongos comestibles (**Tabla 1**), representando a 26 especies pertenecientes a los géneros *Agaricus*, *Armillaria*, *Auricularia*, *Calvatia*, *Coprinopsis*, *Ganoderma*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Neolentinus*, *Pleurotus*, *Stropharia* y *Volvariella*. Las cepas proceden de diversas regiones del país, las cuales incluyen 14 Estados de la República. La nomenclatura de las especies estuvo basada inicialmente en la morfología macro y microscópica de los cuerpos fructíferos, aunque en la actualidad está siendo revisada a profundidad con investigaciones a nivel molecular, sobre todo en los géneros *Agaricus*, *Pleurotus* y *Lentinula*.

En el género *Agaricus* se han identificado tentativamente 8 especies (43 cepas), aisladas de los Estados de Puebla (39), Tlaxcala (2), Chiapas (1) y México (1).

La sección correspondiente al género *Pleurotus* está integrada por 52 cepas procedentes de los Estados de Chiapas (11), Durango (1), Hidalgo (1), Jalisco (3), México (1), Michoacán (1), Morelos (11), Nuevo León (2), Puebla (13), Tabasco (2), Tlaxcala (1), Veracruz (3), y Yucatán (2). Huerta *et al.* (2005), en sus estudios sobre la diversidad biológica de *Pleurotus* en México, registraron la presencia de seis especies empleando la

región ITS1-5.8S-ITS2 (*P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. levis*, *P. smithii*, *P. "agaves"*, *P. djamor*). Como continuación de estos estudios (Ramírez, 2006), en la **Fig. 2** se muestran las relaciones genéticas entre cepas representativas de *Pleurotus* depositadas en el CREGENHC. Con base en la información morfológica, genética y molecular disponible se han logrado identificar cuatro grupos interestériles (GI), los cuales corresponden a sus equivalentes derivados de los quince GI reconocidos por Vilgalys *et al.* (1996). El análisis de secuencias del ADN (región ITS), derivado de una matriz de distancia genética, indicó la presencia de dos grandes linajes independientes. Un linaje correspondió a *P. ostreatus*, el cual incluyó las cepas CP-267 de Nuevo León y la cepa CP-50 ampliamente comercializada en la región central del país (Morales *et al.*, 1995). El segundo linaje incluyó dos sublinajes que, a su vez, dieron lugar a cuatro subgrupos principales, a saber: 1) *P. djamor* (cepas CP-34, CP-44, CP-120, CP-170, CP-171, CP-253, CP-257, CP-262, CP-263); 2) *P. spp.* (cepas CP-98, CP-194); 3) *P. cystidiosus* (cepa CP-18); y 4) *P. levis* (cepa CP-30). En el caso del primer subgrupo, se considera importante contar con el análisis de un mayor número de cepas nativas con el objeto de confirmar la presencia de *P. ostreatus* en México. En el tercer subgrupo, se están realizando investigaciones adicionales para determinar la especie involucrada, en virtud de que no puede integrarse todavía dentro de los GI reconocidos (Vilgalys *et al.*, 1996). En el cuarto subgrupo, debe considerarse que anteriormente *P. levis* era considerado como *Lentinus levis*, con base en reubicaciones taxonómicas derivadas de la taxonomía convencional (Pegler, 1983; Sobal *et al.*, 1997). En todos los casos, se incluyeron cepas de referencia depositadas en bases internacionales de información (European Bioinformatic Institute, EBI, Inglaterra) para análisis comparativo. Así se evaluó la distancia genética entre las cepas de *P. djamor* de México y Nueva Guinea (EBI AY265821); de *P. cystidiosus* de México y E.U.A. (EBI AY315766), Japón (EBI AY315778) y Sudáfrica (EBI AY315777); y de *P. levis* de México y E.U.A (EBI AF139968). Considerando lo anterior, ya pueden identificarse en México los siguientes GI: *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (GI-I), *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn (GI-V), *P. cystidiosus* O. K. Mill. (GI-VII) y *P. levis* (Berk. & M. A. Curtis) Singer (GI-VIII). En total, se tienen depositadas en el CREGENHC, 2 cepas de *P. ostreatus*, 38 cepas de *P. djamor*, 1 cepa de *P. cystidiosus*, 1 cepa de *P. levis*, y 10 cepas de *P. spp.*

Con respecto al género *Lentinula* se tienen depositadas una cepa de *L. boryana* procedente de Veracruz y una de *Lentinula spp.* procedente de Michoacán. Otros géneros representados en el CREGENHC y procedentes de diversas regiones del país son: *Armillaria* spp. (CP-153), *Auricularia fuscosuccinea* (CP-103), *Coprinopsis* (CP-250), *Ganoderma curtissi* (CP-145), *Ganoderma* spp. (CP-205 y CP-254), *Laetiporus* spp. (CP-154), *Neolentinus lepideus* (CP-6), *Neolentinus* spp. (CP-286), *Stropharia* spp. (CP-107) y *Volvariella* spp. (CP-229).

Las cepas extranjeras depositadas en el CREGENHC se muestran en la **Tabla 2**. Se tienen diversas cepas de *Agaricus bisporus* (4), *A. bitorquis* (13), *A. subrufescens* (4), y *Agaricus* spp. (8) procedentes de Europa, Norteamérica y el SE de Asia. También se cuenta con una amplia colección de cepas de *Lentinula edodes* (20), *Pleurotus ostreatus* (68) y *Pleurotus ostreatus* f. sp. *florida* (2). Otras especies se tienen en menor número, tales como *Auricularia polytricha* (CP-4), *Coprinus comatus* (CP-162), *Flammulina velutipes* (CP-176, CP-177, CP-178), *Hypsizygus marmoreus* (CP-184), *Hypsizygus tessulatus* (CP-185), *P. cornucopiae* (CP-313), *P. dryinus* (CP-314, CP-315), *P. levis* (CP-317), *P. pulmonarius* (CP-16, CP-27, CP-32, CP-255, CP-269, CP-322) y *P. tuberregium* (CP-160, CP-165, CP-182, CP-183).

En la **Tabla 3**, se muestran los elementos moleculares del ADN depositados en el CREGENHC. Se incluyen *Gene libraries* (**Fig. 3**) y diversos genes (**Fig. 4**) que forman parte de las investigaciones que se están desarrollando en este campo, sobre la identificación, caracterización y expresión de genes productores de enzimas relacionadas con la degradación del substrato de cultivo, así como de genes involucrados en los procesos de fructificación de los hongos comestibles.

COLECCIONES ESPECIALES

Otro componente del CREGENHC son las colecciones especiales, las cuales se mantienen por su relevancia para el sistema de producción-consumo de los hongos comestibles en México. Este es el caso de la seria amenaza que representa la aparición de cepas agresivas micoparásitas del moho verde, perteneciente al género *Trichoderma*, las cuales muestran notable resistencia a los fungicidas disponibles comercialmente. El moho verde se ha catalogado como epidemia, detectándose principalmente atacando cultivos comerciales de champiñones (*Agaricus*) alrededor del mundo, principalmente en Europa, Norteamérica, el SE de Asia y Latinoamérica. Los ataques pueden ser tan severos que se han reportado pérdidas del 30% al 100% en el nivel de producción de las

plantas, o hasta más de 100 millones de dólares anuales en pérdidas económicas (Seaby, 1998; Sharma *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 2001; Spillman, 2002).

A partir de 1996, el grupo de investigación del COLPOS, *Campus Puebla*, inició investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el problema de *Trichoderma* en la producción comercial de hongos comestibles en México. Diversas especies de *Trichoderma* ocasionan serias pérdidas económicas, tanto a pequeños como a grandes productores de hongos comestibles. La mayor parte de los registros corresponden a plantas rústicas productoras de setas (*Pleurotus*), donde se han reportado problemas de contaminación por *Trichoderma* hasta en el 33% de los productores de la región central del país (Aguilar, 2001; Aguilar *et al.*, 2002). En el diagnóstico de las plagas, enfermedades y competidores en plantas productoras de hongos comestibles de la región central de México (Ortega, 2002), se demostró que el principal agente biológico nocivo de las plantas productoras es *Trichoderma*, con un nivel de incidencia hasta del 50% en las unidades de producción contaminadas consideradas en la muestra. En estas investigaciones se aislaron y caracterizaron diversas cepas de *Trichoderma* que atacaban cultivos comerciales de hongos comestibles en los Estados de México, Puebla, Tlaxcala, Morelos y Veracruz. Estas cepas y otras de referencia forman parte de una colección especial del CREGENHC, la cual se muestra en las **Tablas 4-5**. El nivel de pérdidas en producción y rentabilidad económica del cultivo oscila entre el 30-100% dentro de las plantas una vez que el moho verde se ha establecido, lo cual es bastante elevado para un pequeño productor rural e incluso para las grandes empresas. En 2004, el grupo de investigación detectó la presencia de cepas agresivas micoparásitas de *T. aggressivum* f. *aggressivum*, identificada con técnicas clásicas y moleculares, en muestras de substrato (compost) contaminado proporcionado por la principal planta de Hongos de México, S.A. (**Fig. 5**). Esta empresa, cuyos volúmenes de producción ascienden a 55 toneladas de champiñones por día, ha llegado a tener disminuciones hasta del 50% en su producción y pérdidas económicas millonarias debido al ataque de *T. aggressivum* f. *aggressivum*.

PERSPECTIVAS

Los Centros de Recursos Biológicos se han convertido en la pieza fundamental para el desarrollo de las ciencias biológicas y la biotecnología en el siglo XXI. Se trata de aquellos Centros que proporcionan los servicios estratégicos y el mantenimiento de células vivas, genomas de organismos, y la información relacionada con la herencia y las funciones de los sistemas biológicos (OECD, 2001). En este contexto, el CREGENHC del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*, se plantea como misión la conservación, el mantenimiento y caracterización de los recursos genéticos de hongos comestibles que se desarrollan en México, incluyendo sus elementos moleculares del ADN y bases de datos asociadas, así como de colecciones especiales relevantes. Además, la vinculación del CREGENHC consiste en proporcionar servicios a las instituciones públicas y privadas, mediante la distribución e intercambio de cepas e información científica con propósitos educativos y de investigación. También apoyar al sector productivo social (productores rurales) y privado (empresas) del país, a través del Centro de Vinculación con el Sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles (CVIHNCO). Se considera que un país megadiverso como México, susceptible a la biopiratería derivada de la revolución biotecnológica, debe regular y fortalecer estratégicamente la conservación, el estudio, la utilización y el acceso a sus recursos genéticos. Esto en concordancia con la Convención sobre Diversidad Biológica.

REFERENCIAS

- Aguilar, A. 2001. La biotecnología de producción de hongos comestibles: alternativa para el desarrollo agrícola y rural en México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*, Puebla. 370 pp.
- Aguilar, A., D. Martínez-Carrera, A. Macías, M. Sánchez, L. I. de Bauer y A. Martínez. 2002. Fundamental trends of rural mushroom cultivation in Mexico, and their significance for rural development. Proceed. IV International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, Cuernavaca, Mexico. 421-431 pp.
- Anderson, M. G., D. M. Beyer y P. J. Wuest. 2001. Yield comparison of hybrid *Agaricus* mushroom strains as a measure of resistance to *Trichoderma* green mold. *Plant Dis.* 85: 731-734.
- Bull, A. T., A. C. Ward y M. Goodfellow. 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 573-606.
- Cullen, D. 1997. Recent advances on the molecular genetics of ligninolytic fungi. *Journal of Biotechnology* 53: 273-289.
- Honda, Y., T. Matsuyama, T. Irie, T. Watanabe y M. Kuwahara. 2000. Carboxin resistance transformation of the homobasidiomycete fungus *Pleurotus ostreatus*. *Curr. Genet.* 37(3): 209-212.

- Huerta, G., D. Martínez-Carrera, J. E. Sánchez, H. Leal-Lara y R. Vilgalys. 2005. Contribución al conocimiento de la diversidad biológica de *Pleurotus* spp. en México. I Reunión Nacional sobre el Cultivo de *Pleurotus*, Resúmenes, ECOSUR-SMM-INECOL-SEPI, San Cristóbal de las Casas, Chiapas.
- Iracabal, B. y J. Labarere. 1994. Restriction site and length polymorphism of the rDNA unit in the cultivated basidiomycete *Pleurotus cornucopiae*. *Theor. Appl. Genet.* 88: 824-830.
- Irie, T., Y. Honda, T. Watanabe y M. Kuwahara. 2001. Homologous expression of recombinant manganese peroxidase genes in ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55(5): 566-570.
- Jia, J. H., J. A. Buswell y J. F. Peberdy. 1998. Transformation of the edible fungi *Pleurotus ostreatus* and *Volvariella volvacea*. *Mycological Research* 102: 876-880.
- Khush, R. S., M. P. Wach y P. A. Horgen. 1995. Molecular strategies for *Agaricus* breeding. In: U. Kuck (Ed.). *The Mycota II*. Springer Verlag, Berlín.
- Kim, B.-G., Y. Magae, Y.-B. Yoo y S.-T. Kwon. 1999. Isolation and transformation of uracil auxotrophs of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 181: 225-228.
- Leonowicz, A., A. Matuszewska, J. Luterek, D. Ziegenhagen, M. Wojtas-Wasilewska, N-S. Cho, M. Hofrichter y J. Rogalski. 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genetics and Biology* 27: 175-185.
- Martínez, A. T. 2002. Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. *Enzyme Microb. Technol.* 30: 425-444.
- Martínez-Carrera, D. 2002. Current development of mushroom biotechnology in Latin America. *Micol. Apl. Int.* 14: 61-74.
- Martínez-Carrera, D., M. Bonilla, M. Sobal, A. Aguilar, W. Martínez y A. Larqué-Saavedra. 1999. A culture collection of edible mushrooms and its significance for germplasm preservation, breeding, and the development of mushroom cultivation in Mexico. *Micol. Neotrop. Apl.* 12: 23-40.
- Martínez-Carrera, D., M. Bonilla, W. Martínez, M. Sobal, A. Aguilar y E. Pellicer-González. 2001. Characterisation and cultivation of wild *Agaricus* species from Mexico. *Micol. Apl. Int.* 13: 9-24.
- Mikosch, T. S. P., B. Lavrijssen, A. S. M. Sonnenberg y L. J. L. D. van Griensven. 2000. *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of *Agaricus bisporus*. *Mushroom Science* 15: 173-179.
- Morales, P. y C. F. Thurston. 2003. Efficient isolation of genes differentially expressed on cellulose by suppression subtractive hybridization in *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* 107: 401-407.
- Morales, P., M. Sobal, W. Martínez, A. Larqué-Saavedra y D. Martínez-Carrera. 1995. La cepa CP-50 de *Pleurotus ostreatus*, híbrido comercial seleccionado por mejoramiento genético en México. *Micol. Neotrop. Apl.* 8: 77-81.
- OCDE. 1997. *Propiedad Intelectual, Transferencia de Tecnología y Recursos Genéticos*. París, Francia. 99 pp.
- OECD. 2001. *Biological Resource Centres, underpinning the Future of Life Sciences and Biotechnology*. Paris, Francia. 66 pp.
- Ortega, P. 2002. Plagas, enfermedades y competidores en plantas productoras de hongos comestibles en la región central de México y la estrategia para su prevención y control. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, Puebla. 241 pp.
- Pegler, D. N. 1983. *The Genus Lentinus: A World Monograph*. Kew Bulletin Additional Series X. HMSO, London. 281pp.
- Ramírez, P. 2006. Cepas comerciales como una estrategia para el desarrollo de la producción rural de hongos comestibles (*Pleurotus*): mejoramiento genético empleando marcadores y segregación meiótica. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, Puebla. 122 pp.
- Ruiz-Dueñas, F. J., S. Camarero, M. Pérez-Boada, M. J. Martínez y A. T. Martínez. 2001. A new versatile peroxidase from *Pleurotus*. *Biochem. Soc. Trans.* 29: 116-122.
- Sato, T., K. Yaegashi, S. Ishii, T. Hirano, S. Kajiwara, K. Shishido y H. Enei. 1998. Transformation of the edible basidiomycete *Lentinus edodes* by restriction enzyme-mediated integration of plasmid DNA. *Biosci. Biotech. Biochem.* 62: 2646-2650.
- Seaby, D. A. 1998. *Trichoderma* as a weed mold or pathogen in mushroom cultivation. Pp. 267-287. In: *Trichoderma and Gliocladium, vol. 2, Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. Eds. G. E. Harman y C. P. Kubicek. Taylor & Francis, Londres.
- Sharma, H. S. S., M. Kilpatrick, F. Ward, G. Lyons y L. Burns. 1999. Colonisation of phase II compost by biotypes of *Trichoderma harzianum* and their effect on mushroom yield and quality. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51: 572-578.
- Sobal, M., P. Morales, W. Martínez, D. N. Pegler y D. Martínez-Carrera. 1997. Cultivation of *Lentinus levis* in Mexico. *Micol. Neotrop. Apl.* 10: 63-71.
- Sonnenberg, A. S. M., K. Den Hollander, A. P. J. van de Munckhof y L. van Griensven. 1991. Chromosome separation and assignment of DNA probes in *Agaricus bisporus*. Pp. 57-61. In: L. van Griensven (Ed.). *Genetics and breeding of Agaricus*. Pudoc, Wageningen.
- Spillman, A. 2002. What's killing the mushrooms of Pennsylvania? *Agricultural Research* 50(12): 14-15.
- Varela, E., F. Guillén, A. T. Martínez y M. J. Martínez. 2001. Expression of *Pleurotus eryngii* aryl-alcohol oxidase in *Aspergillus nidulans*: purification and characterization of the recombinant enzyme. *Biochim. Biophys. Acta* 1546:107-113.

- Vilgalys, R., J.-M. Moncalvo, S.-R. Liou y M. Volovsek. 1996. Recent advances in molecular systematics of the genus *Pleurotus*. Proceed. II International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, University Park, Pennsylvania. Pp. 91-101.
- Whiteford, J. R. y C. F. Thurston. 2000. The molecular genetics of cultivated mushrooms. *Advances in Microbial Physiology* 42: 1-23.
- Yani, K., K. Yonekura, H. Usami, M. Hirayama, S. Kajiwara, T. Yamazaki, K. Shishido y T. Adachi. 1996. The integrative transformation of *Pleurotus ostreatus* using bialaphos resistance as a dominant selectable marker. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60: 472-475.

Tabla 1. Cepas nativas de hongos comestibles que se conservan y estudian en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgrados, *Campus Puebla*.

Especie*	Estado	Cantidad	Código
<i>A. abruptibulbus</i> Peck	Puebla	3	CP-87, CP-138, CP-139
<i>A. bisporus</i> var. <i>bisporus</i> (J.E. Lange) Pilát	Puebla	1	CP-124
<i>A. bitorquis</i> (Quél.) Sacc.	Puebla	7	CP-84, CP-85, CP-127, CP-128, CP-129, CP-130, CP-131
<i>A. campestris</i> var. <i>campestris</i> L.	Puebla	1	CP-54
<i>A. hortensis</i> (Cooke) Pilát	Puebla	1	CP-74
<i>A. osecanus</i> Pilát	Puebla	2	CP-83, CP-125
 <i>A. subrufescens</i> Peck	Puebla	1	CP-123
 <i>Agaricus</i> spp.	México	1	CP-277
	Chiapas	1	CP-89
	Puebla	23	CP-55, CP-81, CP-115, CP-119, CP-144, CP-146, CP-147, CP-150, CP-152, CP-167, CP-231, CP-232, CP-236, CP-237, CP-238, CP-243, CP-244, CP-251, CP-274, CP-276, CP-278, CP-279, CP-280
	Tlaxcala	2	CP-230, CP-275
<i>Armillaria</i> spp.	Hidalgo	1	CP-153
<i>Auricularia fuscosuccinea</i> (Mont.) Henn.	Chiapas	1	CP-103
<i>Calvatia</i> spp.	Puebla	4	CP-35, CP-104, CP-112, CP-114
<i>Coprinopsis</i> spp.	Puebla	1	CP-250
<i>Ganoderma curtisii</i> (Berk.) Murrill	Morelos	1	CP-145
<i>Ganoderma</i> spp.	Tabasco	1	CP-254
	Puebla	1	CP-205
<i>Laetiporus</i> spp.	Hidalgo	1	CP-154
<i>Lentinula boryana</i> (Berk. & Mont.) Pegler	Veracruz	1	CP-5
<i>Lentinula</i> spp.	Michoacán	1	CP-323
<i>Neolentinius lepideus</i> (Fr.) Redhead & Ginns	Veracruz	1	CP-6
<i>Neolentinius</i> spp.	Oaxaca	1	CP-286
<i>P. cystidiosus</i> O.K. Mill.	Veracruz	1	CP-18
<i>Pleurotus djamor</i> (Rumph. ex Fr.) Boedijn	Chiapas	9	CP-92, CP-94, CP-257, CP-258, CP-259, CP-260, CP-261, CP-262, CP-263
	México	1	CP-143
	Jalisco	3	CP-264, CP-265, CP-270
	Morelos	9	CP-34, CP-44, CP-45, CP-46, CP-47, CP-51, CP-52, CP-78, CP-200
	Michoacán	1	CP-53
	Puebla	11	CP-120, CP-141, CP-304, CP-305, CP-306, CP-307, CP-308, CP-309, CP-310, CP-311, CP-312
	Tabasco	1	CP-253
	Veracruz	1	CP-266
	Yucatán	2	CP-170, CP-171
<i>P. levis</i> (Berk. & M.A. Curtis) Singer	Puebla	1	CP-30
<i>P. ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	Nuevo León	2	CP-267, CP-268
<i>Pleurotus</i> spp.	Chiapas	2	CP-91, CP-93
	Durango	1	CP-328
	Hidalgo	1	CP-98
	Morelos	2	CP-31, CP-122
	Puebla	1	CP-166
	Tabasco	1	CP-325
	Tlaxcala	1	CP-194
	Veracruz	1	CP-15
<i>Stropharia</i> spp.	Puebla	1	CP-107
<i>Volvariella</i> spp.	Puebla	1	CP-229
Total		14	112

* La nomenclatura de las especies está en proceso de revisión con investigaciones a nivel molecular.

Tabla 2. Cepas extranjeras de hongos comestibles que se conservan y estudian en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*.

Espece*	Origen	Cantidad	Código
<i>Agaricus bisporus</i> var. <i>bisporus</i> (J.E. Lange) Pilát	E.U.A.	2	CP-1, CP-72
	Europa	2	CP-99, CP-249
<i>A. bitorquis</i> (Quél.) Sacc.	E.U.A.	1	CP-58
	Europa	1	CP-70
<i>A. subrufescens</i> Peck	Filipinas	2	CP-59, CP-69
	Inglaterra	3	CP-60, CP-156, CP-157
<i>Agaricus</i> spp.	Pakistán	1	CP-56
	Tailandia	4	CP-43, CP-57, CP-63, CP-64
<i>Auricularia polytricha</i> (Mont.) Sacc.	Taiwán	1	CP-67
	E.U.A.	1	CP-179
<i>Coprinus comatus</i> (O.F. Müll.) Gray	Nigeria	3	CP-161, CP-180, CP-181
	España	1	CP-284
<i>Flammulina velutipes</i> (Curtis) Singer	Europa	7	CP-71, CP-191, CP-192, CP-199, CP-246, CP-247, CP-248
	Filipinas	1	CP-4
<i>Hypsizygus marmoreus</i> (Peck) H.E. Bigelow	Nigeria	1	CP-162
	Japón	3	CP-176, CP-177, CP-178
<i>Hypsizygus tessulatus</i> (Bull.) Singer	Japón	1	CP-184
	Hong Kong	1	CP-185
<i>Lentinula edodes</i> (Berk.) Pegler	E.U.A.	1	CP-7
	Japón	3	CP-8, CP-173, CP-174
<i>Pleurotus cornucopiae</i> (Paulet) Rolland	Comercial	4	CP-9, CP-13, CP-96, CP-172
	Comercial	12	CP-10, CP-95, CP-97, CP-163, CP-164, CP-188, CP-189, CP-285, CP-287, CP-288, CP-289, CP-290
<i>P. dryinus</i> (Pers.) P. Kumm.	Comercial	1	CP-313
	E.U.A.	2	CP-314, CP-315
<i>P. levis</i> (Berk. & M.A. Curtis) Singer	Hong Kong	1	CP-317
	E.U.A.	1	CP-16
<i>P. pulmonarius</i> (Fr.) Quél.	E.U.A.	1	CP-27
	Comercial	4	CP-32, CP-255, CP-269, CP-322
<i>P. ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm. f. sp. Florida	Alemania	1	CP-11
	Comercial	1	CP-26
<i>P. ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.	Alemania	2	CP-36, CP-37
	China	1	CP-282
<i>P. tuberregium</i> (Rumph. ex Fr.) Singer	España	2	CP-281, CP-283
	E.U.A.	4	CP-318, CP-319, CP-320, CP-321
<i>P. tuberregium</i> (Rumph. ex Fr.) Singer	Rusia	2	CP-40, CP-41
	Comercial	57	CP-21, CP-22, CP-23, CP-50, CP-168, CP-186, CP-193, CP-195, CP-196, CP-197, CP-198, CP-201, CP-202, CP-203, CP-204, CP-206, CP-207, CP-208, CP-209, CP-210, CP-211, CP-212, CP-213, CP-214, CP-215, CP-216, CP-217, CP-220, CP-221, CP-222, CP-223, CP-224, CP-225, CP-226, CP-227, CP-234, CP-235, CP-240, CP-241, CP-242, CP-245, CP-291, CP-292, CP-293, CP-294, CP-295, CP-296, CP-297, CP-298, CP-299, CP-300, CP-301, CP-302, CP-303, CP-324, CP-326, CP-327
Total	Nigeria	4	CP-160, CP-165, CP-182, CP-183
		14	140

* La nomenclatura de las especies está en proceso de revisión con investigaciones a nivel molecular.

Tabla 3. Algunos elementos moleculares del ADN que se mantienen y estudian en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgrados, *Campus* Puebla. EBI= European Bioinformatics Institute.

Elemento	Características	Observaciones
cDNA libraries de <i>Agaricus bisporus</i>	Obtenidas por hibridación subtractiva y se encuentran insertadas en el vector pGEMT	Contienen aproximadamente 8,000 genes pertenecientes al genoma del champiñón
Gene de histona	Obtenido a partir de <i>Agaricus bisporus</i> , por medio de hibridación subtractiva e insertado en el vector pGEMT	Registro en el EBI: número de acceso AJ293758
Gene de hidrofobina	Obtenido a partir de <i>Agaricus bisporus</i> , por hibridación subtractiva e insertado en el vector pGEMT	Registro en el EBI: números de acceso AJ293763 y AJ293764
Gene de beta glucosidasa	Obtenido a partir de <i>Agaricus bisporus</i> , por <i>Rapid Amplification of cDNA Ends</i> (RACE) e insertado en el vector pGEMT	Registro en el EBI: número de acceso AJ293760
Gene de la avicelasa	Obtenido a partir de <i>Agaricus bisporus</i> , por <i>Rapid Amplification of cDNA Ends</i> (RACE) e insertado en el vector pGEMT	Registro en el EBI: número de acceso AJ293762
Gene de la xilanasa	Obtenido a partir de <i>Agaricus bisporus</i> , por <i>Rapid Amplification of cDNA Ends</i> (RACE) e insertado en el vector pGEMT	Registro en el EBI: número de acceso AJ293761

Tabla 4. Colección especial de cepas nativas de mohos competidores depositadas en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgrados, *Campus* Puebla.

Especie	Estado	Cantidad	Código
<i>Trichoderma citrinoviride</i> Bissett	México	3	CPM-38, CPM-39, CPM-40
<i>T. hamatum</i> (Bonord.) Bainier	México	1	CPM-18
<i>T. aggressivum</i> f. <i>aggressivum</i> Samuels & W. Gams	México	1	CPM-64
<i>T. harzianum</i> Rifai	Morelos	2	CPM-42, CPM-44
	Puebla	3	CPM-20, CPM-22, CPM-66
<i>T. koningii</i> Oudem.	México	1	CPM-17
<i>T. polysporum</i> (Link) Rifai	México	1	CPM-19
<i>T. pseudokoningii</i> Rifai	México	2	CPM-34
<i>Trichoderma</i> spp.	Chiapas	1	CPM-100
	Durango	1	CPM-102
	México	1	CPM-25
	Puebla	39	CPM-29, CPM-37, CPM-53, CPM-54, CPM-56, CPM-57, CPM-61, CPM-62, CPM-68, CPM-69, CPM-70, CPM-71, CPM-72, CPM-73, CPM-74, CPM-75, CPM-77, CPM-78, CPM-79, CPM-80, CPM-81, CPM-82, CPM-83, CPM-84, CPM-85, CPM-86, CPM-87, CPM-88, CPM-89, CPM-90, CPM-91, CPM-92, CPM-93, CPM-94, CPM-95, CPM-96, CPM-97, CPM-98, CPM-101
	Tlaxcala	1	CPM-99
	Desconocido	3	CPM-50, CPM-51, CPM-52
Total		6	

Tabla 5. Colección especial de cepas extranjeras de mohos competidores depositadas en el Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgrados, *Campus* Puebla.

Especie	Origen	Cantidad	Código
<i>Trichoderma citrinoviride</i> Bissett	Canadá	1	CPM-4
<i>T. crassum</i> Bissett	Canadá	1	CPM-3
<i>T. harzianum</i> Rifai	Canadá	2	CPM-5, CPM-13
<i>T. koningii</i> Oudem.	Canadá	1	CPM-11
<i>T. parceramosum</i> Bissett	Canadá	1	CPM-6
<i>T. virens</i> (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx	Canadá	1	CPM-2
<i>T. viride</i> Pers.	Canadá	3	CPM-7, CPM-10, CPM-15
Total		1	

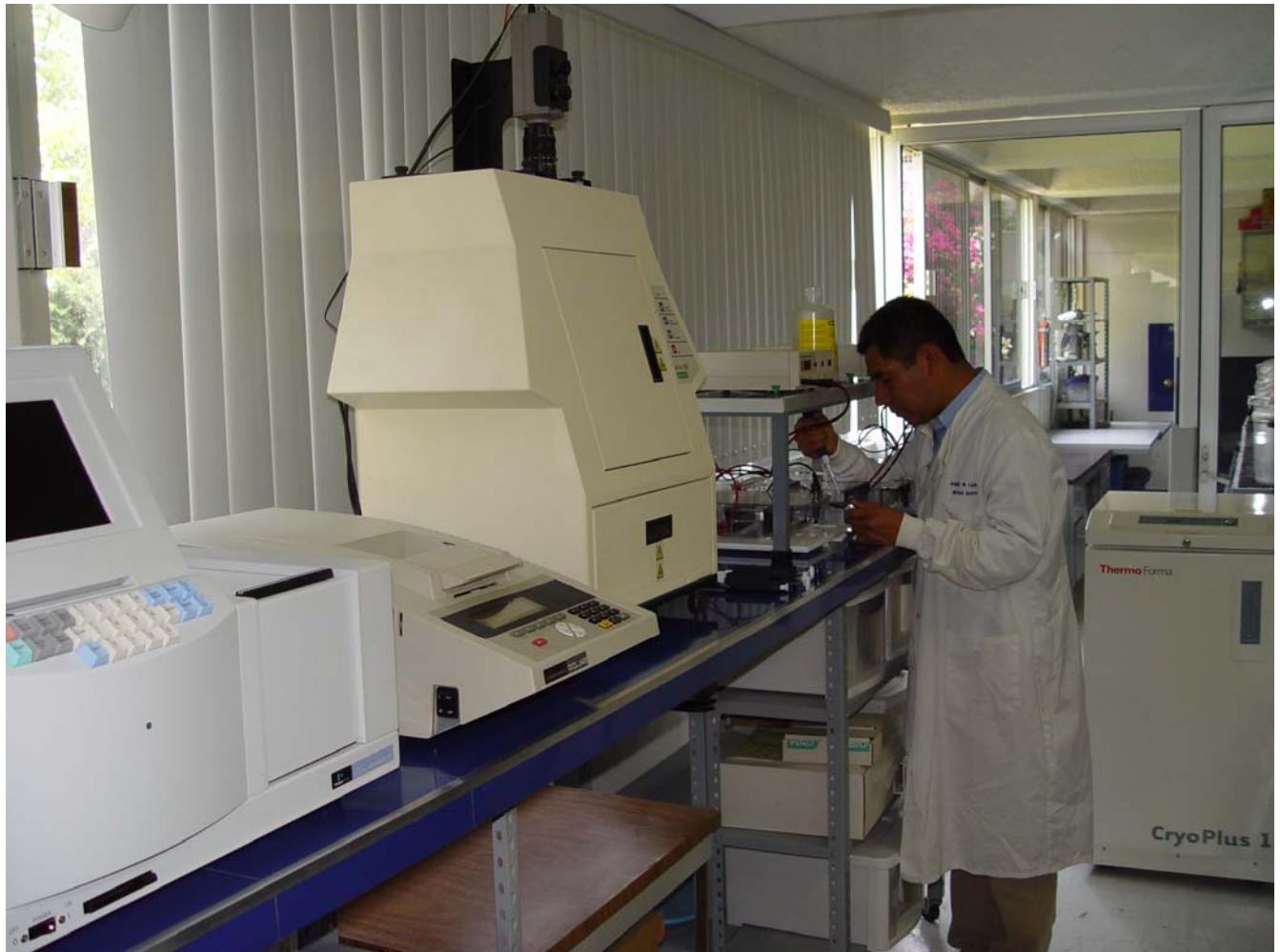


Fig. 1. El Área de Investigación sobre Biotecnología de Hongos Comestibles del Colegio de Postgrados, *Campus Puebla*, la cual integra al Centro de Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC). El Área se encuentra adscrita al Plan Rector de Investigación de la Institución, a través de la Línea de Investigación sobre Biotecnología Microbiana, Vegetal y Animal.

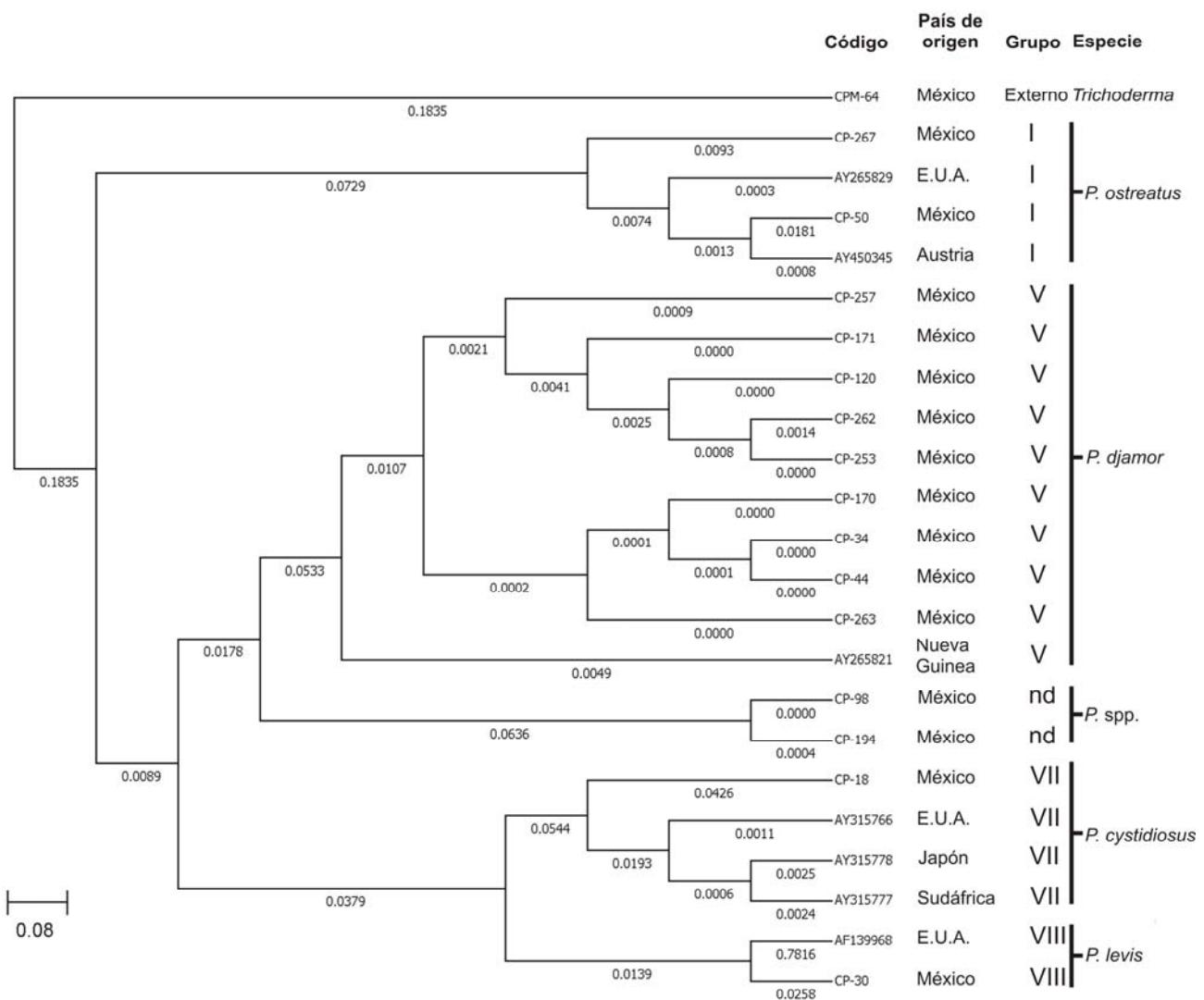


Fig. 2. Relaciones filogenéticas entre las especies de *Pleurotus* que se han identificado en México, con base en el análisis de secuencias de la región ITS del ADN derivado de la matriz de distancia genética del programa DS-Gene 1.5 (Accelrys Inc., E.U.A.) y empleando una cepa de *Trichoderma aggressivum* como grupo externo. Las especies *P. ostreatus*, *P. djamor*, *P. cystidiosus* y *P. levis* corresponden a los grupos interestériles reconocidos por Vilgalys *et al.* (1996). El código de las cepas equivale a la clave empleada en el CREGENHC, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, o al número de acceso en el European Bioinformatic Institute, Inglaterra (EBI). nd= No determinado. Todas las secuencias están registradas en la base de datos del CREGENHC, Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Una parte de esta investigación forma parte de la tesis doctoral de la M.C. Graciela Huerta Palacios (Huerta *et al.*, 2005).

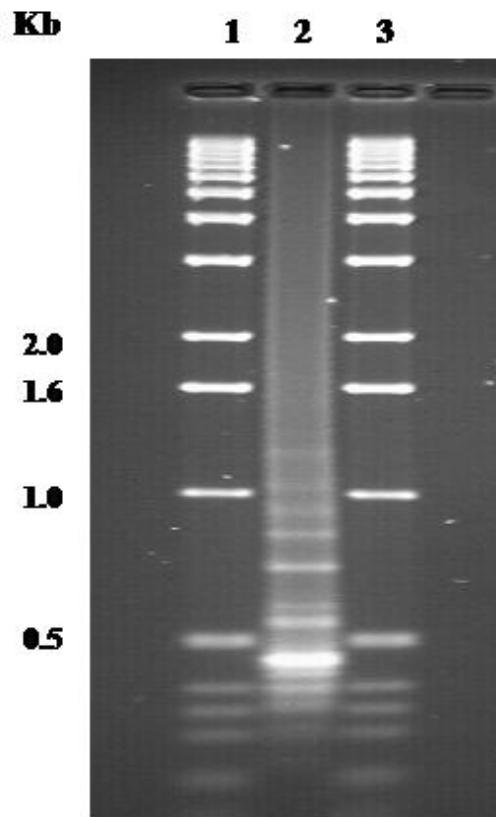


Fig. 3. *Gene (cDNA) library* (Línea 2) de la fase micelial del champiñón (*Agaricus*), el hongo comestible de mayor importancia social, económica y ecológica en México (visualizada con bromuro de etidio en gel de agarosa al 2%). Líneas 1, 3= Marcador de peso molecular (1 kb, Gibco, BRL, Inglaterra). Material depositado en el Centro sobre Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla* (Morales y Thurston, 2003).

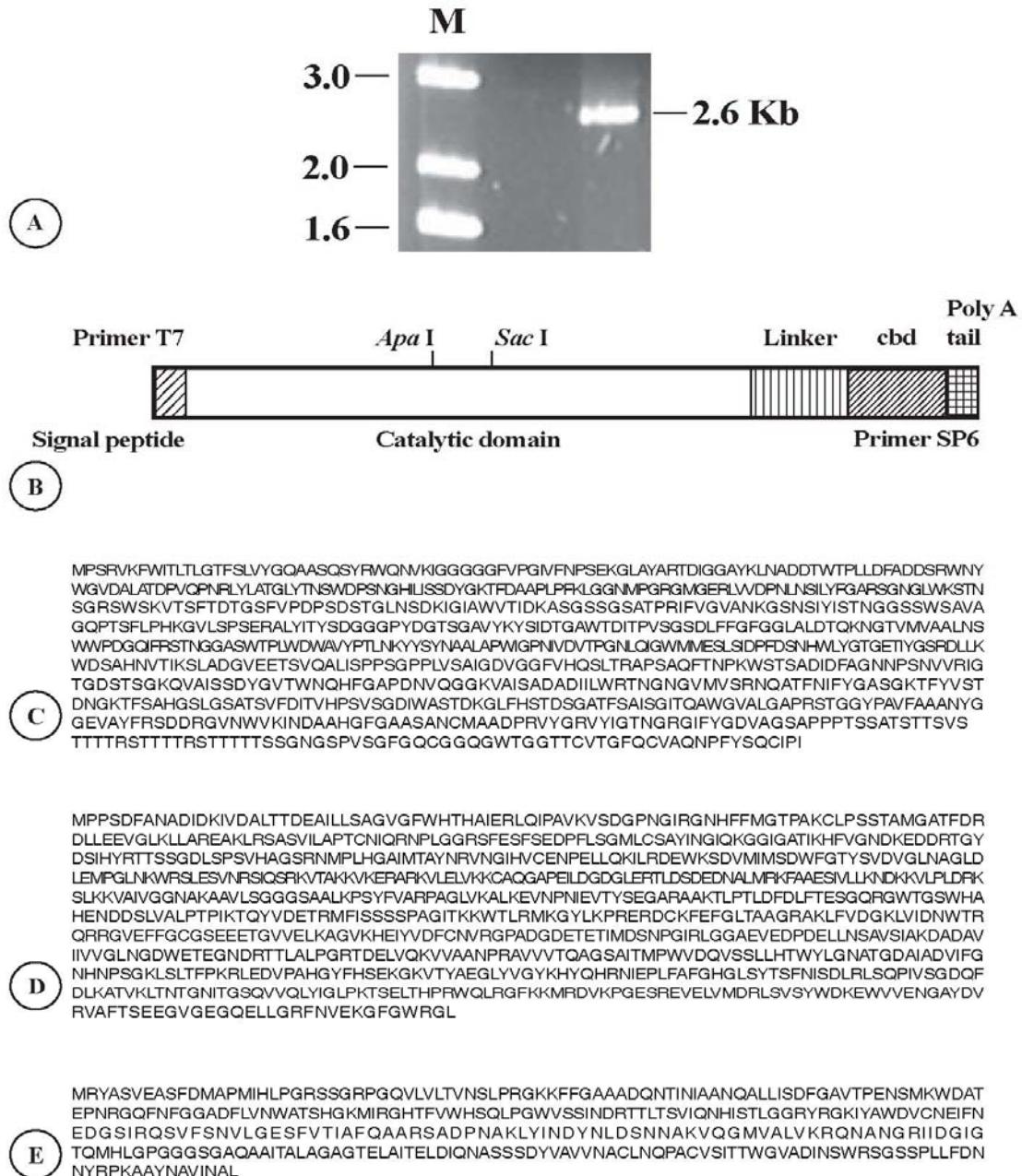
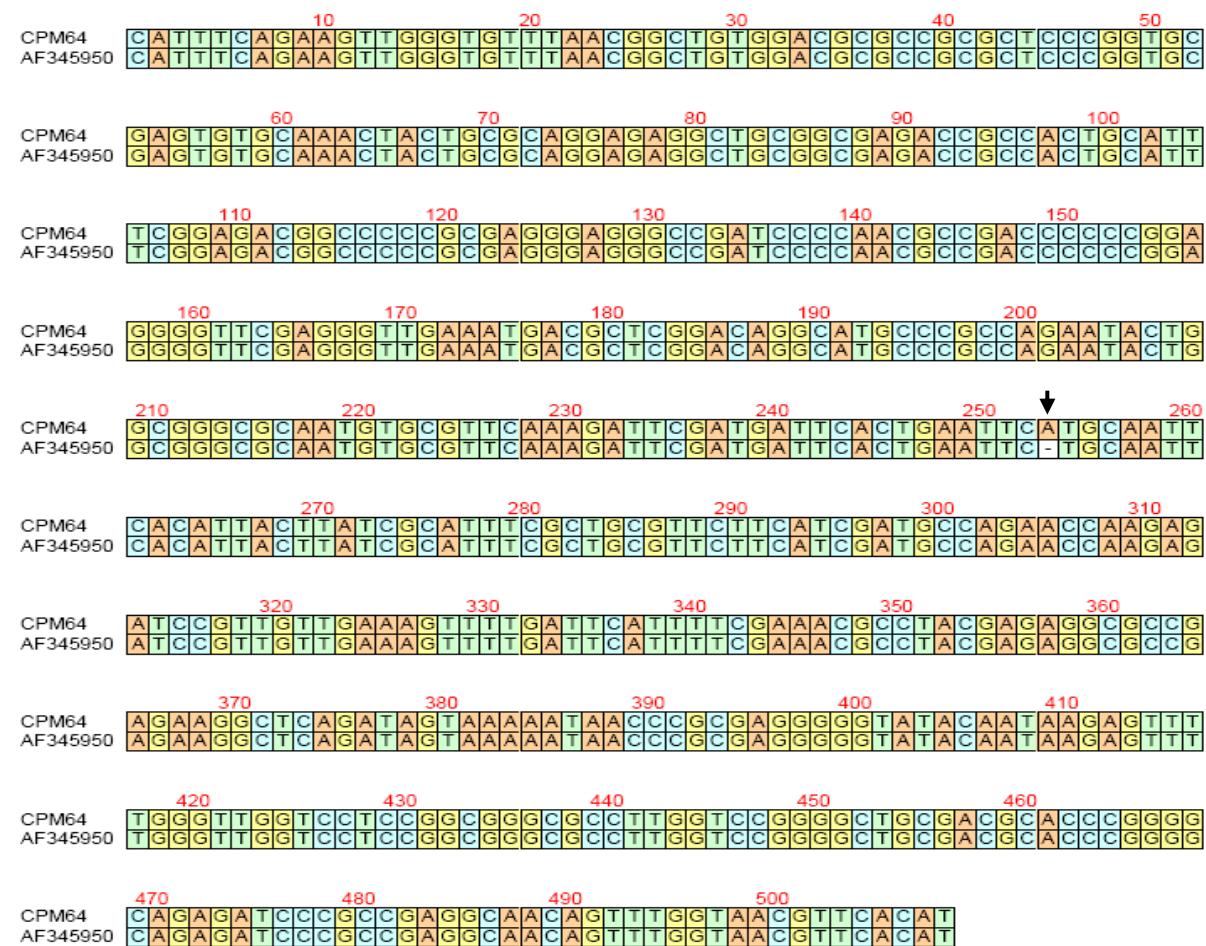


Fig. 4. Genes y proteínas que están siendo estudiadas en el Centro sobre Recursos Genéticos de Hongos Comestibles (CREGENHC) del Colegio de Postgraduados, *Campus Puebla*, ya que están involucrados en la degradación de la celulosa, hemicelulosa y glucosa presentes en los substratos utilizados para el cultivo comercial de hongos comestibles. A-C: El gen *cel5* productor de celulasas del champiñón comercial (*Agaricus bisporus*); A: *Race product* del gen *cel5* (visualizado con bromuro de etidio en gel de agarosa al 2%); B: Representación esquemática de la proteína CEL5; C: Composición de la proteína CEL5 (Número de acceso: EBI AJ292929; European Bioinformatic Institute, Inglaterra). D: Composición de la proteína beta-glucosidasa BG1 (Número de acceso: EBI AJ293760), la cual está involucrada en la hidrólisis de la beta-D-glucosa. E: Composición de la proteína xylanasa XYL1 (Número de acceso: EBI AJ293761), la cual está involucrada en la hidrólisis del xilano, el principal componente de la hemicelulosa. M= Marcador de peso molecular (Kb) [Gibco, BRL, Inglaterra].



A



B

Fig. 5A-B. Identificación de una cepa de *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum* en México. A: Morfología macroscópica de las colonias de la cepa CPM-64, la cual fue aislada de una muestra de compost comercial proporcionada por la empresa Hongos de México, S.A. B: Comparación de secuencias de la región ITS del ADN de la cepa mexicana de *Trichoderma aggressivum* f. *aggressivum* (CPM-64), con aquella depositada en el *European Bioinformatic Institute*, Inglaterra (Número de acceso: EBI AF345950). La flecha señala una diferencia entre las secuencias comparadas.