

# Wpływ światła na inicjowanie bazydiokarpu *Psilocybe cubensis*

(*The Effect of Light upon Basidiocarp Initiation in Psilocybe cubensis*)

by

**E. R. Badham<sup>1</sup>**

Department of Botany, University of Tennessee, Knoxville, Tennessee 37916

*Mycologia*, Vol. 72, No. 1. (Jan. - Feb., 1980), pp. 136-142.

Zaakceptowane do publikacji 13 lipca 1979

© E. R. Badham

wersja ang. <http://www.en.psilocology.info/qtyesowwatigauhkcbaacmbp>

original report:

[https://psilocybiini.info/paperit/The%20effect%20of%20light%20upon%20basidiocarp%20initiation%20in%20Psilocybe%20cubensis%20\(Badham,%201980\).pdf](https://psilocybiini.info/paperit/The%20effect%20of%20light%20upon%20basidiocarp%20initiation%20in%20Psilocybe%20cubensis%20(Badham,%201980).pdf)

backup source:

[http://www.psilocology.info/resources/The%20effect%20of%20light%20upon%20basidiocarp%20initiation%20in%20Psilocybe%20cubensis%20\(Badham,%201980\).pdf](http://www.psilocology.info/resources/The%20effect%20of%20light%20upon%20basidiocarp%20initiation%20in%20Psilocybe%20cubensis%20(Badham,%201980).pdf)

[ tłumaczenie: cjuchu ]

<sup>1</sup>Obecny adres: Biology Department, Lehman College, Bronx, New York, 10468.

## Spis Treści:

### Podsumowanie

### Materiały i metody

Izolat kultury

Przygotowanie kultur

Źródła światła i filtry

Punktacja

### Wyniki

Wstępne eksperymenty

Eksperymenty dawka-reakcja

Eksperymenty z wrażliwością widmową

Obserwacje kultur

### Omówienie

### Podziękowania

### Przytaczana literatura

## Podsumowanie

Formowanie zątków bazydiokarpów u *Psilocybe cubensis* następowało tylko wtedy, gdy kultury były oświetlane. Do zainicjowania wystarczyły krótkie czasy świecenia (0,0025 sek. błysku ksenonowego). Inicjacja wywołana światłem była nasycona przy dawce  $0,345 \times 10^4$  ergów/cm<sup>2</sup> przy 460 nm. Najskuteczniejsze były fale UV i niebieskie o długości 370, 440 i 460 nm. Zielone i czerwone długości fal większe niż 510 nm były nieskuteczne.

Wymóg światła do zainicjowania lub rozwoju bazydiokarpu jest dobrze udokumentowany: Alasoadura, 1963; Lu, 1965; Manachière, 1970, 1978; Miller, 1967; Miller i Palmer, 1977; Plunkett, 1956, 1961. Chapman i Fergus (1973) stwierdzili, że niebieski koniec widma przy intensywności powyżej  $1,5 \times 10^4$  ergów/cm<sup>2</sup>/sek

indukował formowanie dojrzałych bazydiokarpów u *Coprinus domesticus* Fries, podczas gdy zielony, czerwony i daleki czerwony nie indukował zaczątków. Kitamoto *et al.* (1970) badał inicjowanie u *Favolus arcularis* (Fries) Ames i stwierdził, że połowę maksymalnej reakcji osiągnięto przy  $1,8 \times 10^8$  ergów/cm<sup>2</sup> (przy 398 nm). Zaobserwowano fotoindukcję w obszarze pomiędzy 350 a 560 nm i opisano sześć pików. Później Kitamoto *et al.* (1973) przebadali zależny od światła rozwój kapelusza u *Coprinus domesticus* i stwierdzili, że działające widma są podobne. Perkins i Gordon (1969) określili widmo działania dla zainicjowania bazydiokarpów u *Schizophyllum commune* Fries. Wykazali, że reakcja na dawkę była liniowa aż do dawki około  $1,1 \times 10^5$  ergów/cm<sup>2</sup> (przy 440 nm). Czułość widmowa osiągnęła szczyt w kolorze niebieskim i UV. Żadne światło o długości fali większej niż 525 nm nie było fotoindukcyjne. Heim i Wasson (1958) sprawozdali, że zaczątki *Psilocybe cubensis* (Earle) Sing. mogą powstawać w ciemności w podwyższonych temperaturach (27 C). Jackson i Alexopoulos (1976) stwierdzili, że gatunek ten wymaga światła do zainicjowania bazydiokarpu (w temperaturze 22-25 C).

Celem tego badania było określenie spektrum działania dla zainicjowania bazydiokarpu u *Psilocybe cubensis*.

## Materiały i metody

### Izolat kultury

Izolat *P. cubensis* użyty w tym badaniu uzyskano w 1975 roku, pozwalając bazydiokarpowi osadzić bazydiospory na agarze. Subkulturę zdeponowano w ATCC (#36459). Oryginalny bazydiokarp jest zdeponowany w Zielniku Uniwersytetu Tennessee (TENN 40476).

### Przygotowanie kultur

Zastosowano podłoże agarowe (Brodie, 1975) zawierające stosunkowo niskie poziomy cukrów (maltoza, dekstroza, sacharoza), asparaginy, peptonu, ekstraktu drożdżowego, oprócz soli. Sześć ml pożywki wiano do plastikowych probówek (16 x 125 mm) i pochyłono, uzyskując powierzchnię 3 cm<sup>2</sup>. Inokulację tych probówek wykonano z kultur magazynowanych, które hodowano w ciemności przez 1 mc na plastikowych szalkach Petriego (15 x 100 mm) z zaklejonymi wieczkami. Pobrano z nich jedną kostkę 3 x 3 mm i umieszczono na każdym skosie w probówce. Zatyczki skosów probówek nie były szczelnie zamknięte. Transfery te zostały wykonane w "bezpiecznym" świetle (15-watowe światło żarowe przefiltrowane przez czerwony filtr, Carolina Biological Supply red, 650). Kultury hodowano przez 3 tygodnie w dobrze wentylowanych, ale szczelnych dla światła pudełkach. Zarówno kultury, jak i źródła światła trzymano w pomieszczeniu o kontrolowanej temperaturze  $21 \text{ C} \pm 2$  i przy wilgotności względnej  $85\% \pm 15\%$ . W większości przypadków traktowano światłem raz na dzień przez 5 dni; kultury badano w dniu 6. Ekspozycje podawano w tym samym czasie co dzień. Jeśli manipulacje były konieczne, dokonywano ich w tym samym bezpiecznym świetle opisanym powyżej.

### Źródła światła i filtry

Przeprowadzono dwa wstępne eksperymenty w celu określenia: 1) ogólnych długości fal ważnych dla inicjowania owocników oraz 2) czasu trwania oświetlania niezbędnego do zainicjowania. W pierwszej z nich wyhodowane w ciemności kultury były oświetlane przez 12 godzin na dzień fluorescencyjnymi lampami chłodnej bieli przy 100 ft-c filtrowanymi za pomocą filtrów szerokopasmowych UV (Kodak 18-A) szczyt przy 350 nm, niebieskimi (Carolina Biological Supply) szczyt przy 450 nm, zielonymi (CBS) szczyt przy 550 nm, i czerwonymi (CBS) szczyt przy 650 nm. W drugim wstępnym eksperymencie do zainicjowania owocników użyto białego światła lampy ksenonowo-łukowej (Honeywell photoflash) przy 0,0005 sek. na dzień.

Na podstawie wstępnych obserwacji przeprowadzono dalsze eksperymenty w celu określenia: 1) względnej skuteczności różnych dawek światła oraz 2) względnej skuteczności różnych długości fal światła. Oba te eksperymenty wykorzystywały 300-watową kwarcowo-jodową lampę projekcyjną General Electric w połączeniu z monochromatorem Jarrell-Ash 0,25-m ze szczelinami 2 mm. Szerokość ½ pasma wynosiła 15 nm. Lampę umieszczono 2,5 cm od szczeliny wejściowej, a kultury umieszczono przy szczelinie wyjściowej. Za pomocą spektrometri (International Light #783) uzyskano równe energie światła przy różnych długościach fal,

dostosowując napięcie do żarówki. Energię światła ustawiono na  $23 \text{ ergi/s/cm}^2$  przy wszystkich długościach fal. Widma drugorzędowe zostały wyeliminowane w tej kalibracji, ale nie zostały wyeliminowane, gdy do zainicjowania kultur użyto światła.

W eksperymentach dawka-reakcja zastosowano światło monochromatyczne (460 nm) w ośmiu różnych dawkach w celu zainicjowania owocników. Wszystkie kultury naświetlano raz na dzień przez 5 dni i oceniano w dniu 6. Do działania zapewniającego dawki większe niż  $0,345 \times 10 \text{ ergów/cm}^2$  ( $23 \text{ ergi/sek/cm}^2$  na dzień przez 5 dni) w celu zwiększenia dawki zastosowano wydłużenie czasu naświetlania. W przypadku działań mniejszych od tej ilości zastosowano filtry o neutralnej gęstości (Kodak) w celu zmniejszenia dawki. Zastosowano dziesięć kultur na działanie.

W przypadku eksperymentów dotyczących czułości widmowej około 30 kultur na jedno działanie światła naświetlano co dzień  $23 \text{ ergami/s/cm}^2$  przez 30 sekund monochromatycznym światłem o długości fal od 370 do 510 nm i oceniano w dniu 5, 6, 7 lub 8. Większość replikantów została oceniona w dniu 6, a te ocenione w innych dniach zostały znormalizowane do danych dnia 6 w celu interpretacji wyników.

## Punktacja

We wstępnych doświadczeniach kultury oceniano pod kątem obecności zaczątków bazydiokarpów (tutaj definiowanych jako pierwsze "węzłki" strzępek, które są widoczne gołym okiem i które w odpowiednich warunkach mogą stać się bazydiokarpami). W dalszych eksperymentach podjęto próbę zastosowania dokładniejszej metody punktacji, która obejmowała: 1) wielkość i stopień rozwoju oraz 2) liczbę zaczątków przypadającą na całkowitą powierzchnię skosu w próbówce. Wartości liczbowe dla tych kategorii przypisano następująco: wielkość i stopień rozwoju - 0, tylko ryzomorfy, 1, płaskie skupienia strzępek, 2, sferyczne zaczątki o średnicy  $600 \mu\text{m}$ , 3, sferyczne zaczątki o średnicy  $1000 \mu\text{m}$ , 4, zaczątki w kształcie piramidalnym; zagęszczenie zaczątków w próbkach: 1, 1-3 zaczątki, 2, 4-8 zaczątków, 3, 9-30 zaczątków, 4, 31+ zaczątków. Kombinacja tych czynników (suma wyników) została tutaj nazwana "stopniem inicjacji" i była użytecznym wskaźnikiem ilościowym do eksperymentalnego indukowania zapoczątkowania bazydiokarpu.

## Wyniki

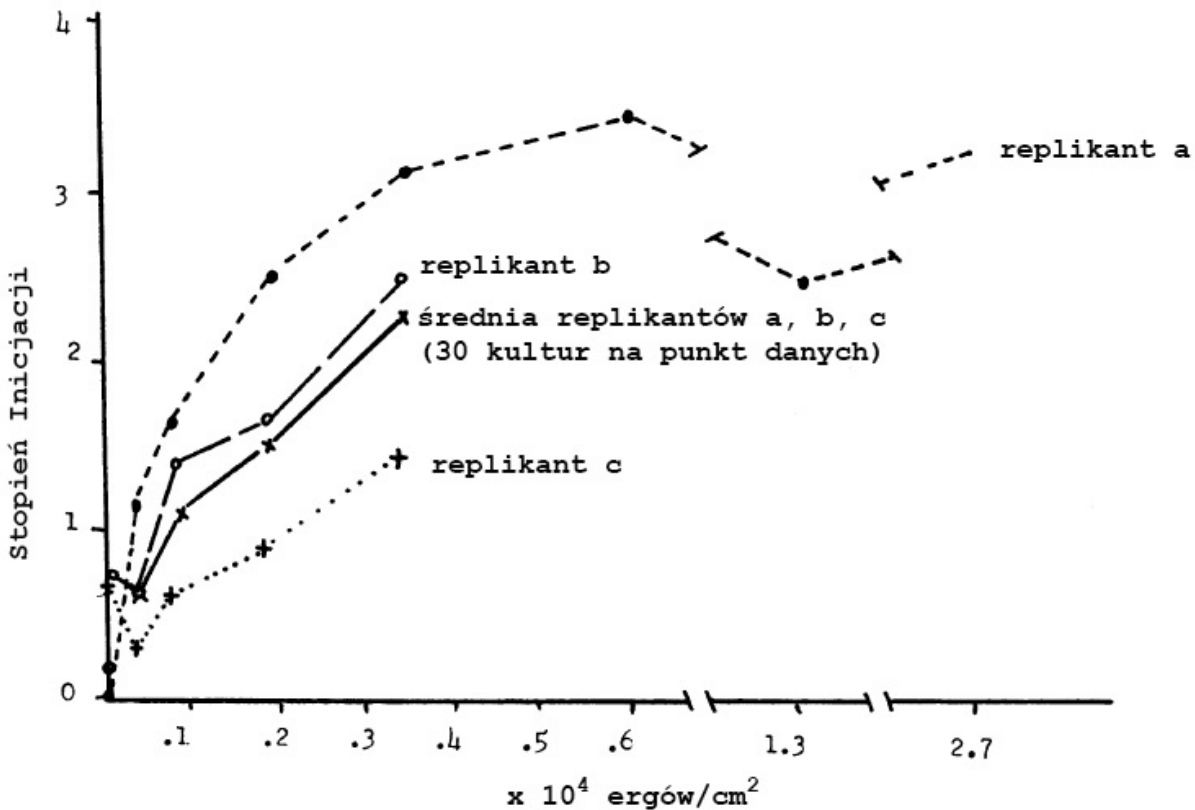
### Wstępne eksperymenty

Gdy kultury naświetlano światłem z lamp chłodnej bieli przefiltrowanym przez filtry szerokopasmowe, tylko kultury oświetlone niebieskim i promieniowaniem UV tworzyły zaczątki owocników. Kiedy inne kultury zostały oświetlone jednym błyskiem trwającym 0,0005 sekundy/dzień przez 5 dni, zaczątki były obecne 6 dnia.

### Eksperymenty dawka-reakcja

Eksperyment ten przeprowadzono aby określić, w jakim zakresie dawek światła istnieje bezpośrednia proporcja między dawką światła a stopniem inicjacji. Taka zależność, jeśli jest liniowa, nazywana jest prawem wzajemności Bunsena-Roscoe'a. Dowód tej zależności jest niezbędny do określenia działania widma, ponieważ, jeśli na przykład badanie wrażliwości spektralnej przeprowadzono przy dawkach powyżej nasycenia, wszystkie długości fal byłyby jednakowo aktywne. Jak widać na Ryc. 1 przeciętna reakcja jest prawie liniowa w zakresie  $0,086$  i  $0,34 \times 10^4 \text{ ergów/cm}^2$  przy 460 nm. Również w oparciu o replikant "a", reakcja jest nasycona przy dawkach większych niż  $0,345 \times 10^4 \text{ ergów/cm}^2$ . Dalsze badania dotyczące wrażliwości spektralnej prowadzono w zakresie dawek opisanych powyżej.





Ryc. 1. Odpowiedź *Psilocybe cubensis* na dawkę światła. Osiem różnych dawek światła monochromatycznego (460 nm) użyto do zainicjowania owocników w kulturach uprawianych w ciemności. Średnia odpowiedź w przybliżeniu liniowa pomiędzy  $0,086 \times 10^4$  i  $0,345 \times 10^4$  ergów/cm<sup>2</sup>.

## Eksperymenty z wrażliwością widmową

Eksperymenty te posłużyły do określenia wpływu różnych długości fal światła na inicjowanie owocnikowania (widmo działania). Na Ryc. 2 przedstawiono średni stopień inicjowania przy różnych długościach fal.

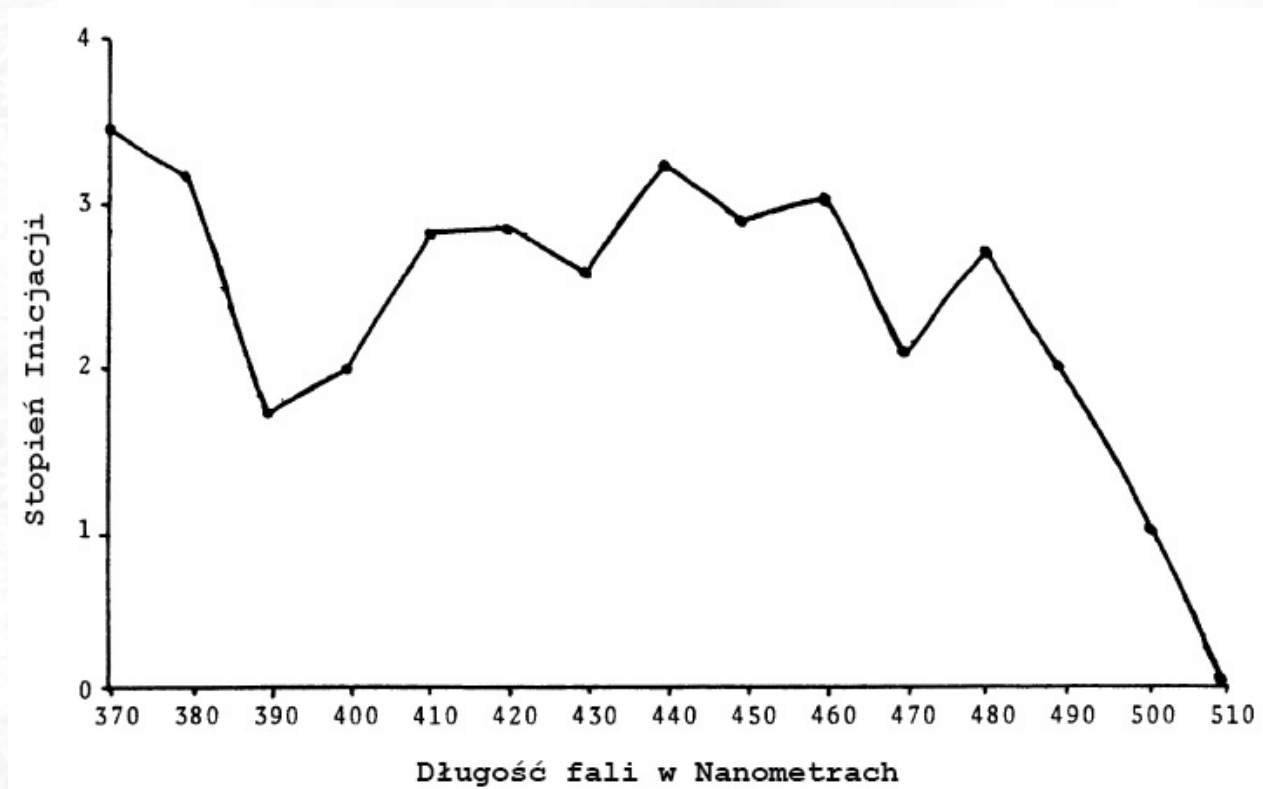
## Obserwacje kultur

Inicjacja nie wystąpiła w kulturach, które nie były wentylowane. Za ten efekt mogą odpowiadać gazy obecne w atmosferze lub powstające w wyniku metabolizmu. Światło nie ma wpływu na zainicjowanie przed ukończeniem dojrzałości wegetatywnej, tj., gdy powierzchnia agaru nie jest pokryta grzybnią. W jednym przypadku powstały nietypowe zaczątki, które powiększyły się do postaci kulek w kolorze kasztanowym aż do średnicy 5 mm. Struktury te zawierały zarodniki i hodowano je w temperaturze 10°C. W niektórych zapieczętowanych kulturach odnotowano jednokomórkowe konidia osadzone na strzępkach sprzążkowych (prawdopodobnie "odgałęzienia akremoniformiczne" ["ramifications acremoniformes"], Heim i Wasson, 1958). Odnotowano również nieprawidłowości w rozwoju bazydiokarpów, tj. form smardzowatych (McKnight, 1971; Watling, 1971). Czasami, gdy primordia rozwijały się przy niskim poziomie światła, niebieska strefa obejmowała kapelusz. Strefa ta znajduje się w dokładnym położeniu strefy fototroficznej opisanej przez Plunketta (1961). Niebieski pigment został powiązany z obecnością halucynogennych indoli (Singer, 1958), a jego lokalizacja może stanowić wskazówkę co do roli tych substancji.

## Omówienie

Badanie to stanowi kolejny dodatek do rosnącej listy podstawczaków, które wymagają światła do zainicjowania lub rozwoju. Niski poziom światła niezbędny do zainicjowania bazydiokarpów u *Psilocybe cubensis* jest zgodny z wymaganiami innych badanych podstawczaków i podkreśla potrzebę ostrożności w sugerowaniu, że niektóre grzyby nie wymagają światła do zainicjowania owocników (Heim i Wasson, 1958). Badania wrażliwości widmowej pokazują, że co najmniej dwa obszary widma stymulują inicjowanie owocników, niebieski i UV. Jest to charakterystyczne dla wielu fotoreakcji grzybów (Tan, 1978). Oba działające widma, określone dla

inicjowania owocników przez Kitamoto *et al.* (1972) oraz Perkins i Gordon (1969) wykazują stosunkowo silną aktywność przy 370 nm. Podobnie silna aktywność przy 440 i 480 nm (Kitamoto, 1972) i 420 i 480 nm (Perkins i Gordon, 1969) jest zgodna z niniejszym badaniem. Jednak piki przy 400 i 520 nm i brak aktywności przy 460 nm (Kitamoto, 1972) są bardzo odmienne od wyników uzyskanych w tym badaniu.



Ryc. 2. Czulość widmowa fotoindukcji inicjowania bazydiokarpu u *Psilocybe cubensis*.

Obserwacja, że brak wentylacji może hamować inicjowanie bazydiokarpu jest dobrze udokumentowana w literaturze (Plunkett, 1956; Tschierpe, 1974). Ponadto, wpływ dojrzałości na zdolność kultur do reagowania na fotoinicjację został opisany wcześniej (Lu, 1965).

Briggs (1976) zasugerował, że reakcje na światło niebieskie u roślin zielonych i grzybów są podobne. Jeśli tak jest, to wiele znanych efektów, w których pośredniczy światło niebieskie u roślin zielonych, należy przeanalizować u grzybów. Szczególne znaczenie dla tego badania ma związek między reakcjami na światło niebieskie i reakcjami na światło czerwone (układ fitochromowy), wykazany przez Chona i Briggsa (1966). Ponieważ czerwone światło nie inicjowało owocników, uznano je stosownym jako "bezpieczne" światło. Może to być błędne założenie. Wreszcie, chociaż wydaje się, że rozwój po zainicjowaniu wymaga światła, nie wiadomo, czy wymagane spektrum działania jest podobne do tego, które jest potrzebne do zainicjowania bazydiokarpów.

## Podziękowania

Chciałbym podziękować dr. Ronaldowi Petersenowi, dr. Larry'emu Jonesowi oraz dr. Raymondowi Holtonowi za wskazówki w trakcie tego projektu. Wyrazy uznania wyrażane są również dla Johna Berga z Wydziału Ekologii Uniwersytetu w Tennessee za użycie spektrometri. Dr Abraham Held jest uznawany za pomoc w zrewidowaniu rękopisu. Ten artykuł jest częścią pracy magisterskiej przedłożonej na Wydziale Botaniki na Uniwersytecie Tennessee w Knoxville w marcu 1978 r.

## Przytaczana literatura

1. Alasoadura, B. O. 1963. Fruiting in *Sphaerobolus* with special reference to light. *Ann. Bot. (London)* 27: 123-145.
2. Briggs, W. R. 1976. The nature of the blue light photoreceptor in higher plants and fungi. Pp. 2-18. In: *The effect of light on higher plants*. Ed., H. Smith. Butterworths, Boston, Massachusetts
3. Brodie, H. J. 1975. *The bird's nest fungi*. Univ. of Toronto Press, Toronto, Canada. 198 p.

4. Chapman, E. S., and C. L. Fergus. 1973. An investigation of the effects of light on basidiocarp formation of *Coprinus domesticus*. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 51: 315-326.
5. Chon, H. P., and W. R. Briggs. 1966. Effect of red light on the phototropic sensitivity of corn coleoptiles. *Pl. Physiol. (Lancaster)* 41: 1715-1724.
6. Heim, R., and G. Wasson. 1958. *Les champignons hallucinogéniques du Mexique*. Museum National D'Histoire Naturelle, Paris. 322 p.
7. Jackson, R. E., and C. J. Alexopolous. 1976. *Psilocybe cubensis*, a comparison of Mexican and Texan types. *Southw. Naturalist* 21: 227-233.
8. Kitamoto, Y., A. Suzuki, and S. Furukawa. 1970. An action spectrum for light-induced primordium formation in a basidiomycete, *Favolus arcularis* (Fr) Ames. *Pl. Physiol. (Lancaster)* 49: 338-340.
9. Kitamoto, Y., A. Suzuki, and S. Furukawa. 1973. An action spectrum for photoinduction of pileus formation in a basidiomycete, *Favolus arcularis*. *Planta* 119: 81-84.
10. Lu, B. 1965. The role of light in the fructification of the basidiomycete, *Cyathus stercoreus*. *Amer. J. Bot.* 52: 432-437.
11. Manachère, G. 1970. Recherches physiologiques sur la fructification de *Coprinus congregatus* Bull. ex. Fr. *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol.* 11: 1-95.
12. Manachère, G. 1978. Aspects photoperiodiques de la reproduction chez quelques champignons. *Bull. Soc. Bot. France* 125: 243-262.
13. McKnight, K. H. 1971. Cultural studies on *Psilocybe*. I Variation in a new species of the *P. coprophila* group. *Bull. Torrey Bot. Club* 98: 4-16.
14. Miller, O. K. 1967. The role of light in the fruiting of *Panus fragilis*. *Canad. J. Bot.* 45: 1939-1943.
15. Miller, O. K. and John G. Palmer. 1977. Effects of light quality on development of fruiting bodies of *Panus fragilis*. *USDA For. Serv. Res. Pap. FPL* 300: 1-20.
16. Perkins, J. H., and A. Gordon. 1969. Morphogenesis in *Schizophyllum commune*. II. Effect of monochromatic light. *Pl. Physiol. (Lancaster)* 44: 1712-1716.
17. Plunkett, B. E. 1956. The influence of factors of the aeration complex and light upon fruitbody form in pure cultures of an agaric and a polypore. *Ann. Bot. (London)* 20: 563-586.
18. Plunkett, B. E. 1961. The change in tropism in *Polyporus brumalis* stipes and the effect of directional stimulus on pileus differentiation. *Ann. Bot. (London)* 25: 206-223.
19. Singer, R. 1958. Mycological investigations on teconanacatl, the Mexican hallucinogenic mushroom: Part 1. *Mycologia* 50: 239-261.
20. Tan, K. K. 1978. Light induced fungal development. Pp. 334-357. In: *The filamentous fungi*. vol. 3. Eds., J. E. Smith and D. R. Berry. Edward Arnold, London.
21. Tschierpe, H. J. 1974. Environmental factors and mushroom growing. *Mushroom News* 22: 2-24.
22. Watling, R. 1971. Polymorphism in *Psilocybe medaria*. *New Phytol.* 70: 307-326.

[ tłumaczenie: cjuchu ]