



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad Acreditado por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Morelos a 15 de septiembre de 2021

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **TANIA DONAJI GARCÍA GARCÍA**, con el título del trabajo: **Evaluación del cultivo de *Psilocybe cubensis* sobre diferentes sustratos lignocelulósicos.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación de **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el artículo 33° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

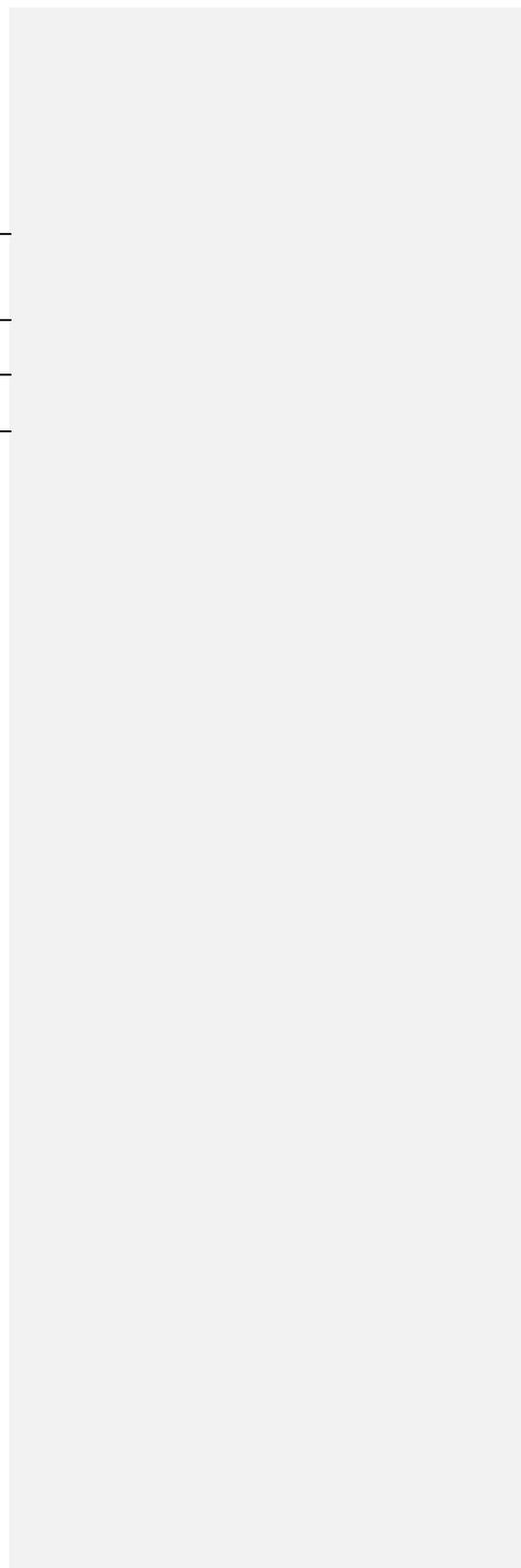
PRESIDENTE: DRA. ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL

SECRETARIO: DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

VOCAL: DRA. MA. DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA

SUPLENTE: BIOL. NÉSTOR IRAÍ BAUTISTA GARCÍA

SUPLENTE: BIOL. ISIS MORA OREA





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ISIS MORA OREA | Fecha:2021-09-17 11:15:35 | Firmante

agpi5pcXU4Ljv8blz7dfv63ze/XhTkb1GLxqsOAF74A2CYKYDM3R3NCSItKGNVMIrtZG8XKPID8NihJDIOfjKsoPZHf4r/bhGgX7i4dMbEbUKi0/vy1PjKshqraEFTS+ecKikbw+wBMSQ8RcPPc8t+ZJH1uNOSszLLJas1hi80/GS47qj2KtzwX6jGjGBCykmTpUyxKy7Ph0v5xfmHvMdBnEi+99NXCMVFY1ZkxsGn6vLb23uyRjQjGcC7cYXSK1fxK/OMp5wFk79pj b6LN82yD3UPCvVYD77nOPhxvDbdOpW2wKlz7psWnr7RvVkbD9nFUj7wo+eBKw==

MA DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA | Fecha:2021-09-17 12:02:38 | Firmante

ISzts6rdRR4CS8IKysNgVGoV8LJk0U53cGSLe9yMAjvdirXWopsDA8RplIYhoZm9f7kfRuiorgsC8tAsbo0QvIPodWeVn7nCKG71bNjMjUekPBzyle1cLcy6Ydep1BI/MTsnnPbOQP8z3btHfsRO3S2fmg9L7fInlWk67KTUamrJyDbX4dKfUmfIbNPu0CUk90OfRUg8Gv2W8LF3YRW2+GIPBQGks7WkqmG79d7+3zXuZzzkqE7GcKy0DeNIL2LWqZ+ogasCjht44BsKHJkvpBN8zu1mH1WyKoMefTYc9Fki5UisqN4moWwQdIjmk8RczBxkvG85GPd+ES+K1Q==

MAURA TELLEZ TELLEZ | Fecha:2021-09-17 12:34:15 | Firmante

BsCRc9MB7qjYVDUcoODYqG9AIX0TRo6vMHJL7NJL8Qpa8cW2NXilzRLamDxqEVIHC3C0xOieqJo9qReSo4jNrvWZLN4oe4KN3yfczIKLzh6fgrITFSMJ7S8LaxouYifj9uidSnD0MtqRtM4vY9dB/JPLrabikmaDaPZAaIlMEIWZ6Lpm9svUk16TITZYU+Du+5drxpR0+qha2ewWD083YMqKQqasT4M+pF3uXDojyUQnJlrvsUBH5Kv73Ii1IDDxMonBCBQmRwGqIkGheikdtEbaSyDRdeNqVHyDzHUaC2kLoadrXeAbPcyfUzU9985k6/QbrwGEDKmwjw==

NESTOR IRAI BAUTISTA GARCIA | Fecha:2021-09-17 13:23:44 | Firmante

HJFWqVxTAlDSvD04gTF0kdw+Gg7U2EvquuOgkyCgWbdv9w1Ygww4HxWnp091s73pkMv73PqF7J1mC3mPIBjHaHMq26WTRpYIYr0DAfDMf+2k5hk1zVwmO8XL0+0uWIOgkEUcy2ehShYHreiODB1OPHAHYFMahcSQTonxSG+vCF9drccjXPG2wkiSe1S0aFJ0UUEFtqmCjr4dPbW6Z+mDJE9S05hNyotAyCxxhH7o6CmGnh1dL5L+fZ8Q2UW0WuutZiYaLtybTuMd20UeyjdlyP/AwY7jm2HxI0GfYfpaan56gxiBLrSyHregg2YyLdBdOKYVY1MKD6JLSSw==





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Evaluación del cultivo de *Psilocybe cubensis* sobre diferentes
sustratos lignocelulósicos

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
(Seminario 3)
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:

Tania Donaji García García

DIRECTORA
M. en C. Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta

CUERNAVACA, MORELOS

Enero, 2021

ÍNDICE

| | | |
|-------|---|----|
| 1. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. | CARACTERÍSTICAS DE <i>Psilocybe cubensis</i> | 2 |
| 1.2. | TAXONOMÍA | 4 |
| 1.3. | CICLO DE VIDA | 5 |
| 1.4. | PSILOCINA Y PSILOCIBINA 4- fosforiloxi- N, N- DIMELTRIPTAMINA | 7 |
| 1.5. | CULTIVO DE <i>Psilocybe</i> sp. | 7 |
| 1.6. | MEDIOS DE CULTIVO | 8 |
| 1.7. | CONDICIONES ADECUADAS PARA EL CRECIMIENTO MICELIAL | 9 |
| 2. | ANTECEDENTES | 9 |
| 2.1. | ASERRÍN DE ENCINO | 10 |
| 2.2. | CAZAHUATE | 11 |
| 2.3. | CASCARA DE CACAHUATE | 11 |
| 2.4. | HOJA DE MAÍZ | 12 |
| 2.5. | OLOTE DE MAÍZ | 12 |
| 2.6. | PAJA DE TRIGO | 12 |
| 2.7. | RALLADURA DE COCO | 13 |
| 2.8. | RASTROJO DE MAÍZ | 13 |
| 2.9. | SALVADO DE TRIGO | 13 |
| 2.10. | VIRUTA DE CEDRO | 14 |
| 2.11. | VIRUTA DE PINO | 14 |
| 2.12. | LIGNINA Y CELULOSA | 16 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3. | JUSTIFICACIÓN | 17 |
| 4. | HIPÓTESIS | 17 |
| 5. | OBJETIVO GENERAL | 17 |
| 5.1. | OBJETIVOS PARTICULARES | 17 |
| 6. | MATERIALES Y MÉTODOS | 18 |
| 6.1. | MATERIAL BIOLÓGICO | 19 |
| 6.2. | AISLAMIENTO MULTIESPÓRICO | 19 |
| 6.3. | ANÁLISIS DE <i>P. cubensis</i> SOBRE PDA | 19 |
| 6.4. | EVALUACIÓN DE <i>P. cubensis</i> EN DIFERENTES SUSTRATOS EN CAJA PETRI | 20 |
| 6.5. | CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL MICELIO | 20 |
| 6.6. | VELOCIDAD DE CRECIMIENTO LINEAL MICELIAL | 20 |
| 6.7. | ELABORACIÓN DEL INÓCULO | 20 |
| 6.8. | PREPARACIÓN DE LOS SUSTRATOS EVALUADOS | 21 |
| 6.9. | EVALUACIÓN DEL PATRÓN DE PRODUCCIÓN EN SUSTRATO SÓLIDO | 22 |
| 6.10. | REGISTRO DE PARÁMETROS AMBIENTALES EN EL MÓDULO DE FRUCTIFICACIÓN | 22 |
| | 22 | |
| 6.11. | FRUCTUFICACIÓN | 23 |
| | 23 | |
| 6.12. | MICROSCOPIA | 23 |
| 7. | RESULTADOS | 23 |
| 7.1. | EVALUACIÓN DE LA CEPA SOBRE MEDIO DE CULTIVO (PDA) | 23 |
| 7.2. | SUSTRATOS EVALUADOS | 24 |
| 7.3. | CARACTERÍSTICAS MORFÓLOGICAS DE MICELIO EN LA CEPA HEMIM-48 | 29 |
| 7.4. | VELOCIDAD DE CRECIMIENTO EN CADA SUSTRATO EVALUADO | 30 |

| | |
|---|----|
| 7.5. PRODUCCIÓN DE SEMILLA | 30 |
| 7.6. SIEMBRA SOBRE SUSTRATOS SELECCIONADOS | 31 |
| 7.6. SIEMBRA SOBRE SUSTRATOS SELECCIONADOS | 31 |
| 32 | |
| 7.7 FRUCTIFICACIÓN | 33 |
| 7.8 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS | 34 |
| 35 | |
| 7.9 MICROSCOPIA | 36 |
| 7.10. INICIO DE LA FRUCTIFICACIÓN, TIEMPO DE COSECHA Y CICLO DE CULTIVO | 37 |
| 7.11. TASA DE PRODUCCIÓN, EFICIENCIA BIOLÓGICA | 38 |
| En la figura 33 se observan los cuerpos fructíferos de <i>P.cubensis</i> (HEMIM-149) sobre los sustratos: 1) Olote de maíz, 2) Fibra de coco, 3) Cascarilla de cacahuete. | 41 |
| 8. DISCUSIÓN | 42 |
| 9. CONCLUSIONES | 44 |
| 10. PERSPECTIVAS | 45 |
| 11. LITERATURA CITADA | 46 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Distribución mundial del uso tradicional de los hongos neurotrópicos | 2 |
| Figura 2. <i>Psilocybe</i> sp..... | 3 |
| Figura 3. <i>Psilocybe cubensis</i> | 4 |
| Figura 4. Ciclo de vida de <i>Psilocybe cubensis</i> | 6 |
| Figura 5. Estructura química de la psilocibina, psilocina y su relación con la serotonina | 7 |
| Figura 6. Sustratos seleccionados : A) Aserrín de encino B) Cazahuate, C) Cascara de cacahuate, D) Hoja de maíz, E) Olote de maíz, F) Paja de trigo, G) Ralladura de coco, H) Rastrojo de maíz, I) Salvado de trigo, J) Viruta de cedro, K) Viruta de pino. | 15 |
| Figura 7. Diagrama de flujo | 18 |
| Figura 8. Higrotermógrafo..... | 22 |
| Figura 9. Contenedores donde se llevó a cabo la fructificación | 23 |
| Figura 10. Aserrín de encino | 25 |
| Figura 11. Cazahuate | 25 |
| Figura 12. Cascara de cacahuate | 25 |
| Figura 13. Hoja de maíz..... | 26 |
| Figura 14. Olote de maíz | 26 |
| Figura 15. Paja de trigo..... | 26 |
| Figura 16. Rastrojo de maíz | 26 |
| Figura 17. Salvado de trigo..... | 27 |
| Figura 18. Viruta de cedro | 27 |
| Figura 19. Viruta de pino | 27 |
| Figura 20. Crecimiento a los 8 días de evaluación | 28 |
| Figura 21. Crecimiento a los 15 días de evaluación | 28 |
| Figura 22. Crecimiento a los 27 días de evaluación | 28 |
| Figura 23. Señala la velocidad de crecimiento de cada sustrato | 30 |

| | |
|---|----|
| Figura 24. Producción del inóculo A) A los 7 días después de la siembra, B) A los 15 días, C) A los 46 días de siembra..... | 31 |
| Figura 25. Brotes en bolsa de cultivo..... | 33 |
| Figura 26. Contenedores donde se llevó a cabo la fructificación | 33 |
| Figura 27. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-148..... | 35 |
| Figura 28. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-149..... | 35 |
| Figura 29. Esporas de la cepa HEMIM -148..... | 36 |
| Figura 30. Esporas de la cepa HEMIM-149..... | 36 |
| Figura 31. Características ambientales | 39 |
| Figura 32. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-148..... | 40 |
| Figura 33. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-149..... | 41 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Cantidad de lignina y celulosa en cada sustrato evaluado | 16 |
| Tabla 2. Crecimiento en medio de cultivo PDA | 24 |
| Tabla 3. Sustratos por evaluar para la siembra de <i>Psilocybe cubensis</i> con la cepa HEMIM- 48..... | 24 |
| Tabla 4. Características morfológicas de <i>P. cubensis</i> de la cepa HEMIM-48 sobre diferentes sustratos midiendo diferentes parámetros..... | 29 |
| Tabla 5. Muestra los datos de las bolsas..... | 32 |
| Tabla 6. Datos de humedad de los sustratos | 32 |
| Tabla 7. Características morfológicas de los hongos cosechados en fresco | 34 |
| Tabla 8. Inicio de la fructificación, tiempo de cosecha y ciclo de cultivo de la cepa HEHMIM-148 y HEMIM-149 | 37 |
| Tabla 9. Eficiencia biológica y tasa de producción..... | 38 |

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos están muy bien representados en todos los medios, se estima que se conocen más de 70,000 especies de hongos, se distribuyen principalmente en los trópicos con más de 169,000 especies y precisamente son estos ecosistemas los menos conocidos. El mayor número de especies del género *Psilocybe* en el país se encuentran en los bosques subtropicales, conocidos también como mesófilos de montaña. En México se conocen actualmente 6,000 especies de hongos repartidas aproximadamente en 2,000 *micromicetos* y 4,000 *macromicetos*. El género *Psilocybe* pertenece a la familia strophariaceae del orden agaricales. Son especies saprófitas, generalmente pequeñas y extremadamente frágiles. Sus sombreros son cónicos o campanulados de colores cremas, amarillentos o grises suaves (Guzmán, 1959). Tienen láminas adnatas marrón purpuras o lilas, más o menos oscuras. Sus pies son cilíndricos, de colores parecidos al sombrero. Etimológicamente el nombre del género *Psilocybe* procede del griego y su traducción alude a cabeza limpia y descubierta. *Psilocybe cubensis* es el nombre científico de una especie de hongos psicoactivos. El hongo *P. cubensis* tiene una importancia significativa a nivel de investigaciones clínicas para tratar enfermedades asociadas a estos padecimientos como lo son OCD, depresión, ansiedad y enfermedades psiquiátricas, debido a que produce un alcaloide en sus tejidos llamado psilocibina (Shultes y Hofmann, 1983). El objetivo de este proyecto es evaluar el patrón de producción de *Psilocybe cubensis* sobre diferentes sustratos lignocelulósicos. Lo anterior es interesante desde el punto de vista farmacológico y biotecnológico. Por lo cual en este proyecto se implementarán diferentes sustratos lignocelulósicos para la producción de esta especie de hongo como lo son: cacahuate, cáscara de cacahuate, encino, hoja de maíz, olote de maíz, paja de trigo, rastrojo de maíz, salvado de trigo, viruta de cedro y viruta de pino. Estos sustratos son de gran importancia ya que al ser de desecho pueden ser reutilizados, por ello es importante la búsqueda de sustratos alternativos de bajo costo y fácil acceso ya que la cantidad de materiales orgánicos de desecho son una fuente de contaminación ambiental (Piña-Guzmán y Nieto-Monteros, 2015).

1.1. CARACTERÍSTICAS DE *Psilocybe cubensis*

Los hongos con propiedades neurotrópicas, conocidos también como alucinógenos han llamado la atención del hombre desde tiempos remotos. Esto es debido a la fuerte acción que ejercen sobre el sistema nervioso central, con percepción de alucinaciones y a su vez, porque su uso no causa adicción (Guzmán,1959). Se tienen noticias del uso tradicional de estos hongos entre diversos grupos étnicos del noroeste de Siberia, Papúa Nueva Guinea, Cánada, Estados Unidos y México, en este último país se redescubrieron en la década de 1950. El género *Psilocybe* fue descubierto en las montañas de Oaxaca por Gordon y Valentina Wasson en 1953. Las especies del género *Psilocybe* son saprobias y no se conoce hasta ahora ninguna de ellas micorrizogena, parásita o simbiote (Guzmán, 1983). Los sustratos donde se desarrollan son muy diversos, pueden crecer sobre el suelo, madera muerta, tallo 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 (Fig.1).

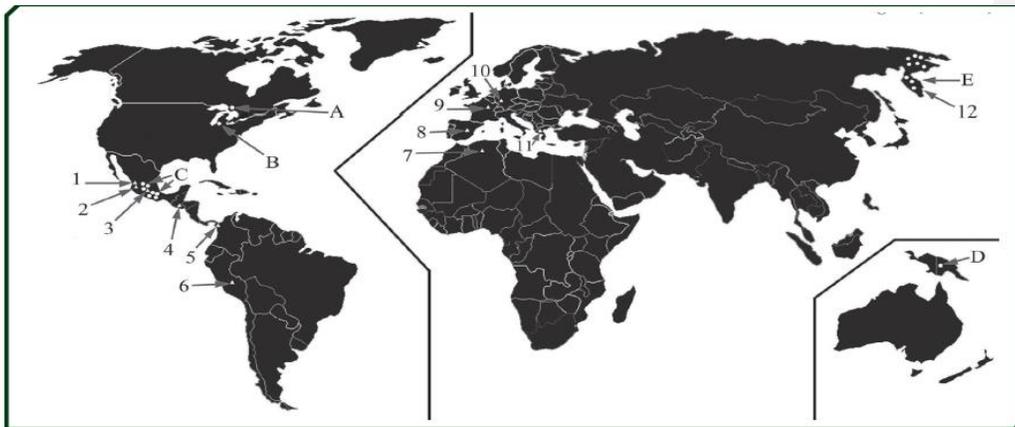


Figura 1. Distribución mundial del uso tradicional de los hongos neurotrópicos. 1-3 México (1: capachas, 2: purépechas, 3: náhuatl), 4: mayas (Guatemala y El Salvador, 5: Darién, 6: Perú, 7: Tassili (Sáhara), 8: España, 9: Francia, 10: Alemania, 11: Grecia. A-E, A: Canadá, B: E.U.A, C: México, D: Papúa Nueva Guinea, E: Siberia.

Psilocybe cubensis es de los hongos más conocidos y fáciles de cultivar. Son considerados cosmopolitas y pueden alcanzar una altura de 8 a 15 cm. El sombrero mide entre 2 y 8 cm de diámetro; es campanulado al principio y posteriormente convexo o plano. Su color varía bastante, desde blanco casi puro con una mancha dorada en el centro, hasta café claro con la misma mancha anaranjada en el centro. Las esporas son café púrpura. El estípote es hueco, de color blanco-cremoso o amarillo-amarronado. Cuando se lesiona, el hongo adopta un color morado, producto de la exposición de la psilocibina al aire. Cuando están bien desarrollados, se forma un anillo blanco, membranoso y resistente, que posteriormente se torna negruzco (Fig. 2). Se pueden encontrar en los periodos de lluvia en los meses de febrero a noviembre, crece principalmente en el estiércol de vacas. Este tipo de hongos tiene una gran importancia en el ámbito farmacológico, por ello surgió la necesidad de trabajar con ellos para conocer un poco más sobre su cultivo (Oss y Oeric, 1992).

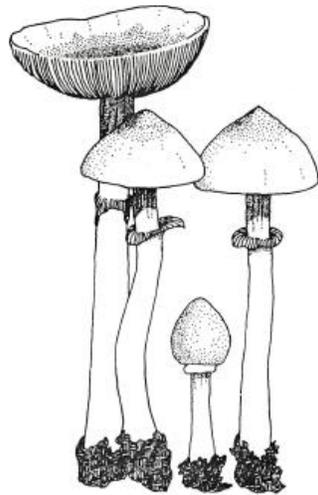


Figura 2. *Psilocybe* sp. Alcanza una altura de 8 a 15 cm, el sombrero mide entre 2 y 8 cm de diámetro, su color varía desde un blanco casi puro casi puro con una mancha dorada en el centro, hasta café claro con la misma mancha anaranjada en el centro. Las esporas son café púrpura. El estípote es hueco, de color blanco-cremoso o amarillo-amarronado

1.2. TAXONOMÍA

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

Reino Fungi

Phylum Basidiomycota

Clase Basidiomycetes

Subclase Agaricomycetidae

Orden Agaricales

Familia Strophariaceae

Género *Psilocybe*

Especie *Psilocybe cubensis* (Fig. 3)



Figura 3. *Psilocybe cubensis*

1.3. CICLO DE VIDA

Tal y como lo mencionan Oss y Oeric (1992) en su libro denominado *Psilocybin Magic Mushroom Grower's Guide*, este grupo pertenece a la clase Basidiomicetes que se caracteriza por la producción de esporas sobre apéndices llamados basidia. Las esporas nacidas en la basidia son llamadas basidiosporas. Los miembros de esta subclase tienen lugar en el orden de los agaricales. Las basidiosporas germinan para formar una hifa monocariótica. Una hifa es un filamento tubular, una agregación de estas hifas comprende colectivamente una masa de hilos filamentosos denominado micelio, el micelio comprende el cuerpo principal del hongo. La estructura que llamamos el hongo es actualmente solo el cuerpo fructífero, o la espora que produce la estructura reproductiva y los constituyentes son solo una pequeña porción de la masa total del hongo. Las basidiosporas germinan para producir un micelio monocariótico, el micelio tiene solo un núcleo por célula. Este micelio crece hasta que encuentre otro micelio monocariótico, germinado por otra espora, es un tipo de apareamiento compatible, si el micelio monocariótico, no hace un contacto compatible con otro micelio monocariótico, eventualmente morirá. En situaciones donde dos micelios monocarióticos hacen contacto, es un proceso llamado somatogamia, o en la fusión de dos células somáticas de dos micelios, esta toma lugar, pero la fusión del núcleo no se concreta. El resultado de la somatogamia es el establecimiento o creación de un micelio dicariótico, el micelio posee dos núcleos, uno de cada micelio monocariótico, el micelio dicariótico es la etapa más prolongada del ciclo de vida y también la etapa de asimilación principal del hongo. El micelio dicariótico puede propagarse vegetativamente indefinidamente sin pasar por una etapa asexual (producción de esporas). En las condiciones apropiadas sin embargo el micelio dicariótico puede ser inducido a fructificar. El hongo continúa agrandándose, incorporándose más y más al micelio. Al mismo tiempo va agrandándose por la absorción de agua.

En este punto la cariogamia o fusión de dos núcleos del micelio dicariótico toma lugar en la basidia. Este es el único diploide, en el ciclo del hongo, y también es el más breve para la meiosis. El resultado de la meiosis es la producción de cuatro núcleos haploides dentro del basidio, estos se expulsan del basidio y se rodean de envolturas duras a partir de las basidiosporas. Como

resultado el basidio tiene cuatro basidiosporas en la superficie exterior como en el ciclo de vida (Fig. 4).

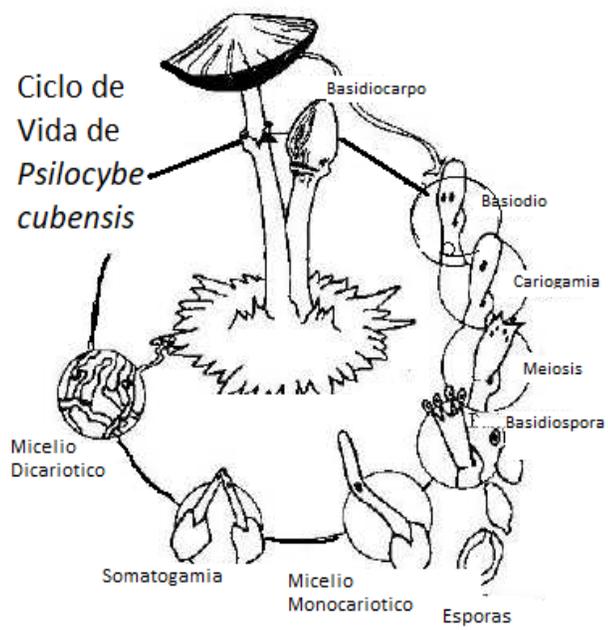


Figura 4. Ciclo de vida de *Psilocybe cubensis*

1.4. PSILOCINA Y PSILOCIBINA 4- fosforiloxi- N, N- DIMELTRIPTAMINA

Albert Hofmann y colaboradores en el año 1958 aisló y nombró el alucinógeno psilocibina y psilocina, para ello uso una variedad de hongo llamado *Psilocybe mexicana* (Guzmán, 1959).

La psilocibina es un derivado de la triptamina y posee una estructura química similar a la del neurotransmisor llamado serotonina (Fig. 5).

Hofmann concluyó que la psilocibina tendría la estructura química de 4- fosforiloxi- N, N- dimeltriptamina, y la psilocina 4- hidroxiloxi- N, Ndimeltriptamina (Hofmann, 1958).

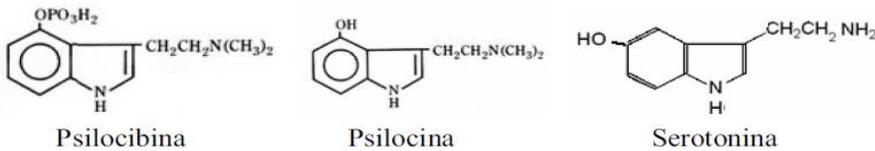


Figura 5. Estructura química de la psilocibina, psilocina y su relación con la serotonina

La psilocibina y la psilocina son los principales metabolitos producto de la degradación de aminoácidos triptamínicos que son de naturaleza psicotrópica 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 y Hofmann, 1983).

Después de la ingestión la psilocibina es desfosforilada y convertida en psilocina, que produce a continuación el efecto enteógeno, siempre y cuando sean dosis superiores a los 5 mg. La psilocibina actúa rápidamente tras la ingestión y los efectos se manifiestan pasados unos 30 minutos, con una duración total entre 3 y 6 horas según la dosis. El efecto es muy similar al del LSD (Shultes y Hofmann, 1983).

1.5. CULTIVO DE *Psilocybe* sp.

El primer cultivo exitoso de hongos de este género lo realizaron los micólogos, R. Heim y R. Cailleuex en los años 50, logrando obtener fructificaciones de algunas especies bajo condiciones

estériles, en macetas con composta dentro de invernaderos. Los trabajos de Zenteno y Herrera (1958), Ulloa (1967), Duvoboy y Herrera (1967) 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. Los trabajos de Pollock (1977) y las técnicas de Stamets y Chilton (1983) abordan diversas técnicas enfocadas al cultivo, que son utilizadas para producir hongos comestibles a gran escala y siguen aportando resultados significativos en la industria alimenticia, así como en la micología y biotecnología. Estos estudios han permitido mejorar las técnicas empleadas para el cultivo, como lo es la esterilización que es un factor básico e indispensable para el cultivo y la fructificación de hongos.

1.6. MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo se pueden clasificar en dos: sintéticos y naturales. Los medios de cultivo sintéticos están hechos con base en agar, carbohidratos como lo son la 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, son sustratos que se producen mediante la acción de factores físico-biológicos como la temperatura, el agua y la acción de otros hongos.

También podemos encontrar los medios de cultivo naturales no compostados, estos medios utilizan desechos agroindustriales en forma de paja, granos y cereales (trigo, sorgo, cebada, maíz, etc.). 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 y Chilton ,1983; Pollock, 1977).

1.7. 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 crecimiento en una forma adecuada. El micelio del hongo es la etapa más abundante de su ciclo y se extiende por el sustrato sin ser visto a simple vista. A su paso, el micelio degrada la materia orgánica e integra en sus células los compuestos nutritivos necesarios para su crecimiento, al igual que interaccionan con micelios de la misma especie mediante sistemas de reconocimiento moleculares, específicos de cada especie (Ingold, 1993). *P. cubensis* es la especie que más se adapta a las condiciones del laboratorio, a una temperatura de 21 a 25 °C, en un medio ácido (pH 5.5) y en condiciones de luz natural (Zenteno y Herrera, 1958).

2. ANTECEDENTES

La costumbre de ingerir hongos alucinógenos se conserva desde tiempos antiguos, según las investigaciones de Wasson, los hongos son motivo de adoración y respeto.

Ante el hecho de que *P. cubensis* es uno de los hongos más fáciles de cultivar y debido a la presencia de psilocibina y psilocina se ha dado cabida a la realización de estudios para evaluar el potencial farmacológico de estas sustancias. En los años 60 la psilocibina fue utilizada en la investigación experimental de las enfermedades mentales y en psicoterapia (Metzner, 2005). Los trabajos químicos sobre los hongos alucinógenos mexicanos fueron iniciados en 1939 por Santesson según Reko, en dicho trabajo afirma haber aislado el principio activo de tales hongos. La psilocybina se ha experimentado sobre enfermos mentales en la Facultad de Medicina de París (Delay *et al.*, 1958). Según Heim y Wasson probaron su acción psico-fisiológica con resultados muy sobresalientes.

Existen investigaciones recientes en las que se autorizó el uso de la psilocibina en humanos, una de las más relevantes es la de Moreno, (2006) quien investigó el uso de la psilocibina en el tratamiento del desorden Obsesivo-Compulsivo (OCD), en la Universidad de Arizona, Tucson, EE. UU. Sus resultados indican que, en un ambiente clínico controlado, la psilocibina resulta ser un fármaco seguro para tratar sujetos con COD.

Hoy día, la psilocibina está siendo ampliamente utilizada en estudios con humanos, debido a su relativa seguridad, una moderada y larga duración, una buena absorción después de su administración oral (Johnson *et al.*, 2008). Zenteno y Herrera, (1958) del instituto de Biología de la UNAM han desarrollado el cultivo sobre agar con extracto de malta, micelios de cuatro especies de *Psilocybe* entre ellos la especie *cubensis*, las técnicas empleadas no son más que una modificación de las que se siguen en el cultivo de los hongos comestibles. Los autores han logrado desarrollar sobre agar con extracto de malta el micelio de cuatro especies.

Los trabajos de Pollok (1977) y los de Stamets y Chilton (1983), abordan diversas técnicas enfocadas para el cultivo de este género de hongos, que son ampliamente utilizadas para producirlos en grandes proporciones.

Oss y Oeric, (1992) son autores del manual denominado *Psilocybin Magic Mushroom Grower's Guide* el cual contiene información sobre la cultivación de *Psilocybe cubensis*; por otro lado, Adam Gottlieb (1997) es autor del manual *Psilocybin Production* en el cual explica la manera en que se puede llevar a cabo el cultivo de cualquier especie de hongo que contenga psilocibina

Piña-Guzmán y Nieto-Monteros (2015) su estudio sobre la utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (*Pleurotus* spp.) y los residuos lignocelulósicos utilizados como lo son trigo, arroz, cebada, maíz, sorgo, entre otros y menciona la eficiencia biológica de estos sustratos. Se ha evaluado el triptófano en la producción de psilocibina en el cultivo sumergido de especies de *Psilocybe* con resultados prometedores (Giraldo, 2015).

2.1. ASERRÍN DE ENCINO

Esta planta pertenece al género *Quercus*. Se han reportado de 135 y 350 especies en México distribuidas principalmente en el hemisferio norte. La distribución del género *Quercus* proviene de regiones montañosas de clima templado (Chávez, 1995).

Es un árbol de hasta 30 m de altura con copa amarilla y redondeada, un tronco que se ramifica, la corteza presenta fisuras profundas, produce frutos y semillas (Figura 6 A).

El aserrín de encino tiene un uso muy variado ya que se utiliza como fuente de alimento en borregos (Guerra *et al.*,2010). También es utilizado en la producción de hongos utilizando residuos agroforestales (Romero- Arenas *et al.*,2015).

2.2. CAZAHUATE

Los árboles del género *Ipomea* se conocen como árbol de cazahuate, el ambiente donde se desarrolla es el bosque tropical caducifolio (Alcántar *et al.*, 2012).

El cazahuate es un árbol de ramificaciones densas y delgadas, tronco sinuoso de color oscuro que crece a 5-10 m. La copa extensa en forma de paraguas u ovoide, tiende a perder el follaje anualmente. Es un árbol de crecimiento rápido, de dos a tres metros por año, con un diámetro de tronco de 50 cm en plantas adultas (Figura 6 B). La corteza de textura áspera presenta variación de coloración entre gris y marrón (Carranza, 2008).

El cazahuate es considerado una planta medicinal y se menciona que la cocción de la madera es usada durante el baño para remediar la parálisis. Las cenizas son considerados excelentes para hacer jabón en Guatemala, y las vacas comen las cenizas en sustitución de sal, empleadas jabón para lavar ropa. También se atribuye actividad insecticida (Marentes, 2004).

2.3. CASCARA DE CACAHUATE

La semilla de un arbusto leguminoso llamado *Arachis hypogea*; es decir, se trata de una legumbre (Figura 6 C). Se caracteriza por desarrollarse bajo tierra, pues el tallo de la flor, en cierto momento de la maduración, se curva hacia abajo y empuja contra el suelo a la delgada cáscara leñosa hasta enterrarla a unos cinco centímetros de profundidad (Alcántar *et al.*, 2012).

El principal uso de la cáscara es como combustible de calderas. Se emplean quemadores especiales para reducir la cantidad de humo y cenizas que genera la combustión. Se emplea también como alimento de ganado particularmente porcino, indigesto y sin valor proteico; como camada de aves de corral; como medio para cultivo de hongos, vehículo para pesticidas y fertilizantes; y algunos usos similares a la viruta de madera, tales como protección de plantas (Arguello *et al.*, 2005).

2.4. HOJA DE MAÍZ

La planta de maíz (*Zea mays*) proviene de la familia de las gramíneas. El tallo es erecto, de elevada longitud puede alcanzar 4 metros de altura, es robusto y sin ramificaciones (Figura 6 D). Las hojas son largas de gran tamaño, lanceoladas, alternas, se encuentran abrazadas al tallo y por el haz presentan vellosidades, las hojas son afiladas y cortantes (Reyes, 1990).

Los nativos norteamericanos han utilizado hojas para diferentes artesanías desde alrededor de 2500 A.C., y algunas de estas prácticas se siguen realizando hoy en día, de tal suerte que estas hojas pueden ser utilizadas en la elaboración de alimentos, té medicinal, artesanías, incluso ceniza de estas hojas pudiera ser utilizada como material puzolánico en sustitución parcial del cemento a emplear en obras de construcción (Paliwal, 2001).

2.5. OLOTE DE MAÍZ

El olote del maíz (*Zea mays*) se encuentra entre las fuentes de recursos no maderables con un alto contenido de xilanas, por lo que ha sido considerado de interés como fuente alternativa de diferentes compuestos químicos de interés comercial o industrial (Figura 6 E).

El olote es la parte central de la mazorca de maíz una vez que ha perdido los granos, tiene un gran uso como biocombustible y como alimento para los animales (CIMMYT, 1995). Ha sido considerado de interés como fuente alternativa de diferentes compuestos químicos de interés comercial o industrial, entre otras fuentes de biomasa (Córdoba *et al.*, 2010).

2.6. PAJA DE TRIGO

El trigo pertenece al género *Triticum*; la palabra trigo proviene del latín *Triticum* cuyo significado es quebrado, triturado o trillado y hace referencia al proceso que se hace para separar semillas de su cascarilla (Juárez *et al.*, 2014).

Es una planta con semillas comestibles, es necesario trillar para ser consumido. Tiene una raíz con muchas ramificaciones. Un tallo con seis nudos alcanzando los 2 m de altura, hojas alargadas, inflorescencias y granos (Figura 6 F).

La paja de trigo es utilizada como alimento animal, también dentro de los sistemas de producción ganadera, una alternativa es su uso para la producción de hongos como lo es *Pleurotus ostreatus* (Lamas, 1985).

2.7. RALLADURA DE COCO

La planta cocotera lleva su nombre científico de *Cocos nucifera* proviene de la familia Arecaceae, mide 30 m de altura, sus hojas miden 3 m de largo; su fruto, el coco es la semilla más grande que existe (Figura 6 G). La fibra de coco es un sustrato orgánico, 100% natural y renovable, presenta una excelente capacidad de retención de agua (Mora *et al.*, 2018).

La ralladura de coco es utilizada principalmente en la gastronomía para la elaboración de postres y harinas, puede ser utilizado para la producción de hongos comestible (Bernabé, 1993).

2.8. RASTROJO DE MAÍZ

El maíz *Zea Mays* es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. El maíz es un cereal nativo de América, el maíz es una planta de tallo simple, erecto de 2 a 4 metros (Figura 6 H), presenta nudos, las hojas envuelven al tallo, raíces fibrosas, flores, inflorescencias llamadas mazorcas con granos y pelos de elote (Reyes, 1990).

Rastrojo de maíz se emplea como alimento para ganado, protección del suelo, en compostas y para realizar análisis en hongos comestibles (Vega, 2012).

2.9. SALVADO DE TRIGO

El salvado de trigo es la capa compuesta de pericarpio, la testa y capa aleurona. El pericarpio compuesto por carbohidratos no almidonosos que se originan en las paredes celulares. La testa puede contener carbohidratos no almidonosos y pigmentos fenólicos (Figura 6 I). La capa aleurona tiene relativamente alto contenido de proteínas, lípidos, minerales, vitaminas y enzimas, como contenido celular (Wilson *et al.*, 2000).

Es utilizado en la producción del hongo *Shiitake* (Romero- Arenas, 2015), en la elaboración de pan y harinas, para tratar problemas de salud como el estreñimiento.

2.10. VIRUTA DE CEDRO

El género del *Cedrus* se localiza en ecosistemas húmedos como bosque tropical perennifolio, bosque tropical subcaducifolio y bosque mesófilo de montaña, tiene uno maderable, medicinal, aromatizante, artesanal y en combustible (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Es un árbol caducifolio de 35 metros, presenta una copa grande, hojas de 4.5 a 14 cm de largo por 2 a 4.5 cm de ancho, con un tronco recto. Con una corteza fisurada, presenta flores y frutos (Figura 6 J).

Viruta de cedro se hizo popular como materiales para camas de mascotas porque son buenos para controlar el olor y tienen algunas propiedades insecticidas naturales (matan o repelen insectos como los piojos, especialmente las astillas de cedro); en el área agroindustrial se ha utilizado en la evaluación de mezclas para sustratos y producción de hongos comestibles (Bañuelos- Valenzuela, 2016).

2.11. VIRUTA DE PINO

Los pinos del género *Pinus* de México son diferentes, se pueden encontrar en ambientes húmedos y zonas semiáridas. Los pinos se utilizan por el hombre para la fabricación de productos como la madera, la pulpa para papel y resina (Juárez, 2000). Los pinos son un grupo de plantas vasculares con semillas, tienen características morfológicas evidentes que son presencia de semillas desnudas, en los pinos las semillas se desarrollan en conos, tienen un tallo leñoso, cuentan con la capacidad de almacenar agua en tallos y hojas (Sánchez, 1993).

Al ser un residuo de la industria forestal (Figura 6 K), es utilizado como una estrategia para la producción de hongos, pero también se utiliza localmente para producir composta, como fertilizantes en huertas de aguacate, y como fuente de energía en ladrilleras y en la caldera de la planta resinera (García *et al.*, 2012).



Figura 6. Sustratos seleccionados : A) Aserrín de encino B) Cazahuate, C) Cascara de cacahuate, D) Hoja de maíz, E) Olote de maíz, F) Paja de trigo, G) Ralladura de coco, H) Rastrojo de maíz, I) Salvado de trigo, J) Viruta de cedro, K) Viruta de pino.

2.12. LIGNINA Y CELULOSA

La celulosa es un componente mayoritario de la madera y otras fibras vegetales, cadenas poliméricas que al ser hidrolizadas liberan unidades de glucosa. Asociadas con las fibras celulósicas hay hemicelulosas, que son polímeros de azúcares distintos a la glucosa, básicamente xilosas y manosas (Eyzaguirre, 2000). La lignina, que es el segundo compuesto regenerable más abundante en la Tierra, es el constituyente intercelular incrustante de las células fibrosas de los vegetales, se concentra en la lámina media y funciona prácticamente como relleno para impartir rigidez. Los organismos más eficientes como degradadores de la lignina son los “hongos de la pudrición blanca” (Higuchi, 1990).

En el 2008, Morán *et al.*, señala que la composición de los residuos agroindustriales generalmente son 60 –80 % de celulosa y hemicelulosa, y 5 –20 % de lignina

A continuación, se muestra la cantidad de lignina y celulosa que contienen los sustratos a evaluar (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de lignina y celulosa en cada sustrato evaluado

| SUSTRATO | LIGNINA % | CELULOSA % |
|----------------------|-----------|------------|
| Aserrín de encino | 24 | 40 |
| Cazahuate | 18 | 32 |
| Cáscara de cacahuate | 41.3 | 46.5 |
| Hoja de maíz | 21 | 33 |
| Olote de maíz | 18.7 | 37.69 |
| Paja de trigo | 16.85 | 35.8 |
| Ralladura de coco | 15 | 25 |
| Rastrojo de maíz | 18.59 | 37.69 |
| Salvado de trigo | 12.5 | 3 |
| Viruta de cedro | 20 | 35 |
| Viruta de pino | 25.9 | 41.7 |

3. JUSTIFICACIÓN

Dado que *P. cubensis* contiene como principios activos psilocibina y psilocina surgió la necesidad de explorar su cultivo sobre diferentes sustratos para en un futuro realizar investigaciones ya sea en el área farmacológica o neurológica para tratar problemas relacionados con la depresión con lo demuestran algunos autores (Moreno, 2006; Metzner, 2005). En el siguiente estudio se pretende evaluar la producción sobre diferentes sustratos lignocelulósicos que demuestren ser los óptimos para obtener una cosecha competitiva, por lo anterior mencionado se busca una disminución de los costos de producción mediante el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos disponibles, ya que la cantidad de materiales orgánicos de desecho son una fuente de contaminación ambiental.

4. HIPÓTESIS

Psilocybe cubensis presentará un patrón de producción diferente en cada sustrato lignocelulósicos.

5. OBJETIVO GENERAL

Obtener el patrón de producción de *Psilocybe cubensis* en diferentes sustratos

5.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Medir la velocidad de crecimiento y la colonización total de agar de dextrosa y papa (PDA) a nivel de caja Petri.
- Evaluar el crecimiento de *Psilocybe cubensis* en los diferentes sustratos con los siguientes parámetros: Incubación de la caja en días, velocidad de crecimiento del micelio y caracterización morfológica de este.
- Determinar el patrón de producción de *P. cubensis* a nivel de bolsa de cultivo, determinando: El inicio de la fructificación en días, el ciclo de cultivo, el número de cosechas, la eficiencia biológica (%), la tasa de producción y las características fenotípicas de los hongos cosechados.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

En la figura 7 se muestra la estrategia global del proyecto realizado.

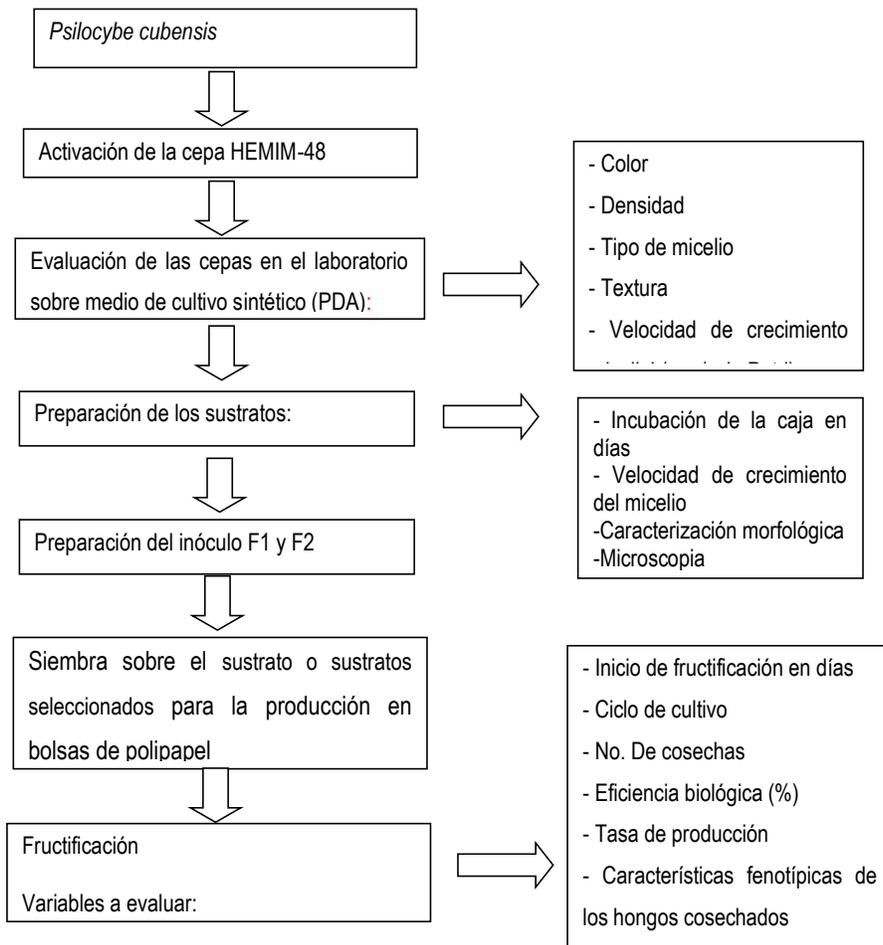


Figura 7. Diagrama de flujo

6.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Las esporas de *Psilocybe cubensis* fueron activadas de la colección de esporadas almacenadas en refrigeración depositadas en el Herbario Micológico de Morelos, del Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la clave HEMIM- 148. Se adquirió una cepa comercial de *P. cubensis* para usarse de testigo en la fase de cultivo sólido en bolsa registrada con la clave HEMIM-149

6.2. AISLAMIENTO MULTIESPÓRICO

El micelio de un hongo se puede obtener mediante su aislamiento, este puede realizarse por medio del contexto del hongo (fragmento del hongo) o por medio de las esporas como es nuestro caso.

Para llevar a cabo este aislamiento, se contó con una esporada del hongo. La esporada se obtuvo colocando el sombrero del hongo con las láminas hacia abajo sobre papel filtro por un tiempo de 6 a 8 h. Transcurrido el tiempo, se retiró el hongo del papel filtro, quedando este impreso con las esporas. Una vez obtenida la espора sobre el papel, con unas tijeras estériles se cortó un fragmento de aproximadamente 1 cm², después se sumergió en 100 mL de agua estéril fría, agitándose para que las esporas se disolvieran en el líquido de esta disolución, con ayuda de una pipeta, se tomó 0.5 mL y se colocó en cajas Petri con medio de cultivo. La caja se movió ligeramente para distribuir homogéneamente el agua con las esporas en todo el medio. Las cajas se incubaron entre 5 u 8 días después, se observó el desarrollo del micelio (Gaitán – Hernández *et al.*, 2002).

Todo este proceso se realizó en condiciones de esterilidad absoluta para así evitar su contaminación.

6.3. ANÁLISIS DE *P. cubensis* SOBRE PDA

La cepa se sembró en cajas Petri de 90 mm de diámetro con 20 mL de PDA (papa dextrosa agar), con el medio previamente esterilizado; y se mantuvo en obscuridad a 28 °C durante 15 días, posteriormente la velocidad de crecimiento micelial se determinó midiendo con un vernier el

número de milímetros avanzados diariamente (cada 24 h) por la colonia a partir del inóculo de 5 mm de diámetro colocado en la parte central de la caja Petri (Martínez-Carrera, 1984). La caracterización morfológica del micelio de la cepa se realizó considerando el color, la textura, micelio aéreo y la densidad durante su desarrollo sobre PDA.

6.4. EVALUACIÓN DE *P. cubensis* EN DIFERENTES SUSTRATOS EN CAJA PETRI

Cada uno de los diferentes sustratos de aserrín de encino, cacahuete, cáscara de cacahuete, hoja de maíz, olote de maíz, paja de trigo, ralladura de coco, rastrojo de maíz, salvado de trigo, viruta de cedro y viruta de pino; se trituraron en pequeños fragmentos, esto para la reducción del tamaño de partícula y poder llevar a cabo la inoculación de la cepa HEMIM- 48 en cajas Petri de 90 mm de diámetro. Los sustratos se colocaron en las cajas Petri y estas dentro de bolsas de polipapel; para llevar a cabo la esterilización del sustrato se ocuparon ollas de presión a una temperatura de 121 °C durante 2 h (Gutiérrez, 2018).

6.5. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL MICELIO

La caracterización morfológica del micelio de la cepa HEMIM-48, se realizó considerando, la textura, densidad y el tipo de micelio (aéreo o rastroso) (Acosta-Urdapilleta *et al.*, 2016).

6.6. VELOCIDAD DE CRECIMIENTO LINEAL MICELIAL

Para determinar la velocidad de crecimiento, la cepa se sembró cinco veces, en cajas Petri de 90 mm de diámetro con 20 ml de PDA, se mantuvo en obscuridad a 28 °C, la velocidad de crecimiento lineal micelial se determinó midiendo con un vernier el número de milímetros avanzados cada 24 y 48 horas por la colonia a partir del inóculo de 4 milímetros de diámetro que se colocó en la parte central de la caja Petri.

6.7 ELABORACIÓN DEL INÓCULO

La preparación del inóculo o semilla fue a base de granos de trigo, estos se lavaron dejándolos lo más limpio posible, en agua previamente hervida se agregó el trigo dejándolo en el agua

durante diez minutos. Una vez pasados los diez minutos se drenó el exceso de humedad y se agregaron 5g de cal y 20g de yeso por Kg de trigo seco. Posteriormente, se introdujo una cantidad aproximada de 300g de semilla de trigo en frascos de vidrio previamente limpios, el material se colocó en ollas de presión para llevar a cabo su esterilización a 15 libras de presión durante 2 h. Una vez esterilizadas se esperó a que estas se mantuvieran a temperatura ambiente. Una vez esterilizada la semilla, la producción de masters se llevó a cabo mediante el micelio desarrollado sobre el medio de cultivo en cajas Petri, la cepa HEMIM-48 se cortó en fragmentos, y con una aguja de disección se tomó uno de los cortes y se colocó sobre la semilla contenida en los frascos de vidrio para así obtener a lo que nosotros conocemos como inóculo primario (Guzmán *et al.*, 1993).

6.8. PREPARACIÓN DE LOS SUSTRATOS EVALUADOS

Los sustratos evaluados fueron: aserrín de encino, cacahuate, cáscara de cacahuate, hoja de maíz, olote de maíz, paja de trigo, ralladura de coco, rastrojo de maíz, salvado de trigo, viruta de cedro y viruta de pino. A cada sustrato por separado se realizaron los siguientes pasos de Acosta-Urdapilleta *et al.*, (2010).

Hidratación: consistió en sumergir en tinas de plástico los sustratos por separado, en agua caliente durante 30 minutos, esto para adelgazar la fibra del sustrato.

Drenado: el drenado se llevó a cabo en coladeras de plástico por 30 minutos en cada uno de los sustratos, hasta que el sustrato ya no escurra agua.

Pesado y empacado: los sustratos fueron empacados en bolsas de polipropileno, una vez empacados son pesados en una balanza granataria y al final son sellados con una liga.

Esterilización y enfriado: los sustratos se esterilizaron a 121 °C durante dos horas, en ollas de presión, posteriormente las bolsas se retiran y se deja hasta que alcanza una temperatura ambiente.

6.9. EVALUACIÓN DEL PATRÓN DE PRODUCCIÓN EN SUSTRATO SÓLIDO

En este proceso se evaluaron las siguientes variables:

1. Aparición de la primera cosecha.
2. Tiempo de cosecha en días
3. Ciclo del cultivo (periodo de colonización del sustrato más el periodo de fructificación en días).
4. Características morfológicas de los hongos cosechados: forma, textura, consistencia, diámetro (máximo y mínimo del pileo (cm) durante las cosechas), textura y consistencia del estípite.
5. Eficiencia biológica (Tschierpe y Hartmann, 1977).

Determinándose con la siguiente fórmula:

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

Tasa de producción se calculó de acuerdo con lo propuesto de Royse (1989) con base en la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de producción (TP)} = \frac{EB}{CC}$$

EB= Eficiencia biológica

CC= Ciclo de cultivo (período de colonización del sustrato+ período de fructificación en días)

6.10. REGISTRO DE PARÁMETROS AMBIENTALES EN EL MÓDULO DE FRUCTIFICACIÓN

Los parámetros ambientales se registraron cada 24 horas 2 veces al día, en la mañana y por la tarde, para obtenerlos se rego el módulo de fructificación y registramos la temperatura en grados centígrados (°C) humedad relativa en porcentaje (%) con ayuda de un higrómetro (Figura 8).



Figura 8. Higrómetro

6.11. FRUCTUFICACIÓN

Para llevar a cabo la fructificación se adquirieron 3 contenedores transparentes con sujetadores para cerrar, las medidas de cada contenedor fueron las siguiente: 39 cm de ancho x 54 cm de largo x 27 cm de altura. A cada contenedor se le coloco encima una malla de tela para que así el hongo pudiera respirar y no fuera atacado por mosquitos u otros organismos.



Figura 9. Contenedores donde se llevó a cabo la fructificación

6.12. MICROSCOPIA

Mediante un microscopio óptico se pudo reconocer algunas de las características microscópicas de los ejemplares previamente cosechados y en un estado seco, se observa el tamaño y formas de las esporas, ya que estas son de gran ayuda para llevar a cabo la identificación de una especie.

7. RESULTADOS

7.1. EVALUACIÓN DE LA CEPA SOBRE MEDIO DE CULTIVO (PDA)

Se evaluó la cepa HEMIM-48 sobre el medio de cultivo PDA y se obtuvieron 5 cajas Petri, de las cuales se midió el crecimiento cada 24 y 48 horas en solo 4 cajas ya que 1 de ellas presentaron contaminación; se obtuvo un llenado total de la caja en 15 días. En la tabla 2 se muestra el crecimiento de estas.

Tabla 2. Crecimiento en medio de cultivo PDA

| Medio | Repeticiones | Días en cubrir la caja Petri |
|-------|--------------|------------------------------|
| PDA | R1 | 15 |
| | R2 | 15 |
| | R3 | 15 |
| | R4 | 15 |

R= Número de repeticiones

7.2. SUSTRATOS EVALUADOS

Para la cepa HEMIM-48 se evaluaron sustratos, en la tabla 3 se muestran los gramos de sustrato y el porcentaje de humedad de cada sustrato utilizado. El peso de sustrato utilizado por caja Petri varió de 25 g (correspondiente a olote de maíz) a 5 g para el T4 (hojas de maíz).

Tabla 3. Sustratos por evaluar para la siembra de *Psilocybe cubensis* con la cepa HEMIM- 48.

| Cepa | T | Sustrato | Peso húmedo en caja (g) | No. de repeticiones |
|-----------|-----|----------------------|-------------------------|---------------------|
| HEMIM- 48 | T1 | Aserrín de encino | 11 | 5 |
| | T2 | Cazahuate | 14 | 5 |
| | T3 | Cascara de cacahuate | 19 | 5 |
| | T4 | Hoja de maíz | 5 | 5 |
| | T5 | Olote de maíz | 25 | 5 |
| | T6 | Paja de trigo | 9.5 | 5 |
| | T7 | Ralladura de coco | 18 | 5 |
| | T8 | Rastrojo de maíz | 13 | 5 |
| | T9 | Salvado de trigo | 18 | 5 |
| | T10 | Viruta de cedro | 10 | 5 |
| | T11 | Viruta de pino | 8.5 | 5 |

A continuación, se muestran las imágenes de los diferentes sustratos (Figuras 10-19) tomadas a los A) 8, B) 15 y a los C) 27 días de evaluación las cuales sirvieron para poder tomar las características morfológicas del micelio y así mismo determinar la velocidad de crecimiento, en las Figuras 20-22 se logra apreciar el cubrimiento de las cajas Petri en algunos de los sustratos evaluados, estos se examinaron para descartar aquellos en los cuales el crecimiento fue nulo o no fue el óptimo.



Figura 10. Aserrín de encino

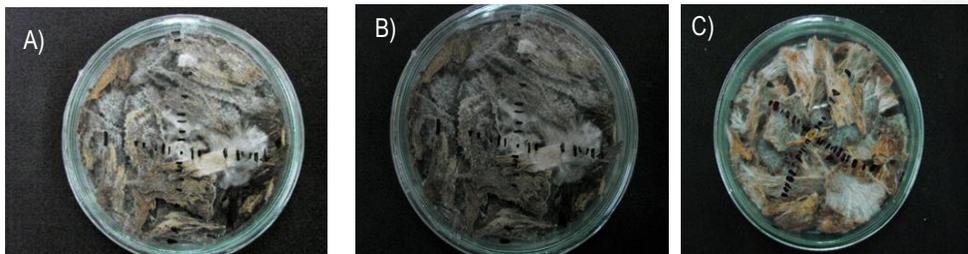


Figura 11. Cazahuate

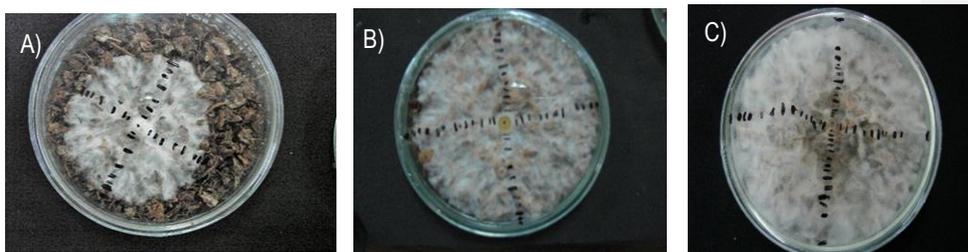


Figura 12. Cascara de cacahuete

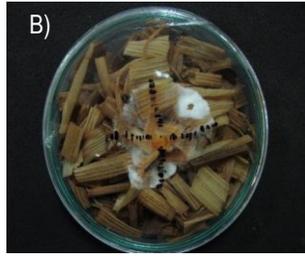


Figura 13. Hoja de maíz

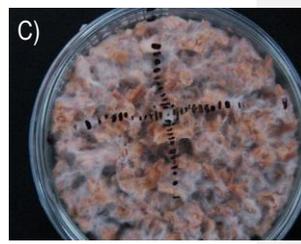
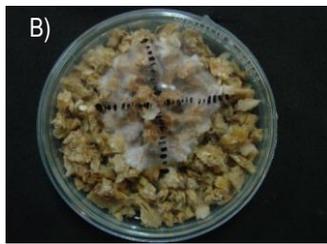
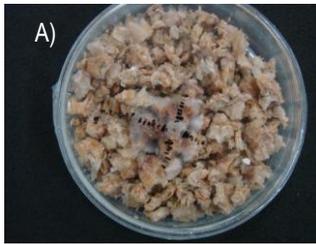


Figura 14. Olate de maíz

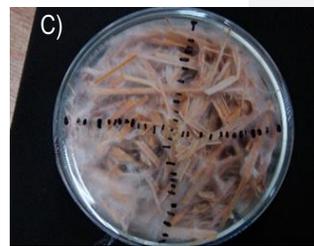
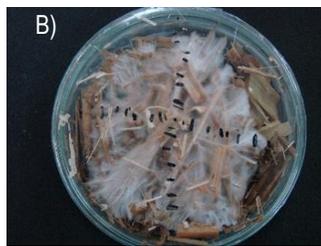


Figura 15. Paja de trigo

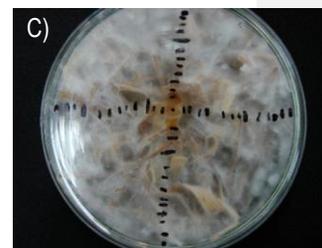


Figura 16. Rastrojo de maíz

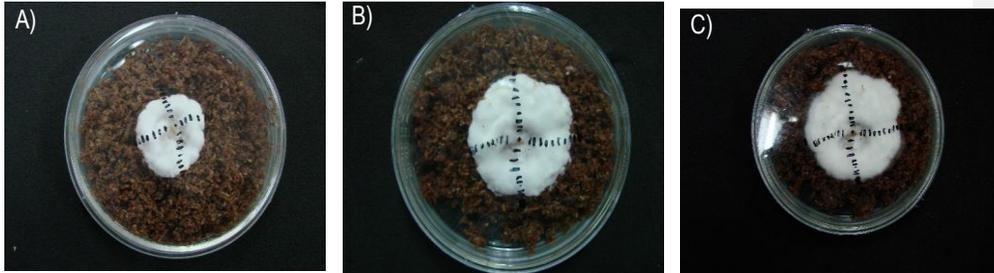


Figura 17. Salvado de trigo



Figura 18. Viruta de cedro



Figura 19. Viruta de pino



Figura 20. Muestra del crecimiento a los 8 días de evaluación



Figura 21. Crecimiento a los 15 días de evaluación



Figura 22. Crecimiento a los 27 días de evaluación donde se observa la colonización total de la mitad de las cajas

7.3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE MICELIO EN LA CEPA HEMIM-48

La cepa HEMIM-48 presentó un micelio aéreo, el color del micelio fue de amarillo a marrón sobre el olote de maíz, el micelio fue blanco en el resto de los sustratos y de una textura algodonosa en la mayoría de los sustratos evaluados. La densidad micelial varió de abundante, regular, escaso y nulo dependiendo del sustrato evaluado, la densidad abundante se presentó en la mayoría de los sustratos (50%), destacan la cascara de cacahuete y el rastrojo de maíz. La invasión total de la caja del sustrato por el micelio vario entre 17 días correspondiente a rastrojo de maíz a 42 días para el olote de maíz, destacan cáscara de cacahuete (T3), paja de maíz (T6) y rastrojo de maíz (T7) por ser los sustratos en los que más rápido creció el micelio (Tabla 4).

Tabla 4. Características morfológicas de *P. cubensis* de la cepa HEMIM-48 sobre diferentes sustratos midiendo diferentes parámetros.

| Cepa | Sustrato | Textura | Densidad | Agregaciones hifales | Tipo de micelio | Observaciones | Días en cubrir la caja Petri |
|-------------|----------|------------|-----------|----------------------|-----------------|---|------------------------------|
| HEMIM 48 | 1 | - | Nulo | - | Aéreo | No presento crecimiento en el sustrato | 0 |
| | 2 | Algodonoso | Abundante | - | Aéreo | 4 cajas se contaminaron | 20 |
| | 3 | Algodonoso | Nulo | - | - | | 18 |
| | 4 | Algodonoso | Regular | - | Aéreo | 4 cajas se rehidrataron, pero no se presentó crecimiento | 25 |
| | 5 | Algodonoso | Escaso | - | Aéreo | 1 caja no creció y el sustrato cambia a amarillo el otro a marrón cuando crece el micelio | 42 |
| | 6 | Algodonoso | Regular | - | Aéreo | Rehidratado | 27 |
| | 7 | Algodonoso | Abundante | - | Aéreo | 1 caja se contaminó | 29 |
| | 8 | Algodonoso | Abundante | - | Aéreo | | 17 |
| | 9 | Algodonoso | Abundante | - | Aéreo | | 42 |
| | 10 | Algodonoso | Escaso | - | Rastrero | Micelio muy poco denso y escaso | 0 |
| | 11 | - | Escaso | | - | Igual al sustrato 4 | 0 |

T= Tratamiento evaluado
(-) = No se observó crecimiento

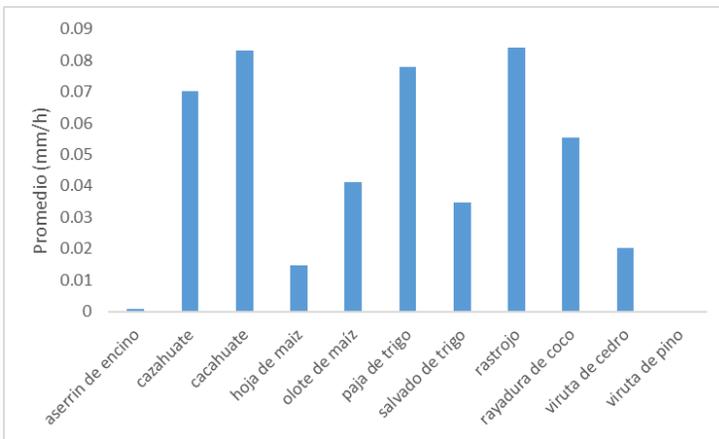
Comentado [R1]: poner que significa

7.4. VELOCIDAD DE CRECIMIENTO EN CADA SUSTRATO EVALUADO

Durante el experimento analizamos la velocidad de crecimiento de *P.cubensis* para poder seleccionar los sustratos óptimos para llevar a cabo el patrón de producción.

En la figura 23 se puede observar el promedio de crecimiento de cada sustrato, con los datos arrojados por la gráfica podemos optar por: el rastrojo de maíz que presenta un promedio de 0.08406 mm/h, la cascara de cacahuete con un promedio de 0.08316 mm/h y paja de trigo con 0.0778 mm/h, cacahuete con 0.07028 mm/h, fibra de coco 0.0555 mm/h, ya que estos son los sustratos en los que se mostró una velocidad de crecimiento mucho más veloz y eficaz; los sustratos que no se seleccionarían son: aserrín de encino con un promedio de 0.0009 mm/h, hoja de maíz con 0.01482 mm/h, viruta de cedro 0.02032 mm/h y por último viruta de pino con 0.0004 mm/h, ya que estos sustratos no demostraron un crecimiento vertiginoso o presentaron inconvenientes durante el experimento y esto puede deberse a las resinas.

Figura 23. Señala la velocidad de crecimiento de cada sustrato



7.5. PRODUCCIÓN DE SEMILLA

Se realizó en total 8kg de semilla para llevar a la cosecha de la cepa HEMIM-148 y cepa testigo de *P. cubensis* HEMIM-149, se obtuvieron 42 frascos y ninguno de estos resultó contaminado, el

micelio tardó en colonizar los frascos con granos de trigo 46 días (Fig. 24). De la F1 se obtuvieron 8 frascos y de la F2 42, teniendo un total de 50 frascos y 24 bolsas.

Los frascos de inóculo tanto de F1 como de la F2 se utilizaron para la siembra del hongo en los sustratos seleccionados.

7.6. SIEMBRA SOBRE SUSTRATOS SELECCIONADOS

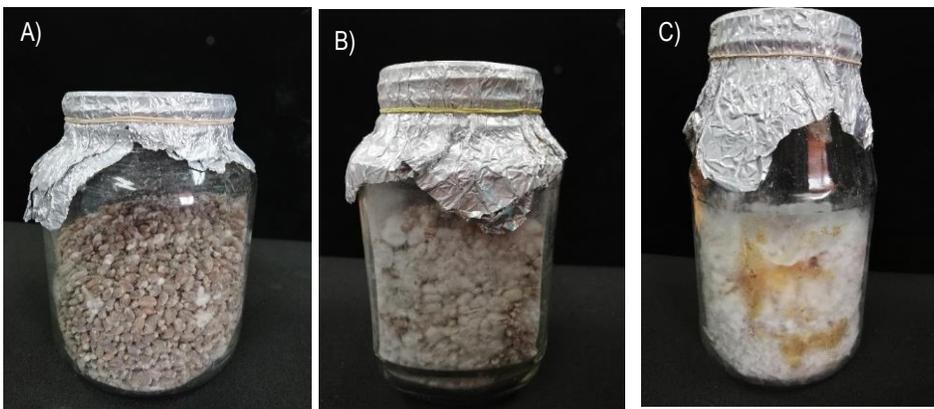


Figura 24. Producción del inóculo A) A los 7 días después de la siembra, B) A los 15 días, C) A los 46 días de siembra.

7.6. SIEMBRA SOBRE SUSTRATOS SELECCIONADOS

Se realizó la siembra sobre los siguientes sustratos: olote de maíz, fibra de coco y cascarilla de cacahuete, a cada sustrato se le añadió salvado de trigo; cada bolsa se esterilizó durante 2 h en la autoclave.

De cada sustrato se obtuvieron 8 bolsas, 4 bolsas correspondientes a la cepa HEMIM-148 y 4 a la cepa HEMIM-149 teniendo un total de 24 bolsas en la tabla 5 se muestra el peso de las bolsas que varía entre 450 g para el olote de maíz y 400 g para fibra de coco y cascarilla de cacahuete, la fecha de siembra y los brotes que presentaron (Figura 25).

Mientras que en la tabla 6 los resultados que se muestran son el peso húmedo, peso seco y humedad de cada sustrato.

Tabla 5. Muestra los datos de las bolsas

| Sustrato | No. Bolsa | Peso Humedo(g) | Cepa | Fecha de siembra | Brotos |
|---------------------------------|-----------|----------------|------|---------------------|-------------|
| Olote de maíz (1) | 1 | 450 | 148 | Septiembre 21, 2020 | 15-oct-20 |
| | 2 | 450 | 148 | Septiembre 21, 2020 | 28-oct-20 |
| | 3 | 450 | 148 | Septiembre 21, 2020 | 28-oct-20 |
| | 4 | 450 | 148 | Septiembre 21, 2020 | 31-oct-20 |
| | 5 | 450 | 149 | Septiembre 21, 2020 | 15-oct-20 |
| | 6 | 450 | 149 | Septiembre 21, 2020 | 15-oct-20 |
| | 7 | 450 | 149 | Septiembre 21, 2020 | 20-oct-20 |
| | 8 | 450 | 149 | Septiembre 21, 2020 | 20-oct-20 |
| Fibra de coco (2) | 1 | 400 | 148 | septiembre 21,2020 | 15-oct-20 |
| | 2 | 400 | 148 | septiembre 21,2020 | 15-oct-20 |
| | 3 | 400 | 148 | septiembre 21,2020 | 21-oct-20 |
| | 4 | 400 | 148 | septiembre 21,2020 | 23-oct-20 |
| | 5 | 400 | 149 | septiembre 21,2020 | 20-oct-20 |
| | 6 | 400 | 149 | septiembre 21,2020 | 21-oct-20 |
| | 7 | 400 | 149 | septiembre 21,2020 | |
| | 8 | 400 | 149 | septiembre 21,2020 | CONTAMINADA |
| Cascara de cacahuate (3) | 1 | 400 | 148 | septiembre 24, 2020 | 20-oct-20 |
| | 2 | 400 | 148 | septiembre 24, 2020 | 20-oct-20 |
| | 3 | 400 | 148 | septiembre 24, 2020 | 20-oct-20 |
| | 4 | 400 | 148 | septiembre 24, 2020 | 23-oct |
| | 5 | 400 | 149 | septiembre 24, 2020 | 24-oct-20 |
| | 6 | 400 | 149 | septiembre 24, 2020 | 15-oct-20 |
| | 7 | 400 | 149 | septiembre 24, 2020 | 24-oct-20 |
| | 8 | 400 | 149 | septiembre 24, 2020 | 24-oct-20 |
| Mezcla olote+ coco | 1 | 1200 | 149 | septiembre 24,2020 | 28-oct-20 |

Tabla 6. Datos de humedad de los sustratos

| Sustrato * | Peso humedo (g) | Peso seco (g) | %Humedad |
|-------------------|-----------------|---------------|----------|
| (1) Olote de maíz | 100 | 29.4 | 71% |
| (2) Fibra de coco | 110 | 28.9 | 74% |
| (3) cacahuate | 67.5 | 25 | 63% |



Figura 25. Brotes en bolsa de cultivo

7.7 FRUCTIFICACIÓN

La fructificación se llevó a cabo en contenedores de plástico como se muestra en la figura 26, se ocupó un total de 3 cajas, una para cada sustrato.

Se mantuvo una temperatura entre 24 y 28 °C, las cajas se regaron 3 veces al día con un atomizador para poder mantener la humedad.



Figura 26. Contenedores donde se llevó a cabo la fructificación

7.8 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

La descripción de las características morfológicas de los hongos cosechados se realizó con ejemplares recién cosechados, ya que si se trataba de hacer con ejemplares no frescos no se alcanzaba a describir de una forma precisa ya que los hongos van perdiendo su forma.

Se aprecian diferencias notables entre las dos cepas de *Psilocybe*, tanto en el tipo de sombrero, color, ornamentación, láminas, esporas, himenio, base del pie y color de este tal y como se logra apreciar en la tabla 7 y la figura 27 y 28.

Tabla 7. Características morfológicas de los hongos cosechados en fresco

| 148 | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|---------------------------|---------------|---------------------|-----------|--------------------|-------------|---------|----------------------------------|---------------|---------------|-------------|---|
| Sombrero | Color | Ornamentación | Margen del sombrero | Himelio | Color | Láminas | Aristas | Estipite | Ornamentación | Anillo | Base de pie | Color |
| Acampanado convexo | Pardo | Liso | Liso | Apretado | Marrón Violeta | Adherentes | Lisas | Centrico, cilíndrico y recto | Estrias | Sin presencia | Atenuado | Verde azulado |
| Acampanado convexo | Pardo | Liso | Liso | Apretado | Marrón Violeta | Adherentes | Lisas | Centrico, cilíndrico y cuerveado | Estrias | Membranoso | Atenuado | Verde azulado |
| Plano | Pardo | Liso | Liso | Apretado | Marrón Violeta | Adherentes | Lisas | Centrico, cilíndrico y cespitoso | Estrias | Sin presencia | Atenuado | Verde azulado |
| Plano | Pardo | Liso | Liso | Apretado | Marrón Violeta | Adherentes | Lisas | Centrico, cilíndrico y cuerveado | Estrias | Sin presencia | Atenuado | Verde azulado |
| Plano | Pardo | Liso | Liso | Apretado | Marrón Violeta | Adherentes | Lisas | Centrico, cilíndrico y recto | Estrias | Sin presencia | Atenuado | Verde azulado |
| Acampanado convexo | Pardo | Liso | Liso | Apretado | Marrón Violeta | Adherentes | Lisas | Centrico, cilíndrico y cuerveado | Estrias | Sin presencia | Atenuado | Verde azulado |
| 149 | | | | | | | | | | | | |
| Memelonado | Pardo con manchas blancas | Estrias | Liso | Separadas | Blanca Amarillento | Recurrentes | Lisas | Cilindrico, centrico y cespitoso | Estrias | Membranoso | Atenuado | Estipite amarillento base verde azulado |
| Memelonado Hemigloboso | Pardo con manchas blancas | Estrias | Liso | Separadas | | Recurrentes | Lisas | Cilindrico, centrico y sinudo | Estrias | Sin presencia | Ensanchado | Estipite amarillento base verde azulado |
| Memelonado Plano | Pardo con manchas blancas | Estrias | Liso | Separadas | | Recurrentes | Lisas | Cilindrico, centrico y cespitoso | Estrias | Membranoso | Ensanchado | Estipite amarillento base verde azulado |
| Hemigloboso | Pardo con manchas blancas | Estrias | Liso | Separadas | | Recurrentes | Lisas | Cilindrico, centrico y recto | Estrias | Sin presencia | Ensanchado | Estipite amarillento base verde azulado |



Figura 27. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-148



Figura 28. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-149

7.9 MICROSCOPIA

Los resultados de la microscopia se obtuvieron realizando un pequeño corte en las láminas del hongo, esta se colocó en un portaobjetos y con ayuda de una aguja de disección se esparció, posteriormente se le agrego una gota de agua destilada y se cubrió con el cubreobjetos.

Las esporas de observaron con el objetivo 0.8 x el cual nos permitió observar las esporas de una mejor manera para así conseguir los siguientes resultados.

De la cepa HEMIM-148 (Figura 29) se tomaron las medidas de largo y ancho hasta obtener 60 datos, consecuentemente se sacó la moda del largo y ancho; así mismo de la cepa HEMIM-149 (Figura 30).

Las esporas de la cepa HEMIM-148 presenta las siguientes medidas: 8.8- 9.2-9.6 (-10)x 6-6.4 μm , y la cepa HEMIM-149 muestra lo siguiente: 8-8.8x4.8-5.6 μm .

Cabe mencionar que fue más difícil cuantificar las esporas de la cepa 149 ya que casi no presentó esporulación.

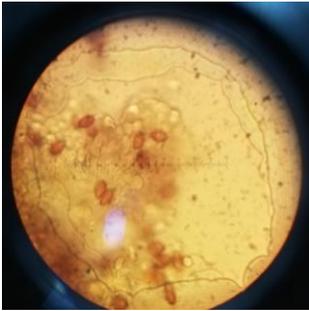


Figura 29. Esporas de la cepa HEMIM -148



Figura 30. Esporas de la cepa HEMIM-149

7.10. INICIO DE LA FRUCTIFICACIÓN, TIEMPO DE COSECHA Y CICLO DE CULTIVO

El periodo de incubación medio de la cepa HEMIM-148 en el olote de maíz es de 44 días mientras que en la cepa HEMIM-149 es de 36 días, en la fibra de coco 38 días para la cepa 148 y 37 días para la cepa 149 y para el cacahuate 35 días correspondientes a la cepa 148 y 38 para la cepa 149. El periodo de fructificación medio de la cepa 148 en olote de maíz es de 21 días y en la cepa 149 es de 26 días, para la fibra de coco es de 32 días para la cepa 148 y 26 días para la cepa 149, en el cacahuate es de 30 días para la cepa 148 y 21 días para la cepa 149. El ciclo de cultivo medio es de 56 días para la cepa 148 y 53 días para la cepa 149, en la fibra de coco es de 59 días en la cepa 148 y 46 días para la 149, en el cacahuate fue de 57 días para la cepa 148 y 149.

Tabla 8. Inicio de la fructificación, tiempo de cosecha y ciclo de cultivo de la cepa HEHMIM-148 y HEMIM-149

| Cepa | Sustrato | Brotos (Días) | 1ra Cosecha (Días) | Periodo de fructificacion (Días) | Ciclo de Cultivo (Días) |
|------|---------------|---------------|--------------------|----------------------------------|-------------------------|
| 148 | Olote de maiz | 24 | 38 | 45 | 69 |
| | | 37 | 43 | 12 | 49 |
| | | 37 | 41 | 10 | 47 |
| | | 40 | 48 | 17 | 57 |
| x | | 35 | 44 | 21 | 56 |
| 148 | Fibra de coco | 24 | 36 | 38 | 62 |
| | | 24 | 34 | 38 | 62 |
| | | 30 | 43 | 29 | 59 |
| | | 32 | 39 | 24 | 56 |
| x | | 27 | 38 | 32 | 58 |
| 148 | Cacahuate | 26 | 33 | 30 | 56 |
| | | 26 | 33 | 24 | 50 |
| | | 26 | 33 | 32 | 58 |
| | | 29 | 40 | 35 | 64 |
| x | | 27 | 35 | 30 | 57 |
| 149 | Olote de maiz | 24 | 38 | 22 | 46 |
| | | 24 | 32 | 28 | 52 |
| | | 29 | 37 | 27 | 56 |
| | | 29 | 37 | 28 | 57 |
| x | | 27 | 36 | 26 | 53 |
| 149 | Fibra de coco | 29 | 36 | 7 | 36 |
| | | 30 | 38 | 26 | 56 |
| | | - | - | - | - |
| | | - | - | - | - |
| x | | 30 | 37 | 17 | 46 |
| 149 | Cacahuate | 37 | 40 | 26 | 63 |
| | | 28 | 35 | 31 | 59 |
| | | 37 | 34 | 15 | 52 |
| | | 41 | 41 | 11 | 52 |
| x | | 36 | 38 | 21 | 57 |

7.11. TASA DE PRODUCCIÓN, EFICIENCIA BIOLÓGICA

La media de la Eficiencia biológica (EB %) para la cepa 148 sobre el olote de maíz fue de 150% mientras que para la cepa 149 fue de 143.1%, sobre la fibra de coco la media de EB fue de 213 para la cepa 148 y 61.5% para la cepa 149, la media de EB en el cacahuate fue de 145 para la cepa 148 y 142.2% para la cepa 149, indicándonos diferencia significativa en la fibra de coco.

La media de la Tasa de producción (TP) para la cepa 148 sobre el olote de maíz fue de 3 mientras que en la cepa 149 fue de 2.8, en la fibra de coco la cepa 148 presento una media de 3.6 mientras que la cepa 149 una media de 1.4, la media de TP sobre el cacahuate fue de 2.5 para la cepa 148 y 2.5 para la cepa 149, indicándonos nuevamente diferencia significativa en la fibra de coco y el olote de maíz pero no una diferencia notable entre la fibra de coco y cacahuate como se observa en la tabla 9.

Tabla 9. Eficiencia biológica y tasa de producción

| 148 | | | | | 149 | | | | |
|---------------|----------|------------------|-------|-----|---------------|-------|------------------|-------|------|
| Olote de maíz | Total | Ciclo de cultivo | EB % | TP | Olote de maíz | Total | Ciclo de cultivo | EB% | TP |
| | 257 | 69 | 196.9 | 2.9 | | 206 | 46 | 157.9 | 3.4 |
| | 156 | 49 | 119.5 | 2.4 | | 230 | 52 | 176.2 | 3.4 |
| | 130 | 47 | 99.6 | 2.1 | | 196 | 56 | 150.2 | 2.7 |
| | 242 | 57 | 185.4 | 3.3 | | 115 | 57 | 88.1 | 1.5 |
| x | 196 | 56 | 150 | 3 | x | 186 | 52.8 | 143.1 | 2.8 |
| Fibra de coco | 286 | 62 | 275.0 | 4.4 | Fibra de coco | 62 | 36 | 59.6 | 1.7 |
| | 254 | 62 | 244.2 | 3.9 | | 66 | 56 | 63.5 | 1.1 |
| | 158 | 59 | 151.9 | 2.6 | | - | - | | |
| | 190 | 56 | 182.7 | 3.3 | | - | - | | |
| | x | 222 | 60 | 213 | | 3.6 | x | 64 | 46 |
| Cacahuate | 180 | 56 | 121.6 | 2.2 | Cacahuate | 345 | 63 | 233.1 | 3.7 |
| | 148 | 50 | 100.0 | 2.0 | | 214 | 59 | 144.6 | 2.5 |
| | 263 | 58 | 177.7 | 3.1 | | 143 | 52 | 96.6 | 1.9 |
| | 269 | 64 | 181.8 | 2.8 | | 140 | 52 | 94.6 | 1.8 |
| | Promedio | 215 | 57 | 145 | | 2.5 | Promedio | 223 | 56.5 |

En la figura 31 se aprecia la temperatura de incubación a la cual, las bolsas estuvieron sujetas de 19 °C a 26.5 °C, también se observa la humedad relativa durante el ciclo de cultivo, la humedad relativa la cual vario entre 70 y 90 %.

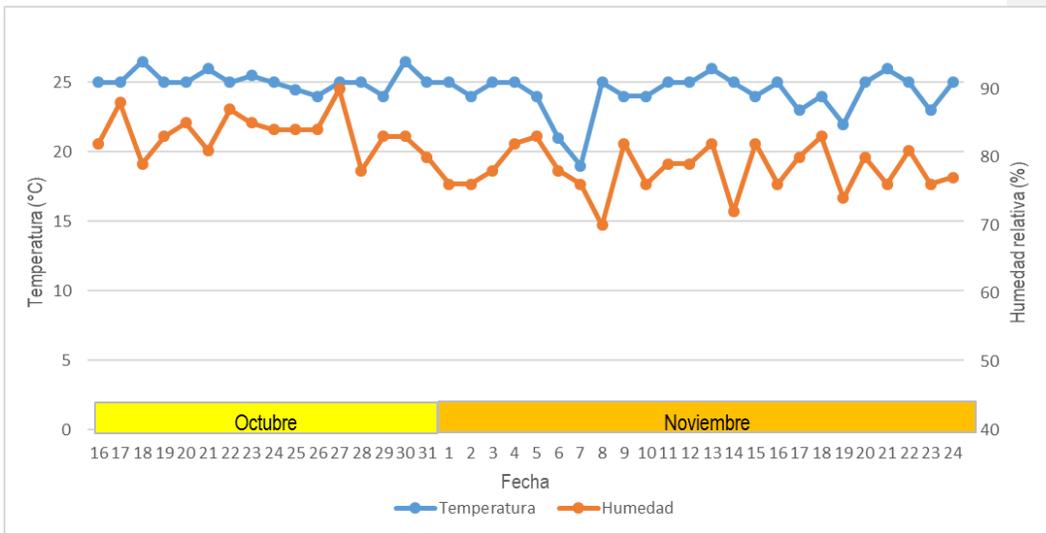


Figura 31. Características ambientales

En la figura 32 se observan los cuerpos fructíferos de *P.cubensis* (HEMIM-148) sobre los sustratos: 1) Oloote de maíz, 2) Fibra de coco, 3) Cascarilla de cacahuete.

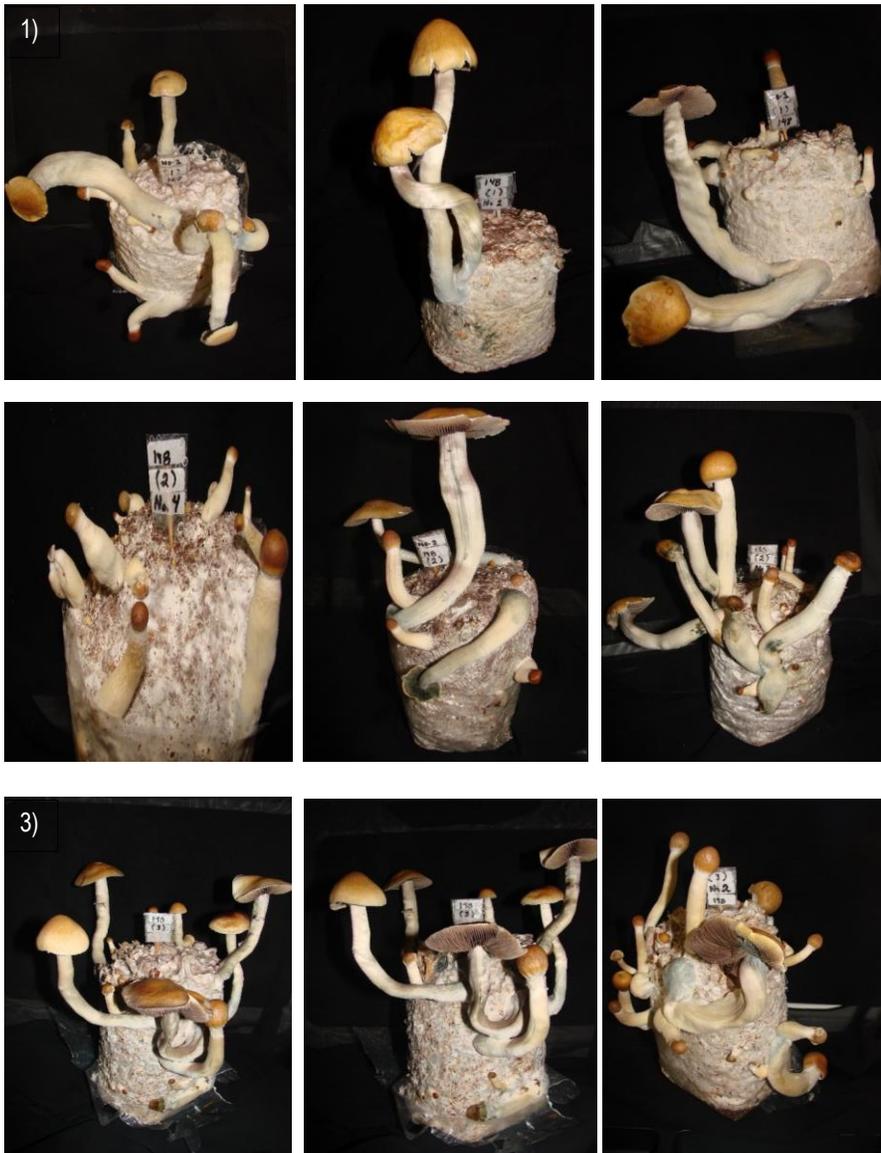


Figura 32. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-148

En la figura 33 se observan los cuerpos fructíferos de *P.cubensis* (HEMIM-149) sobre los sustratos: 1) Oloote de maíz, 2) Fibra de coco, 3) Cascarilla de cacahuete.



Figura 33. Cuerpos fructíferos de la cepa HEMIM-149

8. DISCUSIÓN

La obtención de basidiomas inmaduros de la cepa HEMIM-148 en cajas Petri con medio de cultivo PDA nos dió la certeza de que la cepa pertenece a especie *P. cubensis*, básicamente por la presencia de tonos azul-verdosos que se observaron en estos basidiomas y ciertas zonas del micelio

La temperatura de incubación (24 °C) permitió una rápida invasión del micelio sobre el sustrato de olote de maíz y fibra de coco.

El olote de maíz y la fibra de coco fueron los sustratos más eficientes para iniciar la fructificación, acelerando significativamente el crecimiento micelial tan solo 24 días después de su inoculación. Un mes después se obtuvieron los primeros basidiomas maduros con píleo y estípites completamente desarrollados.

Las cepas 148 y 149 presentan diferencias notables tanto morfológicamente como microscópicamente; con base en las características fenotípicas la cepa 148 corresponde a la especie *P. cubensis* tal como lo menciona Diego Hernán en su tesis de licenciatura sobre el cultivo de algunas especies mexicanas de hongos del género *Psilocybe* en el 2003 y OSS en 1972 en su manual de producción de hongos alucinógenos, con base en las características microscópicamente también pertenece a esta especie, así como lo menciona Gastón en 1953 en su estudio sobre las poblaciones de *Psilocybe* en los trópicos. Por otro lado, Gúzman (1983) también plantea que la especie que se desarrolla en Palenque corresponde a *Psilocybe subcubensis*.

Con base en las características macro y microscópicas se llegó a determinar que la cepa 149 puede corresponder a la especie *P. subcubensis* descrita por Gastón Guzmán en 1953 en la cual el tamaño de las esporas encaja con la descripción; también es probable que sea otra especie ya que la cepa se compró por Internet, y por ello es necesario realizar más estudios ya que presenta tonalidades azul-verdoso que concuerdan con la presencia de psilocina y psilocibina.

Mediante este trabajo se logró conocer los sustratos óptimos para llevar a cabo la producción de hongos alucinógenos; el sustrato más eficiente para la cepa 148 fue la fibra de coco ya que

presenta una mayor eficiencia biológica y tasa de producción, mientras que el sustrato menos óptimo es el cacahuate ya que presenta la mejor eficiencia biológica y tasa de producción. Para la cepa 149 el sustrato óptimo fue el olote de maíz y por otro lado el menos óptimo fue la fibra de coco.

La presente investigación, obtuvo valores de EB de 213% sobre fibra de coco, estos fueron diferentes a los reportados por Diego Hernán, (2003) que obtuvieron sobre paja de trigo una EB de 37.03% y 38.55% con la cepa HEMIM-148.

La tasa de producción (TP) sobre la fibra de coco fue de 3.6, esto es un valor mayor a lo reportado por Hernán Diego, (2003) que reportó una TP de 0.49 sobre paja de trigo de la cepa 148 Así mismo Carreño- Ruiz *et al.* (2014) reportaron un mayor crecimiento de *Oudemansiella canarii* sobre la fibra de coco obteniendo una TP de 5.61.

El valor de obtenidos sobre olote de maíz de EB fue de 143.1%, estos fueron diferentes a los reportados por Romero- Arenas *et al.* (2015) que reportaron valores de 100.50% en el cual solo 38.5 kg corresponden al olote de maíz, reportaron una TP de 0.38% la cual es inferior a nuestra TP de 2.8; esto puede deber a que dicho estudio no utilizó el olote de maíz de manera única, si no que se utilizó en una mezcla con 2 sustratos más (aserrín de encino y rastrojo de maíz).

La eficiencia biológica y la tasa de producción nos indicó que la técnica es completamente eficiente para producir estos hongos a una mayor escala y para continuar con futuras investigaciones.

9. CONCLUSIONES

El mejor sustrato en la evaluación in vitro fue la fibra de coco y el olote de maíz ya que estos fueron los primeros en presentar primordios en las cajas Petri.

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 procesos metabólicos necesarios para concluir el ciclo adecuadamente.

El mejor sustrato de la evaluación en sustrato sólido para la cepa HEMIM-148 fue la prima de coco ya que obtuvo la mayor eficiencia biológica y tasa de producción, para la cepa HEMIM-149 el mejor sustrato en sólido fue el olote de maíz ya obtuvo la mayor eficiencia biológica y tasa de producción,

La humedad también es uno de los factores más importantes en el desarrollo y crecimiento del hongo ya que si no se administra la humedad suficiente o hay un exceso de esta el hongo no podrá crecer, por ello las condiciones ambientales fueron las adecuadas ya que gracias a esto el desarrollo y crecimiento del hongo pudo llevarse a cabo.

El olote de maíz y la fibra de coco han sido ampliamente probados como sustratos de fructificación, siendo utilizados en gran escala en la producción de hongos de los géneros *Pleurotus* y *Shiitake*; 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.

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 aún se desconoce su potencial.

10. PERSPECTIVAS

- Realizar el patrón de producción en bolsas de cultivo de diferente peso
- Analizar si la cantidad de psilocibina varía dependiendo del sustrato ya que esto es importante para sus aplicaciones en la industria farmacológica
- Realizar análisis moleculares para determinar la especie
- Es necesaria la realización de estudios acerca de metabolitos y otras sustancias presentes en los cuerpos fructíferos cultivados para futuros estudios.

11. LITERATURA CITADA

- Acosta-Urdapilleta L., G. A. Alonso-Paz, A. Rodríguez, M. Adame, D. Salgado, M. Montiel-Peña, F. Medrano-Vega, y E.C. Villegas-Villareal.** (2010). *Pycnoporus sanguineus un hongo con potencial biotecnológico* In: **Martínez-Carrera, D., N. Cuvetto, M. Sobal, P. Morales, y V. M. Mora** (eds). *Hacia un Desarrollo sustentable de Producción- Consumo de los hongos comestibles y Medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el siglo XXI*. Puebla. (2010). Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales. COLPUS- UNS- CONACYT- AMC- UAEMUPAEP- IMINAP. pp: 531- 562.
- Acosta-Urdapilleta L., Téllez-Téllez, M., E.C. Villegas-Villareal., Estrada, E., Díaz-Godínez, G.** (2016). *Caracterización de cinco especies de Pleurotus crecidas en cuatro medios de cultivo*, 1(1):1-11.
- Alcántar-Mejía, J., Carranza-González, E., Cuevas-García, E.** (2012). *Distribución geográfica y ecológica de Ipomea (Convolvuceae) en el estado de Michoacán, México*. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(3), 731-741.
- Arguello, R., Gatani, M. y Berretta, H.** (2005). *Componentes constructivos elaborados con cáscara de cacahuete (maní) y cemento*. Primeros estudios sobre las incompatibilidades físico - químicas en el fraguado del material.
- Bañuelos-Valenzuela, R.** (2016). *Evaluación de mezclas para sustrato y producción de Pleurotus ostreatus (Jacq. ex Fr.) P. Kumm.* *AgroProductividad*, 9(6).
- Bernabé González, T., Domínguez Rosales, M. S., & Bautista Baltazar, S. A.** (1993). *Cultivo del hongo comestible Pleurotus ostreatus var. florida sobre fibra de coco y pulpa de café*. *Rev. mex. micol*, 13-8.
- Carranza, E.** (2008). *Diversidad del género Ipomea en el estado de Michoacán, México* (No. 23). Instituto de Ecología AC, Centro Regional del Bajío.
- Carreño-Ruiz, S. D., Cappello-García, S., Gaitán-Hernández, R., Cifuentes-Blanco, J., & Rosique-Gil, E.** (2014). *Crecimiento de tres hongos comestibles tropicales en medios de cultivo y residuos agrícolas*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(8), 1447-1458.
- CIMMYT** (1995). *Manejo de los ensayos e informes de los datos para el Programa de Ensayos Internacionales de Maíz*, México DF, ISBN: 970-648-045-5, 20
- Córdoba, A., Delgado, F. y Toriz, G.** (2010). *Generación de compuestos orgánicos en el olote, mediante la oxidación en húmedo*. *Investigación, Biodiversidad y Desarrollo*, 29, 186 -200
- Dubovoy, C., & Herrera, T.** (1967). *Estudio morfofisiológico de los micelios de Psilocybe caerulescens Murill en diversos medios de cultivo*.
- Eyzaguirre J.** (2000). *Lignocellulose biodegradation. Enzyme structure and function*. Redes internacionales. Internet: [www. Bio.puc.cl/profs/jezag/jezag1.htm](http://www.Bio.puc.cl/profs/jezag/jezag1.htm).

- Gaitán- Hernández R, Salmones D, Pérez MR y Mata G.** (2002). *Manual práctico del cultivo de setas aislamiento, siembra y producción.* Instituto de Ecología A.C.
- García, R., Pizarro, C., Lavín, A. G., y Bueno, J. L.** (2012). *Characterization of Spanish biomass wastes for energy use.* *Bioresource Technology*, 103(1), 249–258. doi: 10.1016/j. biortech.2011.10.004
- Giraldo, A.** (2015). *Evaluación del triptófano en la producción de psilocibina en el cultivo sumergido de Psilocybe sp.* (Tesis de licenciatura). Universidad Eafit Escuela de ingeniería Departamento de Ingeniería de procesos Medellín
- Gottlieb, A.** (1997). *Psilocybin Production.*
- Guerra-Medina, C. E., Cobos-Peralta, M. A., Montañez-Valdez, O. D., y Pérez-Sato, M.** (2010). *uso de aserrín de pino (Pinus patula) como fuente de fibra en dietas para borregos en cebo.* *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(3), 667-673.
- Gutiérrez G y M Ricker.** (2012). *Estudios técnicos para definir el desarrollo y funcionamiento del Parque Ecológico Tuzandepetl*, 29.
- Gutierrez, M.** (2018). *Evaluación del cultivo de Pleurotus citrinopileatus sobre diferentes sustratos y sus mezclas* (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Guzmán G, Mata G, Salmones D, Soto Velazco C y Guzmán- Dávalos L.** (1993). *El cultivo de los hongos comestibles.* Instituto Politécnico Nacional, México D.F.
- Guzmán, G.** (1959). *Estudio taxonómico y ecológico de los hongos neurotrópicos mexicanos.* Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México, DF Tesis profesional.
- Guzmán, G.** (1983). *The genus Psilocybe.* *Beih Nova Hedwigia*, 74, 1-439
- Guzmán, G.** (2016). *Sinopsis de los conocimientos sobre los hongos alucinógenos mexicanos.* *Botanical Sciences*, (24), 14-34.
- Heim, R., y Hofmann, A.** (1958). *Isolement de la psilocybine à partir du Stropharia cubensis Earle et d autres espèces de champignons hallucinogènes mexicains Reappartenant au genre Psilocybe.* *Rev. Mycol*, 23, 347-351.
- Heim, R., y R. Cailleux.** (1957). *"Culture pure et obtention semi-industrielle des Agarics hallucinogenes du Mexique"*. *Idem*, 244 :3109-3116.
- Hernán,D.** (2003). *Cultivo de algunas especies mexicanas de hongos del género Psilocybe.* (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Higuchi T.** (1990). *Lignin biochemistry: biosynthesis and biodegradation.* *Wood Sci. Technol.* 24, 23-63
- Ingold, C. T. y H, J, Hudson.** (1993). *The biology of the fungi.* Chapman and Hall, USA.
- Johnson, M. W., Richards, W. A., & Griffiths, R. R. (2008). *Human hallucinogen research: guidelines for safety.* *Journal of psychopharmacology*, 22(6), 603-620.

- Juárez R.M.F.**, (2000). *De piñas y Piñones*. Universidad Nacional Autónoma de México
- Juárez, Z.N., Bárcenas- Pozos, M.E., y Hernández, L.R.** (2014). *El grano de trigo: características generales y algunas problemáticas y soluciones a su almacenamiento*.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C., Stalpers, J. A.** (2001). *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 9th Ed, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- Lamas, G. L., Carrasco, H. C., Alarcón, R. G., Nieblas, T. D., y García, H. R.** (1985). *Uso de paja de trigo tratada con amoníaco en la alimentación de novillos en crecimiento en corral de engorda*. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, (48), 46-53.
- Marentes, C. B., y Rivera, P. R.** (2004). *Inventario nacional de especies vegetales y animales de uso artesanal*.
- Martínez- Carrera, D., P. Morales, M. Sobal y A. Larqué- Saavedra,** 1993. *¿Reconversión de la industria de los hongos?* *Tecnoindustria* 7:52-59.
- Metzner, R.** (2005). - *Sacred Mushroom of Visions: Teonanácatl: A Sourcebook on the Psilocybin Mushroom*. Park. St. Prees Roche- ster, Vemont
- Mora Tipán, M. A., y Landa Changelombo, C. A.** (2018). *Diseño y construcción de una descortezadora de coco*. 142 hojas. Quito: EPN.
- Morán JI, Alvarez VA, Cyras VP, Vázquez A.** (2008) *Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers*. *Cellulose*; 15:149-59.
- Moreno, F. A., Wiegand, C. B., Taitano, E. K., y Delgado, P. L.** (2006). *Safety, tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive-compulsive disorder*. *Journal of Clinical Psychiatry*, 67(11), 1735-1740.
- Oss, O. T., y Oeric, O. N.** (1992). *Psilocybin, magic mushroom grower's guide: A handbook for psilocybin enthusiasts*. Ed Rosenthal
- Paliwal, R. L.** (2001). *Usos del maíz. El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*.
- Piña-Guzmán, A. B., Nieto-Monteros, D. A., & Robles-Martínez, F.** (2017). *Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta (Pleurotus spp.)*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32, 141-151.
- Pollock, S. H.** (1977). *Magic mushroom cultivation* (No. 1). Herbal Medicine Research Foundation.
- Reyes, C.P.**, (1978). *Diseño de experimentos aplicados*. Trillas, México.
- Romero-Arenas, O., Martínez Guerrero, M. A., Damián Huato, M. A., Ramírez Valverde, B., y López-Olguín, J.** (2015). *Producción del hongo Shiitake (Lentinula edodes Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(6), 1229-1238.
- Royse D.** (1989). *Factors influencing the rate of shiitake*. *Mush. J. Tropics* 9:27-138.

- Sánchez, L.G., y Prada, M.A.** (1993). *Los pinos como especies básicas de la restauración forestal en el medio mediterráneo*. *Ecología*, (7), 113-126.
- Shultes, R. E, y Hofmann.** (1983). *Las plantas de los dioses*. Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Stamets, P. y J.S, Chilton,** (1983). *The mushroom Cultivator: A practical Guide to Growing Mushroom at Home*. Agarikon Press, Olympia, USA.
- Tschierpe J., y Hartmann K.** (1977). *A comparison of different growing methods Mush. J.* 60:404-416.
- Ulloa, M.,** (1967). Factores que influyen en el crecimiento de micelios de *Psilocybe mexicana* Heim y *Psilocybe cubensis* (Earl). *Sing.* Tesis Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Vega Ríos, A., y Franco Ávila, H.** (2012). *Análisis de cenizas y minerales de hongos comestibles Pleurotus spp., cultivados sobre paja de arroz (Oryza sativa), tuza y rastrojo de maíz (Zea mayz)*.
- Wilson, H., y Godiño, M.** (2000). *Tecnología de almacenamiento de granos de trigo*. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Uruguay.
- Zenteno, M. y T. Herrera,** (1958). *Hongos Alucinantes de México*. Obtención de carpóforos de *Psilocybe cubensis* (Earle) *Sing.* Instituto de Biología. Universidad Autónoma de México. 28: 49- 72.