

00322

203



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CULTIVO DE ALGUNAS ESPECIES MEXICANAS DE HONGOS DEL GÉNERO

Psilocybe

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A :
DIEGO HERNÁN VALENCIA KÖRÖSI



FACULTAD DE CIENCIAS UNAM

DIRECTOR DE TESIS: DR. SIGFRIDO SIERRA GALVÁN.

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



2003

FACULTAD DE CIENCIAS SECCION ESCOLAR

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**TESIS CON
FALLA DE
ORIGEN**



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Cultivo de algunas especies mexicanas de hongos del género *Psilocybe*"

realizado por **Diego Hernán Valencia Körösi**

con número de cuenta **9753685-9**, quien cubrió los créditos de la carrera de: **Biología**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis
Propietario

Dr. Sigfrido Sierra Galván.

Sigfrido Sierra Galván

Propietario

M. en C. María de Lourdes Acosta Urdapilleta.

María de Lourdes Acosta Urdapilleta

Propietario

Dr. Teófilo Herrera Suárez

Teófilo Herrera Suárez

Suplente

Dr. Joaquín Cifuentes Blanco.

Joaquín Cifuentes Blanco

Suplente

M. en C. José Luis Villarruel Ordaz.

José Luis Villarruel Ordaz

FACULTAD DE CIENCIAS
U. N. A. M.

Consejo Departamental de Biología



Juan Manuel Rodríguez Chávez

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez. DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

B

A mi amado padre Enrique por todo su cariño y porque me enseñó la verdadera razón por la que vivimos y nos superamos como seres humanos. Por todo el tiempo, dedicación y experiencia que me pudo transmitir durante toda su vida.

Enrique Valencia Valencia 1926-1998.

A mi amada madre Irma por toda su paciencia, amor, confianza y cariño que me ha dado, y sobre todo, porque ha sido una amiga inseparable durante toda mi vida.

A mi hermano Juan Manuel y a Carmela por todo su cariño, confianza y apoyo que me han brindado para la realización de este trabajo, y a mis sobrinos, Juan Manuel y Claudia Cecilia por ser parte de mi vida

A mi hermano Miguel Santiago que fue una parte importante en mi vida y lo seguirá siendo

Miguel Santiago Valencia Arreola 1961-1991.

A mi cuñada Maria por su amistad, generosidad y apoyo de siempre.

A mis sobrinos Miguel Alejandro y María Fernanda por ser parte de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Sigfrido Sierra Galván por todo su conocimiento, apoyo, confianza y amistad que me ha brindado para la realización de esta tesis y sobre todo para mi formación como futuro biólogo.

Al Dr. Joaquín Cifuentes Blanco por darme la oportunidad de incorporarme al trabajo del laboratorio y sobre todo a comprender la importancia del trabajo micológico.

A José Luis Villaroel Ordaz por su apoyo, confianza y amistad que me proporcionó durante todos estos años en el laboratorio.

A la M. en C. María de Lourdes Acosta-Urdapilleta por haberme introducido al cultivo de macromicetos y por toda la confianza que me aportó durante el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Teófilo Herrera Suárez por sus correcciones y comentarios a este trabajo y sobre todo por toda la dedicación que le ha brindado a la micología.

A toda la Sección de Micología del herbario por todo el apoyo, conocimiento y dedicación que aprendí a su lado: Rick, Violeta, Mundo, Felipe, Michael, Lilia, Lupita, Margarita y Alfonso.

A mis compañeros y amigos, Victor, Pablo, Daniel, Rodrigo, Carlitos, Kim, Suzzette, Elda, Poncho, Hanna, Beto, Virgilio, Jairo, Rudi, Elizabeth, Gerardo, Jenny, Jimena, Carlo, Gibrán, Pablito, Hector y Luz, por la amistad y confianza que me han brindado todos estos años.

A la Facultad de Ciencias, por todas las facilidades de estudio que me proporcionó durante mi periodo estudiantil, como prácticas de campo, uso de laboratorios y de bibliotecas, así como material didáctico necesario.

A PROBETEL por apoyarme en la realización de esta tesis.

A la UNAM, por enseñarme lo que es ser universitario, por sus ideales y porque me ha permitido desempeñarme como deportista bajo su nombre PUMAS.

A la DGAPA IN-206901

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	3
II. INTRODUCCIÓN.....	4
III. ANTECEDENTES.....	6
III.1. GRUPO DE ESTUDIO.....	6
III.1.1. Antecedentes históricos.....	7
III.1.2. Conocimiento tradicional en México de <i>Psilocybe</i> spp.....	7
III.1.3. Ubicación taxonómica.....	10
III.2. CULTIVO DE <i>Psilocybe</i> spp.....	10
III.2.1. Medios de cultivo.....	12
III.2.2. Condiciones adecuadas para el crecimiento micelial.....	12
III.2.2.1. Ciclos de luz y oscuridad.....	13
III.2.2.2. Temperatura.....	13
III.2.2.3. Humedad relativa.....	14
IV. OBJETIVOS.....	15
V. MATERIALES Y MÉTODO.....	16
V.1. Identificación de los ejemplares.....	16
V.2. Obtención de la cepa.....	16
V.3. Técnica de suelo.....	16
V.4. Técnica de grano (sorgo y trigo).....	17
V.5. Substrato de fructificación.....	17
V.6. Eficiencia biológica y Tasa de producción.....	17
VI. RESULTADOS.....	19
VI.1. Obtención e identificación de los especímenes.....	19
VI.2. Caracterización de las cepas.....	19
VI.3. Descripción de las especies estudiadas.....	22
VI.4. Inicio de la fructificación, tiempo de cosechas y ciclo de cultivo.....	34
VI.5. Tasa de producción, eficiencia biológica y número de cosecha.....	35
VI.6. Condiciones ambientales de incubación y fructificación.....	36
VII. DISCUSIÓN.....	39
VIII. CONCLUSIONES.....	41
IX. PERSPECTIVAS.....	43
X. LITERATURA CITADA.....	45

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

PÁGINA

TABLA I	34 (inicio. fructificación)
TABLA II	35 (tasa de producción)
TABLA III	36 (cond. ambient)
TABLA IV	37 (cond. ambient)
FIGURA 1	7 (gpo. de estudio)
FIGURA 2	20 (caract. de las cepas)
FIGURA 3	20 (caract. de las cepas)
FIGURA 4	21 (caract. de las cepas)
FIGURA 5	21 (caract. de las cepas)
FIGURA 6	27 (desc. de las sp)
FIGURA 7	28 (desc. de las sp)
FIGURA 8	29 (desc. de las sp)
FIGURA 9	29 (desc. de las sp)
FIGURA 10	30 (desc. de las sp)
FIGURA 11	30 (desc. de las sp)
FIGURA 12	31 (desc. de las sp)
FIGURA 13	32 (desc. de las sp)

I. RESUMEN

Con el fin de probar nuevas técnicas de cultivo y domesticación de especies de macromicetos, en el presente trabajo se analizaron diferentes aspectos de la biología de algunas especies mexicanas de hongos del género *Psilocybe*, como: temperaturas de crecimiento micelial y de fructificación (shock térmico); medios de cultivo sintéticos (EMA y PDA), substratos de inóculo (trigo y sorgo) y de fructificación (tierra negra y paja de trigo estéril).

Se obtuvieron ejemplares de 3 especies de este género: *Psilocybe cubensis* (Earl.) Sing, *Psilocybe sp. 1* y *Psilocybe sp. 2*, de tres estados de la república mexicana: Chiapas, Edo. de México y Morelos respectivamente debido a su fácil obtención y a la venta clandestina de basidiomas en estos sitios.

También en el trabajo se recalca la importancia que para el hombre tiene el cultivo de macromicetos tanto en la conservación de la biodiversidad y la restauración de ecosistemas, como en el aprovechamiento de recursos sustentables de fácil obtención y de gran importancia alimenticia.

II. INTRODUCCIÓN

Como ya ha sido mencionado por diversos autores (Rzedowski,1991; Toledo, 1988), México es uno de los países con mayor biodiversidad, dadas las condiciones de su ubicación en el mundo, principalmente, su posición geográfica en la convergencia de dos dominios biogeográficos: el Neártico y el Neotropical y debido a su compleja topografía, superando significativamente a países con mayor superficie territorial. Esta marcada heterogeneidad ambiental no sólo ha afectado significativamente a las comunidades biológicas, sino que también, ha influido en el desarrollo cultural de los diversos grupos sociales que integran nuestro país.

De esta forma gran parte de nuestra biodiversidad ha sido aprovechada ampliamente en forma de recursos por el hombre desde los tiempos prehispánicos hasta nuestros días. El conocimiento tradicional que se tiene acerca del uso de hongos y plantas en nuestro territorio es tan vasto que sólo puede ser medido simbólicamente, desde un punto de vista más personal y subjetivo. Sin embargo, esta enorme riqueza contrasta con los escasos planes destinados a la conservación de la biodiversidad y provoca que especies de hongos de importancia tradicional y actual desaparezcan sin la posibilidad de ser estudiadas y en consecuencia, se pierde la posibilidad de su utilización en nuestro país.

En el intento por conservar nuestros recursos fúngicos es indispensable conocer algunos aspectos de su biología que son necesarios para su reproducción como: ¿Cuáles son los factores ambientales que están involucrados en las diferentes etapas del ciclo de vida de las especies estudiadas?, ¿qué tipo de nutrimentos son necesarios para un desarrollo micelial adecuado? y ¿qué substratos nos permiten un desarrollo óptimo de la etapa de fructificación?.

Las diversas técnicas de cultivo que se han desarrollado permiten estudiar estos factores en el laboratorio de tal forma que se puedan reproducir algunas especies fúngicas según los objetivos buscados (Pollock, 1977 y Stamets & Chilton, 1983) Dependiendo de la técnica a seguir, los materiales y el método pueden variar, sin embargo, en la mayoría de las técnicas se utilizan los mismos materiales. Si utilizamos esporas es posible seguir dos caminos: 1) suspender las esporas en agua destilada estéril para poderlas inocular con una pipeta previamente esterilizada dentro de una caja Petri con medio de cultivo o 2) verter las esporas de una esporada en papel filtro estéril, dentro de un frasco de vidrio con composta o pastel de algún grano previamente cocido y esterilizado.

Por otro lado, si utilizamos micelio dicariótico, no es necesaria la inoculación de esporas, sino que, dicho micelio se puede reinocular directamente sobre la composta o pastel de grano. Si se desea aislar el tejido de esta forma, es necesario obtenerlo de la parte interna del hongo fresco (contexto) que se encuentra en condiciones estériles, y así eliminar la incidencia de algún contaminante. Una vez obtenida la cepa es necesario darle las condiciones ambientales y de nutrientes idóneas para que se desarrollen basidiomas y concluya la fase sexual de su ciclo de vida (Zenteno & Herrera, 1958; Pollock, 1977; Stamets & Chilton, 1983; Gottlieb, 1976).

III. ANTECEDENTES

III.1. GRUPO DE ESTUDIO

Las especies del género *Psilocybe* son sapróbias y no se conoce hasta ahora ninguna de ellas micorrizógena, parásita o simbiote (Guzmán, 1983). Los substratos donde se desarrollan son muy diversos, pueden crecer sobre el suelo, madera muerta, tallos de herbáceas, humus, estiércol y musgos. Este género de hongos tiene un amplio rango de distribución que abarca los bosques tropicales y subtropicales, bosques de coníferas (*Pinus* y *Abies*), y praderas de todos los continentes, principalmente Sudamérica, Norte América (Canadá, E.U.A. y México), Europa, Asia (Japón) y Australia (Guzmán, 1983).

En todos estos hábitats las condiciones de humedad relativa (80%-100%) temperatura (22-30°C), luz, substrato (arena, arcilla, humus, lodo, madera, musgos, estiércol, etc.), pH (4 a 8) y nutrientes (nitrógeno, celulosa, etc.) son las adecuadas para un óptimo desarrollo, tanto micelial, como de la etapa de reproducción sexual (fructificación). Las especies de este género presentan metabolitos secundarios producto de la degradación de aminoácidos triptamínicos que son de naturaleza psicotrópica.

La **psilocibina** (Figura 1) y la **psilocina** son los principales metabolitos producto de la degradación mencionada y se encuentran presentes en todas las estructuras del hongo (micelio y basidiomas). Son fácilmente detectables debido a que al oxidarse, estas estructuras se tiñen de azul-verdoso (Shultes & Hoffman, 1983). Otras especies presentan los alcaloides baeocistina y nor-baeocistina que también producen un efecto psicotrópico sobre los individuos que las consumen (Guzmán, 1983;1994).

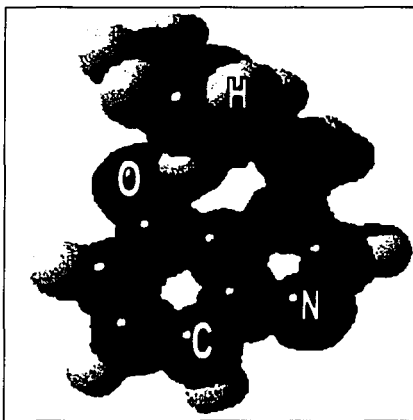


Figura 1. Estructura molecular de la psilocibina: 4-Fosforiloxi-N,N-dimetiltriptamina (tomado de Gottlib, 1976).

III.1.1. Antecedentes históricos

Los trabajos sobre hongos del género *Psilocybe* son tan variados que abarcan diferentes campos de las ciencias, tanto sociales como exactas. Así, encontramos los que tratan aspectos sobre el consumo y valor tradicional en diversas comunidades humanas a lo largo de la historia (Furst, 1980; Shultes & Hoffman, 1983; Mackena, 1992), los que hablan sobre la química y neurofisiología de sus alcaloides y los efectos de éstos en el sistema nervioso (Shultes & Hoffman, 1983), los que abordan temas de su ecología, distribución geográfica y clasificación taxonómica (Guzmán, 1983) y aquellos relativos al cultivo y domesticación *in vitro*, a los que este trabajo pretende contribuir (Zenteno & Herrera, 1958; Pollock, 1977; Duvoboy & Herrera, 1967; 1968a; 1968b; Ulloa, 1967; Stamets & Chilton, 1983).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

III.1. 2. Conocimiento tradicional en México

En México, el conocimiento tradicional que se tiene sobre los hongos de este género, lo conservan algunas comunidades de Chiapas, Oaxaca, Veracruz, Estado de México y Morelos, donde la vegetación y condiciones ambientales son las apropiadas para el desarrollo de distintas especies del género *Psilocybe*. Dentro de estos grupos sociales, el consumo de estos hongos está limitado a ceremonias curativas y adivinatorias, en las que, los pacientes y los chamanes interactúan entre sí para interpretar el efecto que los hongos producen. La dosis varía según el grado de motividad del individuo o fin que persigue. Generalmente se ingieren de 6 a 26 cuerpos fructíferos, entre grandes y pequeños pero siempre de una misma especie ya que si se mezclan pueden tener un efecto impredecible. Dosis mayores a 26 basidiomas pueden resultar peligrosas, ya que producirán trastornos mentales irreversibles e incluso se puede provocar la muerte (Badham, 1984; Guzmán, 1994).

Una vez ingerida la dosis de hongos por el paciente, el chamán lo guía por las diferentes etapas de la experiencia en busca de la causa de la enfermedad, así como las diversas cualidades adivinatorias que el paciente pretende conocer. En estas culturas los hongos han servido como un vínculo con los dioses, mediante ritos, cantos e ingesta de hongos, el chamán se comunica con el hongo para que le "transmita" el conocimiento de cómo tratar, curar o adivinar los problemas del paciente. Este conocimiento es meramente empírico y no se tienen pruebas científicas concretas de sus resultados, sin embargo, de alguna u otra forma ha permanecido en el bagaje cultural de nuestros pueblos indígenas gracias a su aplicación y sobre todo al respeto que se le tiene debido a que involucra plantas de uso mágico-religioso y adivinatorio (Furst, 1980; Badham, 1984; Mackena, 1992). Para comprender la temática actual sobre el uso tradicional de estos hongos, es necesario remitirnos a sus inicios.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fray Bernardino de Sahagún, en sus memorias, describió por primera vez los hongos alucinógenos como el sagrado **teonanácatl** que los aztecas consumían con miel. Francisco Hernández, en 1651, menciona tres tipos de hongos alucinógenos o intoxicantes reverenciados por los habitantes del México central durante la época de la conquista. Durante este período, los conquistadores trataron de eliminar el culto y el conocimiento tradicional que los pobladores indígenas tenían respecto del uso de esos hongos. En el siglo XVII, el culto por medio de los hongos desapareció sin dejar algún ejemplar biológico para ser identificado. Además durante la misma época el uso de los hongos alucinógenos se confundió con el peyote (*Lophophora* spp.). No obstante las descripciones de Sahagún (1555) y otros intelectuales de la época reiteraban la diferencia entre los hongos y el peyote. Esto permitió que se mantuviera la creencia del uso de hongos alucinógenos en las culturas indígenas de nuestro territorio (Furst, 1980).

En 1936 se encontraron hongos mágicos por primera vez en tierras mazatecas de Oaxaca. El primer encuentro relevante que tuvo un hombre no indígena con los hongos psicotrópicos fue en 1938 en Huautla de Jiménez, Oaxaca, donde Jean Basset Jhonson y su futura esposa Irmgard participaron en un rito de curación en el que ingirieron hongos. Shultes en 1939 publicó la primera descripción científica a partir de 3 tipos de hongos de la región mazateca de Huautla. En 1956, fueron identificadas estas 3 especies por Roger Heim (*Psilocybe caerulescens*), David Linder (*Panaeolus campanulatus*) y Rolf Singer (*Stropharia cubensis*) (Furst, 1980; Guzman, 1994).

III.1. 3. Ubicación taxonómica

Según Guzmán (1977), el género *Psilocybe* (Fr.) P. Kumm tiene la siguiente posición taxonómica:

REINO Fungi
PHYLUM Basidiomycota
CLASE Hymenomycetes
SUBCLASE
ORDEN Agaricales
FAMILIA Strophariaceae
GÉNERO *Psilocybe*

Según Kirk *et al.* (2001), este género presenta la siguiente posición taxonómica:

Fungi
Basidiomycota
Basidiomycetes
Agaricomycetidae
Agaricales
Strophariaceae
Psilocybe

III.2. CULTIVO DE *Psilocybe* spp.

El primer cultivo exitoso de hongos de este género lo realizaron los micólogos R. Heim y R. Cailleux en los 50's logrando obtener fructificaciones de algunas especies bajo condiciones estériles, en macetas con composta dentro de invernaderos. Los trabajos de Zenteno & Herrera (1958), Ulloa (1967), Duvoboy & Herrera (1967, 1968a y 1968b) abordaron aspectos acerca de los factores ambientales involucrados en el desarrollo micelial de *Psilocybe cubensis*, *P. mexicana* y *P. caerulescens*, así como cuestiones relacionadas con su fisiología, reproducción sexual y asexual. Actualmente los trabajos de Pollok (1977) y los de Stamets & Chilton (1983), abordan diversas técnicas enfocadas para el cultivo de este género de hongos. Estas técnicas se han desarrollado con base en las utilizadas para producir hongos comestibles a gran escala y siguen aportando resultados significativos en la industria alimenticia así como en la micología y biotecnología.

Una vez obtenida la cepa del hongo, es muy importante escoger el sustrato donde queremos cultivarlos ya que las condiciones *in vitro*, no son las mismas que en el ambiente natural. Así, podemos tener medios de cultivo sintético como: PDA (papa-dextrosa-agar), PDY (papa-dextrosa levadura) y EMA (agar con extracto de malta) donde el micelio del hongo y el tejido dicarionte pueden crecer con gran facilidad (Pollock, 1997; Gottlib, 1976). Por otro lado, existen sustratos naturales como: compostas (estiércol de caballo, agua destilada y vermiculita), pasteles con granos (arroz, trigo, sorgo, centeno y semillas de diversas plantas) sobre los que, las esporas, el micelio del hongo y el tejido pueden crecer adecuadamente, siguiendo con detenimiento los pasos para mantener un crecimiento continuo y saludable (sin contaminantes).

Otro factor básico e indispensable en el cultivo y fructificación de hongos comestibles es la esterilización. Es importante esterilizar todos los materiales necesarios antes de la inoculación: contenedores con medio de cultivo, herramientas especiales y por supuesto cerciorarse de que las esporas, micelio o tejido también se encuentren fuera de algún tipo de contaminante. Con estas medidas de precaución se evita que nuestros hongos se contaminen con bacterias y otros hongos y alteren su desarrollo (Pollock, 1977).

Para la esterilización de los materiales se pueden utilizar diferentes objetos, ya sea un autoclave, olla de presión o un horno convencional. Se recomienda utilizar el autoclave porque está hecho especialmente para esterilizar el material relacionado con el trabajo de organismos, sus dimensiones permiten esterilizar grandes cantidades. La olla de presión es un utensilio alternativo que funciona igual que el autoclave, sin embargo, por su tamaño no puede contener grandes cantidades de material a esterilizar. El horno de microondas puede funcionar satisfactoriamente, la bibliografía lo menciona poco, pero es una solución alternativa para quienes no cuentan con las anteriormente citadas. Por otro

lado, un horno convencional también sirve para los mismos propósitos, sólo hay que cuidar que no se quemé el material (Puerto, 1996).

III.2.1. Medios de cultivo

Los medios de cultivo se pueden dividir en dos: sintéticos y naturales. Los medios de cultivo sintéticos están hechos con base en agar, carbohidratos como sacarosa, dextrosa, fructosa o glucosa y papa, malta o levaduras como fuente de proteínas. Estos medios están diseñados para reproducir las primeras etapas de crecimiento de muchas especies de hongos sin muchos problemas y así obtener lo que llamamos **cepa**. Los medios de cultivo naturales están hechos con base en materia orgánica de origen vegetal. Por un lado tenemos las compostas, substratos que se producen mediante la acción de factores físico-biológicos como la temperatura, el agua y la acción de otros hongos. El efecto de la temperatura, el agua y la luz son importantes en este proceso ya que promueven el desarrollo de hongos descomponedores para elaborar las compostas. También podemos encontrar los medios de cultivo naturales no composteados. Estos medios utilizan desechos agroindustriales en forma de paja de diversos granos y cereales (trigo, sorgo, cebada y maíz). A diferencia de las compostas, estos medios no necesitan ser descompuestos por microorganismos o alguna otra técnica. Simplemente son humedecidos y esterilizados para servir como un buen medio de cultivo (Stamets & Chilton, 1983; Pollok, 1977).

III.2. 2. Condiciones adecuadas para el crecimiento micelial

Las condiciones de crecimiento micelial son, en ciertos aspectos, particulares para cada especie. Es necesario conocer estas condiciones para poder reproducir las diversas etapas de una forma adecuada. El micelio del hongo es la etapa más abundante de su ciclo y se extiende por el substrato sin ser visto. A su paso, el micelio degrada la materia orgánica e integra en sus células los compuestos nutritivos necesarios para su crecimiento al igual que interacciona con micelios de la misma especie mediante sistemas de reconocimiento moleculares específicos

de cada especie (Ingold, 1993; Tenning & Lyzek, 1996; Chiu & Morre, 1999; Kues, & Liu, 2000).

III.2.2.1. Ciclos de luz y oscuridad

En esta etapa del desarrollo el estímulo luminoso no es del todo necesario, sin embargo la ausencia de luz ayuda a promover el crecimiento micelial adecuadamente. Las longitudes de onda como el rojo, son interpretadas por el hongo como oscuridad y nos sirven para evaluar el crecimiento y desarrollo del hongo en ausencia de luz. Por otro lado, las longitudes de onda como el azul son reconocidas por el hongo como luz blanca natural. De esta forma, se puede conocer el desarrollo del hongo en diferentes condiciones luminosas y establecer ciertos parámetros de luz que puedan o no mejorar el desarrollo de los hongos (Tenning & Lyzek, 1996; Chiu & Morre, 1999; Kues & Liu, 2000).

III.2.2.2. Temperatura

Una vez realizados los aislamientos a partir de esporas o tejido dicarionte, las cajas de Petri o los tubos de ensaye con la cepa se incuban entre 25 y 30° C, por un mes hasta que el medio de cultivo ha sido invadido completamente por el micelio del hongo. Estas temperaturas permiten un desarrollo óptimo y acelerado del micelio con respecto a temperaturas más bajas. Para la etapa del substrato de inóculo, la temperaturas oscilan entre los 20 y 25° C. En esta etapa, el hongo se acostumbra a temperaturas más bajas y a substratos ricos en carbohidratos, proteínas y fuentes de nitrógeno. La temperatura en la etapa de fructificación es muy importante. Luego de que el micelio logra invadir después un mes todo el substrato a 25-28° C, es necesario un cambio drástico de temperatura llamado **shock térmico**. Este shock consiste en descender la temperatura de incubación del micelio para inducir la formación de basidiomas (Tenning & Lyzek, 1996; Chiu & Morre, 1999; Kues & Liu, 2000).

III.2.2.3. Humedad relativa

Una vez iniciada la etapa de fructificación, es muy importante mantener la humedad del substrato constante. Esto se ha logrado mediante el riego periódico de los pasteles de paja con grandes cantidades de agua corriente. Con esto se asegura que la humedad del substrato esté entre el 80 y 90%, valores necesarios para mantener la etapa de fructificación constante. Si el período de riego es excesivo, se afectara notoriamente la eficiencia del substrato y, por lo tanto, el desarrollo micelial y la producción de basidiomas maduros (Tenning & Lyzek, 1996; Acosta-Urdapilleta, 2000; Kues & Liu, 2000).

IV. OBJETIVOS

- Identificar el material obtenido siguiendo la clave propuesta por Guzmán (1983).
- Reproducir la fase sexual del ciclo de vida de algunas especies de hongos del género *Psilocybe in vitro* utilizando diversas técnicas de uso común en la producción de hongos comestibles.
- Ampliar el conocimiento que se tiene acerca de la biología del género *Psilocybe* y analizar diferentes factores que influyen en el desarrollo de algunas especies.
- Recalcar la importancia del cultivo de macromicetos comestibles y medicinales como una actividad encaminada al aprovechamiento biotecnológico de los recursos fúngicos y su conservación.

V. MATERIALES Y MÉTODO

V.1. Identificación del material colectado

Los ejemplares de *Psilocybe* spp. colectados fueron identificados según la clave taxonómica propuesta por Guzmán (1983).

V.2. Obtención de cepa

Las diferentes cepas se obtuvieron en cajas Petri con medio PDA y EMA a partir de cultivos multiespóricos y aislamientos de tejido vegetativo de los diferentes ejemplares. Los cultivos multiespóricos se obtuvieron a partir de las láminas del basidioma. Las láminas se sumergieron en agua destilada estéril para suspender las esporas, se tomaron alícuotas de la suspensión con las esporas y se inocularon en cajas Petri con el medio, con una pipeta de 1ml. Las cajas se incubaron a 25° C por 15-30 días en una cámara de temperatura controlada. Los aislamientos de tejido vegetativo se obtuvieron cortando el contexto del píleo e inoculándolo en cajas Petri con medio. Las cajas también se incubaron a 25° C por 15-30 días siguiendo las técnicas de Pollok (1977) y Chilton & Stamets (1983).

V.3. Técnica de suelo

Se recolectó tierra negra de bosque con restos vegetales para hacer las inoculaciones. La tierra negra se esterilizó en frascos de 250 ml con 100 g de tierra en autoclave a 20 lb por 3 horas. Los frascos con tierra negra permanecieron un período de 3 días bajo observación en busca de contaminación como mohos y bacterias. Los frascos contaminados se desecharon. Se inocularon pequeños cubos de agar con el micelio de *P. cubensis* en cada frasco, en una campana de flujo laminar y se incubaron a 25° C por 20 días en una cámara de temperatura controlada siguiendo las técnicas de Pollock (1977) y Chilton & Stamets (1983).

V.4. Técnica de grano (sorgo y trigo)

Para la realización de esta técnica, los granos de sorgo y de trigo fueron precocidos hasta un grado en el que al partirlos, en un eje longitudinal, se conservara una línea no hidratada en su interior. Posteriormente, la mitad de los granos de trigo y sorgo se mezclaron con 3.25 g de yeso y 3.25 g de cal como nutrientes. A la otra mitad de los granos de sorgo y trigo no se le agregó nada. Se repartieron, en frascos de vidrio de 500 g con rosca, 250 g de los granos tratados y sin tratar. Se esterilizaron los frascos en autoclave por 2 horas a 20 lb. Tres días después de haber sido monitoreados y de retirar los frascos contaminados, se inocularon con el micelio de *P. cubensis* y se incubaron a una temperatura de 25-30° C por un mes siguiendo las técnicas propuestas por Pollok (1977) Chilton & Stamets (1983).

V.5. Substrato de fructificación (paja de trigo)

8 kg de paja de trigo seca fueron cortados en pequeños trozos de 7 cm de longitud aproximadamente. Una vez cortada la paja, se humedeció en agua caliente por 1 hora para ser hidratada. La paja hidratada se drenó para eliminar el exceso de agua y se introdujo en 10 bolsas de polipapel con filtro con capacidad de 1 kg (4 bolsas con 1200 g, 3 bolsas con 850 g y 3 bolsas con 500 g) Las 10 bolsas con paja fueron esterilizadas por 2 horas y media a 20 lb para asegurar la ausencia de contaminación. Después de una semana de espera, las 3 bolsas de 500 g se contaminaron con *Trichoderma* spp. y tuvieron que ser desechadas. Las 7 bolsas restantes se inocularon con 250 g del grano de inóculo (sorgo y trigo) en una campana de flujo laminar y se incubaron por un mes a 28-30° C.

V.6. Eficiencia biológica y tasa de producción

La eficiencia biológica (EB), (Tschierpe y Hartmann, 1977) y la tasa de producción (TP) (Royse, 1989) se obtuvieron a partir de las siguientes fórmulas:

EB = $\frac{\text{Peso fresco de los cuerpos fructíferos obtenidos} \times 100}{\text{Peso seco del sustrato empleado al momento de la inoculación}}$

TP = $\frac{\text{Eficiencia Biológica}}{\text{Ciclo de Cultivo (días) = colonización + fructificación}}$

VI. RESULTADOS

VI.1. Obtención e Identificación de los especímenes

Para este trabajo se obtuvieron ejemplares de *Psilocybe* spp. provenientes de tres estados de la república mexicana. Siguiendo la clasificación propuesta por Guzmán (1983) se procedió a identificar estos ejemplares. Sin embargo, debido a que parte del material colectado se encontraba en mal estado sólo se pudo obtener datos de una de las tres especies, *P. cubensis* (Earl.) Sing, de Palenque, Chiapas. Se piensa que los ejemplares de las otras dos especies estudiadas corresponden a *P. aff. muliercula* Sing. & Smith, de San Pedro Tlanixco, Edo de México y *P. aff. angustipleurocystidiata* Guzmán, de Huecahuasco, Morelos respectivamente (ver discusión de las especies).

VI.2. Caracterización de las cepas

Se obtuvieron las 3 cepas distintas de especies del género *Psilocybe*, las cuales crecieron adecuadamente en medio PDA, presentando un desarrollo acelerado y vigoroso como en *P. cubensis* (Figura 2). El micelio de *P. cubensis* blancuzco y algodónoso, se extendió totalmente por la caja Petri en un mes, presentando coloraciones azul-verdosas en ciertas zonas específicas. El micelio presentó fíbulas abundantes (Figura 3), lo cual nos indica la presencia del estado dicariótico. Las 3 cepas obtenidas, *Psilocybe cubensis*, *P. sp 1* y *P. sp 2* se desarrollaron mejor en el medio PDA que en EMA. Sólo *P. cubensis* se inoculó en granos de trigo y sorgo, desarrollándose por igual en los dos substratos (Figura 4). La tierra negra con restos vegetales sirvió como substrato de fructificación, sin embargo los resultados no fueron los esperados, ya que sólo se obtuvieron pequeños basidiomas inmaduros que se contaminaron rápidamente impidiendo su desarrollo (Figura 5).

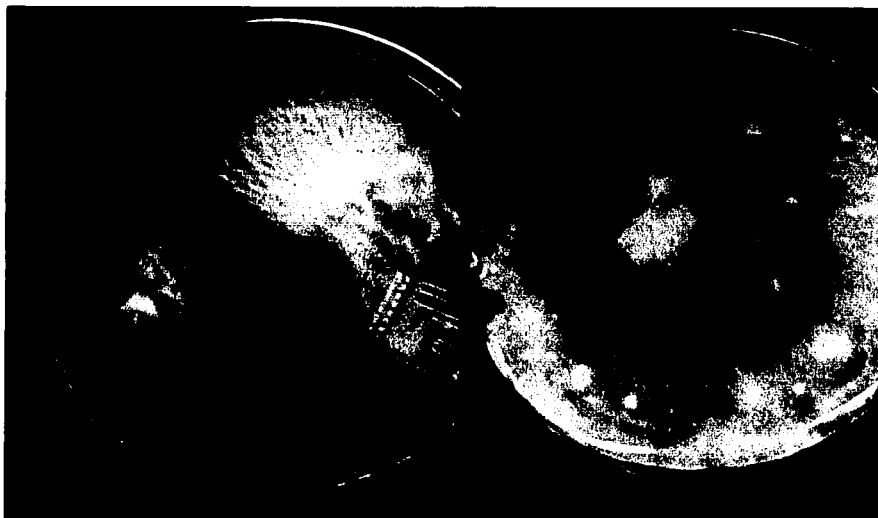


Figura 2. *P. cubensis*. Cepa obtenida a partir de cultivos multispóricos

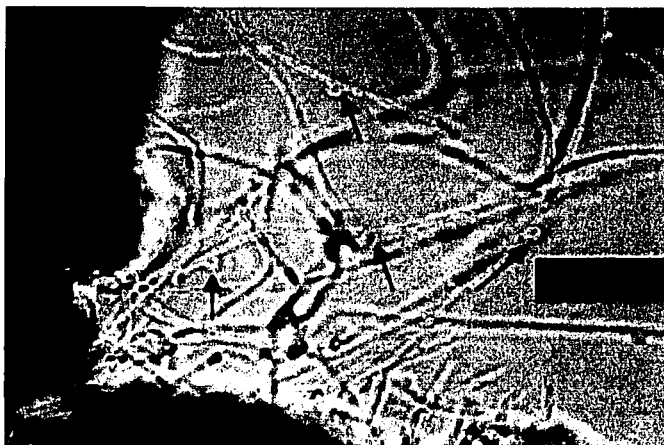


Figura 3. Fotomicrografía de hifas fibuladas de *P. cubensis*
(→)

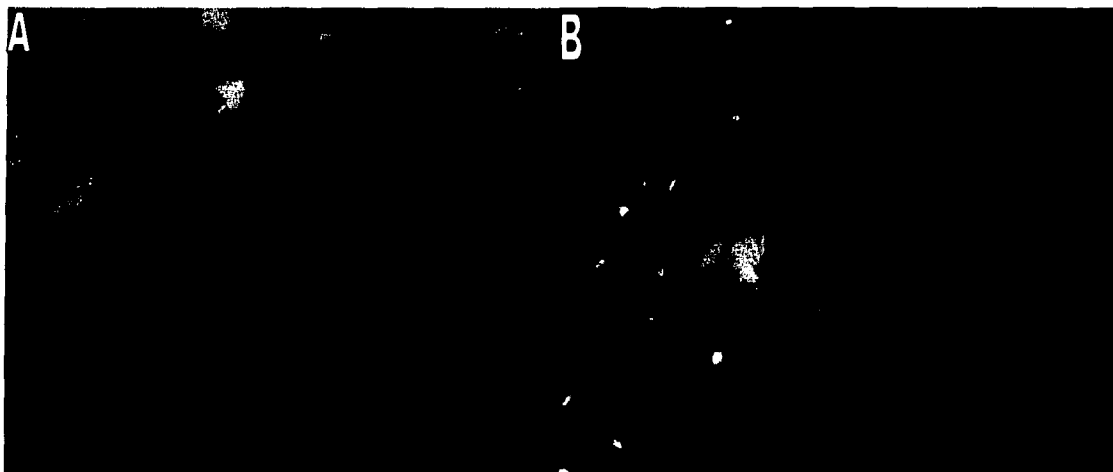


Figura 4. *P. cubensis*. Substratos de inóculo. A) Trigo con yeso y B) Sorgo sin yeso y sin cal.

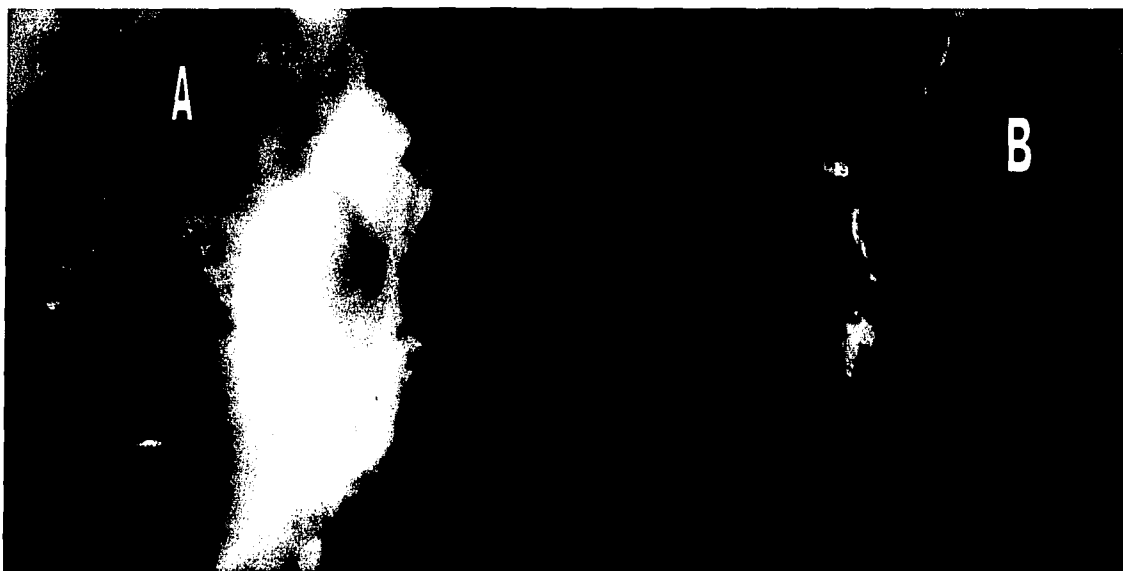


Figura 5. *P. cubensis*. Tierra negra con restos vegetales. A) primordio y B) basidioma inmaduro (→).

VI.3. Descripción de las especies estudiadas

Mediante el uso del microscopio óptico se pudo reconocer algunas de las características microscópicas de los ejemplares. Las características macroscópicas se obtuvieron a partir de los ejemplares cultivados.

Psilocybe cubensis (Earl.) Sing. *Sydowia* **2**:37, 1948.

Figs. 1-9, 13.

= *Stropharia cubensis* Earl. *St. Agron. Cuba.* **1**:240, 1906.

= *Naematoloma caerulescens* Pat. *Bull. Soc. Myc. Fr.* **23**: 78, 1907.

= *Stropharia caerulescens* (Pat.) Sing. *Ann. Mycol.* **34**: 340, 1936.

= *Hypholoma caerulescens* (Pat.) Sacc & Trott *Syll. Fung.* **21**: 212, 1912.

= *P. cubensis* var. *caerulescens* (Pat.) Sing. & Smith *Mycologia* **50**:269, 1958

= *Stropharia subcyanescens* Rick *Broteria* **24**: 114, 1930.

= *Stropharia cyanescens* Murr. *Mycologia* **33**: 279, 1941.

= *P. cubensis* var. *cyanescens* (Murr.) Sing. & Smith *Mycologia* **50**: 269, 1958.

Pileo de 25-50 mm, de forma cónica cuando joven a convexo al madurar, el margen es recto, de superficie lisa y de color rubio dorado (Methuen 4C4) cerca del margen y café oliva en el centro (4D7). Presenta escamas adheridas. El contexto es de 50 mm, de color blanco y que cambia hacia el margen a verde azulado (25B7) al cortarse, de consistencia carnosa porosa, presenta olor *sui generis* y sabor farináceo.

Láminas subadheridas con borde liso y de forma ancha, muy juntas y de sabor ácido farinoso, de color rubio dorado rojizo a rubio oscuro (5C-D4).

Estípites cilíndricos ensanchándose hacia la base, de superficie estriada y de color que varía de blanco a blanco amarillento (2A2) y cambia a verde azulado (25B7) al maltratarse.

Anillo colgante a 2/3 partes hacia el ápice de color blanco en ambos lados, el contexto es de color blanco a blanco amarillento (2A2), de olor *sui generis*, sabor farináceo y de consistencia carnosas fibrosa.

Esporada de color púrpura oscuro (14F4-5).

Esporas (12-)13-15 x (-8)9-10 μm , elipsoides con un apéndice hilar poco visible y con un poro apical bien definido, de pared gruesa, inamilodes y de color café oscuro.

Basidios 25-30 x 8-11 μm cilíndricos, hialinos, ensanchados hacia la base, con 4 esterigmas

Pleurocistidios (21.5-)23-25(-26) x (9-)10-15(-12) μm globosos a ventricosos, hialinos.

Queilocistidios 20-23(-25) μm de largo x (5.5-)6.5-7(-9) μm de ancho en la base y 3-4 μm en el ancho del cuello.

Hábitat. Esta especie fue cultivada sobre paja de trigo estéril en el módulo experimental de crecimiento. La cepa fue obtenida del aislamiento multiesporico de un ejemplar de Palenque, Chis.

Material estudiado: MÉXICO, Morelos (CINBIO, UAEM), *Valencia y Sierra 1001*, 28-30 de mayo de 2002. **FCME 19427**.

Discusión. Con base en las características macro y microscópicas se llegó a determinar que esta especie pertenece a *Psilocybe cubensis*, siguiendo la clave de Guzmán (1983). Sin embargo, este mismo autor realiza la separación de *P. cubensis* y *P. subcubensis*, ambos pertenecientes a la Secc. Cubensae,

basándose solamente en el tamaño de las esporas así como en el tipo de vegetación (bosque tropical y subtropical) en donde se desarrollan estas especies. Por otro lado, Guzmán (1983) también plantea que la especie que se desarrolla en Palenque corresponde a *Psilocybe subcubensis* Guzmán debido a características microscópicas como el tamaño de las esporas. Nuestra descripción se asemeja más a la de *P. cubensis* por el tamaño de las esporas, sin embargo, es necesario solicitar la opinión del especialista en este grupo.

***Psilocybe* sp. 1**

Fig. 10

Todos los datos son tomados en seco debido a que los ejemplares obtenidos se encontraban deteriorados (maltratados y con tonalidades azul-verdosas).

Píleo hasta 20 mm de diámetro, campanulado, color café grisáceo (Methuen 4F1). Láminas juntas, anchas, de color negro.

Estípite hasta 40 mm x 5 mm, cilíndrico ensanchándose hacia la base, color café grisáceo (5F3).

Contexto color violeta oscuro (18F4).

Esporas (7-)8-10x(4.5-)5-6(-7) μm oblongas, pared gruesa, inamiloides, color café oscuro.

Hábitat. Bosque de Pino-Abeto, terrícola

Material estudiado: MÉXICO, Edo. de Mex., San Pedro Tlanixco. *Valencia* 2 de diciembre de 2002.

Discusión. Debido a las condiciones de deterioro del material estudiado, no se pudo describir adecuadamente los ejemplares. Sin embargo con base en los datos de distribución geográfica propuestos por Guzmán (1983 y 1994) podemos suponer que los ejemplares pertenecen a *P. muliercula* Sing. & Smith. Sin embargo, es necesaria la recolección de nuevos ejemplares durante la época de lluvias para poder tener una descripción macroscópica completa, además de que es importante solicitar nuevamente la opinión del experto en este grupo.

Psilocybe sp. 2.

Figs. 11 y 12

Todos los datos son tomados en seco debido a que los ejemplares obtenidos se encontraban deteriorados (maltratados y con tonalidades azul-verdosas).

Píleo hasta de 3 mm, cónico a campanulado, color café grisáceo (Methuen 7F3).

Láminas de color negro.

Estípites hasta de 15 x 1 mm, cilíndrico, color blanco amarillento (4F2), creciendo varios carpóforos a partir de un esclerocio.

Esporas (5-)6-8x4-5.5(-6) μm , elipsoides, de pared gruesa, inamiloides y de color café oscuro.

Hábitat. Bosque mesófilo de montaña, húmico.

Material estudiado: MÉXICO, Morelos, Municipio de Tetela del Volcan, Huecahuasco, *Valencia* 28 de julio de 2001.

Discusión. Debido al estado de deterioro del material estudiado no se pudo caracterizar y describir de manera adecuada los ejemplares. Sin embargo, con

base en los datos de distribución geográfica propuesta por Guzmán (1983 y 1994) podemos suponer que los ejemplares pertenecen a *P. angustipleurocystidiata* Guzmán. Sin embargo, es necesaria la recolección de nuevos ejemplares durante la época de lluvias para poder tener una descripción macroscópica completa, además de que es importante solicitar nuevamente el punto de vista del experto en este grupo.

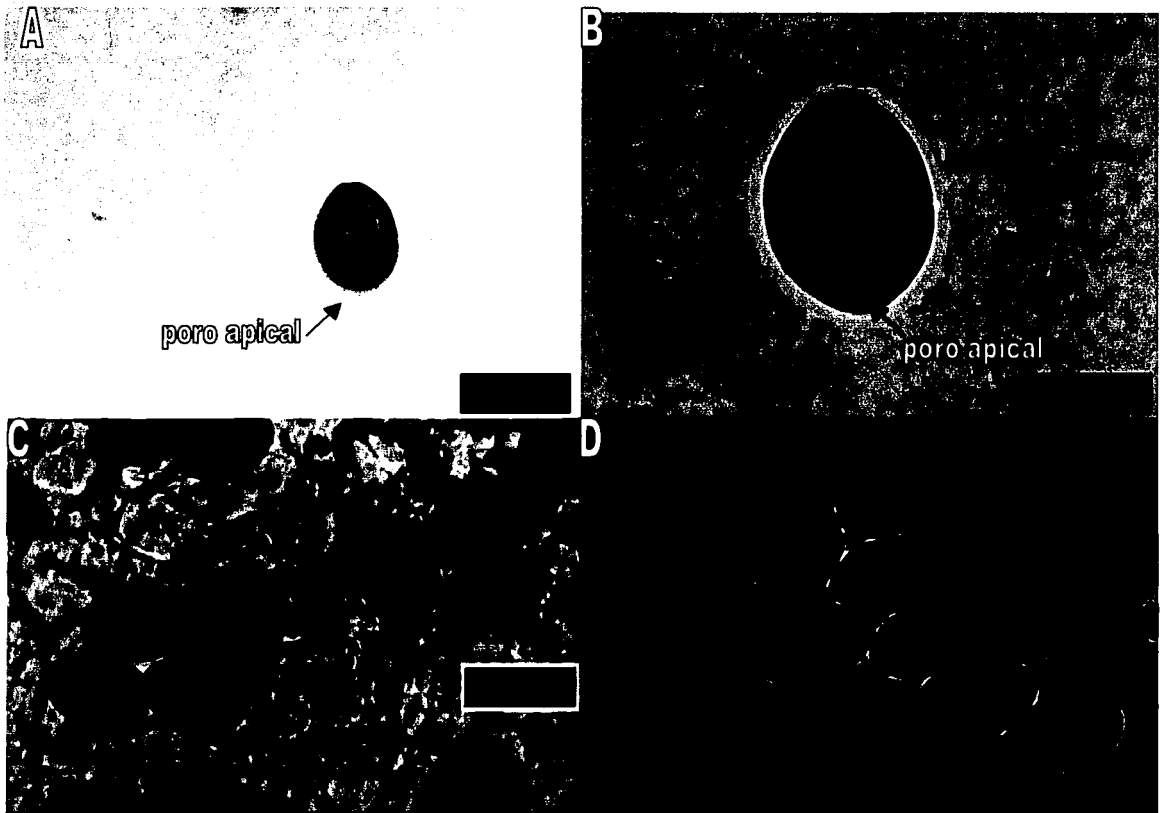


Figura 6. *Psilocybe cubensis*. Fotomicrografía de esporas. A) KOH, B) KOH, C) Meltzer y D) KOH. Se destaca la presencia de un poro apical (→).

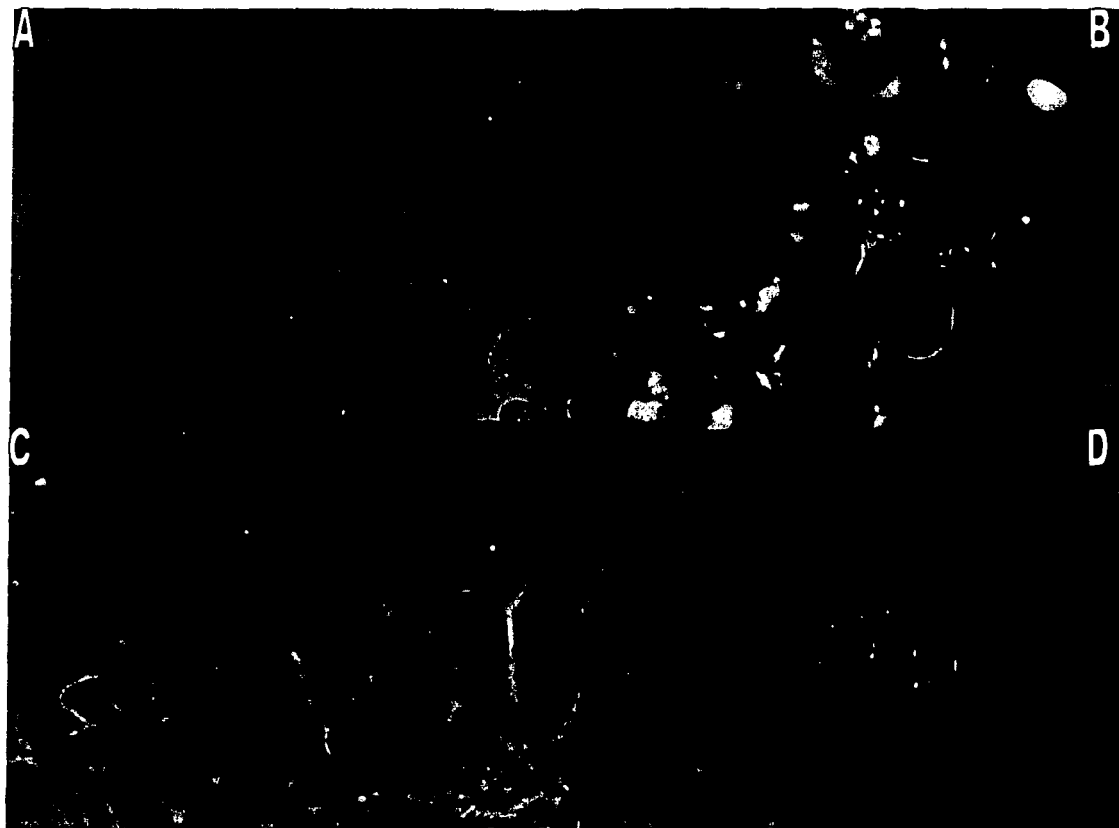


Figura 7. *P. cubensis*. Fotomicrografías de homobasidios hialinos. A) KOH, B) KOH, C) Meltzer y D) Meltzer. (→)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 8. *P. cubensis*. Fotomicrografía de queilocistidios hialinos KOH.

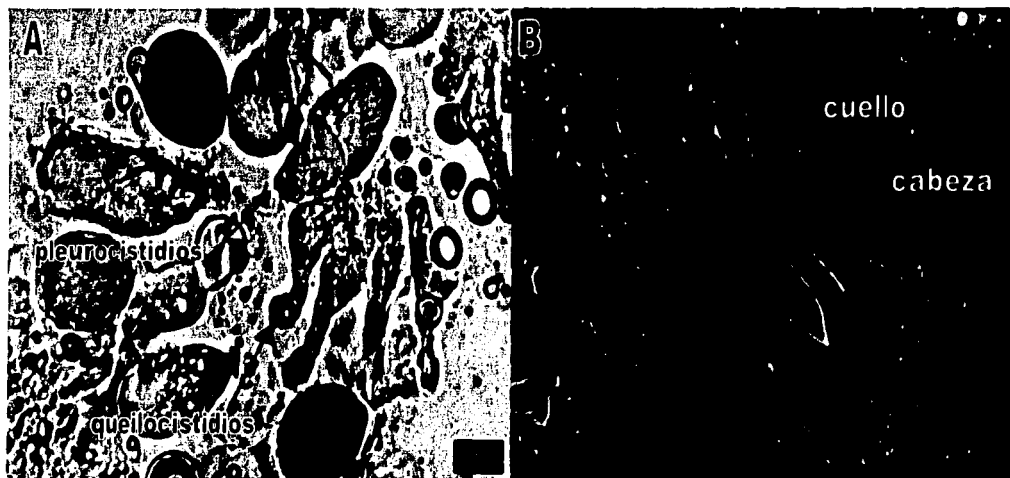


Figura 9. *P. cubensis*. Fotomicrografía de queilocistidios y pleurocistidios hialinos A) queilocistidios y pleurocistidios, KOH y B) queilocistidios, KOH.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

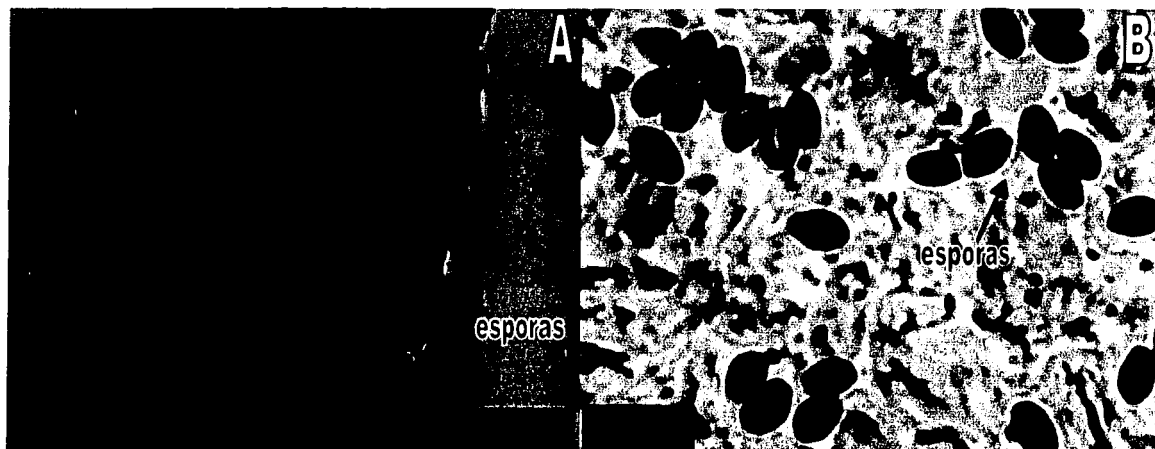


Figura 10. *Psilocybe sp. 1.* Fotomicrografía de esporas. A) KOH y B) Meltzer

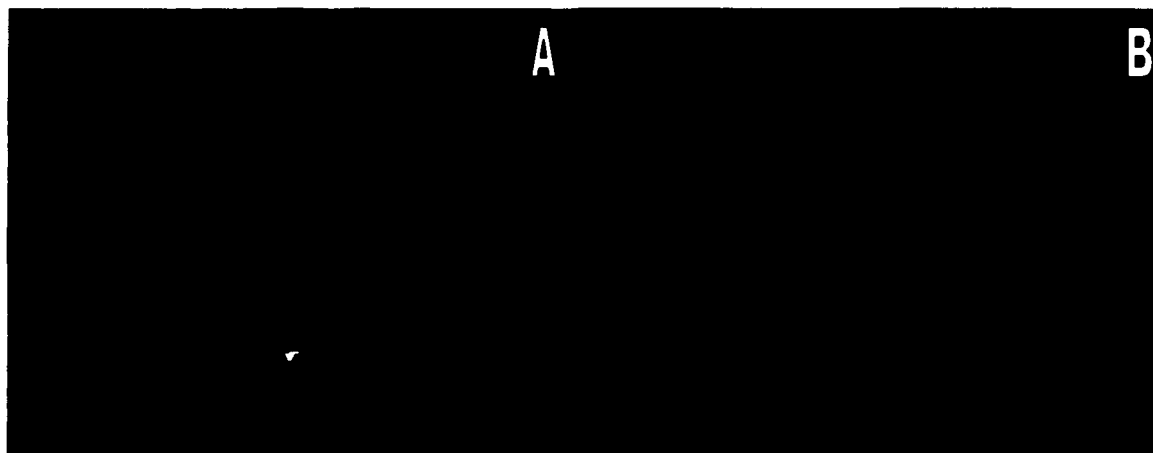


Figura 11. *Psilocybe sp. 2.* Fotomicrografía de esporas. A) KOH y B) KOH.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 12. *Psilocybe* sp. 2. Fotomicrografía de basidio, KOH.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

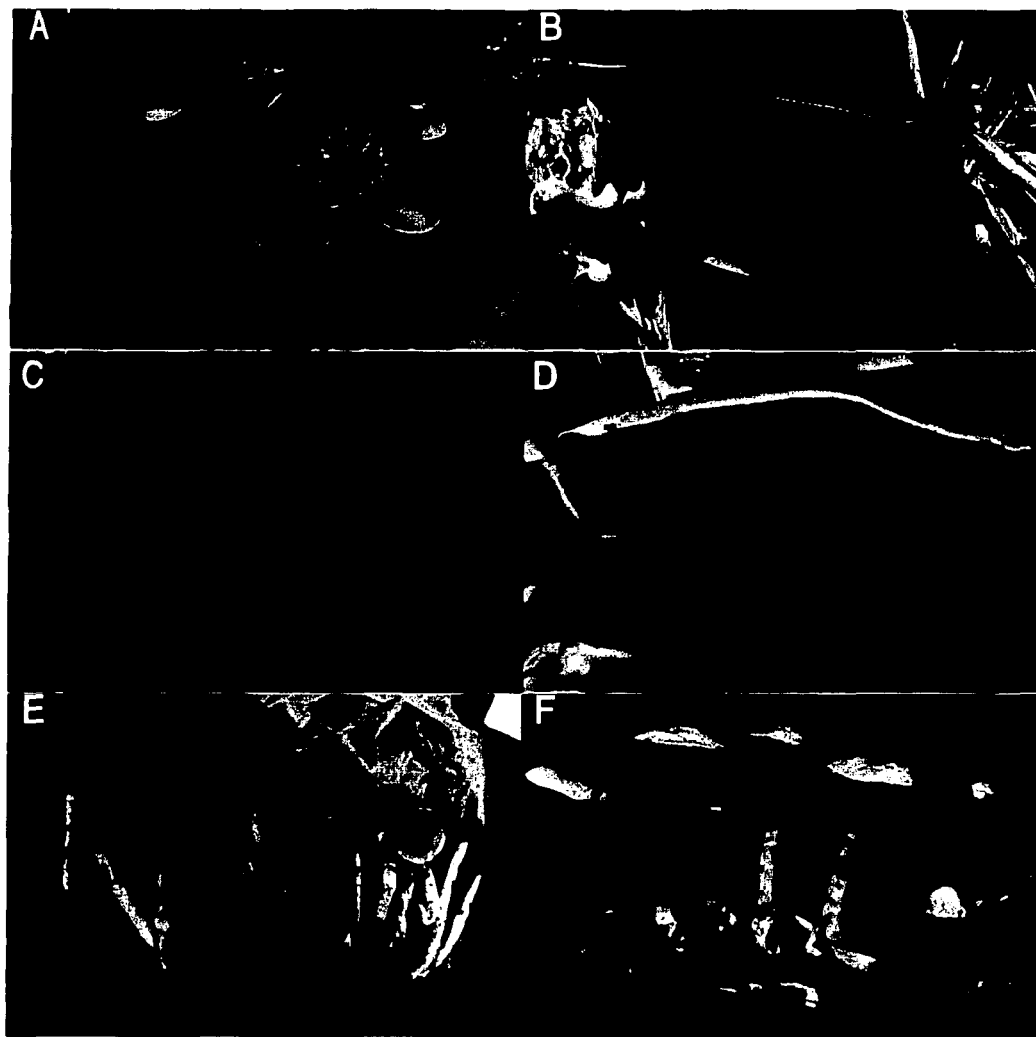


Figura 13. *P. cubensis*. A) Basidiomas en el substrato, B) Primordios y basidiomas maduros, C) Distribución de los basidiomas en el substrato, D) Himenóforo laminar, E) Basidiomas cosechados y F) Basidiomas cosechados.

Ficha 1. Características macroscópicas necesarias para la identificación de los ejemplares (tomada de Cifuentes *et al.*, 1986).

Nombre científico: <i>Psilocybe cubensis</i> (Earl). Singer	
Col. Valencia y Sierra	Núm. 1001
Loc. Cultivo en paja de trigo estéril	
Fecha: 28 y 30 de mayo del 2002 Vegetación: -----	
PÍLEO: Tamaño 5 cm ----2.5cm Forma: cónica cuando joven a convexo al madurar	
Color: Methuen 4C 4 cerca del margen y 4D 7 en el centro	
Superficie: Lisa	
Margen: Recto	
Ornamentación: Con escamas adheridas al píleo	
Color ornamentación: -----	
LÁMINAS: Unión: subadheridas	
Color Methuen 5C-D4	
Borde: Liso	
Forma: ancha	
OTRAS -----	
ESTÍPITE: Tamaño 11cm--6.5cm x 1-- 3mm	
Forma: estriado	
Color: Blanco a Methuen 2 A 2 y cambia a Methuen 25 B 7	
OTRAS -----	
ANILLO: Forma. Anillo colgante	
Localización: 2/3 partes hacia el ápice	
Color de ambos lados: Blanco en ambos lados	
CONTEXTO, ESTÍPITE: Color: Blanco a Methuen 2 A 2	
Sabor: a rábano	
Olor: <i>sui géneris</i>	
SUBSTRATO: paja de trigo	
Esporada: Methuen 14 F4-5	
ASOCIACIÓN: -----	
No. FOTO: Sierra D2002-34	
OTRAS ninguna	
REACCIONES QUÍMICAS:	
En epicutis y contexto:	
KOH 5% ninguna	Tiempo :
En láminas:	
FeSO4 ninguna	Tiempo:

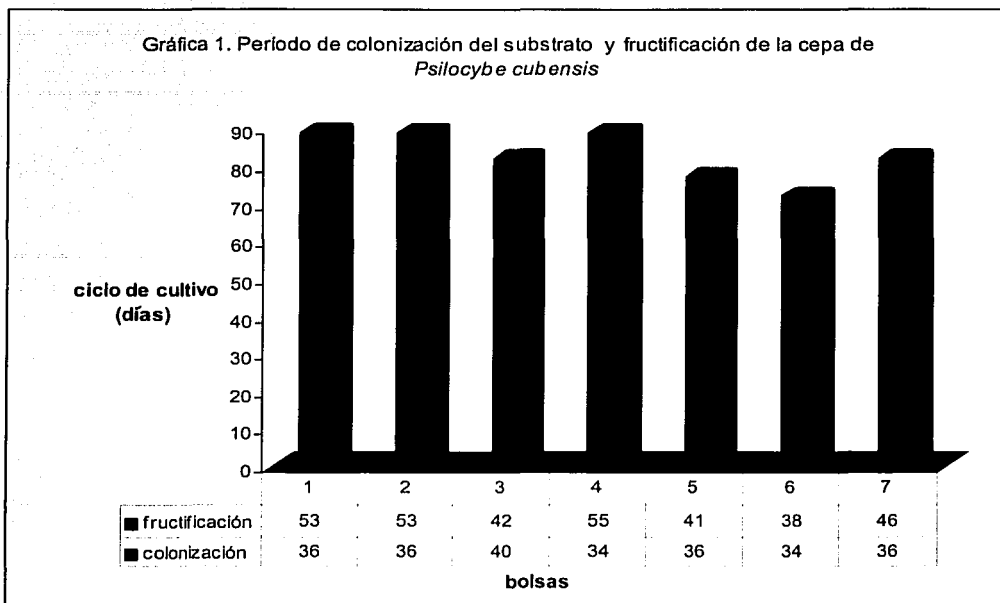
VI.4. Inicio de la fructificación, tiempo de cosecha y ciclo de cultivo (*P. cubensis*).

La metodología para la obtención de basidiomas solamente se empleó en *P. cubensis*. El período de incubación (I) de las bolsas de 1200 g varió de 34 a 40 días, mientras que para las bolsas de 850 g fue de 34 a 36 días. El período de fructificación (F) para las bolsas de 1200 g varió de 6 semanas a 7 semanas 4 días, mientras que para las bolsas de 850 g varió de 5 semanas 3 días a 6 semanas 4 días. El ciclo de cultivo (I + F) para las bolsas de 1200 g varió de 82 a 89 días, mientras que para las bolsas de 850 g varió de 72 a 82 días. El período de incubación medio fue de 36 días, el período de fructificación medio fue de 6 semanas 5 días y el ciclo de cultivo medio fue de 83 días (Tabla 1). En la gráfica 1 se puede apreciar el período de incubación y fructificación que presentaron las diferentes bolsas en el módulo experimental de producción.

Tabla 1. Inicio de la fructificación, tiempo de cosecha y ciclo de cultivo

Peso substrato (g)	# de bolsa	1 cosecha (días)	Tiempo de fructificación (semanas/ días)	Ciclo de cultivo (I+F) en días
1200	1	36	7/4	89
1200	2	36	7/4	89
1200	3	40	6	82
1200	4	34	7/6	89
850	5	36	5/6	77
850	6	34	5/3	72
850	7	36	6/4	82
Media	X	36	6/5	83

I = período de incubación, F = período de fructificación



VI.5. Tasa de producción, eficiencia biológica y número de cosechas (*P. cubensis*).

La media de la eficiencia biológica para las bolsas de 1200 g fue de un 37.03 % y para las bolsas de 850 g fue de 38.55 %, lo que nos indica que no hay una diferencia notable entre la cantidad de sustrato que se inocula por la cantidad de basidiomas que se obtienen en cada bolsa. La tasa de producción media para las bolsas de 1200 g fue de 0.42 y para las bolsas de 850 g fue de 0.49 indicándonos que tampoco existe una diferencia notable entre los tratamientos (Tabla 2).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 2. Número de cosechas, eficiencia biológica y tasa de producción de *Psilocybe cubensis*.

Peso substrato	# de Bolsa	Cosecha					Total (gr)	EB (%)	TP
		1(g)	2(g)	3(g)	4(g)	5(g)			
1200	1	110.36	217.0	115.5	21.5	10.0	474.36	39.53	0.44
1200	2	154.0	182.2	84.0	29.5	-----	449.7	37.47	0.42
1200	3	224.3	54.0	163.6	112.5	26.5	580.8	48.4	0.59
1200	4	12.1	43.0	117.8	60.0	40.0	272.9	22.74	0.25
850	5	186.95	222.0	38.0	85.0	-----	531.95	62.58	0.81
850	6	30.0	60.5	71.3	55.5	-----	207.3	24.38	0.33
850	7	66.75	60.5	15.0	67.2	34.5	243.95	28.7	0.35

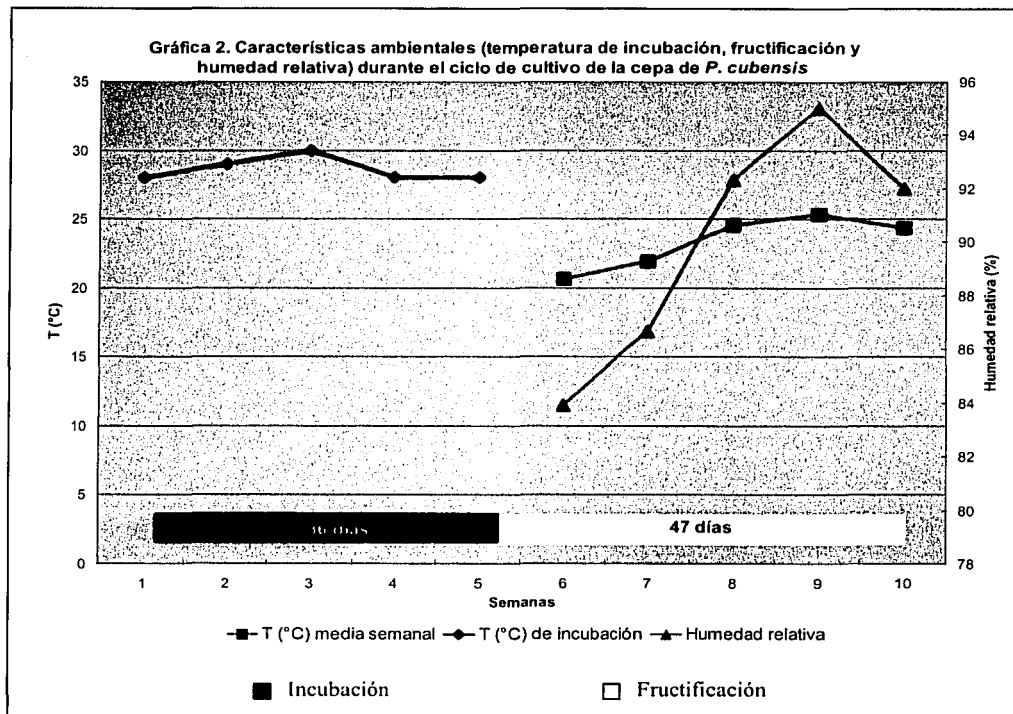
VI.6. Condiciones ambientales de incubación y fructificación (*P. cubensis*).

La temperatura media máxima que se alcanzó en el módulo experimental fue de 26.7° C. La temperatura media mínima alcanzada en el módulo fue de 16.7° C. La temperatura media semanal fue de 23.3 ° C y la humedad relativa media fue de un 89.9 % (Tabla 3). La temperatura de incubación media fue de 28.6° C.

Tabla 3. Temperaturas máximas y mínimas, temperatura media semanal y humedad relativa del substrato en el módulo experimental.

	Temperatura máxima y mínima (°C)	Temperatura media semanal (°C)	Humedad relativa (%)
Mayo			
4° Semana	27.8 - 16	20.57	83.88
Junio			
1° Semana	27.25 - 16.25	21.87	86.65
2° Semana	25.2 - 16.2	24.5	92.3
3° Semana	24.4 - 20	25.3	95
4° Semana	29.33 - 15	24.33	92
X	26.796 - 16.71	23.314	89.966

En la gráfica 2 se aprecia la temperatura de incubación a la cual, las bolsas estuvieron sujetas. También se observa la temperatura de fructificación y la humedad relativa en el módulo experimental. Por otro lado se muestra el ciclo de cultivo que presentó la cepa de *Psilocybe cubensis*.



El diámetro máximo medio del píleo varió de 6.3-8.8 cm y el diámetro mínimo medio del píleo varió de 3.2 cm a 4 cm. La media del número de fructificaciones por cosecha varió de 4 a 8 basidiomas ($\bar{X}=6$) y se observó un decremento en el número de fructificaciones por cosecha siendo mayor en la primera ($\bar{X}=11$) y menor en la última ($\bar{X}=2$). El número de basidiomas para las bolsas de 1200 g varió de 4 a 7, mientras que para las bolsas de 850 g varió de 5 a 8 respectivamente. El número de basidiomas medio fue de 6 para todas las bolsas (Tabla 4).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 4. Número de fructificaciones (N.F.) y Diámetro máximo y mínimo del píleo.

# de bolsa	Cosecha 1 (cm)	N.F.	Cosecha 2 (cm)	N.F.	Cosecha 3	N.F.	Cosecha 4	N.F.	Cosecha 5	N.F.	X de diámetro por bolsa	X de fructificación por bolsa
1	6.5-2	14	11.5-4	9	10.0-3	3	6.5-4	2	5.5-1	1	8-3.25	6
2	6-2.59	16	12-3	4	12.5	1	4.5-3.5	4	---	---	8.7-3.5	6
3	9.5-3	9	6.58-4	2	14.5-4.5	8	9-3	9	3.59-1.5	8	8.6-3.2	7
4	5	1	4.5-3	4	10.5-4	9	8.5-3.3	3	6.5-6	2	7-4	4
5	6.5-1.1	17	12-6	7	9.5	1	7.5-3.5	6	---	---	8.8-3.5	8
6	4.1-2.7	5	5-2.5	6	11.0-2.5	4	7.0-6.0	3	---	---	6.7-3.4	5
7	4.5-2.2	13	6-1	6	5.0-4.0	3	8.0-7.5	3	8-2.5	5	6.3-3.4	6
X total		11		5		4		4		2	7.4-3.4	6

VIII. DISCUSIÓN

Mediante este trabajo se pudieron reconocer algunos factores que influyen en el desarrollo y crecimiento de *P. cubensis*, *P. sp. 1* y *P. sp. 2*.

El intervalo de temperatura de crecimiento óptima micelial fue de 25-30° C en cámaras de temperatura controlada para las cepas de *P. cubensis*, *P. sp. 1* y *P. sp. 2*.

Con esta temperatura el micelio se desarrolló rápidamente, con textura algodonosa, y de color blanco para las 3 cepas. De los medios de cultivo sintéticos probados, EMA y PDA, se observó que en este último, el micelio de las cepas de *P. cubensis*, *P. sp. 1* y *P. sp. 2* tuvieron un crecimiento mayor.

La temperatura de incubación (28° C) en el módulo permitió una rápida invasión del micelio de *P. cubensis* sobre el substrato de fructificación tan sólo a los 12 días después de su inoculación.

La obtención de basidiomas inmaduros de *P. cubensis* en cajas Petri con medio de cultivo PDA nos dio la certeza de que la cepa pertenece a esta especie, básicamente por la presencia de tonos azul-verdosos que se observaron en estos basidiomas y en ciertas zonas del micelio.

Los substratos de inóculo utilizados en este estudio (granos de sorgo y trigo con y sin hidróxido de calcio) mostraron ser adecuados para incrementar y acelerar el crecimiento micelial. La velocidad de crecimiento se vio reflejada en la rápida y total invasión del grano (15-30 días) en la cepa de *P. cubensis*.

Los substratos de fructificación probados (tierra negra con restos vegetales y paja de trigo) arrojaron resultados positivos en cuanto al desarrollo de los

basidiomas. La tierra negra probó ser un buen substrato con base en los basidiomas obtenidos de *P. cubensis*. Sin embargo, el crecimiento de éstos no fue el óptimo debido a factores no adecuados como: contaminación, tal vez por poca disponibilidad de nutrientes, aereación y humedad adecuadas.

La paja de trigo estéril resultó ser el substrato óptimo para iniciar el proceso de fructificación, acelerando significativamente el crecimiento micelial tan sólo 12 días después de su inoculación. Un mes después se obtuvieron los primeros basidiomas maduros con píleo y estípites completamente desarrollados acorde con la clasificación taxonómica, comprobando así, que este substrato puede ser de gran utilidad para la producción de esta especie y seguramente de muchas más.

La eficiencia biológica y la tasa de producción nos indican que la técnica es completamente eficiente para producir estos hongos a una mayor escala y para continuar con investigaciones relacionadas con su biología reproductiva así como con su posible aplicación a la medicina moderna.

Las cepas de *P. sp.1* y *P. sp. 2* no se cultivaron hasta la fase de fructificación debido a que no se contó con el módulo experimental de crecimiento por más tiempo. Sin embargo la obtención de basidiomas de estas dos especies se encuentra dentro de los futuros planes de investigación a desarrollar.

IX. CONCLUSIONES

- Las técnicas de cultivo de macromicetos han permitido el estudio y manipulación de ejemplares biológicos *in vitro*, de gran importancia para el hombre, que únicamente pueden ser recolectados en el campo, en ciertas temporadas del año.
- Particularmente, se conocen muy bien las técnicas de producción de hongos comestibles como *Pleurotus spp.*, *Agaricus spp.*, *Lentinula spp.*, *Volvariella volvacea*, que se han cultivado por mucho tiempo y se conoce su valor alimenticio. Sin embargo, existen una infinidad de especies de muchos géneros de los cuales aún no se conoce nada acerca del cultivo y producción.
- La utilización de medios de cultivo sintéticos permiten desarrollar etapas de crecimiento vegetativo a partir de tejido o esporas de ejemplares frescos o herborizados que son de interés para el hombre.
- El substrato de inóculo (sorgo y trigo) es una de las claves hacia la producción de basidiomas.
- Mediante este substrato de inóculo el hongo se aclimata a la degradación de lignina, celulosa y otros materiales vegetales como nutrientes necesarios para el desarrollo y se vigoriza para la etapa de fructificación.
- La humedad en los granos de inóculo se conserva por mayor tiempo que en medios de cultivo sintéticos u otros substratos utilizados permitiendo que el hongo se desarrolle más rápido.

- Las temperaturas utilizadas en las diversas etapas del ciclo de vida juegan un papel muy importante en el desarrollo y crecimiento del hongo. Estas son utilizadas para desencadenar diferentes procesos metabólicos necesarios para concluir el ciclo adecuadamente.
- Por otro lado, la paja de trigo ha sido ampliamente probada como sustrato de fructificación, siendo utilizada en gran escala en la producción de hongos del género *Pleurotus* y actualmente está siendo probada para producir basidiomas en hongos del género *Agaricus* y *Lentinula*; por otro lado, su bajo costo al ser un desecho agrícola y su fácil manejo en cultivos a gran escala, incrementa la obtención de basidiomas a corto plazo e intensifica el número de cosechas.
- En el género *Psilocybe* es necesaria la realización de más estudios acerca de la producción de metabolitos y otras sustancias con aplicaciones en la farmacología y la industria.
- Es importante conservar las especies de este género, mediante su cultivo, para comprender mejor su biología. Esto servirá también en el diseño de nuevas técnicas de producción a gran escala que permitan el estudio de nuevos géneros de hongos de los cuales se desconoce aún su potencial como recurso.

X. PERSPECTIVAS

En este apartado, se habla de la eficiencia de esta técnica y del desarrollo de nuevas metodologías que podrían mejorar el cultivo de macromicetos que son de importancia para el hombre.

Si se mezcla el conocimiento tradicional que nuestros antepasados prehispánicos desarrollaron alrededor de la utilización de productos de origen fúngico, junto con las distintas técnicas de cultivo que se generan día con día para producir hongos a gran escala, se puede generar un conocimiento que realmente encamine a un cambio en la manera de adquirir los hongos; no sólo como un producto alimenticio, sino como organismos que pueden ser utilizados para comprender algunas facetas de nuestra naturaleza humana aún no exploradas.

También, desde el punto de vista ecológico, como un organismo que puede mejorar el rendimiento de los ecosistemas y ayudar a su conservación mediante relaciones simbióticas específicas que han existido a lo largo de su coevolución con algunas plantas y, sobre todo, como un recurso que puede ser sustentable y brindar nuevas perspectivas a la investigación de nuestro país.

Las especies estudiadas en este trabajo presentan sustancias psicotrópicas que deben ser analizadas cuidadosamente en busca de nuevas aplicaciones en la medicina moderna ya que aún no tenemos claros los efectos que estas sustancias tienen sobre nuestro sistema nervioso.

El uso tradicional involucra la presencia de un "guía" que controle y asegure que la persona no se desvíe del propósito de la ingestión y no sufra ningún trastorno físico y/o mental.

El cultivo y consumo de estos hongos no es legal, no sólo en nuestro país, sino que también en otros países debido a razones políticas y socioculturales que requieren de estudios más complejos.

Mediante el desarrollo de esta técnica se logró reproducir la fase micelial y sexual del ciclo de vida de algunas especies del género *Psilocybe* que nos sirve para entender mejor su fisiología y las condiciones ambientales en que se desarrollan. Este conocimiento se puede extrapolar y plantearse para cultivar muchas otras especies de gran importancia para el hombre.

Es evidente que la aplicación de las especies de este género de hongos en la medicina moderna se tiene que evaluar desde una perspectiva chamánica y mágico-religiosa para poder darle un uso adecuado y que no se convierta en objeto de tabú.

La comprensión del conocimiento tradicional nos sirve de guía para entender el simbolismo que estos hongos han aportado a las culturas humanas de la antigüedad y de la manera de aplicarlo a las sociedades modernas sin que se convierta en una droga recreativa.

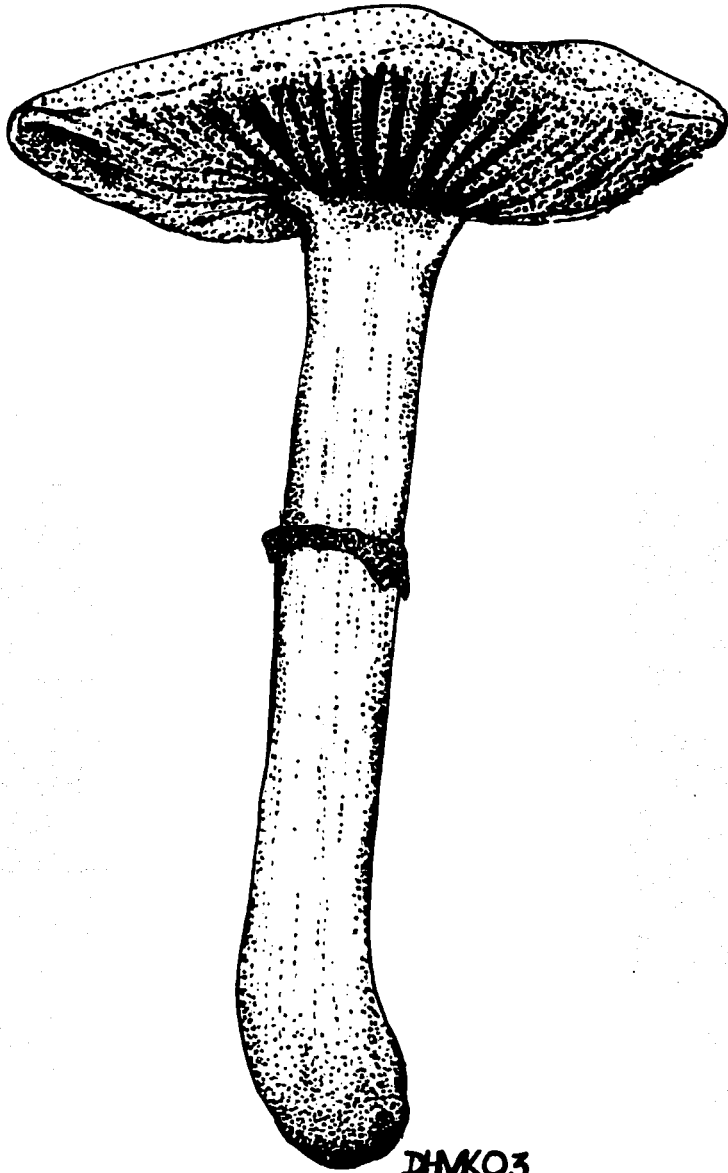
XI. LITERATURA CITADA.

1. Acosta-Urdapilleta, L., (2000). **Aislamiento y cultivo de diferentes cepas silvestres de *Pleurotus* spp. en el estado de Morelos**, Tesis Maestría Facultad de Ciencias, UNAM, México D.F.
2. Badham, E. R, (1984). **Ethnobotany of psilocybin mushrooms, specially *Psilocybe cubensis***, Journal of Pharmacology, 10, 2: 249-254.
3. Cifuentes, J., M. Villegas & L. Pérez-Ramírez, (1996). **Hongos**. in: A. Lot & F. Chiang (Eds.), **Manual de herbario**. Cons. Nac. Fl. Mex., A.C. México.
4. Chiu, S.-W, & D, Moore, (1999). **Sexual development of higher Fungi**. En: Oliver, R. & M. Schweizer (Eds.), **Molecular Fungal Biology**. Cambridge, UK.
5. Dubovoy, C. & T. Herrera, (1967). **Estudio morfológico de los micelios de *Psilocybe caerulescens* Murrill en diversos medios líquidos de cultivo.**, Anales. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. 38, Ser. Botánica (1):111-150.
6. Dubovoy, C. & T. Herrera, (1968a). **Influencia de factores fisicoquímicos en la morfogénesis de estructuras asexuales en micelios de *Psilocybe caerulescens* (Murrill)**. Anales. Inst: Biol. Univ. Nal. Autón. México. 39, Ser. Botánica (1):77-110.
7. Dubovoy, C. & T. Herrera, (1968b). **Morfogénesis de fíbulas 1. Desdicariorización de micelios de *Psilocybe caerulescens* (Murrill), en**

- diversos medios líquidos de cultivo.** Anales. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. 39, Ser. Botánica (1):45-75.
8. Furst, P. T., (1980), **Alucinógenos y Cultura.** Fondo de Cultura Económica, México. D.F.
9. Guzmán, G., (1983) **The Genus *Psilocybe*.** J. CRAMER, Alemania.
10. Guzmán, G., (1994). **Los hongos y líquenes en la medicina tradicional.** En: Argueta, V. (Ed.), **Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana.** Instituto Nacional Indigenista., Vol. 3, México D.F.
11. Herrera, T. & M. Ulloa, (1998). **El reino de los hongos: Micología básica y aplicada,** 2ª ed. UNAM y Fondo de Cultura Económica., México D.F.
12. Ingold, C. T. & H. J. Hudson, (1993). **The Biology of the Fungi.** Chapman and Hall, USA, 6.
13. Kirk P. M, P. F, Cannon & J. C, David, (2001), **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi.** CABI Bioscience, UK Centre, Egham, UK & J A Staplers, 9th Edition, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
14. Kües, U. & Y. Liu., (2000), **Fruiting body production in Basidiomycetes.** Applied Microbiology Biotechnology, Suiza, 54:141-152.
15. Mackena, T. (1992). **Foods of the Gods. Looking for the original tree of knowledge.** Bantam Books, New York.
16. Pollock, S.H., (1977). **Magic Mushroom Cultivation.** Herbal Medicine Research Foundation, San Antonio, Texas., EUA.

17. Robson, G, (1999). **Hyphal cell biology**. En: Oliver, R. & M, Shweizer (Ed.) **Molecular Fungal Biology**, Cambridge University Press, UK.
18. Royce, D. J. & S. A. Zaki, (1991). Factors influencing the production rate of shiitake. **Mush. J. Tropics. 9**: 70-83.
19. Rzedowski, J., (1991), Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. **Acta Botánica Mexicana 14**:3-21.
20. Shultes, R.E, & A, Hoffman, (1983). **Las plantas de los dioses**. Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
21. Stamets, P. & J.S, Chilton, (1983). **The Mushroom Cultivator: A practical Guide to Growing Mushroom at Home**. Agarikon Press, Olympia, USA.
22. Tenning, H. & G. Lyzek, (1996). **Fungal Biology: Understanding the fungal lifestyle**. Bios Sci Publisher, Oxford, UK.
23. Toledo, V.M, (1988). La diversidad biológica de México. **Ciencia y Desarrollo 81 (24)**:17-30.
24. Tschierpe, H.J. & K. Hartmann, (1977). A comparison of different growing methods. **Mushroom Journal 60**: 25-42.
25. Ulloa, M., (1967). **Factores que influyen en el crecimiento de los micelios de *Psilocybe mexicana* Heim y *Psilocybe cubensis* (Earl)**. Sing. Tesis Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM, México.

26. Zenteno, Z., M & T. Herrera, (1958). **Hongos alucinantes de México, Datos Bibliográficos. Obtención de carpóforos de *Psilocybe cubensis* (Earl.) Sing.** Anales . Inst. Biol. Uni. Nac. Autón. México. 29:49-72.
27. Gottlib, A, (1976). **The Psilocybian Producers Guide** en <http://www.lycaeum.org/drugs/Tryptamines/Psilocybian/psilo-prodguide.html/>.
28. Puerto, S ., (1996). ***Stropharia cubensis*: Mushroom Growers Guide.** en: <http://www.lycaeum.org/drugs/Tryptamines/Psilocybian/puerto/>.
29. Sin autor. **How to Grow Psychedelic Mushrooms.** en <http://www.lycaeum.org/drugs/Tryptamines/Psilocybian/grow-shrooms.html>.
30. Sin autor. **The foolproof *Psilocybe cubensis* Mycelial Culture Technique.** en; <http://www.lycaeum.org/drugs/Tryptamines/Psilocybian/foolproof.html/>.



DMK03