

00381

51



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**ANALISIS TAXONOMICO DE LA FAMILIA  
GOMPHACEAE (FUNGI: BASIDIOMYCETES)**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE**

**DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)**

**P R E S E N T A**

**HERMELINDA MARGARITA VILLEGAS RIOS**

**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JOAQUIN CIFUENTES BLANCO**

**MEXICO, D. F.**

**2000**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta investigación se realizó con el apoyo recibido a través de los proyectos DGAPA IN203895, DGAPA IN217198, CONACYT PN0090, CONACYT 29011N y PAEP 03328. Igualmente se contó con el apoyo del laboratorio de Morfometría del Instituto de Ecología A.C., en Xalapa, a través de la asesoría del Dr. Efraín de Luna.

## RESUMEN

La familia Gomphaceae fue establecida por Donk en 1961, para incluir a hongos macroscópicamente heterogéneos, pero con similitud microscópica y química. Géneros como *Gomphus*, *Lentaria*, *Ramaria*, *Ramaricium*, *Beenakia* y *Kavinia* fueron de los primeros en ser agrupados dentro de esta familia, los cuales anteriormente y de acuerdo con el sistema Friesiano, eran clasificados en las familias: Cantharellaceae (basidiomas pileado-estipitados e himenio en costillas, pliegues o liso), Clavariaceae (basidiomas simples a ramificados con himenio liso y frecuentemente anfigeno), Corticiaceae (basidioma resupinado e himenio liso a rugoso) e Hydnaceae (basidiomas pileado-estipitados o resupinados con himenio en dientes). Géneros como *Gloeocantharellus*, *Pseudogomphus*, *Terenodon* y *Delentaria*, descritos posteriormente, han sido también considerados como pertenecientes a esta familia.

No obstante, que varios autores reconocieron a Gomphaceae en el sentido propuesto por Donk, existen discrepancias respecto a qué taxa incluir en esta familia, ya que algunos de los mencionados en el párrafo anterior (*Lentaria* y *Beenakia*) y otros como *Clavariadelphus*, *Cantharellus* y *Ramariopsis*, muestran características con una posición intermedia entre Gomphaceae y las otras familias en las que han sido agrupados (Clavariadelphaceae, Cantharellaceae y Clavariaceae). Por otro lado, está el problema de si considerar a todos los géneros dentro de una sola familia o segregarlos en varias (Ramariaceae, Gomphaceae, Lentariaceae, Beenakiaceae) y ser a su vez agrupados en un sólo orden (Gomphales), como ha sido propuesto por autores como Jülich (1981), o considerarlos dentro de dos órdenes diferentes (Gomphales y Boletales), como lo indica la alternativa clasificatoria planteada por Hawksworth *et al.* (1995).

El objetivo principal del presente estudio, fue evaluar cladísticamente las hipótesis alternativas de clasificación de Gomphaceae *sensu lato* como grupo monofilético y plantear así una hipótesis clasificatoria robusta, en torno a estos géneros.

El análisis se diseñó considerando las hipótesis alternativas de clasificación mencionadas anteriormente, donde taxa de diverso nivel de relación fueron incluidos como grupos externos. Sólo pudieron ser analizadas unidades de los géneros: *Gomphus*, *Ramaria*, *Lentaria*, *Gloeocantharellus*, *Ramaricium*, *Beenakia*, *Kavinia*, *Clavariadelphus*, *Cantharellus* y *Ramariopsis*, ya que los géneros *Terenodon*, *Pseudogomphus* y *Delentaria* son monoespecíficos y sólo se conocen los ejemplares tipo sin disponibilidad por el momento de préstamo.

Los caracteres fueron obtenidos de la revisión macro y microscópica de más de 200 ejemplares frescos y/o herborizados, además del apoyo de datos obtenidos en diversas publicaciones. Considerando la variación observada en los diversos ejemplares revisados, se analizaron cerca de 60 caracteres, 46 de los cuales pudieron ser homologados, siendo incluidos posteriormente en una matriz de datos que consideró 25 unidades cladísticas. Los análisis fueron ejecutados con el programa PAUP 3.1.

Se realizaron diferentes análisis de búsquedas donde bajo diferentes condiciones, se ha evidenciado un grupo monofilético robusto, constituido por los géneros: *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Beenakia*, *Ramaricium*, *Kavinia* y *Ramaria*, reconocido aquí como el orden Gomphales. Internamente a este grupo monofilético, pudieron también diferenciarse otros dos agrupamientos: el primero, al cual se le ha nombrado Gomphaceae, conformado por los géneros *Gomphus* y *Gloeocantharellus* y el segundo, constituido por *Beenakia*, *Kavinia* y *Ramaricium* al cual se le reconoce como la familia Beenakiaceae. Todas las unidades del género *Ramaria* incluidas en este estudio, mostraron ser polifiléticas por lo cual, la familia Ramariaceae no es reconocida formalmente hasta no contar con un análisis diseñado explícitamente para resolver este problema, que pueda indicarnos si este género es en realidad o no polifilético. La familia Lentariaceae no es reconocida como perteneciente a los Gomphales y tampoco los géneros *Clavariadelphus*, *Cantharellus* y *Ramariopsis* se agruparon dentro del principal grupo monofilético aquí manifestado bajo ninguna de las condiciones de análisis exploradas.

## ABSTRACT

The family Gomphaceae was established by Donk (1961) to include fungi which --albeit macroscopically heterogeneous-- shared chemical and microscopic similarities. Genera like *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Lentaria*, *Ramaria*, *Ramaricium*, *Beenakia* and *Kavinia* were the first to be grouped in this family. They had previously been classified according to the Friesian system in the following families: Cantharellaceae (pileate-stipitate basidioma and veins or smooth hymenium), Clavariaceae (simple to branched basidioma with smooth hymenium and frequently amphigenous), Corticiaceae (resupinate basidioma and smooth to rough hymenium) and Hydnaceae (pileate-stipitate or resupinate basidioma with toothed hymenium). Genera like *Pseudogomphus*, *Terenodon* and *Delentaria*, described subsequently, have also been considered as members of this family.

Despite the fact that various authors have acknowledged Gomphaceae in the sense it was proposed by Donk, there are disagreements regarding the inclusion of certain taxa within this family. Some taxa mentioned in the previous paragraph (*Lentaria* and *Beenakia*) and others like *Clavariadelphus*, *Cantharellus* and *Ramariopsis* display features which are intermediate between Gomphaceae and the other families where these taxa have been grouped (Clavariadelphaceae, Cantharellaceae and Clavariaceae). On the other hand, another problem is whether to place these genera within a single family or to distribute them among several families (Ramariaceae, Gomphaceae, Lentariaceae, Beenakiaceae) which in turn could be grouped in one order (Gomphales) as has been proposed by authors like Jülich (1981) or in two separate orders (Gomphales and Boletales) as is suggested in an alternative classification by Hawksworth *et al.* (1995).

The chief objective of this study was to make a cladistic evaluation of the alternative hypotheses of the classification of Gomphaceae *sensu lato* as a monophyletic group thereby presenting a robust classificatory hypothesis regarding these genera.

The analysis was designed by taking into account the aforementioned alternative hypotheses of classification in which different taxa were included as external groups. Only samples from the following genera could be analyzed: *Gomphus*, *Ramaria*, *Lentaria*, *Gloeocantharellus*, *Ramaricium*, *Beenakia*, *Kavinia*, *Clavariadelphus*, *Cantharellus* and *Ramariopsis*, since the genera *Terenodon*, *Pseudogomphus* and *Delentaria* are monospecific and the type specimen are not available at the moment.

The characters were obtained from the macroscopic and microscopic revision of over 200 fresh and/or dried specimens as with the support of data gathered from several bibliographical sources. Taking into account the variation observed in the several revised samples, around 60 characters were analyzed, 46 of which could be included in the present analysis. These were later included in a data matrix which considered 25 cladistic units. The analyses were performed with the program PAUP 3.1

Several search analyses were carried out under different conditions. There is evidence of a robust monophyletic group made up of the following genera: *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Beenakia*, *Ramaricium*, *Kavinia* and *Ramaria*. This group has been recognized as the order Gomphales. Two smaller groups could be identified within this monophyletic group: the first one has been named Gomphaceae, constituted by the genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus* and the second one with *Beenakia*, *Kavinia* and *Ramaricium* is recognized as the family Beenakiaceae. All the units of the genus *Ramaria* included in this study are polyphyletic and therefore the family Ramariaceae cannot be formally recognized until we have an analysis explicitly designed to solve this problem, which may indicate if this group is truly polyphyletic. The family Lentariaceae finally were not classified within Gomphales and the genera *Clavariadelphus*, *Cantharellus* and *Ramariopsis* do not belong to this monophyletic group under any of the evaluated circumstances.

## AGRADECIMIENTOS

Escribir esta parte de la tesis me resulta un poco complicado, y esto se debe al temor de omitir a alguien y no deseo hacerlo, por lo que en principio, quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas e Instituciones que en mayor o menor medida ayudaron al desarrollo de este trabajo, aunque los errores en el contenido son únicamente responsabilidad mía. Sin embargo, es evidente que no puedo dejar de mencionar a las más sobresalientes.

Al Dr. Joaquín Cifuentes, por todo su apoyo incondicional para la realización de este trabajo y por involucrarme como parte de un excelente grupo de trabajo. Al Dr. Efraín de Luna, por su gran disposición en enseñarme los diversos aspectos de la sistemática filogenética y tener la paciencia de revisar las múltiples versiones de este trabajo. A mi gran amigo, Dr. Arturo Estrada Torres por compartir conmigo mucho de su conocimiento sobre los hongos clavarioides y por esas grandes charlas sobre los hongos en general. A los miembros del jurado Dr. Teófilo Herrera Suárez, Dr. Francisco Lorea Hernández, Dra. Patricia Escalante Pliego y Dr. Oswaldo Téllez Valdez, por las valiosas aportaciones y comentarios al manuscrito.

Las facilidades brindadas por los curadores de los Herbarios ENCB (M. en C. Ricardo Valenzuela), MEXU (M. en C. Elvira Aguirre), IBUG (M. en C. Laura Guzmán-Dávalos), XAL (M. en C. Rosario Medel), TLXM (M. en C. Alejandro Kong), TENN (Dr. Ronald Petersen) y NFC (Dra. Mary Palm), para la revisión de ejemplares, fueron muy valiosas, por lo que se les agradece su colaboración.

Agradezco también, a todos mis compañeros de la Sección de Micología del Herbario FCME, su buena disposición para apoyarme en las múltiples fases de laboratorio y campo de éste trabajo, en especial a Guadalupe Vidal Gaona, Sigfrido Sierra Galván, Ricardo García Sandoval, Violeta Patiño y Alfonso Montañéz, por disponer de parte de su tiempo para auxiliarme en diversos aspectos técnicos. Igualmente fué muy valioso el apoyo que me brindaron la maestra Silvia Espinoza de la Fac. de Ciencias, UNAM y el Sr. Tiburcio Salas del Instituto de Ecología A.C. de Xalapa, en la toma de fotografías al microscopio electrónico de barrido.

No puedo pasar por alto en expresar un gran agradecimiento a la fundación RLG-VI y a mi maravillosa familia, sin cuyo apoyo y solidaridad, me hubiera sido prácticamente imposible involucrarme de ésta manera con la biología. Es para mí una gran felicidad saber que siempre puedo contar con ellos.

## CONTENIDO

RESUMEN

ABSTRACT

AGRADECIMIENTOS

1. INTRODUCCIÓN	4
2. PHYLOGENETIC STUDIES IN GOMPHACEAE <i>SENSU LATO</i> (BASIDIOMYCETES)	18
3. SPORAL CHARACTERS IN GOMPHACEAE <i>SENSU LATO</i> AND THEIR USE IN PHYLOGENETIC SYSTEMATICS	39
4. LA DELIMITACIÓN DEL ORDEN GOMPHALES Y LAS RELACIONES FILOGENÉTICAS DE LOS GÉNEROS CONSIDERADOS	60
5. DISCUSIÓN GENERAL	104
6. APÉNDICE. MATERIALES ESTUDIADOS	112

---

## 1. INTRODUCCIÓN

La sistemática como rama de la biología, tiene como objetivo fundamental generar una referencia histórica que permita el entendimiento de la diversidad biológica, la cual no puede ser producida por ninguna otra disciplina y cuyos resultados tienen además, un fuerte impacto en otras áreas de investigación (Brooks & Wiley, 1985). Actualmente, los estudios sistemáticos no sólo se avocan a la realización de inventarios y descripción de la biodiversidad, sino que tomando como base estos conocimientos, proceden a estructurar inferencias sobre la historia de los organismos (Kellogg, 1994), generando así, hipótesis que permitan fundamentar acciones encaminadas a su conservación, uso sostenible o profundización del conocimiento que sobre ellos tenemos, entre otros aspectos (Williams y Humphries, 1994). Sin una base taxonómica adecuada, cualquier pronóstico, estrategia o modelo concernientes a la biodiversidad, corre el riesgo de quedar sólo en generalizaciones ambiguas (Ogata y De Luna, 1995). Por tales motivos por los cuales, la sistemática se ha convertido en una disciplina de gran importancia no sólo para los taxónomos sino para muchas otras áreas de la biología moderna (Systematics Agenda 2000).

Aunque han sido generadas diferentes posiciones filosóficas y metodologías de cómo producir este marco referencial histórico en torno a la diversidad de los organismos (Bock, 1974; Mayr, 1981; Simpson, 1961; Felsenstein, 1982), la argumentación filosófica generada por la metodología cladística ha mostrado claramente que esta escuela taxonómica es la más robusta para la reconstrucción filogenética y clasificación de la biodiversidad. Este enfoque, inicialmente propuesto por Hennig como un método más explícito de hipotetizar y probar relaciones filogenéticas y reflejar éstas en clasificaciones, considerando la genealogía de los organismos en lugar de las opiniones tradicionales sobre agrupamientos que generalmente sólo reflejan la similitud más que la historia del grupo (Janvier, 1984), actualmente ha mostrado ser relativamente simple, lógico y consistente. Su visión ontológica de los grupos naturales y el enfoque popperiano acerca de que el método científico no es exclusivamente experimental, sino que en general es un modo sistemático para examinar y potencialmente refutar hipótesis, ha hecho que la sistemática filogenética sea la vía más adecuada para postular relaciones entre organismos y reconstruir así, hipótesis robustas sobre la historia de la vida (Farris, 1983; Brooks, 1974; Patterson, 1978; De Luna, 1995).

No es factible dar marcha atrás en el tiempo, por ello, para construir la filogenia de los organismos, es necesario utilizar las evidencias reflejadas en ellos, es decir, los caracteres que presentan. Sin embargo, en vista de que en un sistema de clasificación cladista, sólo grupos monofiléticos pueden ser reconocidos como taxa naturales, la similitud por sí sola, morfológica, molecular o cualquiera que sea, no permite establecer grupos. Los atributos de los organismos deben de ser cuidadosamente analizados y elegidos, ya que hay ciertos caracteres que son “mejores indicadores” de las relaciones filogenéticas y por lo tanto, la genealogía de un grupo de organismos puede ser evidenciada concentrándose sólo en los que son indicadores del atavismo común, lo que conducirá al descubrimiento de monofilia a través de esos caracteres compartidos u homólogos sinapomórficos (Forey *et al.*, 1992;



Llorente *et al.*, 1994). De aquí que uno de los conceptos más sobresalientes dentro de la sistemática filogenética sea el de homología, el cual en términos generales alude a la relación histórica entre partes de organismos (De Pinna, 1991; Roth, 1984; De Luna y Mishler, 1996).

Bajo el enfoque cladístico se han desarrollado además, métodos robustos que permiten la deducción explícita de caracteres homólogos, la definición de un patrón filogenético y reconocimiento de los grupos taxonómicos (Bryant, 1989; De Luna y Mishler, 1996). Los patrones jerárquicos de sinapomorfias reflejan niveles de descendencia con una historia filogenética común, es decir, grupos monofiléticos que junto con los niveles jerárquicos del sistema Linneano constituyen la base para la clasificación (Ogata y De Luna, 1995). Además de ser un sistema generador de hipótesis clasificatorias robustas, los métodos cladísticos constituyen también una aproximación generalista que permite organizar cualquier información pluralista, y aún cuando dentro de ella existen controversias en torno a metodologías particulares, en ningún momento se ha mantenido estática, sino por el contrario, su solidez teórica sigue robusteciéndose y avanzando continuamente en torno a sus alternativas de análisis de datos, abriendo la posibilidad de nuevas líneas de investigación (De Luna, 1995), de aquí que otro de sus atributos sea el contar con metodologías cada vez más explícitas que conduzcan a hipótesis más claras (Wiley *et al.*, 1991, Kluge, 1997).

#### SITEMÁTICA FILOGENÉTICA EN HONGOS

Aunque en un principio desarrollada para reconstruir filogenia en insectos, son varias ya las disciplinas de la biología que han incorporado los principios de la escuela taxonómica cladista, para la generación de hipótesis clasificatorias y la Micología no ha sido la excepción. Los hongos, al igual que otros organismos vivos, tienen una historia evolutiva única, que refleja el origen de su diversidad biológica, estimada hasta ahora como una de las más amplias (Hawksworth, 1991; Guzmán, 1995). No obstante, los criterios empleados por muchos taxónomos para el estudio de esta biodiversidad, a través del uso de la clasificación varía considerablemente, donde a menudo las justificaciones metodológicas empleadas en su elaboración no son explícitamente expuestas. En muchos grupos de hongos la proliferación de taxa segregados con base en sólo uno o dos caracteres no necesariamente ha incrementado el entendimiento de las relaciones sistemáticas y más bien ha complicado considerablemente las interpretaciones sobre la diversidad de estos organismos. La ontología de varios de estos esquemas clasificatorios, reside básicamente sobre una intuición o autoridad más que sobre un patrón explícito de relaciones evolutivas (Vilgalys *et al.*, 1994).

La aplicación explícita de criterios filogenéticos ha sido considerada en pocos grupos de hongos y básicamente se han utilizado ~~criterios morfológicos convencionales~~ (Kuyper, 1986; Crisci *et al.*, 1988; Hoiland, 1987; Theler, 1988; Morton, 1990; Schumacher, 1990; Banerjee y Sundberg, 1995, Oberwinkler, 1994). Uno de los mayores obstáculos evidenciados en estos trabajos, fue la dificultad de instrumentar el reconocimiento de criterios de homología, sobre todo cuando se trabajaba con morfología a altos niveles taxonómicos. Otro impedimento significativo fue la aparente escasez de caracteres morfológicos para hongos microscópicos y una complicación más fue impuesta por hongos

que tienen estados anamórficos o teleomórficos poco evidentes o discordantes (Vilgalys *et al.*, 1994; Lutzoni & Vilgalys, 1995).

Los estudios quimiotaxonómicos en hongos se han abordado con los mismos problemas de reconocimiento de caracteres y determinación de homologías, enfrentando además problemas relacionados con la asociación de compuestos secundarios en sus vías biosintéticas (Gowan, 1989). Estas restricciones desalentaron las contribuciones de estudios morfológicos y quimiotaxonómicos para aspectos filogenéticos más abajo del nivel común, en comparación con lo desarrollado para otros organismos, como por ejemplo plantas. El empleo de otro tipo de datos alternativos como las secuencias de DNA, provenientes principalmente de genes como el RNA ribosomal, los cuales permiten obtener de manera relativamente rápida una gran cantidad de información útil en análisis filogenéticos (González, 1998), ha sido la alternativa para muchos micólogos (Vilgalys *et al.*, 1994; Lutzoni y Vilgalys, 1995), que a la par enfrentan también sus propias problemáticas (Hillis, 1994).

A pesar de esto, no es sino hasta la última década que los estudios sistemáticos en hongos han empezado a dirigirse con gran determinación hacia la reconstrucción filogenética de estos organismos. Lo que si bien ha generado prolíficas contribuciones al respecto, éstas primero se circunscribieron al estudio de grandes grupos (Berbee & Taylor, 1993a, 1993b; Bowman *et al.* 1992; Bruns *et al.*, 1992, 1993) y sólo en años más recientes han empezado a incrementarse notablemente en niveles taxonómicos menos inclusivos.

Con la creciente aceptación y aplicación de métodos filogenéticos en diversos grupos de hongos como los homobasidiomicetos (Gargas *et al.*, 1995; Swan & Taylor, 1993 y 1995; Bergerow, 1997), un claro panorama de la filogenia fúngica está ya emergiendo para servir como base a la taxonomía que, no obstante, sigue enfrentando diversos retos a diferentes niveles. En el caso particular de los macromicetos, el uso de datos morfológicos continúa generalmente limitado por factores como la aparente variabilidad y plasticidad morfológica de los esporomas, propiciando que la homología de caracteres obtenidos de esta parte del organismo no sea claramente entendida (Weising *et al.*, 1995; Vilgalys, 1986). La dificultad práctica de obtener continuamente ejemplares frescos es otro elemento a considerar, debido a que sólo pueden ser recolectados en campo durante algunos meses del año y su disponibilidad depende en gran medida de la fenología particular de las especies. El hecho de que sólo sean fácilmente evidenciados y recolectados los cuerpos fructíferos (que a menudo también son efímeros) y que en muy pocos casos se reconozcan de manera particular y práctica a los talos, obstaculiza la distinción de individuos por el hecho de estar sólo observando parte del organismo y no al módulo en forma integral (Cannon, 1997; Carlile, 1995; Carlile y Watkinson, 1994), es otro factor que también incrementa las dificultades de trabajar con morfología. Algunas de estos obstáculos pueden ser subsanados parcialmente con el empleo de las colecciones científicas (principalmente de esporomas) que albergan diversos herbarios, de donde se pueden obtener ejemplares para la mayoría de los estudios microscópicos y ciertos datos respecto a su macromorfología.

Si bien los datos moleculares abren una buena alternativa de obtención de caracteres, éstos tienen que salvar además nuevas contrariedades para el caso de muchos hongos macroscópicos. Hasta ahora, es baja la proporción de macromicetos susceptibles de

Aphylophorales en 22 familias; los más de setenta nombres genéricos propuestos hasta entonces dentro de Clavariaceae, son segregados en las familias: Gomphaceae, Hymenochaetaceae, Thelephoraceae, Hericiaceae, Clavariaceae, Bondarzewiaceae, Clavulinaceae y Sparassidaceae. Desde su punto de vista, los hongos clavarioides no pueden ser considerados como una familia natural y el término "hongos clavarioides" sólo puede ser utilizado en un sentido puramente descriptivo.

Después de 20 años de haber publicado su monografía sobre hongos clavarioides, Corner (1970) publica un suplemento a la misma, proponiendo una clasificación más formal, con un rearrreglo de los hongos clavarioides en trece familias, la mayoría de las cuales no son congruentes con las propuestas por Donk (1964) (ver tabla 1).

Evidentemente, estos basidiomicetos tal como tradicionalmente se les ha clasificado no son un grupo monofilético y los esquemas taxonómicos genéricos y supragenéricos, difieren de un autor a otro. Podemos decir que la taxonomía de estos organismos, se encuentra actualmente en transición; géneros antiguos como *Clavaria* han sido divididos, mientras que algunos de los más recientes son cuestionados. Todo esto hace que la construcción de clasificaciones adecuadas para estos taxa sea una tarea difícil.

La mayoría de los autores que han realizado estudios con relación a estos hongos, han estado de acuerdo en que el sistema propuesto por Donk (1964) ofrece agrupaciones aparentemente más naturales aunque, como establece Petersen (1967), este esquema muestra mucha heterogeneidad en cuanto a la forma macroscópica de los esporomas presentando desde formas agaricoides subpileadas hasta especies simples o ramificadas en diferente gradación.

Una vez establecida la familia Gomphaceae por Donk (1961), ésta se reconoció como un grupo de hongos morfológicamente heterogéneos, principalmente con lo que respecta a su construcción himenial. Esta clasificación, contraria a las anteriores, hace énfasis en semejanzas microscópicas, por ejemplo, la presencia de esporas cianófilas con forma elipsoide a elongada, ocráceas a hialinas en color y con la pared generalmente rugosa. Otra característica importante es que el himenio de los basidiomas reacciona positivamente a las sales de hierro evidenciada por una coloración verdosa. Los géneros que Donk (op.cit.) agrupó en esta familia son: *Beenakia*, *Gomphus*, *Kavinia*, *Lentaria*, *Ramaria* y *Ramaricium* (ver tabla 2).

Varios micólogos como Corner (1950) ya habían considerado la posible afinidad entre el género cantareloide *Gomphus* y el clavarioide *Ramaria*, no obstante, para él las relaciones con *Lentaria* no parecen claras, a pesar de la similitud entre algunas especies como *L. byssiseda* (Bres.) Corner y *L. surculus* (Berk.) Corner con especies del grupo de *Ramaria stricta* (Pers. : Fr.) Quél. Al describir Eriksson (1954) al género *Ramaricium*, hizo también hincapié sobre la similitud de sus esporas con las de *Ramaria* y *Kavinia*, principalmente con lo que respecta a la reacción cianofílica, característica que también fue resaltada por otros autores como Petersen (1967) y Marr & Stuntz (1973), quienes consideraron que su análisis podría ayudar en la clarificación de las relaciones taxonómicas entre los miembros del Orden Aphylophorales. Heim (1959) opinó que *Ramaria* parecía ser un taxón intermedio entre *Gomphus* y *Clavariadelphus*, proponiendo además, la posibilidad de que el género *Gomphus* hubiese surgido por una fusión de las ramificaciones

de algún miembro de *Ramaria*, algo similar a lo postulado para el origen de las especies pileadas de *Thelephora* a partir de formas ramificadas. Esta idea fue rechazada por Corner (1966), poniendo como argumento básico la diferencia que en cuanto a coloración presentan las esporas de *Clavariadelphus* y la certidumbre de diferentes orígenes para el hábito ramificado; no obstante, ratifica su propuesta en cuanto a la relación entre *Gomphus* y *Ramaria*. Para Petersen (1967) era evidente la relación entre *Gomphus* y algunas especies de *Ramaria*, idea que reforzó con base en sus observaciones de las hifas del contexto y de las fibulas ampuliformes. En su trabajo de 1970, Petersen hace hincapié en la presencia de hifas oleíferas observadas en varias especies de *Gomphus* y *Ramaria*, considerándolas como una evidencia más de su estrecha afinidad.

La familia Ramariaceae propuesta por Corner (1970), incluyó sólo a los géneros *Kavinia*, *Delentaria*, *Lentaria* y *Ramaria*. A pesar de que en 1950 había reconocido afinidades entre *Ramaria* y *Gomphus*, puntualizó que no existían elementos suficientes para ubicar a estos taxa en la misma familia. Marr & Stuntz (1973), apoyando la especulación de Petersen (1967), también sugirieron una estrecha relación entre *Gomphus* y *Ramaria* considerando básicamente las mismas características; mencionan además que de los subgéneros propuestos para *Ramaria* (*Lentoramaria*, *Ramaria*, *Echinoramaria* y *Laeticolora*), algunos pueden haberse originado de diversos ancestros, aunque, todos cercanamente relacionados con *Gomphus*, por lo que no dudaron en considerar que más adelante pudiesen ser propuestos como géneros diferentes. Petersen (1970) menciona que el subgénero *Laeticolora* de *Ramaria* pudo haber surgido de algún grupo primitivo de *Gomphus* ya que muchos de sus miembros, presentan fibulas similares a las del subgénero *Gomphus* y/o los colores brillantes del subgénero *Excavatus*.

Varios autores han reconocido a Gomphaceae en el sentido propuesto por Donk, aunque existen todavía discrepancias respecto a qué taxa incluir en esta familia. El género *Gloeocantharellus* descrito por Singer (1945), con base en *Cantharellus purpurascens* Hesler, a pesar de haber sido visualizado como una forma intermedia entre *Gomphus* y *Cantharellus* fue clasificado inicialmente como un "agaricoide primitivo" por su morfología externa (Corner, 1966). En 1970, Petersen transfiere este género a la familia Gomphaceae, considerando las esporas ornamentadas y coloreadas que se observan en este taxón, aunado a la presencia de hifas gloeopleróticas; sinonimiza además a *Linderomyces*, un género descrito por Singer (1947), con *Gloeocantharellus*.

Welden (1966) propuso la inclusión de *Clavariadelphus* en Gomphaceae considerando la reacción de los basidiomas a las sales de hierro. Petersen (1971a) estima la posibilidad de una relación entre *Clavariadelphus* y *Gomphus* tomando en cuenta que en algunas especies del primer género, hay un crecimiento turbinado de los cuerpos fructíferos y en general, una reacción positiva a las sales de hierro, además de la presencia de basidios largos y conexiones ampuliformes. La existencia de algunas especies de *Ramaria* con ramificaciones ensanchadas y truncadas hizo pensar a Petersen (1971a), que esta podía ser una evidencia de conexión entre los géneros *Gomphus* y *Ramaria* a través de algunas especies de *Clavariadelphus* con basidiomas truncados, idea que a su vez es reiterada por Marr & Stuntz (1973) a partir del descubrimiento de *Ramaria claviramulata* Marr & Stuntz, cuya apariencia del basidioma es muy similar a un *Clavariadelphus* ramificado. Se

ha considerado también que el género *Ramariopsis* debería ser agrupado dentro de Gomphaceae, al ser considerada esta última familia en un sentido meramente descriptivo (Petersen, 1988).

En 1977, Mass Geesteranus describe a *Psathyrodon* como un nuevo género hidnoide, mencionando su posible afinidad hacia los Corticiaceae. Este taxón más tarde es postulado por Parmasto y Ryvar den (1990) como un sinónimo de *Beenakia*.

Por otra parte, tenemos el problema de jerarquía de considerar a todos los géneros dentro de una sola familia o segregarlos en varias y ser a su vez agrupados en un solo orden. Jülich (1981), propone el orden Gomphales que agrupa a las familias y géneros: Gomphaceae (*Gomphus*, *Gloeocantharellus* y *Linderomyces*), Beenakiaceae (*Beenakia*, *Kavinia*, *Psathyrodon* y *Ramaricium*), Lentariaceae (*Lentaria* y *Delentaria*) y Ramariaceae (*Ramaria*); el género *Delentaria* Corner (1970), inicialmente fue agrupado dentro de Ramariaceae. *Linderomyces* y *Psathyrodon* actualmente son considerados sinónimos de *Gloeocantharellus* y *Beenakia* respectivamente.

Hawksworth *et al.* (1995) reconocen al orden Gomphales pero con algunas diferencias en cuanto a la agrupación de familias y géneros. Dentro de Gomphaceae además de *Gomphus* y *Gloeocantharellus* incluyen también a *Pseudogomphus* Heim y *Terenodon* Maas Geest. aunque la morfología externa de éste último género corresponde con la de un hidnoide. En Lentariaceae considera sólo a *Lentaria* e incluye a *Kavinia*, *Ramaria*, *Ramaricium* y *Delentaria* en Ramariaceae. La familia Beenakiaceae, que incluye sólo al género *Beenakia*, es transferida al orden Boletales.

De los géneros considerados en la familia Gomphaceae u orden Gomphales, *Ramaria* es el que tiene mayor número de especies de las cuales hasta ahora han sido descritas más de 100, estimándose que puede incluir no menos de 200 a 300; tradicionalmente ha sido subdividido en tres o cuatro subgéneros (*Lentoramaria*, *Echinoramaria*, *Ramaria* y *Laeticolora*), mismos que algunos autores han considerado pueden provenir de ancestros diferentes, aunque todos relacionados con *Gomphus* (Petersen, 1971a; Marr & Stuntz, 1973; Hawksworth *et al.* 1995). Los otros géneros (*Beenakia*, *Ramaricium*, *Lentaria* y *Gomphus*) incluyen menos de veinte especies o son monoespecíficos (*Kavinia*, *Terenodon*, *Pseudogomphus* y *Delentaria*).

## OBJETIVOS

Hasta el momento, no existe ningún análisis con un enfoque robusto que considere a estos taxa, por lo cual los objetivos del presente estudio son:

- Evaluar las hipótesis alternativas de la clasificación de Gomphaceae *sensu lato* como grupo monofilético. Específicamente, examinar si los géneros *Beenakia*, *Cantharellus*, *Clavariadelphus*, *Gloeocantharellus*, *Gomphus*, *Kavinia*, *Lentaria*, *Ramaria*, *Ramaricium* y *Ramariopsis* conforman un grupo monofilético.
- Plantear hipótesis clasificatorias robustas de estos géneros de hongos.
- Analizar y valorar los caracteres morfológicos que puedan ser de utilidad en el estudio filogenético de estos organismos, además de evaluar críticamente los caracteres que tradicionalmente se han utilizado para diferenciarlos.
- Tomando en cuenta que las diversas hipótesis planteadas respecto a la relación de estos géneros, están basadas al menos parcialmente en la morfología de estructuras trascendentales

en la taxonomía tradicional como lo son las esporas, proponer hipótesis de homologías en cuanto a las similitudes observadas en estas estructuras.

## METODOLOGÍA

**Elección de las unidades de trabajo.** La opción adoptada en este estudio fue la de considerar los esquemas básicos de clasificación tradicional de la familia Gomphaceae (Donk, 1961,1964) o del orden Gomphales (Jülich, 1981; Hawksworth *et al.*, 1995) y las alternativas propuestas por autores como Corner (1966), Petersen (1967, 1971b, 1973, 1988), Methven (1990) y Welden (1966), las cuales fundamentalmente están basadas en la similitud de la reacción del basidioma a las sales de hierro y en la morfología de sus esporas. Especies de los diferentes géneros fueron consideradas para representar la variación de los mismos, las cuales fueron delimitadas por diferencias morfológicas cualitativas. En la primera etapa, los taxa terminales del estudio son 19 especies que representan a los géneros *Beenakia* (con una unidad), *Cantharellus* (con una unidad), *Clavariadelphus* (con dos unidades), *Gloeocantharellus* (con una unidad), *Gomphus* (con dos unidades), *Kavinia* (con una unidad), *Lentaria* (con una unidad), *Ramaria* (con siete unidades), *Ramaricium* (con una unidad) y *Ramariopsis* (con dos unidades). Fue problemático representar al género *Ramaricium*, del que sólo se contaba con un ejemplar. En etapas posteriores, este último género fue mejor representado por otra unidad más, con la posibilidad de revisión de un mayor número de ejemplares. Géneros como *Terenodon*, *Delentaria* y *Pseudogomphus*, no fueron incluidos en ninguno de los análisis, ya que sólo se conocen los especímenes tipo depositados recientemente en la Colección del Herbario Micológico de Edimburgo, los cuales anteriormente formaban parte de la colección particular del Dr. Corner que fue de difícil acceso.

**Obtención de caracteres.** Los caracteres se obtuvieron del estudio de 217 especímenes frescos y/o herborizados, los cuales se encuentran depositados en los herbarios de la Facultad de Ciencias, UNAM, México (FCME), Universidad de Tennessee, EUA (TENN), National Fungus Collections, EUA (BPI), Centro de Investigación en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, México (TLXM), Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México (ENCB), Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara (IBUG), Instituto de Biología, UNAM, México (MEXU) e Instituto de Ecología, A.C., México (XAL), además del apoyo de datos obtenidos de diferentes fuentes bibliográficas. Una relación de los ejemplares revisados se encuentra en el anexo de esta tesis.

La selección de caracteres potencialmente útiles se basó en la evaluación y examinación explícita de la variación observada entre los ejemplares de cada unidad y entre los diferentes géneros, la cual fue guiada por el concepto filogenético de homología (De Pinna, 1991; Hawkins *et al.*, 1997). En principio se evaluaron principalmente caracteres en los que se ha basado la taxonomía tradicional para diferenciar a estos taxa, muchos de los cuales no pudieron ser utilizados debido a la dificultad de establecer claramente estados discretos de la variación detectada entre unidades o por la información imprecisa e incompleta para ciertos datos precederos. Debido a que algunos de los caracteres de las esporas no pudieron ser evaluados claramente en la primera etapa y siendo estas estructuras

uno de los elementos en que han sido basadas diferentes suposiciones de relación entre varios de los géneros aquí estudiados, se realizó un estudio más detallado de sus atributos y la variación de los mismos, donde fue necesario incluso recurrir a la microscopía electrónica de barrido y a literatura más especializada para poder hacer un análisis más puntual de la variación detectada en ellas y describirlas lo más claramente posible (parte 3).

Un total de 46 caracteres cualitativos que incluyen macro y micromorfología pudieron ser finalmente considerados, los cuales son discutidos en la parte 4, al igual que los caracteres excluidos.

**Análisis filogenéticos.** En la primera etapa del trabajo, un total de 39 caracteres cualitativos pudieron ser homologados y utilizados en el análisis cladístico para investigar la monofilia y las relaciones de los 10 géneros de Gomphaceae *sensu lato*. Debido a que la relación de las familias dentro del tradicional orden Aphyllophorales no ha sido evaluada cladísticamente y por consiguiente se desconoce el grupo hermano de los gomfoides, en esta primera etapa se consideraron diferentes suposiciones acerca de la monofilia del grupo interno, grupos externos y relaciones a niveles más inclusivos (Donoghue & Cantino, 1984; Maddison *et al.*, 1984), por lo que varias opciones de grupos externos fueron evaluadas.

Los resultados obtenidos en la primera etapa (parte 2), por un lado permitieron reconocer qué unidades podían funcionar realmente como grupos externos cercanos y cuáles como lejanos, pero por otro lado, evidenciaron también la necesidad de revisar un mayor número de ejemplares de unidades como *Ramaricium*, la reexaminación de caracteres como la reacción de sales de fierro en material fresco y herborizado, un análisis más detallado de la morfología de esporas e hifas y la ampliación de observación de ejemplares tanto en los Gomphales como en los grupos externos.

En la última etapa de este trabajo (parte 4), se incorporó una unidad más en el grupo interno (*Ramaricium polyporoideum*), se excluyeron datos que resultaron ser redundantes como la reacción de las sales de fierro en material herborizado, se revisó un mayor número de ejemplares tanto del grupo interno como externo y se incorporaron siete caracteres nuevos a la matriz, la cual finalmente incluyó 46 caracteres. No obstante haber realizado un estudio más detallado de la superficie de las esporas, las evidencias actuales son todavía confusas respecto a si lo observado ontogenéticamente corresponde o no a la misma estructura, motivo por el cual, estos datos tuvieron que ser analizados bajo diferentes opciones de codificación.

Todos los análisis se efectuaron por medio de los programas PAUP versión 3.0 (Swofford, 1991) o versión 3.1.1 (Swofford, 1993) y MacClade versión 3.0 (Maddison & Maddison, 1992) y las hipótesis filogenéticas obtenidas para los Gomphales, fueron usadas para proponer una clasificación de familias dentro de este orden.

En virtud de la hipótesis planteada por Hibbett *et al.* (1997), en el sentido de que el género *Clavariadelphus* debe formar parte de los Gomphales, en esta etapa del trabajo se investigó además el costo en términos de parsimonia, de incluirlo dentro de este orden. Además, en la última etapa de esta parte del trabajo, un cladograma seleccionado aleatoriamente se usa como base para investigar las hipótesis alternativas de evolución de la forma del basidioma e himenóforo.

En conjunto, esta tesis doctoral provee datos originales sobre la variación morfológica en los basidiomas, hipótesis filogenéticas e hipótesis de evolución de caracteres sobre los Gomphales.

#### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Ainsworth, G.C. 1976. **Introduction to the history of Mycology**. Cambridge University Press, London.
- Anónimo 1994. Systematics Agenda 2000. Charting the biosphere. Produced by Systematics Agenda 2000, a consortium of the American Society of Plant Taxonomists, the Society of Systematic Biologists and Willy Hennig Society, in cooperation with the Association of Systematics Collections.
- Banerjee, P. y W. Sundberg 1995. The genus *Pluteus* (Pluteaceae, Agaricales) in the Midwestern United States. **Mycotaxon** 53: 189-246.
- Berbee, M.L. and J.W. Taylor 1993a. Ascomycete Relationships: Dating the Origin of Asexual Lineages with 18S Ribosomal RNA Gene Sequence Data. *In*: Reynolds, D.R. and J.W. Taylor (eds.). **The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics**. CAB International, Wallingford.
- Berbee, M.L. and J.W. Taylor 1993b. Dating the Evolutionary Relationships of the True Fungi. **Can. J. Bot.** 71: 1114-1127.
- Bock, W.J. 1974. Philosophical foundations of classical evolutionary classification. **Systematic Zoology** 22: 375-392.
- Bowman, B.H., J.W. Taylor, A.G. Brownlee, J. Lee, S.D. Lu and T.J. White 1992. Molecular Evolution of the Fungi : Relationships of the Basidiomycetes, Ascomycetes and Chytridiomycetes. **Mol. Biol. Evol.** 9: 285-296.
- Brooks, D.R. and E.O. Wiley 1985. Theories and methods in different approaches to phylogenetic systematics. **Cladistics** 1: 1-11.
- Bruns, T.D., R. Vilgalys, S.M. Barnes D. González D.S. Hibbett, D.J. Lane, L. Simon, S. Stickel, T.M. Szaro, W.G. Weisburg and M.L. Sogin 1993. Evolutionary Relationships within the Fungi: Analyses of Nuclear Small Subunit rRNA Sequences. **Mol. Phylogenet. Evol.** 1: 231-241.
- Bryant, H.N. 1989. An evaluation of cladistic and character analysis as hypothetico-deductive procedures, and the consequences for character weighting. **Systematic Zoology** 38: 214-227.
- Carlile, M.J. and S.C. Watkinson 1994. **The fungi**. Academic Press, New York.
- Carlile, M.J. 1995. The success of the hypha and mycelium. *In*: Gow, N.A.R. and G.M. Gadd (eds.). **The growing fungus**. Chapman & Hall, New York.
- Cannon, F. 1997. Strategies for rapid assessment of fungal diversity. **Biodiversity and Conservation** 6: 669-680.
- Corner, E.J.H. 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. **Ann. Bot. Mem.** 1: 1-740.
- Corner, E.J.H. 1966. **Cantharelloid Fungi**. Oxford University Press, Oxford.
- Corner, E.J.H. 1970. **Supplement to a monograph of Clavaria and allied genera**. Cramer, Lehre.



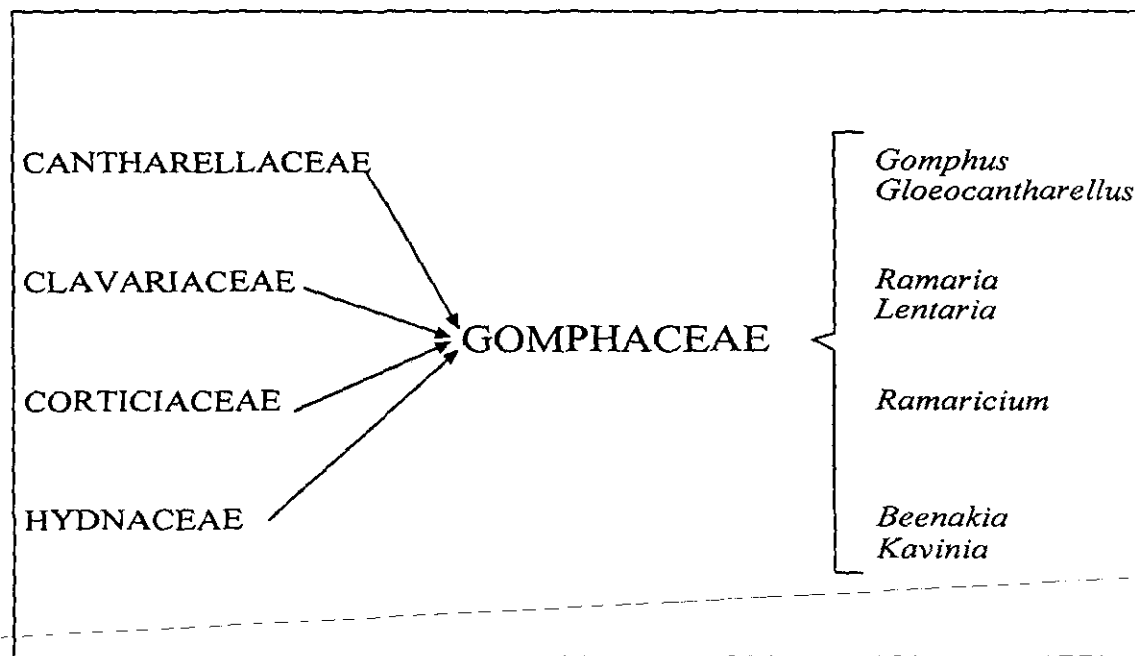
- Crisci, J. V., I.J. Gaumundi and M.N. Cabello 1988. A cladistic analysis of the genus *Cyttaria* (Fungi-Ascomycotina). **Cladistics** 4: 279-290.
- De Luna, E. 1995. Bases filosóficas de los análisis cladísticos para la investigación taxonómica. **Acta Bot. Mex.** 33: 63-79.
- De Luna, E. y B. Mishler 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. **Boletín de la Sociedad Botánica de México** 59: 131-146.
- De Pinna, M.C.C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. **Cladistics** 7: 367-394.
- Donk, M.A. 1961. Four new families of Hymenomycetes. **Persoonia** 1: 405-407.
- Donk, M.A. 1964. A conspectus of the families of the Aphyllophorales. **Persoonia** 3: 199-324.
- Donoghue, M.J. and P.D. Cantino 1984. The logic and limitations of the outgroup substitution approach to cladistic analysis. **Syst. Bot.** 9: 192-202.
- Eriksson, J. 1954. *Ramaricium* n.gen., a corticioid member of the *Ramaria* group. **Svensk Bot. Tidskr.** 48: 188-198.
- Farris, J.S. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. In: Platnick, N.I. and V.A. Funk (eds.). **Advances in Cladistics**. Columbia University Press, New York.
- Felsenstein, J. 1982. Numerical methods for inferring evolutionary trees. **Quarterly Review of Biology** 57: 379-404.
- Forey, P.L., J. C. Humphries, I.J. Kitching, R.W. Scotland, D.J. Siebert and D.M. Williams 1992. **Cladistics. A Practical Course in Systematics**. Clarendon Press, Oxford.
- Gargas, A., P.T. De Priest, M. Grube and A. Tehler 1995. Multiple origins of lichen symbiosis in fungi suggested by SSV rDNA phylogeny. **Science** ???
- González, H.D., 1998. Marcadores moleculares para estudios comparativos de la variación en Ecología y Sistemática. **Rev.Mex.Mic.** 14: 1-21.
- Gowan, S.P. 1989. A character analysis of the secondary products of the Porpidiaceae (lichenized Ascomycotina). **Syst. Bot.** 14: 77-90.
- Guzmán, G. 1995. La diversidad de hongos en México. **Ciencias** 39: 52-57.
- Haines, J.H. and C.R. Cooper jr. 1993. DNA and Mycological Herbaria. In: Reynolds D.R. and J.W Taylor (eds.). **The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics**. International Mycological Institute, CAB International, Surrey.
- Hawksworth, D.L., 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. **Mycol. Res.** 95(6): 641-655.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton y D.N. Pegler, 1995. **Dictionary of the fungi**. International Mycological Institute, CAB International, Wallingford.
- Hawkins, J.A., C.E. Hughes and R.W. Scotland 1997. Primary homology assessment, characters and character states. **Cladistics** 13: 275-283.
- Heim, R. 1959. A propos de trois chanterelles américaines. **Rev. Mycol.** 19: 47-56.
- Hibbett, D., E.M. Pine, E. Langer, G. Langer and M.J. Donoghue 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 94: 12002-12006.

- Hillis, D.M. 1994. Homology in Molecular Biology. *In*: Hall B.K. (ed.). **Homology: the hierarchical basis of comparative biology**. Academic Press, New York.
- Hoiland, K. 1987. A new approach to the phylogeny of the order Boletales (Basidiomycotina). **Nord. J. Bot.** 7(6): 705-718.
- Janvier, P. 1984. Cladistics: theory, purpose and evolutionary implications. *In*: Pollard, J.W. (ed.). **Evolutionary theory paths into the future**. Wiley Interscience, New York.
- Jülich, W., 1981. **Higher taxa of Basidiomycetes**. J. Cramer, Vaduz.
- Kellogg, E.A. 1994. What makes a good monograph? **ASTP Newsletter** 8(4): 12-15.
- Kuyper, T.W. 1986. A revision of the genus *Inocybe* in Europe. **Persoonia** 3: 1-247.
- Lutzoni, F. and R. Vilgalys 1995. Integration of morphological and molecular data sets in estimating fungal phylogenies. **Can. J. Bot.** 73 (1): S649-S659.
- Llorente, J., I. Luna, J. Soberón y L. Bojórquez 1994. Biodiversidad, su inventario y conservación: teoría y práctica en la taxonomía alfa contemporánea. *In*: Llorente, J. e I. Luna (eds.). **Taxonomía biológica**. UNAM-FCE, México.
- Maddison, W.P., M.J. Donoghue and D.R. Maddison 1984. Outgroup analysis and parsimony. **Systematic Zoology** 33: 83-103.
- Maddison, W.P. and D.R. Maddison 1992. **McClade version 3.0**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Marr, C.D. and D.E. Stuntz 1973. *Ramaria* in western Washington. **Biblth. Mycol.** 38: 1-232.
- Mass Geesteranus, R.A. 1977. *Psathyrodon*, a new hydneaceous genus. **Kew Bull.**: 417-419.
- Mayr, E. 1981. Biological classification: toward a synthesis of opposing methodologies. **Science** 214: 510-516.
- Methven, A.S. 1990. **The genus *Clavariadelphus* in North America**. J. Cramer, Stuttgart.
- Morton, J. B. 1990. Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae. **Mycologia** 82: 192-207.
- Novak, L.A.F. 1996. Control of growth and patterning in the fungal fruiting structure. A case for the involvement of hormones. *In*: Chiu, S.W. and D. Moore (eds.). **Patterns in fungal development**. Cambridge University Press, New York.
- Oberwinkler, F. 1994. Genera in a Monophyletic Group: The Dacrymycetales. **Mycologia Helvetica** 6(1): 35-72.
- Ogata, N. y E. De Luna 1995. Implicaciones ontológicas y epistemológicas del uso de clasificaciones en estudios ecológicos de biodiversidad. *In*: Halffter, G. (ed.). **La diversidad biológica de Iberoamérica**. Vol. II. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo-Instituto de Ecología A.C.- Secretaria de Desarrollo Social.
- Parmasto, E. and L. Ryvardeen, 1990. The genus *Beenakia* (Gomphaceae, Aphyllophorales). **Winalhia** 18: 35-42.
- Patterson, C. 1978. Verifiability in systematics. **Systematic Zoology** 27: 218-222.
- Petersen, R.H. 1967. Evidence on the interrelationships of the families of clavarioid fungi. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 50: 641-648.

- Petersen, R.H. 1970. **The genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus* in North America.** University of Tennessee Press, Knoxville.
- Petersen, R.H. 1971a. Progress in the study of classification of the higher Basidiomycetes. In: Petersen, R.H. (ed.). **Evolution in the higher Basidiomycetes.** University of Tennessee Press. Knoxville.
- Petersen, R.H. 1971b. **The genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus* in North America.** J. Cramer, Lehre.
- Petersen, R.H. 1973. Aphylophorales II: The clavarioid and cantharelloid Basidiomycetes. In: Ainsworth, G.C., F.K. Sparrow and A.S. Sussman (eds.). **The Fungi, an advanced treatise. Vol. IVB.** Academic Press, New York.
- Petersen, R.H. 1988. **The Clavarioid Fungi of New Zealand.** Science Information Publishing Centre, Wellington.
- Roth, V.L. 1984. On homology. **Biological Journal of the Linnean Society** 22: 13-29.
- Schumacher, T. 1990. The genus *Scutellinia*. **Opera Botanica** 101: 1-107.
- Simpson, G.G. 1961. **Principles of animal taxonomy.** Columbia University Press, New York.
- Singer, R., 1945. New genera of fungi. II. **Lloydia** 8: 139-144.
- Singer, R., 1947. Coscinoids and coscinocystidia in *Linderomyces lateritius*. **Farlowia** 3: 155-157.
- Swann, E.C. and J.W. Taylor 1993. Higher taxa of basidiomycetes: an 18S rRNA perspective. **Mycologia** 85: 923-936.
- Swann, E.C. and J.W Taylor 1995. Phylogenetic perspectives on basidiomycete systematics: evidence from the 18S rRNA gene. **Can. J. Bot.** 73: 862-868.
- Swofford, D.L. 1991. **PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony. version 3.0.** Champaign: Illinois, Natural History Survey.
- Swofford, D.L. 1993. **PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony. version 3.1.1.** Champaign: Illinois, Natural History Survey
- Theler, A. 1988. A cladistic outline of the Eumycota. **Cladistics** 4: 227-277.
- Vilgalys, R.J. 1986. Phenetic and cladistic relationships in *Collybia* section *Levipedes*. **Taxon** 35: 225-233.
- Vilgalys, R., J. Hopple and D.S. Hibbett 1994. Phylogenetic implications of generic concepts in fungal taxonomy: The impact of molecular systematic studies. **Mycologia Helvetica** 6 (1): 73-91.
- Welden, A.L., 1966. *Stereum radicans*, *Clavariadelphus* and the Gomphaceae. **Brittonia** 18: 127-131.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and W. Meyer 1995. **DNA Fingerprinting in Plants and Fungi.** CrC Press, London.
- Williams, P.H. and G.H. Humphries 1994. Biodiversity, taxonomic relatednes and endemism in conservation. In: Forey, P.L. , C.J. Humphries and R.I. Vane-Right (eds.). **Sistematics and conservation evaluation.** Oxford University Press, Oxford.

Donk (1964)	Corner (1970)
<i>Clavariaceae</i> <i>Clavulinaceae</i> <i>Hericiaceae</i> <i>Hymenochaetaceae</i> <i>Lachnocladiaceae</i> <i>Thelephoraceae</i> <i>Gomphaceae</i> <i>Bondarzewiaceae</i> <i>Sparassidaceae</i>	<i>Clavariaceae</i> <i>Clavulinaceae</i> <i>Hericiaceae</i> <i>Hymenochaetaceae</i> <i>Lachnocladiaceae</i> <i>Thelephoraceae</i> <i>Ramariaceae</i> <i>Amylariaceae</i> <i>Aphelariaceae</i> <i>Clavariadelphaceae</i> <i>Clavicornaceae</i> <i>Physalacriaceae</i> <i>Pterulaceae</i>

**Tabla 1.** Familias tradicionalmente propuestas para hongos clavarioides.



**Tabla 2.** Conformación de la familia Gomphaceae *sensu* Donk (1964), a partir de algunos géneros anteriormente ubicados en diferentes familias del tradicional "Sistema Friesiano".

# MYCOTAXON

Volume LXX. pp. 127-147

January-March 1999

## PHYLOGENETIC STUDIES IN GOMPHACEAE SENSU LATO (BASIDIOMYCETES)

MARGARITA VILLEGAS

Herbario FCME, Facultad de Ciencias, UNAM  
Apartado Postal 70-399, Coyoacán D.F. 04510, México  
e-mail: mvr@hp.fciencias.unam.mx

EFRAÍN DE LUNA

Instituto de Ecología A.C.  
Apartado Postal 63, Xalapa Veracruz, 91000, México  
e-mail: deluna@ecologia.edu.mx

JOAQUÍN CIFUENTES

Herbario FCME, Facultad de Ciencias, UNAM  
Apartado Postal 70-399, Coyoacán D.F. 04510, México  
e-mail: jcb@hp.fciencias.unam.mx

and

ARTURO ESTRADA TORRES

Laboratorio de Micología, Centro de Investigación en  
Ciencias Biológicas, U.A.T.  
Apartado Postal 63-389, México  
02800 D.F., México.

### ABSTRACT

Phylogenetic relationships in Gomphaceae *sensu lato* were investigated. This has been a taxonomically difficult group of macroscopic fungi because of their heterogeneous external morphology, despite similarities in their microscopic features. Thirty-nine morphological characters were studied in nineteen species from ten genera. Five additional taxa represented the outgroups. A monophyletic group is circumscribed to include the genera *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium*, *Ramaria* and *Lentaria*. This monophyletic group is supported by a homoplastic synapomorphy (presence of mycelial cords). This clade was consistent under different combinations of outgroups and different character weightings and was assigned a family level. We propose the order Gomphales to include four families: Gomphaceae, Beenakiaceae, Ramariaceae and Lentariaceae. There is no resolution regarding which genus among potential outgroups is the sister group of the seven genera.

**Key Words:** phylogeny, Gomphaceae, taxonomy.

## INTRODUCTION

The family Gomphaceae was established by Donk (1961) to include macroscopically heterogeneous fungi differing in their hymenial construction. In his classification the genera *Beenakia*, *Gomphus*, *Kavinia*, *Lentaria*, *Ramaria*, and *Ramaricium* were included in this family (see Table 1). Traditionally the Friesian system, classified these genera in the following four families: Cantharellaceae (pileate-stipitate basidioma and veins in the hymenium), Clavariaceae (coralloid basidioma with smooth hymenium and frequently amphigenous), Corticiaceae (resupinate basidioma and smooth to rough hymenia) and Hydnaceae (pileate-stipitate or resupinate basidioma with toothed hymenium). The classification by Donk (1961, 1964), contrary to previous ones, stressed microscopic similarities, for example, the presence of elliptic or elongated, cyanophilic spores, ochraceous or hyaline in color, and with a generally rugose wall. Another important characteristic of the Gomphaceae *sensu* Donk, is that the hymenium reacts positively with iron salts, producing a greenish color. Corner (1950) and Eriksson (1954) had already considered possible relationships between several pairs of taxa, for example *Gomphus* with *Ramaria*; *Lentaria byssiseda* and *L. surculus* with species of the group of *Ramaria stricta*, and *Ramaricium* with *Ramaria* and *Kavinia*, due to the morphological similarity of their spores, their cyanophilic reaction or the form of the basidioma and the type of hyphal construction.

Several authors have recognized Gomphaceae *sensu* Donk (1961, 1964). Under this concept, genera like *Gloeocantharellus* and *Psathyrodon*, which previously had been considered in other groups, were also transferred to this family (Petersen, 1971a; Maas Geesteranus, 1971). However, the position of *Lentaria* within Gomphaceae is not clear, since it has been suggested that it should be excluded from Gomphaceae, but without indication as to where to place this genus (Estrada-Torres, 1994). Also, it has been recognized that genera from other families like *Clavariadelphus*, *Cantharellus* and *Ramariopsis* show certain similarities with some of the members of Gomphaceae, but also with Clavariadelphaceae, Cantharellaceae or Clavariaceae. As a result, their affinities are considered intermediate among these four families within the Aphyllophorales (Corner 1950, 1966; Jülich, 1981; Methven, 1990; Petersen, 1971a, 1971b, 1988; Petersen *et al.*, 1974;

Welden, 1966). On the other hand, there is also the question of whether to classify all of the genera within a single family or to classify them in many families in a single order. Thus, Jülich (1981) created the order Gomphales, which was also recognized by Hawksworth *et al.* (1995). Nevertheless, as shown in table 1, discrepancies exist as to which families and genera are to be included in this group.

The generic and infrageneric classification of Gomphaceae *sensu lato* has also been problematic. Currently, *Psathyrodon* is considered a synonym of *Beenakia*, (Parmasto and Ryvar den, 1990) and *Linderomyces* is a synonym of *Gloeocantharellus*, (Petersen, 1971a).

Among the genera considered in the family or order Gomphales, *Ramaria* has the greatest number of species. More than one hundred species of *Ramaria* are currently known and it is estimated that *Ramaria* might include no less than two-hundred or three-hundred species (Petersen, 1971a; Marr & Stuntz, 1973; Estrada-Torres, 1994; Hawksworth *et al.*, 1995). *Ramaria* traditionally has been subdivided into three or four subgenera (*Lentoramaria*, *Ramaria*, *Echinoramaria*, and *Laeticolora*) which some authors consider to come from different ancestors, albeit all related to *Gomphus*. The other genera (*Beenakia*, *Ramaricium*, *Lentaria* and *Gomphus*) include less than twenty species and in some cases only one species (*Kavinia* and *Gloeocantharellus*).

Up until now there exists no taxonomical analysis with a rigorous phylogenetic approach that considers all these taxa. The objective of the present study was to evaluate alternative hypotheses for the classification of Gomphaceae *sensu lato* as a monophyletic group. Specifically, the genera *Gomphus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Lentaria*, *Ramaricium*, and *Gloeocantharellus* were examined to determine if they constitute a natural group. The relationships of *Cantharellus*, *Clavariadelphus* and *Ramariopsis* were examined to determine if they also belong to Gomphaceae. As mentioned previously, different combinations of these genera have been ranked as families or orders, and at the same time, some genera have been included in other families or orders. For this reason, five taxa of diverse relationships (*Clavulina*, Auriculariaceae, Russulaceae, Amanitaceae and *Gymnopilus subpurpuratus*) were included as outgroups.

Genus	Donk (1961)	Jülich (1981)				Hawksworth <i>et al.</i> (1995)			
	Aphylophorales A	A	B	C	D	Gomphales A	B	C	Boletales D
<i>Beenakia</i>	•				•				•
<i>Gomphus</i>	•	•				•			
<i>Kavinia</i>	•				•			•	
<i>Lentaria</i>	•		•				•		
<i>Ramaria</i>	•			•				•	
<i>Ramaricium</i>	•				•			•	
<i>Gleocantharellus</i>		•				•			
<i>Linderomyces</i>		•							
<i>Delentaria</i>			•					•	
<i>Psathyrodon</i>					•				
<i>Pseudogomphus</i>						•			
<i>Terenodon</i>						•			

Families: A = Gomphaceae; B = Lentariaceae; C = Ramariaceae; D = Beenakiaceae

**Table 1.** Traditional classifications of Gomphaceae *sensu lato* as proposed by different authors.



## MATERIALS AND METHODS

**Phylogenetic analyses.** Information derived from the present morphological survey was interpreted and analysed by means of cladistic methods (Forey *et al.*, 1992). These analyses start with the procedures for character selection, state recognition, and codification on a data matrix. Morphological characters are evaluated first with the empirical criteria of similarity, discrete variation, conjunction, heritability and independence (De Pinna, 1991; De Luna and Mishler, 1997). Characters were also subjected to the congruence tests using the inferential criterion of parsimony. After a phase of character analyses follows the search for cladograms (Kitching, 1992). These were performed with PAUP (Swofford, 1991). Given the 24 units of comparison, exhaustive searches are not possible. The only available option was to execute heuristic searches under different strategies as suggested by Soltis and Soltis (1996). The interpretation of a cladogram as a phylogenetic hypothesis is only possible until levels of clade support have been examined. A phylogenetic hypothesis of the Gomphales was used to propose a classification of families within this order.

Characters were obtained from the study of herbarium specimens and with the support of data gathered from several bibliographical sources (Cifuentes 1996; Corner 1950, 1970, 1966; Estrada-Torres 1994; Heim 1959; Keller 1986; Marr & Stuntz 1973; Maas Geesteranus 1963, 1967, 1971, and 1977; Methven 1990; Parmasto & Ryvarden 1990; Pegler & Young 1985; Petersen 1967a, b, 1968, 1969, 1971a, 1971b, 1971c, 1972, 1974, 1975, 1976, 1978, 1985, 1987, 1988; Reijnders & Stalpers 1992; Singer 1945; Sung 1987; Welden 1966). Representative samples of the six genera considered by Donk (1961 and 1964) in the family Gomphaceae were revised. *Gloeocantharellus* was also included, which was later considered within Gomphaceae *sensu lato* by authors like Petersen (1971a), Jülich (1981), and Hawksworth *et al.* (1995) (see Table 1). Three genera (*Clavariadelphus*, *Ramariopsis* and *Cantharellus*) that may be related to this family as considered by other authors were also revised (Corner 1966, 1970; Jülich 1981; Methven 1990; Petersen 1967, 1971b, 1973, and 1988; Welden 1966). In total, 146 samples were studied from ten genera. These specimens are deposited in the herbaria at: Facultad de Ciencias, UNAM, Mexico (FCME), University of

Tennessee, Knoxville, EUA (TENN), Centro de Investigacion en Ciencias Biologicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Mexico (TLXM), Escuela Nacional de Ciencias Biologicas, Instituto Politécnico Nacional, Mexico (ENCB), Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara, Mexico (IBUG), Instituto de Biología, UNAM, Mexico (MEXU), and Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Mexico (XAL). The ten genera considered for this study were represented by nineteen species to sample infrageneric variation. It has been problematic to obtain representatives of genera like *Ramaricium*, where only one sample from India was revised and where support was found in the scientific literature (Jülich, 1979; Sung, 1987; Ginns, 1969). Other genera considered in Table 1 like *Terenodon*, *Pseudogomphus* and *Delentaria* were not included in the present analysis for various reasons. Only the type specimen of *Terenodon* is known and it was not available for examination. The record in Mexico like *Terrenodon serenus*, (Guzman 1983) has not been verified (Cifuentes 1996). Specimens of *Pseudogomphus* and *Delentaria* have not been found.

**Outgroups.** The present cladistic analysis was designed to explore the monophyly of Gomphaceae *sensu lato*, which traditionally have included seven genera: *Beenakia*, *Gomphus*, *Kavinia*, *Lentaria*, *Ramaria*, *Ramaricium* and *Gloeocantharellus*. We also tested the inclusion in this family of three additional genera: *Cantharellus* (Cantharellaceae), *Clavariadelphus* (Clavariadelphaceae), and *Ramariopsis* (Clavariaceae). As a potential outgroup we included *Clavulina* (Clavulinaceae). The relations of these families have not been evaluated cladistically, so that the sister group of Gomphaceae *sensu lato* is unknown. In order to properly orient trees including the above collection of ten genera, a set of distant outgroups was also necessary. Four additional Operational Taxonomic Units (OTUs) were considered to represent the variation of the Agaricales, Russulales, and Auriculariales. The Agaricales was represented by two OTUs, one was reconstructed with the states present in the Amanitaceae and the second with those of the genus *Gymnopilus* (Cortinariaceae). In a similar fashion, the Russulales was represented using the known states in the Russulaceae and the Auriculariaceae was sampled to study the Auriculariales. Various characters were found to be polymorphic, for example, in both Russulaceae and Amanitaceae, the reaction to ferrous sulphate is positive in some species and negative in others. An initial global analysis with all taxa and all

outgroups included strongly suggested the exclusion of *Clavariadelphus*, *Cantharellus*, and *Ramariopsis* from Gomphaceae *sensu lato*. These taxa were thus considered as additional outgroups in further analyses to test the effect of different combinations of close and distant outgroups.

**Character Analysis.** The selection of characters was based on the observed variation among the different genera and guided by a phylogenetic concept of homology (De Pinna, 1991). Previous taxonomical proposals of this group were reviewed in order to obtain potentially useful characters. Nevertheless, many of these features are not found with a clear and homogeneous description at the generic level. Thus, many of the features used in the present analysis were obtained through the observation of herbarium specimens or, in some cases, with fresh samples.

The selection of potentially useful characters was based on the evaluation and explicit examination of each one of them. In terms of the levels of variation within and among OTUs. Some characters like color, basidioma context, smell, taste, and basal mycelium were not included in the present analysis due to incomplete information or to the fact that character variation is not discrete. In some OTUs like *Gomphus floccosus*, *Gomphus clavatus*, *Gloeocantharellus purpurascens*, *Cantharellus cibarius*, and *Clavariadelphus truncatus*, ontogenetic data of the hymenial surface were available, but were excluded from the analysis since they were not known for all OTUs. For this reason, only the mature state of the basidioma was coded. Nevertheless, these data confirm the association of different states observed as part of the same character state system. There are other characters in which the variation could not be partitioned into character states like the coloration of the spore mass, their form and ornamentation, and changes of color when manipulated or exposed.

A total of thirty-nine informative characters were considered, which include the macro and microscopic morphology of the different basidiomata that were examined (Table 2). The microscopic survey was done using standard techniques. A study of the spores using a scanning electron microscope is in process. All multistate characters are unordered, since no information was available to establish clearly the relationship between states.

**Cladistic Analyses.** Four sets of cladistic analyses were executed with PAUP 3.0 (Swofford, 1991). The data matrix (Table 3) consisted of twenty-four taxa and thirty-nine characters in which

Characters	Character States
1. Basidioma plicate	0 = present, 1 = absent
2. Basidioma effused	0 = present, 1 = absent
3. Basidioma clavate	0 = present, 1 = absent
4. Basidioma branched	0 = simple, 1 = little branched (1 to 3 levels of ramification), 2 = very branched (more 3 levels of ramification), ? = ambiguous
5. Hymenophore with teeth	0 = present, 1 = absent
6. Hymenophore with gill-folds or ridged	0 = absent, 1 = not very deep and reticulate, 2 = deep
7. Hymenophore without projections	0 = smooth, 1 = rugose (at least partially), ? = does not apply
8. Hymenophore with lamellae	0 = present, 1 = absent
9. Stipe	0 = clearly differentiated, 1 = little differentiated, 2 = absent
10. Stipe position regarding to the cap	0 = central, 1 = eccentric, ? = does not apply
11. Basidioma always gelatinous	0 = present, 1 = absent
12. Basidioma changing color on bruising or cutting	0 = present, 1 = absent
13. Macrochemical reaction to iron salts on fresh basidioma	0 = present, 1 = absent
14. Macrochemical reaction to iron salts on dried basidioma	0 = present, 1 = absent
15. Conspicuous mycelial cords	0 = present, 1 = absent
16. Subiculum	0 = present, 1 = absent
17. Types of basidia	0 = holobasidia, 1 = phragmobasidia
18. Basidia transversely septate at maturity	0 = present, 1 = absent
19. Number of sterigmata per basidium	0 = two, 1 = two or more
20. Type of basidia regarding the orientation of achromatic spindle	0 = chaotic, 1 = stichic, ? = unknown
21. Color of spores under a microscope	0 = byaline, 1 = pale cream to ochraceous
22. Spore shape	0 = globose, 1 = non globose
23. Spore ornamentation	0 = smooth, 1 = rugose, 2 = echinulate
24. Spore wall surface	0 = irregular, 1 = striate
25. Cyanophilous ornamentation in spores	0 = present, 1 = absent
26. Spores amyloid	0 = present, 1 = absent
27. Spores dextrinoid	0 = present, 1 = absent
28. Clamp connections uninflated in the basidioma	0 = present, 1 = absent
29. Inflated clamp connections in the basidioma	0 = present, 1 = absent, ? = unknown
30. Inflated clamp connections delicately ornamented	0 = present, 1 = absent, ? = does not apply
31. Basidia with clamps	0 = present, 1 = absent
32. Position of hypha in subhymenium	0 = interwoven, 1 = parallel
33. Coscinoidal hyphae	0 = present, 1 = absent
34. Gloeoplerous hyphae	0 = present, 1 = absent
35. Cystidia	0 = present, 1 = absent
36. Cystidia wall thickness	0 = thin, 1 = thick, ? = does not apply
37. Cystidia content	0 = homogeneous appearance, 1 = with vacuolized or oily contents, ? = does not apply
38. Position of cystidia regarding basidia	0 = intercalate, 1 = not intercalate, ? = does not apply
39. Size of cystidia regarding basidia	0 = same or smaller size, 1 = projecting out conspicuously

Table 2. Morphological characters and character states used for cladistic analyses of Gomphaceae *sensu lato*.

	Character and character States																																										
Taxa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1					
Taxa	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890						
<i>Ramaria grandis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1					
<i>Ramaria gracilis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
<i>Ramaria cf. botrytis</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
<i>Gomphus floccosus</i>	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1				
<i>Gomphus clavatus</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
<i>Kavinia alboviridis</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1			
<i>Beenakia fricta</i>	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1			
<i>Lentaria surculus</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
<i>Gloeocantharellus purpurascens</i>	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
<i>Clavariadelphus truncatus</i>	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Cantharellus cibarius</i>	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Ramariopsis kunzei</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Ramariopsis corniculata</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Ramaria abietina</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Ramaria stricta</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Ramaricium sp.</i>	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Ramaria cf. fennica</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Ramaria rubripermanens</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Gymnopilus subpurpuratus</i>	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Russulaceae	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Auriculariaceae	0	1	1	0	0	1	2	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Amanitaceae	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Clavulina</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Table 3. Datamatrix based on 39 morphological characters for 19 taxa of Gomphaceae sensu lato

the autapomorphies were also considered. Tree search was always done with autapomorphies removed. Tree lengths are reported both with and without autapomorphies. It was only possible to perform heuristic searches in the majority of analyses. This type of search typically explores only subgroups of all the possible trees. Nevertheless, to avoid exploring only one island, multiple searches with random additions of taxa (ten replicates) were made in combination with the TBR swapping algorithm in PAUP. Four series of analyses were developed to find trees under different exploration conditions as described in table 4.

In all cases, the topologies were directed with one of the outgroups, which were included according to each of the tree search conditions (Table 4). A strict consensus of the trees was constructed to show monophyletic groups present in all of the equally most parsimonious trees found in each of these five series of analyses. Optimization of character states was made utilizing the ACCTRAN option in PAUP. The final results and interpretations on the number of character changes in each branch were examined on one of the most parsimonious trees found in the first series of analysis (Figure 1). To evaluate the relative robustness of groups within the trees, decay analyses were made as described in Bremer (1988). Trees of up to three steps longer than the most parsimonious ones were saved to estimate the decay index of the different clades of each one of the analyses. These indices were calculated on strict and 80 % majority consensus.

## RESULTS

**Phylogenetic relationships.** The topologies found in the first series of analyses (using the TBR algorithm for branch exchange) are summarized in the strict consensus tree shown in Figure 2a. A total of six equally parsimonious trees of 105 steps (131 with autapomorphies) were found, with a consistency index (CI) = 0.657, a retention index (RI) = 0.670, and a rescaled index (RC) = 0.440. In these analyses, seven genera (*Ramaria*, *Lentaria*, *Beenakia*, *Ramaricium*, *Kavinia*, *Gomphus*, and *Gloeocantharellus*), are found to make up a monophyletic group. Nevertheless, there is no resolution regarding the sister group of this clade, since it can be the clade formed by *Ramariopsis* and *Clavulina* or *Clavariadelphus*. Within Gomphales *sensu lato*, a

relevant clade is the one that includes *Gomphus* and *Gloeocantharellus*.

In the second series of analyses, all of the outgroups were eliminated (represented by ten OTUs) and then only species of seven genera of Gomphaceae were considered. With this reduced matrix, it was possible not only to perform the heuristic search, but another search with the branch and bound algorithm. Both searches were performed giving the same weight to all characters, and as a result, we found one tree of thirty-eight steps (without autapomorphies, CI = 0.737, RI= 0.722, and RC = 0.532). Taking into account the results of the previous analysis 1, the tree was oriented with *Lentaria*. Relationships among genera in this tree are identical to those in the clade of Gomphaceae in analysis No. 1 (Figure 2b).

In analyses numbers three and four, the four farthest or nearest outgroups were eliminated alternatively (Table 4). The heuristic search with the nearest outgroups (analysis three) with twenty OTUs resulted in two trees (Table 5). The consensus shows two resolved monophyletic groups, which includes the seven genera of Gomphaceae *sensu lato*. There is no resolution as to which genus is the sister group to this clade. A search with branch and bound algorithm was also performed, finding the same two trees. The heuristic search (analysis 4) with eighteen OTUs and a search with branch and bound revealed one hundred and four more parsimonious trees. The same monophyletic group of seven genera stands out once again in the strict consensus tree. Just as in analysis number three, the relationships between the outgroups and Gomphaceae is ambiguous (Figure 3b).

**Robustness analysis.** The resulting trees of each one of the four cladistic analyses were evaluated by the decay index (Bremer 1988). The estimated indices of branch support in the five analyses fluctuate between one and two. The majority of the clades are collapsed in the strict consensus trees that are only one step longer than the most parsimonious one. The most robust clade is the one that includes the seven genera of Gomphaceae, although the subgroup that excludes *Lentaria surculus* is also robust. Within Gomphaceae the clades which incorporate *Gomphus floccosus* and *Gloeocantharellus purpurascens* and the one which includes *Kavinia albovirdis* and *Beenakia fricta*, are also robust.

Analysis	OTU's	Search	Swapping algorithm
1	Ingroup and both outgroups	Heuristic	TBR, SPR and NNI
2	Only the ingroup and <i>Lentaria</i> as outgroup	Heuristic and "Branch & Bound"	TBR, SPR and NNI
3	Ingroup and closest outgroup	Heuristic and "Branch & Bound"	TBR, SPR and NNI
4	Ingroup and farthest outgroup	Heuristic and "Branch & Bound"	TBR, SPR and NNI

Table 4. Conditions of exploration used in the different analyses.

Analysis	Search	Trees obtained	Length of most parsimonious trees	Indices
1a	Heuristic with SPR and TBR	6	105	CI = 0.657 RI = 0.670 RC = 0.440
1b	Heuristic with NNI	562	130	CI = 0.692 RI = 0.633 RC = 0.438
2	Heuristic with TBR, SPR and NNI Branch & Bound	1	38	CI = 0.737 RI = 0.722 RC = 0.532
3	Heuristic with TBR, SPR and NNI Branch & Bound	2	73	CI = 0.658 RI = 0.679 RC = 0.447
4	Heuristic with TBR, SPR and NNI Branch & Bound	104	99	CI = 0.768 RI = 0.647 RC = 0.504

CI= Consistency Index, RI= Retention Index, RC= Rescaled Consistency Index.

Table 5. Results obtained with different search options. In duplicated analyses (1a,1b) the data matrix content (OTU's and characters) is identical. The data matrix is not same among analysis due to different combinations of outgroups. In all analyses, heuristic search were performed with random addition of taxa and 10 replicates.



## DISCUSSION

The results obtained in the four analyses (Figures 2-3) suggest that the seven genera *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium*, *Ramaria*, and *Lentaria* form a robust monophyletic group. The final results and interpretations are illustrated in one of the trees found in analysis one (Figure 1). This cladogram identifies the monophyletic group of seven genera which is recovered under four distinct conditions of analyses in which the effects of various combinations of outgroups were evaluated. From these four analyses, it can be also noticed on the strict consensus trees that *Cantharellus*, *Clavariadelphus*, and *Ramariopsis* do not belong to this monophyletic group under any of the evaluated circumstances. This result is relevant since the inclusion of these genera had been suggested by different authors (Corner, 1966; Jülich, 1981; Methven, 1990; Petersen, 1971a, 1971b and 1988; Petersen *et al.*, 1974; Welden, 1966; Marr & Stuntz 1973). The examination of individual trees from analysis one shows that *Clavariadelphus*-plus- Gomphales form a monophyletic group (Fig. 1). However, this sister group relationship is not present in all trees (Fig. 2a).

On the other hand, although these analyses were not designed to elucidate the relationships among the seven genera within the clade Gomphaceae *sensu lato*, the topology allows us to explore the following groups (Fig.1). One group includes *Gomphus* and *Gloeocantharellus*. The second group consists of *Kavinia*, *Beenakia*, and *Ramaricium*. The third one corresponds to the species of *Ramaria*, which although it is not monophyletic in any of the present analyses, the possibility of its existence as a group is suggested by an additional analysis, in which we included all of the OTUs, (heuristic search) and retained a set of subparsimonious trees (one step longer than the shortest one). Some of these trees recover all of the species of *Ramaria* as a monophyletic group.

The Gomphales (Fig. 1) is supported by only one synapomorphy: the presence of evident mycelial cords (15:0). Within this same clade, another three synapomorphies allow us to recognize one subgroup of six genera, out of which *Lentaria* is excluded. One (character 25, spores with cyanophylic ornamentation) is shown as a unique synapomorphy and the other two (21, spores in mass with brown coloration and 23 spores with ornamented wall) are not unique, but are interpreted as

independently derived for Gomphales. The results of this study strongly support the hypothesis proposed by Jülich (1981) and partially by Donk (1964). This was also followed by Estrada-Torres (1994), but including *Gloeocantharellus* and excluding *Lentaria*, since the last two authors only considered Gomphaceae as a single family (Table 1). Their interpretations are based on characteristics like the reaction of the hymenium to iron salts, the cyanophilic character of spores, and their coloration and ornamentation.

With the results obtained in this analysis, it is not possible to make inferences regarding relationships within Gomphales, since this requires other methodological considerations. However, in genera like *Ramaria* where seven representative samples were included, all the analyses revealed this group as polyphyletic. *Ramaria*, with its branched basidioma and brown color and the ornamented spores, traditionally has been considered as one single genus, but subdivided into four subgenera (*Ramaria*, *Laeticolora*, *Lentoramaria*, and *Echinoramaria*). However, some authors have suggested that each subgenus could have originated from different ancestors, corresponding thus to different genera (Petersen 1967a, 1970, 1971a, and 1981; Marr and Stuntz 1973). The present series of analyses reveals that the subgenus *Ramaria* (*Euramaria*), represented here by *R. cf. botrytis* and *R. rubripermanens*, is recovered as a monophyletic group by the majority of analyses, which suggests a natural support for the taxonomical recognition of the subgenus *Ramaria* (*Euramaria*). The same analyses convey other subgenera as paraphyletic. Furthermore they show no close relationship with members of the genus *Gomphus* as has been suggested by Petersen (1967b, 1970, 1971a). Further research should include additional species and characters for detailed cladistic analyses within *Ramaria* as presently defined. Meanwhile, even though the seven representatives of *Ramaria* do not form a monophyletic group, it is still convenient to classify them in the Ramariaceae (Fig. 1). Traditionally, Gomphaceae *sensu lato* has been taxonomically recognized at two levels: as a family (Gomphaceae) and as an order (Gomphales). The phylogenetic analyses presented here (Fig. 1), support the placement of the seven genera present in a monophyletic group. We propose the recognition of this clade at the ordinal level as Gomphales. This clade in turn can be subdivided into four different groups: the first one made up by the genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus*, the second by *Kavinia*, *Beenakia* and *Ramaricium*, the third by the

genus *Ramaria* and the fourth by *Lentaria*. We propose the recognition of these four clades at the family level to recognise the Gomphaceae, Beenakiaceae, Ramariaceae and Lentariaceae. The inclusion of *Clavariadelphus* within Gomphales is not in conflict with monophyletic groups revealed by present analyses (Fig. 1). Based on this alone, it would be only a difference of ranking. However, the clade that includes *Clavariadelphus* plus the Gomphales is not stable in neither of the strict consensus of several analyses performed here (Figs. 2a and 3a). Furthermore this clade is not robust as suggested by decay analyses (Fig. 2a). With molecular dates Hibbett *et al.* (1997), obtained similar results for *Gomphus* and *Ramaria* but their analyses suggest that *Clavariadelphus* is closely related to a "gomphoid lineage", which is nested in a more inclusive clade with Phallales, *Spaerobolus* and *Geastrum* as well.

Hawksworth *et al.*, (1995) have considered that the genus *Beenakia* can be placed in a different order (Boletales), the justification for this proposal is not stated. A review of the relevant literature on the Beenakiaceae and Boletales leads to the conclusion that *Beenakia* was not classified in the Boletales but until Hawksworth *et al.* (1995). Indeed Jülich, (1981, 1983) have not even the possibility of such a transfer. Neither Bruns *et al.* (1990) or Besl & Bresinsky (1997), in their studies of the Boletales regarded *Beenakia* as a member of the order. Furthermore the present cladistic analysis suggest that the inclusion of *Beenakia* in the Boletales seems unwarranted at present. It is still possible that spore morphology might be similar between *Beenakia* and some families in the Boletales. However, to evaluate the phylogenetic relationships of *Beenakia* further analyses should include genera like *Boletellus*, *Boletus* and other Boletales. The cladistic analyses reported here suggest a relationship of *Beenakia* with *Kavinia*, and of these two with *Ramaricium*. Nevertheless, our results cannot establish whether this suggested relationships is an artifact due to sampling of taxa or a real phylogenetic pattern. This situation illustrates the need to use other outgroups in the future.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Dr. David Hibbett of The Harvard University Herbaria and Dr. Igancio Chapela of University of California, Berkeley, for reviewing the manuscript and helpful comments. Thanks are expressed to TENN, TLXM, ENCB, IBUG, MEXU and XAL Herbariums, for the material loaned for study. Financial support for this research was provided by CONACyT No. PN-0090, PADEP 003328, DGAPA IN203895 and DGAPA IN217198.

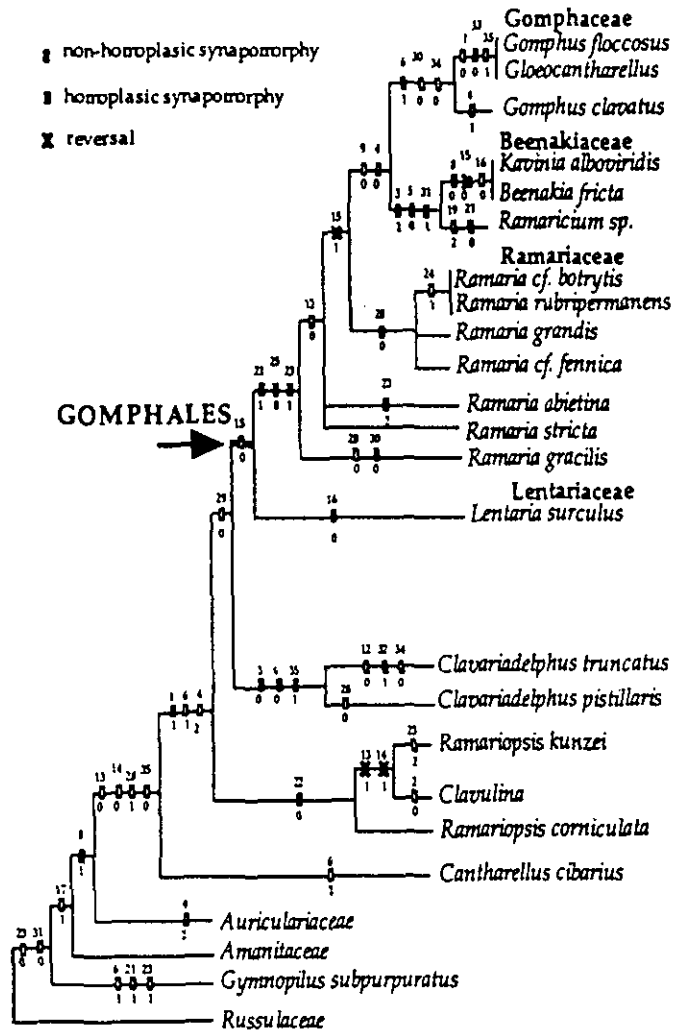


Fig.1. This is one tree selected at random from the set of six most parsimonious trees obtained in the analyses one. This tree shows the basic clades and character changes.

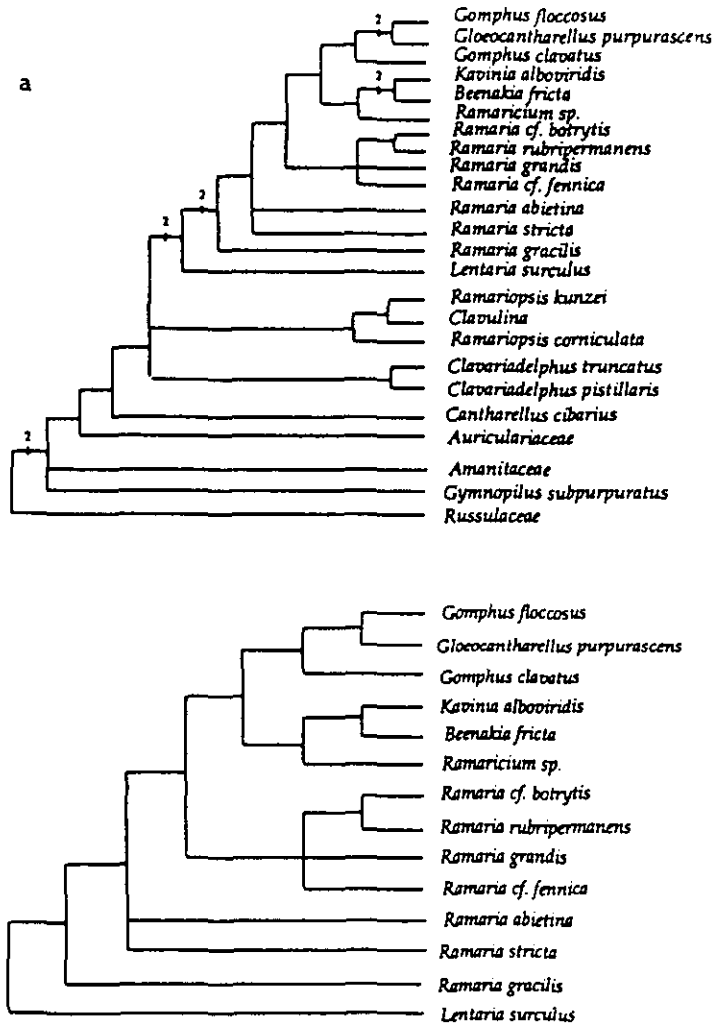


Fig. 2. a) Strict consensus obtained in the analyses 1 and b) tree obtained in the analyses 2. Estimated values of the "decay index" are given on the branches (a)

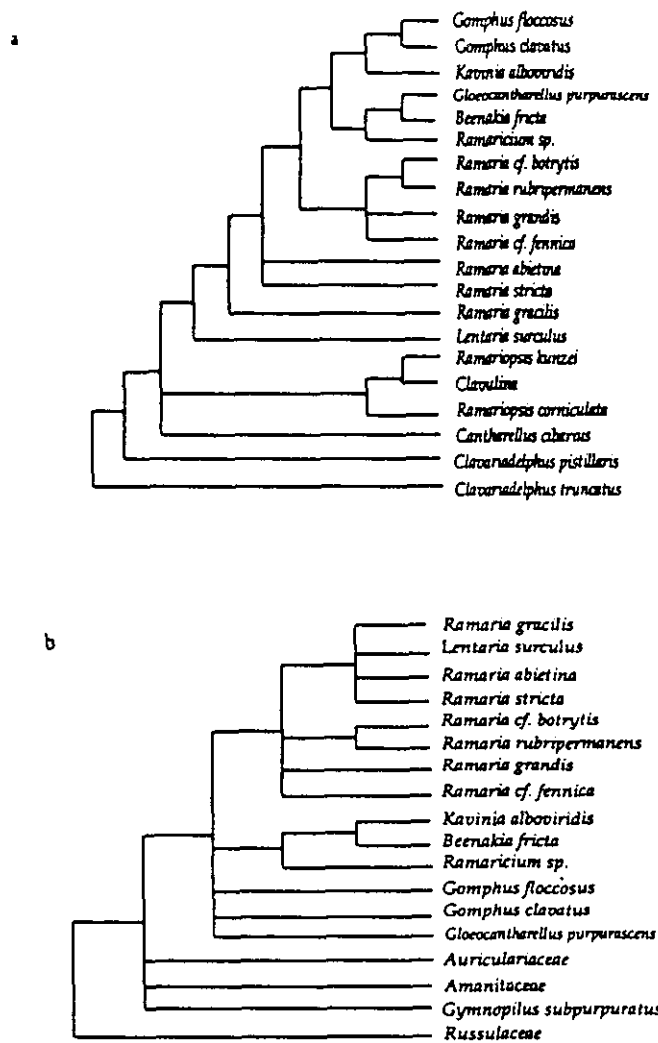


Fig. 3. a) Strict consensus obtained in the analyses 3. b) Strict consensus obtained in the analyses 4. (See table 5 for details)

## LITERATURE CITED

- Besl, H. and A. Bresinsky, 1997. Chemosystematics of Suillaceae and Gomphidiaceae. *Pl. Syst. Evol.* **206**: 223-242.
- Bremer, K., 1988. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution* **42**: 795-8030.
- Bruns, T.D., T.M. Szaro y J.W.Taylor, 1990. Amplification and sequences of DNA from fungal herbarium specimens. *Mycologia* **82**: 175-184.
- Cifuentes, B.J., 1996. *Estudio taxonómico de los géneros hidnoides estipitados (Fungi: Aphyllophorales) en México*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Corner, E.J.H., 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. *Ann. Bot. Mem.* **1**: 1-740.
- Corner, E.J.H., 1966. *Cantharelloid Fungi*. Oxford University Press, Oxford.
- Corner, E.J.H., 1970. *Suplement to A monograph of Clavaria and allied Genera*. Cramer, Vaduz.
- De Pinna, M.C.C., 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* **7**: 367-394.
- Donk, M.A., 1961. Four new families of Hymenomyces. *Persoonia* **1**: 405-407.
- Donk, M.A., 1964. A conspectus of the families of Aphyllophorales. *Persoonia* Vol:3, Part 2: 199-324.
- Eriksson, J., 1954. *Ramaricium* n. gen. a corticioid member of the *Ramaria* group. *Svensk Bot. Tidskr.* **48**: 188-198.
- Estrada-Torres, A. 1994. *La familia Gomphaceae (Aphyllophorales): Fungi en el Estado de Tlaxcala*. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.
- Forey, P.L., C.J. Humphries, I.L. Kitching, R.W. Scotland, D.J. Slebert y D. M. Williams, 1992. *Cladistics. A practical course in systematics*. Clarendon Press. Oxford.
- Guzmán, G., 1983. Los hongos de la Península de Yucatan.II. Nuevas exploraciones y adiciones Micológicas. *Biotica* **8**(1): 71-100.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton and D.N. Pegler, 1995. *Dictionary of fungi*. International Mycological Institute, CAB International, Wallingford.
- Heim, R., 1959. A props de trois chanterelles americaines. *Rev. Mycol.* **19**: 47-56.
- Hibbett, D., E.M. Pine, E. Langer, G. Langer and M. J. Donoghue, 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**: 12002-12006.
- Jülich, W., 1981. *Higher Taxa of Basidiomycetes*. Cramer, Vaduz.

- Jülich, W., 1983. Ultrastructure of basidiospores 1: *Beenakia*. *Persoonia* 12 (1): 67-74.
- Jülich, W., 1989. *Guida alla determinazione dei funghi* Vol. 2. Saturnia, Trento.
- Keller, J., 1986. Ultrastructure des parois sporiques des Aphyllophorales. *Mycol. Helv.* 2(1): 1-34.
- Kitching, I.J., 1992. Tree-building techniques: In: Forey, P.L., C.J. Humphries, I.L. Kitching, R.W. Scotland, D.J. Slebert y D. M. Williams. *Cladistics. A practical course in systematics*. Clarendon Press. Oxford.
- Maas Geesteranus, R.A., 1963. Hyphal structures in Hydnums. *Proc. K. Ned. Akad. Wet. Ser. C*, 67: 144-156.
- Maas Geesteranus, R.A., 1967. Quelques champignons hydnoïdes du Congo. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* 37: 77-107.
- Maas Geesteranus, R.A., 1971. *Hydnaceous Fungi of the Eastern Old World*. Verh. K. Ned. Akad. Wet. Afd. Natuurk., Tweede Reeks 60, Amsterdam.
- Maas Geesteranus, R.A., 1977. *Psathyrodon*, a new hydnoaceous genus. *Kew Bull.*: 417-419.
- Marr, C.D. and D.E. Stuntz, 1973. *Ramaria* in western Washington. *Biblth. Mycol.* 38: 1-232.
- Methven, A.S., 1990. *The genus Clavariadelphus in North America*. J. Cramer, Stuttgart.
- Mishler, B.D. and E. De Luna, 1997. Sistemática filogenética y el concepto de especie. *Bol. Soc. Bot. México* 60: 45-57.
- Parnasto, E. and L. Ryvarde, 1990. The genus *Beenakia* (Gomphaceae, Aphyllophorales). *Windahlia* 18: 35-42.
- Pegler, D.N. and T.W.K., Young, 1985. Basidiospore structure in *Ramariopsis* (Clavariaceae). *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 84: 207-214.
- Petersen, R.H., 1967. Evidence on the interrelationships of the families of clavarioid fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 50: 641-648.
- Petersen, R.H., 1967. Familial interrelationships in the Clavarioid and Cantharelloid Fungi: 345-374 in Petersen, R.H. (Ed.). *Evolution in the higher Basidiomycetes*. University of Tennessee Press, Knoxville.
- Petersen, R.H., 1968. Notes on cantharelloid fungi I. *Gomphus* S.F. Gray and some clues to the origin of ramarioid fungi. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 84: 373-381.
- Petersen, R.H., 1969. Notes on Clavarioid Fungi. X. New species and Type Studies in *Ramariopsis*, with a Key to Species in North America. *Mycologia*. 61: 549-559.
- Petersen, R.H., 1971a. *The genera Gomphus and Gloeocantharellus in North America*. J. Cramer, Lehre.



- Petersen, R.H., 1971b. Notes on Clavarioid Fungi-IX. Addendum to *Clavulinopsis* in North America. *Persoonia* 6(2): 219-229.
- Petersen, R.H., 1971c. A new genus segregated from *Kavinia* Pilát. *Ceska Mycol.* 25 (3): 129-134.
- Petersen, R.H., 1972. Notes on clavarioid fungi. XII. Miscellaneous notes on *Clavariadelphus*, an a new segregate genus. *Mycologia* 64: 137-152.
- Petersen, R.H., 1974. Notes on clavarioid fungi. XIV. Cultures on *Lentaria byssiseda*. *Mycologia*. 66: 530-532.
- Petersen, R.H., 1975. *Ramaria* subgenus *Lentoramaria* with emphasis on North American Taxa. *Biblth. Mycol.* 43: 1-161.
- Petersen, R.H., 1976. Notes on cantharelloid fungi. VII. The taxa described by C.H. Peck. *Mycologia* 68: 304-326.
- Petersen, R.H., 1978. Notes on clavarioid fungi. XV. Reorganization of *Clavaria*, *Clavulinopsis* and *Ramariopsis*. *Mycologia* 70: 660-671.
- Petersen, R.H., 1985. Notes on clavarioid fungi. XIX. Colored Illustrations of Selected Taxa, with Comments on *Cantharellus*. *Nova Hedwigia* 42: 151-162.
- Petersen, R.H., 1987. Contribution toward a monograph of *Ramaria fenicaversatilis* complex. *Sydowia* 40: 197-226.
- Petersen, R.H., 1988. *The Clavarioid Fungi of New Zealand*. Science Information Publishing Centre, Wellington.
- Petersen, R.H., E. Rahm and E. Schild, 1974. Notes on clavarioid fungi: Three new species of *Clavariadelphus*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 63: 469-474.
- Reijnders, A.F.M. and J.A. Stalpers, 1992. The development of the hymenophoral trama in the Aphyllophorales and the Agaricales. *Stud. Mycol.* 34: 1-109.
- Singer, R., 1945. New genera of fungi. II. *Lloydia* 8: 139-144.
- Soltis, S. P. y D.E. Soltis, 1996. Phylogenetic analysis of large molecular data sets. *Bol. Soc. Bot. México* 59: 99-113.
- Sung, J.H., 1987. *Wood-rotting Aphyllophorales of the southern Appalachian sprucefir forest*. J. Cramer, Berlin.
- Swofford, D.L., 1991. *PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony*, version 3.0s. Champaign: Illinois Natural History, Survey.
- Welden, A.L., 1966. *Stereum radicans*, *Clavariadelphus* and the Gomphaceae. *Brittonia* 18:127-131.

### 3. SPORAL CHARACTERS IN GOMPHACEAE *SENSU LATO* AND THEIR USE IN PHYLOGENETIC SYSTEMATICS

**Abstract:** Spore features like color, shape and ornamentation have traditionally been important in the differentiation of the genera within Gomphaceae *sensu lato*. In several cases, however, there exist no precise analyses which would allow us to build homologies between these and other spore features. Characters of the basidiospores of 20 taxa of Gomphaceae *sensu lato* were examined taking into account both photonic and electronic microscopy. From these studies it is evident that the ornamentation of the spore surface is a most variable character and data like the shape of the base of the spore and the hilar appendix, which previously had not been considered in the taxonomy of this group, can be very informational at this level.

#### INTRODUCTION

The selection of homologous characters is a fundamental process within any systematics study. Initially, all observations of similarity are potentially informative characters (Patterson 1982; Roth 1988). Although there is still a great debate surrounding its recognition at different levels of organization (Hall 1994), phylogenetic homology, the historical link between structures or processes of different organisms which exists due to a common ancestry, is the most relevant concept in systematics and comparative anatomy. Since it allows us to recognize historical connections between modified structures in organisms, phylogenetic homology is pivotal in the study of patterns of similarity at various levels. A taxonomy based on the formal study of characters as a hypothesis of a homology is the best framework for the understanding of biological diversity (De Luna and Mishler 1996).

Homology cannot be revealed directly, but it can be inferred through several analytical approaches, where the variation patterns of discernible features can be studied from different angles and using various techniques. The cladistic methods provide criteria and explicit and robust procedures to determine homologous relationships among characters: the analysis of characters is itself the most important part (Mabee 1989; Roth 1988; De Pinna 1991; Bryant 1989; De Luna and Mishler 1996).

Spores, like any other fungal structures and as parts of organisms which they are a part of, feature different attributes which, upon inspection, show that they have undergone evolutionary change and hence potentially contain historical, phylogenetic information. Each taxonomic character of spores, therefore, implies in principle an homology hypothesis and a series of polarized transformations.

Despite the fact that spores are the microscopic element in which systematists have shown the greatest interest when proposing relationships between groups and at different

taxonomical levels (Kühner, 1976; Pegler and Young 1971, 1979, 1981 ), the number of sporal characters considered in the descriptions of families of the traditional order Apyllophoralles is relatively low (Donk, 1964). Nevertheless, a few of these characters have been used for quite a long time. Ever since Fries (1938) referred to the color of spores as a distinguishing character within the clavarioid fungi, this feature is still the most widely used in the delimitation of taxa at different levels.

Donk (1961, 1964) described the family Gomphaceae, in which he considered the genera *Beenakia*, *Gomphus*, *Kavinia*, *Lentaria*, and *Ramaria*. One of the characters that allowed him to differentiate this group from others within Apyllophoralles was the presence of almost invariably ellipsoid, oblong or amygdaliform spores, often ochre-colored or colorless, not amyloid and with a variable ornamentation (rarely smooth) which vigorously absorb cotton blue. Previously, Corner (1950) and Eriksson (1954) had already considered a possible relationship among some of the taxa of Gomphaceae taking into account the morphological similarity between the spores of taxa like *Gomphus* and *Ramaria*, some species of *Lentaria* with those of the group of *Ramaria stricta* and *Ramaricium* with *Ramaria* and *Kavinia*.

Because the concept of Gomphaceae and the number of taxa included it have changed over the years, some authors have proposed other classifications for these fungi arguing that, while we should not lose the notion that their microscopic features apparently show a clear relationship among them, the heterogeneity in the forms of the basidia precludes any fitting of all these organisms into a single family. Jülich (1981) proposes the order Gomphales, where he also emphasizes the presence of yellow-ochre ellipsoid spores, with a slightly thickened wall (rarely thin). The majority of these spores display a cyanophilic ornamentation and are rarely smooth. The following families are considered within this order: Gomphaceae, which includes the genera *Gomphus* and *Gloecantharellus*; Ramariaceae with *Ramaria*; Beenakiaceae with *Beenakia*, *Kavinia* and *Ramaricium*, and Lentariaceae which includes *Lentaria* and *Delentaria*. The characteristics of the spores of Lentariaceae are particularly different from those of the remaining members of Gomphales since they run the gamut from elongated, ellipsoid to cylindrical or sigmoids and hyaline. The wall of the spores is thin and slightly amyloid in a few taxa, but never dextrinoid nor cyanophilic. Nevertheless, other features like the hyphal construction of the basidia suggests a close affinity to Ramariaceae, similarities which had already been questioned by authors like Corner (1950, 1970), and which in turn led some authors like Petersen (1988) and later Estrada-Torres (1994) to consider Gomphaceae *sensu* Donk (1961), and to propose the exclusion of *Lentaria* from this group.

Maas Geesteranus (1963) reported that the spores of *Beenakia dacostae* (Beenakiaceae) are very similar to those in the genera of *Ramaria* (Ramariaceae) in regard to their color, ornamentation and the form of the hilar appendix. Similarly Jülich and Star (1983), upon considering the ultrastructure of the basidiospores of *Beenakia dacostae* concluded that it was very similar to other ultrastructures in Gomphales, like *Gomphus* and *Ramaria*.

Petersen (1967, 1981) and Petersen and Pearman (1973) demonstrated the existence of a wide margin of ornamentation within the genus *Ramaria*. An emphasis has also been

made on the similarity of spores between the genera *Gomphus* and *Ramaria* likewise considering the great variation in spore ornamentation observed within *Gomphus* (Petersen 1971a).

Genera like *Clariadelphus*, *Cantharellus* and *Ramariopsis* have been considered as having similar features to some members of Gomphaceae. For this reason their affinities have deemed them as intermediate between the latter family and Clavariadelphaceae, Cantharellaceae or Clavariaceae *sensu* Donk (Corner 1950, 1966; Jülich 1981; Methven 1990; Petersen 1971b, 1988; Petersen *et al.* 1974; Welden 1966).

The order Gomphales has been recognized by Hawksworth *et al.* (1995), with some modifications for the family Ramariaceae (which besides *Ramaria*, also groups the genera *Kavinia*, *Ramaricium* and *Delentaria*), leaving *Lentaria* as the sole member of Lentariaceae. They include *Beenakia* as the only member of Beenakiaceae, transferring it to the order Boletales, a proposal which probably emerges from the similarity between *Beenakia* and some Boletales regarding the color and shape of the spores, a similarity also present between the group of *Autroboletus*, *Strobilomyces* and several members of Gomphaceae *sensu* Donk (Petersen 1971a; Pegler and Young 1981). The genera *Pseudogomphus* and *Terenodon* (described later) are also included in the family Gomphaceae (Maas Geesteranus 1971; Heim 1970).

Recent systematic investigations (Hibbett *et al.* 1997; Villegas *et al.* 1999) have shown that the proposal made by Jülich (1981) coincides partially to those made by Hawksworth *et al.* (1995) and Estrada-Torres (1994).

It is evident that in traditional taxonomy the characteristics of spores have been relevant within Gomphaceae *sensu lato*, but more evidently they have been relevant at a specific or generic level, albeit limited to the examination of a few details such as color, shape, reaction to cotton blue or general characteristics of ornamentation at superior levels. In relatively few cases spores have been studied with the use of high-resolution (electronic) microscopes (Jülich 1981; Pegler and Young 1981; Petersen 1981, 1988; Schild 1982; Jülich and Star 1983; Parmasto and Ryvar den 1990; Keller 1997).

The observations of the characters of spores done up to this point by these research groups have not led to more precise definitions of certain features like spore ornamentation and the shapes of the hilar appendix. Studies that can focus on these features with greater detail are of great value in understanding their homology (Patterson 1982; Roth 1988). Furthermore, the comparative description of different types of ornamentation, shapes of the hilar appendix and macrochemical reactions can reveal new characters which may be potentially useful at different taxonomical levels.

Taking into account the various hypotheses made regarding the relationships within Gomphaceae *sensu lato* based partially on spore morphology, we examined in this study these structures in representative taxa of the genera *Gomphus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Lentaria*, *Ramaricium*, *Gloecocantharellus*, *Cantharellus*, *Clavariadelphus* and *Ramariopsis*. The different data on spores reported for this group in the literature were also considered. Based on these observations, possible hypotheses of primary homology are proposed for the characters observed in these propagative structures.

## METHODOLOGY

Around 200 samples from different herbaria of representative taxa of the genera *Gomphus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Lentaria*, *Ramaricium*, *Gloecocantharellus*, *Cantharellus*, *Clavariadelphus* and *Ramariopsis* were revised. Forty one of these samples were selected to be observed under a scanning microscope (see list on Table 1). The genera *Terenodon*, *Pseudogomphus* and *Delentaria*, which are monospecific, could not be observed due to the lack of available material. A total of twenty species corresponding to ten genera were investigated (Table 1). These samples are located in the herbaria FCME, TENN, NFC, TLXM, ENCB, IBUG, MEXU, and XAL. Evidence of intrageneric variation was not considered since this topic falls out of the scope of the present study.

In the observation of characters of cyanophily, the techniques proposed by Kotlaba and Pouzar (1964), Petersen (1967), Marr and Stuntz (1973) were followed. The samples under scanning microscope were observed either by the method of direct mounting of sections of the hymenium of specimens or by desiccation of the critical point according to modified techniques by Espinoza (personal communication), using a critical point desiccator BAL-TEC CPD030. The scanning microscope observations (SEM) were made at the Facultad de Ciencias, UNAM with a JEOL JSM-5310LV electron microscope with an integrated camera using magnifications ranging from 5000 to 10000 and at the Instituto de Ecología, A.C in Xalapa, Veracruz with a JEOL-JSMT-20 electron microscope.

Describing spore ornamentation with accuracy has not been an easy task historically. Therefore, a large number of descriptive terms regarding spore ornamentation have been introduced into a literature where no consensus exists concerning this feature. In this case, an attempt was made to employ terminology used in glossaries and dictionaries. Images in figures, however, may convey differences between one type of ornamentation and another with greater clarity. The terminology proposed by Largent *et al.* (1977), Hawksworth *et al.* (1995), Pegler and Young (1971), and Vellinga (1988) was used for the descriptions.

There is no way to be sure which type of characters possess phylogenetic information before analyzing the similarity patterns between taxa. The characters were thus evaluated taking into account empirical criteria of similarity, discrete variation between taxa, conjunction, inheritability, and independence (De Pinna 1991; De Luna and Mishler 1996).

## RESULTS

The results obtained in the revision of the qualitative characters of spores are the following: **COLOR OF SPORES.** As far as appreciation is concerned, color is one of the characters which, because of its very nature, tends to be very subjective; nevertheless, in many basidiomycetes and in our particular case, this feature can be distinguished more clearly in a spore print, which is not always easily obtained, especially in the absence of gills. The spores of Gomphaceae *sensu lato* have been described as being yellow to ochraceous in color (Estrada-Torres 1994) or ochraceous-brown, rarely straw-colored with shades of olive green, or cream, or colorless (Donk 1961, 1964; Jülich 1981). It is evident that color

can vary even in the same genus. In *Ramaria*, for example, the subgenus *Echinoramaria* shows darker shades in its spores than other subgenera like *Lentoramaria*, which has a lighter shade.

Under certain circumstances like the features of the sporome and/or environmental conditions, the color of the spore may become either lighter or darker (Largent *et al.*, 1977) thereby rendering color comparison difficult. Since very few specimens with a spore print could be obtained for this study, direct observations were made using a photonic microscope. Despite the use of guides, descriptions were problematic. Even though there is a series of hues in the color of the spores examined, it was evident that the color oscillates between yellow and brown (Fig. 1). This is the case of taxa like *Ramaria abietina*, *R. grandis*, *R. gracilis*, *R. cf. borytis*, *R. cf. fennica*, *R. stricta*, *Gomphus floccosus*, *G. clavatus*, *Kavinia alboviridis*, *Beenakia fricta*, *Gloecantharellus purpurascens*, *Ramaricium* sp. and *R. polyporoideum*.

The only samples to have hyaline spores (observed with a microscope at a magnification of 125x) were *Lentaria surculus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus pistillaris*, *C. truncatus*, *Ramariopsis corniculata* and *Ramariopsis kunzei*.

**SHAPE OF SPORES.** In regard to their symmetry, all the taxa observed possess equilateral spores, with the exception of *Lentaria surculus* with unequilateral spores (Fig. 2). If the whole body of spores is taken into account, the range of shapes varies from completely globose in *Ramariopsis kunzei*, *R. corniculata* (Fig. 3) and *Ramaricium* sp., to subglobose, ellipsoid, or more elongated with various gradations in taxa such as *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus pistillaris*, *C. truncatus*, *Ramaria abietina*, *R. grandis*, *R. gracilis*, *R. cf. fennica* (Fig. 4), *R. cf. botrytis*, *R. rubripermanens*, *R. stricta*, *Gomphus floccosus*, *G. clavatus*, *Kavinia alboviridis*, *Beenakia fricta*, *Gloecocantharellus purpurascens* and *R. polyporoideum*, to sigmoid and almost cylindrical in *Lentaria surculus* (Fig. 2).

Despite the great variation of shape in the body of spores, it is evident that, based on the sense of orientation proposed by Largent *et al.* (1977), the base of spores presents a discrete pattern with two basic shapes: taxa like *Ramaria abietina*, *R. grandis*, *R. gracilis*, *R. cf. botrytis*, *R. cf. fennica*, *R. rubripermanens*, *R. stricta*, *Gomphus floccosus*, *G. clavatus*, *Kavinia alboviridis*, *Beenakia fricta*, *Gloecocantharellus purpurascens*, *Ramaricium* sp. and *R. polyporoideum* present a pointed base, whereas *Lentaria surculus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus pistillaris*, *C. truncatus*, *Ramariopsis corniculata* and *R. kunzei* present spores with a round apical tip.

**BASE OF THE HILAR APPENDIX.** The hilar appendix, which is understood as the protuberance that connects the spore with the sterigma of the basidium and which represents the primary part of the spore, may present a variety of shapes at the base with regard to the rest of the spore. According to the terminology proposed by Pegler and Young (1971), these shapes may be: a) obtuse, in which the base of the spore is broadly round and the hilar appendix is completely different from the rest of the spore; b) acuminate, with the base of the spore distinctively attenuated towards the hilar appendix to form a basal prolongation, although the tip is still distinguishable from the rest of the spore, and c) confluent, in which the base of the spore gradually becomes thinner. Its continuity is more evident with the hilar appendix and it is very difficult to distinguish between the two. (In

this case, the term clavate is also used: elongated spores with a tapering base).

According to the observations carried out in *Lentaria surculus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus pistillaris*, *C. truncatus*, *Ramariopsis corniculata* and *R. kunzei* the hilar appendix is obtuse ( Fig. 7), whereas *R. gracilis*, *R. cf. botyris*, *R. cf. fennica*, *R. rubripermanens*, *R. stricta*, *Gomphus floccosus*, *G. clavatus*, *Kavinia albobiridis*, *Beenakia fricta*, *Gloeocantharellus purpurascens* and *R. polyporoideum* present a hilar appendix with an acuminate base (Figs. 6 and 8) and only *Ramaria abietina*, *R. grandis* and *Ramaricium* sp. exhibit a hilar appendix with a confluent base (Fig. 2)

**SPORE ORNAMENTATION.** A great amount of terminology has been introduced by several authors to describe spore ornamentation (Hawksworth *et al.*, 1995; Largent *et al.*, 1977; Petersen, 1988; Vellinga, 1988). After making comparisons and marking equivalences between them, the following results were obtained.

Under a light microscope at a magnification of 125x, the spores can be seen to be smooth, verruculose, verrucose or with prominent spines. Under the magnification of an electronic microscope, the following types of surfaces were differentiated based on the characters of the external surface of the spore wall of the taxa studied .

#### **Without ornamentation.**

**Smooth.** The spore has no ornamentation whatsoever and its surface is completely homogeneous ( Fig.9) *Lentaria surculus*, *Cantharellus cibarius*, *Clavariadelphus pistillaris* and *C. truncatus* all share this feature.

#### **Ornamentation with pointed projections.**

**Spiny or equinulate** (aculeate) The surface is covered with broad-based spines, gradually diminishing towards the tip, which can be subacute or round. The ornamentations may be connected (connate) at their basal portion in the form of reliefs or isthmuses in such a way that these ornamentations are seen as extensions at the spore surface: they do not have an origin at another level. This type of ornamentation can be seen in *Ramaria grandis*, *Kavinia albobiridis* and *Beenakia fricta* (Figs. 10 and 12). The ornamentations can also be separate as in the case of *Ramariopsis kunzei* ( Fig. 20).

**Baculate.** The spore wall exhibits very conspicuous ornamentations, clearly separate from one another, in the form of small cylindrical columns (Fig. 11). This ornamentation was only observed in *Ramaricium* sp.

#### **Round ornamentations**

**Tuberculate-nodulose** With prominent excrescences, like individual warts, more or less equidistant or rarely united to one another. This type of ornamentation was only observed in *Ramaria abietina* and *Ramaricium polyporoideum* (Figs. 13 and 14).

**Verrucose.** Spore surface covered by evident warts or round lobes. These ornamentations can be united to each other in different degrees. In taxa like *Gomphus floccosus* and *Gloeocantharellus purpurascens*, the union is quite extense, forming waves or irregular "cords", although not forming striae ( Fig. 16); in *Gomphus clavatus*, *Ramaria cf. fennica*, *R. gracilis*, and *R. stricta*, on the other hand, the warts tend to present shorter and varied unions (Fig. 15). They can also be isolated. Species like *R. gracilis* and *R. stricta* exhibit smaller and more separate ornamentations in comparison to the other taxa considered in this group.

**Rugulose.** Fine wrinkles with irregular distribution. This ornamentation is only visible under an electronic microscope since at the 1250x magnification of a photonic microscope they appear smooth. This type of ornamentation was only seen in *Ramariopsis corniculata* (Fig. 17).

#### **Crested ornamentations**

**Striates.** The ornamentation is organized in shallow lines or grooves which apparently arise from the external layer(s) of the wall, following an orientation in a divergent spiral pattern which runs from the abaxial surface to the adaxial part of the spore. In the frontal portion of the spore (especially in the youngest), a few round warts can be observed. This suggests that, apparently this ornamentation is formed from the union of these warts or, rather it presents two different ornamental elements. This is a characteristic ornamentation seen in *Ramaria* cf. *botrytis* and *R. rubripermanens* (Fig. 19). From the point of view of the epistemological principles for the selection of primary homologies, the collective presence of two discrete states of a character in the same organism (isolated warts and continuous striae, in this case) allows us to infer that we are dealing with two independent characters instead of one (De Pinna 1991; De Luna and Mishler 1996; Hawkins *et al.*, 1997). It is considered, therefore, that the striate condition is independent from the verrucose condition.

The description of different types of ornamentation with greater precision would lead us to consider at least as many types of taxa as there are ornamentations, since many show a combination of characters. For example, in *Kavinia alboviridis* and *Beenakia fricta*, even though the majority of ornamentations are present in the form of sharp projections, some tend to possess rounder tips, similar to warts. In *Ramaria abietina*, some nodules or tubercles tend to become slightly slender towards the tip. It is evident that these elements involve variations at another level. For this reason, these patterns were considered as more evident modalities at a generic level.

**CYANOPHILIC SPORES.** According to Kotlaba and Pouzar (1964), Petersen (1967) and Largent *et al.*, (1977), a spore is cyanophilic when the wall absorbs a great concentration of cotton blue, acquiring a more intense color than the cytoplasm. Occasionally, the ornamentation has a stronger color than the rest of the spore. When the wall or the ornamentation is distinctively contrasted in regard to the internal portion of the spore, the former is called cyanophilic.

With the exception of *Lentaria surculus*, *Clavariadelphus truncatus*, *C. pistillaris*, *Cantharellus cibarius*, and *Ramariopsis corniculata*, where no evidence of a reaction was observed, all the remaining species absorbed cotton blue. Nevertheless, some differences do exist regarding the site of reaction. In the case of species like *Ramaria grandis*, *R. gracilis*, *R. cf. botrytis*, *R. rubripermanens*, *R. abietina*, *R. stricta*, *R. cf. fennica*, *Gomphus floccosus*, *G. clavatus*, *Kavinia alboviridis*, *Beenakia fricta*, *Gloeocantharellus purpurascens*, *Ramaricium* sp., and *R. polyporoideum*, the spores react in a more uniform manner when cotton blue is applied. In other words, these species absorb the dye rapidly but the reaction only takes place in the ornamentation, which contrasts strikingly with the wall, which does not absorb the dye (Fig. 18). The extent of the cyanophilic reaction varies from species to species depending on the dimension and density of the ornamentation. The reaction is very evident in species like *Ramaria grandis*, *R. abietina*, *Beenakia fricta*, *Gomphus floccosus*,



*R.cf. fennica*, *G. clavatus*, and *Kavinia alboviridis* among others and less evident in species like *R. gracilis* or *R. stricta*; in *Ramaria rubripermanens* and *Ramaria cf. botrytis*. Cyanophily follows the pattern of the “grooves” more than that of crests of the ornamentations.

The reaction is different in *Ramariopsis kunzei* where there is a heterogeneous response in spores of the same specimen when the dye is applied. In the larger (probably mature) spores, the wall is strongly cyanophilic, but the reaction is weaker in the ornamentations, and in some, the reaction of the ornamentations is not observed. In the smaller spores, although the thin wall is somewhat cyanophilic the reaction is much more evident in the ornamentations.

In general, it can be said that of all the taxa that were analyzed, those that presented an evident ornamentation under the light microscope reacted positively towards cotton blue (with their previously mentioned differences), whereas those taxa with smooth spores did not react positively. Amyloid or dextrinoid spores were not observed in any of the taxa when other dyes like Melzeer were applied.

## DISCUSSION

**COLOR OF SPORES.** The results obtained in this study show that although color is considered in a qualitative manner, its presence in spores of some of the observed specimens is a perceptibly variable character in some units. Problematics in methodologies have not allowed us to consider this variation in descriptive or quantifiable terms. Therefore, regarding to the presence of hyaline spores, based on the data obtained, only the presence of yellow-brown spores could be compared in different gradations.

**SPORE ORNAMENTATION.** It is evident that ornamentation is one of the characters here studied that exhibits the greatest variation. Nevertheless, despite the existence of different patterns, these may be present without distinction in some genera like *Ramaria*. Indeed, it is within Gomphaceae *sensu lato* where the greatest diversity of spore ornamentations from the verrucose to the equinulate has been described. In *Ramaria* subgenus *Echinoramaria* the most extremely ornamented spores have been described, a characteristic which is also observed in our results.

Petersen (1981) classified spore ornamentation in *Ramaria* subgenus *Echinoramaria* into five different types: 1) with long and sharp spines, 2) a mixture of long, sharp spines and shorter elements, 3) with telephoroid ornamentation, 4) with truncate (“volcanic”) spines and 5) with rounded warts. If this classification is examined in detail, comparing the images of our results with those presented by this author, it becomes evident that types 1 to 4 correspond to what we are considering as tall ornamentations with projections at the tip, with certain variations in dimensions of ornamentations or shapes of tips (volcanic or telephoroid), which are evidently due to variations at another level.

On the other hand, according to our results, it is evident that in the case of *Ramaria abietina* (Fig. 16), as is generally assumed for this species in descriptions using a light microscope, the ornamentation is in the form of round warts, not sharp spines, a feature which Petersen (1981) also revealed in *Ramaria myceliosa*, both of which are located in the

section *Flaccidae* of the traditional subgenus *Echinoramaria*. This same author has also speculated about the possibility that the two sections have very little in common, considering among other aspects, spore ornamentation. If the cladistic hypotheses proposed up to this point for Gomphales (Villegas *et al.*, 1999) and *Ramaria* (Humpert *et al.*, 1999) suggest that the genus is polyphyletic, at the moment, there is no study that deals specifically with this problem, although it is important to point out that, at least in the first study, the two species of this subgenus (*Ramaria grandis* of the section *Dendrocladium* and *Ramaria abietina* of the section *Flaccidae*) are not grouped using the criteria presented in this work.

A strong resemblance in spore ornamentation has been pointed out in *Gomphus* and *Ramaria* (Corner, 1950; Eriksson, 1954; Petersen, 1971a). The rich diversity in ornamentation in *Gomphus* has likewise been shown. Regarding this point, it is important to point out that the similarity in spore ornamentation between the various species of *Gomphus* and the diverse species of *Ramaria* is indeed surprising, similarities which, up till now, have not been detected to correspond to any discrete pattern or definitive grouping, but which are observed without distinction in several species traditionally classified in different subgeneric levels. In particular, we can exemplify this with species like *G. clavatus* with *Ramaria cf. fennica* and with the illustrations shown by Pegler and Young (1981) and Petersen (1971a, 1981, and 1988) of *Gomphus guadalupensis* or *G. retisporus*, species of the subgenus *Echinoramaria* like *Ramaria pancaribbea* or *R. cristatospora* among others. In this same light, we can see similarities between species like *Gomphus floccosus* and *Gloeocantharellus purpurascens* or between *Gomphus clavatus* and *Ramaria flavobrunescens*, *R. fumigata* and *R. flava*, shown by Keller (1997) and mentioned previously by Petersen (1967, 1971a) and Corner (1966). On these last works, hypotheses of intergeneric relations have been based on this features.

The ornamentation is a character which has been considered equally important in the differentiation of the subgenera of *Ramaria* (Corner, 1970; Marr and Stuntz, 1973; Petersen 1988). With the use of a light microscope, the spores of the subgenus *Lentoramaria* have been described as having a "lighter" ornamentation than that of the subgenus *Laeticolora*. Results found in this work show that there is no clear distinction regarding this point to warrant the separation of these subgenera since their form and position of ornamentation is very similar. Moreover, we must bear in mind that the dimensions of the spores in the subgenus *Lentoramaria* are smaller compared to those of the subgenus *Laeticolora*, and in this group less conspicuous ornamentations have been observed, as Keller (1997) has shown for *Ramaria flavosalmonicolor*. In the subgenus *Ramaria*, in turn, the spores show a homogeneous ornamentation pattern, with an evident longitudinal ornamental arrangement in the form of parallel striae, whole or slightly discontinuous, where isolated warts can also be observed.

Corner (1950) also supposed that a possible relation between *Lentaria* and some taxa of the group of *Ramaria stricta* existed considering, among other aspects, the scarce spore ornamentation in the latter group. As is shown in Figs. 2 and 9, combined with descriptions by authors like Petersen (1967, 1968, 1971b, 1975) and sporal characters described below, the spores in *Lentaria* are completely smooth like those in

*Clavariadelphus truncatus*, *C. pistillaris* and *Cantharellus cibarius* (), whereas the species of the group of *Ramaria sticta* present ornamented spores.

The same ornamentation pattern found in our work for *Beenakia fricta* is observed in electron microscope photographs presented in the work by Parmasto and Ryvarden (1990) on *Beenakia fuliginosa* and *B.informis*. It is thus likely that this is a group that presents spore with homogeneous ornamentations. *Kavinia alboviridis* also presents this same ornamentation pattern (equinulate or spiny) and in both genera the ornamentation is very fine. There is a great similarity between the spores of these genera, despite the fact that they have been proposed taking other characters into account as belonging to different orders (Hawksworth *et al.* 1995).

In recent decades spore wall construction has received a great deal of attention. Studies carried out on this and other groups of hymenomycetes have shown that spores may present a variable number of layers in its wall (between 3 or 5) and that the ornamentation may originate in different strata. The results obtained by Jülich and Star (1983) show that the structure of the spore wall in *Beenakia dacoste* is identical to the structure known for the species of *Gomphus* and *Ramaria* studied by Perreau (1967), where it is evident that the ornamentation arises from the outer most layer of the wall, whose width is greater than the other layers. Similar characteristics are shown in the work by Vázquez *et al.* (1995) for some species of *Ramaria*.

Authors like Perreau (1967), Cléménçon (1970, 1973) and Keller (1986, 1997) have demonstrated that the layers of the spore wall do not always aggregate in the same order. Furthermore, there are differences regarding their number and type within the various groups of basidiomycetes. Keller (1997), upon studying some species of *Gomphus* and *Ramaria*, described the spore wall in Gomphaceae (*sensu* Donk) as thick and irregular. It was constituted of 1) a coriotunica, which is the fundamental basis of all the spores. This could be granular, fibrillar or stratified; 2) a tunica, represented by opaque material; 3) a podostratum, seen as a transparent thin layer which does not react to iodine and 4) a mucostratum, which is sensitive to cotton blue, thus accounting for cyanophilous. According to this author, the spore wall in Cantharellaceae, Clavariaceae and Clavulinaceae is made up of a coriotunica, an endosporotecium and an ectosporotecium. This last structure is thought to be the one that is observed in other families like Sparassidaceae of the traditional order Aphyllophorales.

In the case of *Ramariopsis*, Pegler and Young (1985) described that the spore wall is made up of a thin endocorium, a very thick and stratified corium and a tunica which may or may not be continuous; the surface of the spores is covered by a thin but continuous myxosporium (equivalent to the podostratum of Keller, according to Hawksworth *et al.*, 1995), which can often hide the ornamentation; they additionally observed that the ornamentation may originate in the tunica or the coriotunica. If we compare this structure with that described by Keller (1997) for Gomphaceae, it seems evident that the ornamentation is originating at different levels. Considered from this perspective, it is possible that the separate quinules observed in *Ramariopsis kunzei* come from other more internal layers of the spore, just as Petersen and Pearman (1973) had suggested for *Ramariopsis helvola*.

In general, in the case of Gomphaceae, it has been suggested that the ornamentations arise from a layer called the mucostratum (Keller, 1986). In the absence of ontogenetic studies that would allow us to recognize the order of formation and aggregation of the layers of the spore wall and in view of the fact that up to this point this process is known in relatively few taxa of Gomphaceae *sensu lato*, there is not enough evidence to propose homologies between these characters nor to establish correlations between the ornamentation patterns. More electronic microscope studies of this group may enable us to understand more about the similarity observed in these ornamentation patterns, since the results obtained up to this point only show isolated features of modifications for some species.

According to the evidence previously presented, it is clear that it is not feasible to consider the whole ornamental character under only one hypothesis of transformational homology, since all the data lead us to the conjecture that at least within Gomphaceae *sensu lato* there are four hypotheses of homology: 1) spores without ornamentation; 2) ornamentations with pointed projections which because of their shape and position can be differentiated into a) conical shape which can be anastomosed to the base, b) conical shape and clearly separate and c) baculate shape and clearly separate; 3) round ornamentations in which the following states can be distinguished a) tuberculate-nodulose, b) verrucose and c) rugulose and 4) striate ornamentations. At a first glance, this last character could be considered as belonging to 2. However, the presence of striae and the warts in the same spore lead us to believe that they are two different characters.

**CYANOPHILIC REACTION.** The cyanophilic reaction of the spore ornamentation was considered as a primary taxonomical feature by Donk (1964). From this perspective authors like Petersen (1967) considered that *Gomphus* and some species of *Ramaria* are closely related. A similar connection, likewise, has been emphasized between *Beenakia* and *Ramaria* (Maas Gesteranus, 1963).

Petersen (1967) observed that spore ornamentation in *Ramaria grandis* is colored more conspicuously than the areas between the spines and Marr and Stuntz (1973) in a comparative study of spores of *Ramaria* dyed with cotton blue noted that the ornamentation is always cyanophilic, but that it may or may not be dyed differentially from the rest of the wall. In *Ramaria botrytis*, spore cyanophily is less conspicuous than in other species that were examined. Regarding this point, Petersen and Pearman (1973) showed that contrary to what happens in species belonging to other subgenera of *Ramaria*, the cyanophily is lighter in the crests of the striae and more intense in the areas in between, a feature which from our point of view is probably related with the number and the thickness of constituent layers of the wall.

It is clear that within Gomphaceae *sensu lato* there exists a group of taxa whose spores react with cotton blue, albeit not in a uniform manner. But just like happens with ornamentation, we are not sure if what is being evidenced as variations in cyanophily corresponds to the same ultrastructural, chemical or ontogenetic aspect. Because of this, the deductive, inferential process only allows us to consider the presence or absence of cyanophily as a likely taxonomical character at this level.

In preliminary studies (Villegas *et al.*, 1999), cyanophily has been postulated as a non-

homoplastic synapomorphy for the group made up by the genera *Beenakia*, *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Ramaria*, and *Ramaricium*, where the polarization of characters by means of external groups suggests a phylogenetic transformation from absence of cyanophily towards a condition of derived cyanophily, possibly phylogenetically correlated with features of ornamentation and spore color. All these results suggest that cyanophily can be interpreted as a synapomorphy that can define the aforementioned genera as a monophyletic group.

**SHAPE OF SPORES.** It is difficult to represent the great variation in the general shape of spores as discrete character states if we consider that this is a qualitative feature. Perhaps their transformation into quantitative characters in morphometric studies will enable us to use these data at this and other levels. Nevertheless, in characters like symmetry and the shape of the base of the spore, it was interesting to find that, according to the proposal of Domínguez de Toledo (1994) and Largent *et al.* (1977) to differentiate spore symmetry, it is possible to detect taxa like *Lentaria surculus* which present a clearly unequilateral symmetry, whereas the remaining units consistently exhibit a more regular symmetry (named equilateral in this work). Symmetry in shape and position, along with discrete variation also led us to recognize that the base of the spores we studied may present the round or pointed states, although we could not determine their proximity to one another.

**HILAR APPENDIX.** It is evident that in the case of the hilar appendix there are modifications regarding the shape of this structure. However, the only existent data are external morphology and position in relation to the rest of the spore. In general, we know that the hilar appendix is always formed at the base of the basidiospores, but unlike spore ornamentation, it is not known with certainty for any of the taxa that were studied, if this structure is made up of one or various wall layers. The consensus at the moment is that it is probably made up of the basic structure of spore layers, since a thinner wall is generally observed (Keller, 1992, 1997). Despite all of this, at present it is difficult to distinguish if a hilar appendix with a obtuse base is ultrastructural and ontogenetically different from one that is acuminate or confluent. There is even the possibility that it is a feature that is independent from the structure. The current evidence only allows us to acknowledge that there is a positional similarity with different base shapes. The base shapes of the spore and the hilar appendix seen as a hypothesis of "primary homology" (De Pinna, 1991) might suggest that they vary together (round base with obtuse hilar appendix and a pointed base with an acuminate hilar appendix). Nevertheless, the conjunction of the spore base, the sharp tip and a confluent hilar appendix in *Ramaria abietina*, *R. grandis* and *Ramaricium* sp. leads to postulate that they are non-homologous features, inferring at least two events of change, in other words, two independent characters.

Finally, it is clear that all these hypotheses must be evaluated by their phylogenetic congruence with other characters, as is proposed by De Pinna (1991), Roth (1988) and De Luna and Misheer (1996).

## LITERATURE CITED

- Bryant H.N. 1989. An evaluation of cladistic and character analysis as hypothetico-deductive procedures, and the consequences for character weighting. *Systematic Zoology* 38: 214-227.
- Cléménçon H. 1970. Bau der Wände der Basidiosporen und ein Vorschlag zur Benennung ihrer Schichten. *Z. Pilzkunde* 36: 113-133.
- \_\_\_\_\_. 1973. Die Wandstrukturen der Basidiosporen. III *Cortinarius* und *Dermocybe*. *Zeitschr. F. Pilzk.* 39: 121-144.
- Corner E.J.H. 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. *Ann. Bot. Mem.* 1: 1-740.
- \_\_\_\_\_. 1966. *Cantharelloid Fungi*. Oxford University Press: Oxford.
- \_\_\_\_\_. 1970. Supplement to a monograph of *Clavaria* and allied genera. Cramer: Lehre.
- De Luna E., Mishler B.D. 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. *Bol. Soc. Bot. México* 59: 131-146.
- De Pinna M.C.C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7: 367-394.
- Domínguez de Toledo L.S. 1994. Suggestions for describing and illustrating fungal spores. *Mycotaxon* 52: 259-270.
- Donk M.A. 1961. Four New Families of Hymenomycetes. *Persoonia* 1(4): 405-407.
- \_\_\_\_\_. 1964. A Conspectus of the Families of Aphyllophorales. *Persoonia* 3(2): 199-324.
- Eriksson J. 1954. *Ramaricium* n. gen., a corticioid member of the *Ramaria* group. *Svensk Bot. Tidskr.* 48: 188-198.
- Estrada-Torres A. 1994. La Familia Gomphaceae (Aphyllophorales:Fungi) en el estado de Tlaxcala. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN: México.
- Hall B.K. 1994. Homology. The Hierarchical Basis of Comparative Biology. Academic Press, London.
- Hawkins J.A, Hughes C.E., Scotland R.W. 1997. Primary homology assessment, characters and character states. *Cladistics* 13: 275-283.
- Hawksworth D.L, Kirk P.M., Sutton B.C, Pegler D.N. 1995. *Dictionary of the Fungi*. International Mycological Institute, CAB International: Wallingford.
- Heim R. 1970. Breves diagnoses latinae novitatum genericarum specificarumque nuper descriptarum. *Revue de Mycologie* 34 (4): 343-347.
- Hibbett D, Pine E.M., Langer E., Langer G., Donoghue M.J. 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 12002-12006.
- Humpert A.J, Castellano M.A, Spatafora J.W. 1999. A molecular phylogenetic study of the genus *Ramaria*. Abstracts XVI International Botanical Congress, St. Louis, USA.

- Jülich W. 1981. Higher taxa of Basidiomycetes. J. Cramer: Vaduz.
- \_\_\_\_\_. , Star W. 1983. Ultrastructure of basidiospores I. *Beenakia*. *Persoonia* 12(1):67-74.
- Keller J. 1986. Ultrastructure des parois sporiques des Aphyllophorales. *Mycol. Helv.* 2(1): 1-34.
- \_\_\_\_\_. 1997. Atlas des Basidiomycetes. Union Des Societes Souisses De Mycologie: Neuchâtel.
- Kotlaba F., Pouzar Z. 1964. Preliminary results on the staining of spores and other structures of Homobasidiomycetes in cotton blue and its importance for taxonomy. *Feddes. Repert.* 69: 131-142.
- Kühner R. 1976. La notion d'espece chez les champignons superieurs. *Bulletin de la Societe Linneenne de Lyon* 45 (10): 19-48.
- Largent L., Johnson D., Watling R. (1977). How to Identify Mushrooms to Genus III. Microscopic features. Mad River Press: Eureka.
- Marr C.D., Stuntz D.E. 1973. *Ramaria* in Western Washington. *Biblth. Mycol.* 38: 1-322.
- Maas Geesteranus R.A. 1963. Hyphal structures in Hydnums. III. *Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C.* 66 (5): 437-446.
- \_\_\_\_\_. 1971. Hydneous Fungi of the Eastern Old World. *Verh. K. Ned. Akad. Wet. Afd. Natuurk., Tweede Reeks* 60: Amsterdam.
- Mabee P.M. 1989. Assumptions underlying the use of ontogenetic sequences for determining character state order. *Transactions of the American Fisheries Society* 118: 151-158.
- Methven A.S. 1990. The genus *Clavariadelphus* in North America. J. Cramer: Berlin.
- Parmasto E., Ryvarden L. (1990). The genus *Beenakia* (Gomphaceae, Aphyllophorales). *Windahlia* 18: 35-42.
- Patterson C. 1982. Morphological characters and homology. In: Joysey K.A., Friday A.E., eds. *Problems of Phylogenetic Reconstruction*. Academic Press: London. pp. 21-74.
- Pegler D.N., Young T.W.K. 1971. Basidiospore morphology in the Agaricales. J. Cramer: Lehre.
- \_\_\_\_\_. 1979. The gasteroid Russulales. *Transactions of the British Mycological Society* 72: 353-388.
- \_\_\_\_\_. 1981. A natural arrangement of the Boletales, with reference to spore morphology. *Trans. Br. mycol. Soc.* 76(1): 103-146.
- \_\_\_\_\_. 1985. Basidiospore structure in *Ramariopsis* (Clavariaceae). *Trans. Br. mycol. Soc.* 84: 207-214.
- Perreau B.J. 1967. Recherches sur la differenciation et la structure de la paroi sporale chez les Homobasidiomycetes á spores ornées. *Ann. Sci. Nat. Paris* 12(8): 639-746.
- Petersen R.H. 1967. Evidence on the interrelationships of the families of clavarioid fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 50(4): 641-648.
- \_\_\_\_\_. 1968. Notes on cantharelloid fungi I. *Gomphus* S.F. Gray and some clues to the origin of ramarioid fungi. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 84: 373-381.

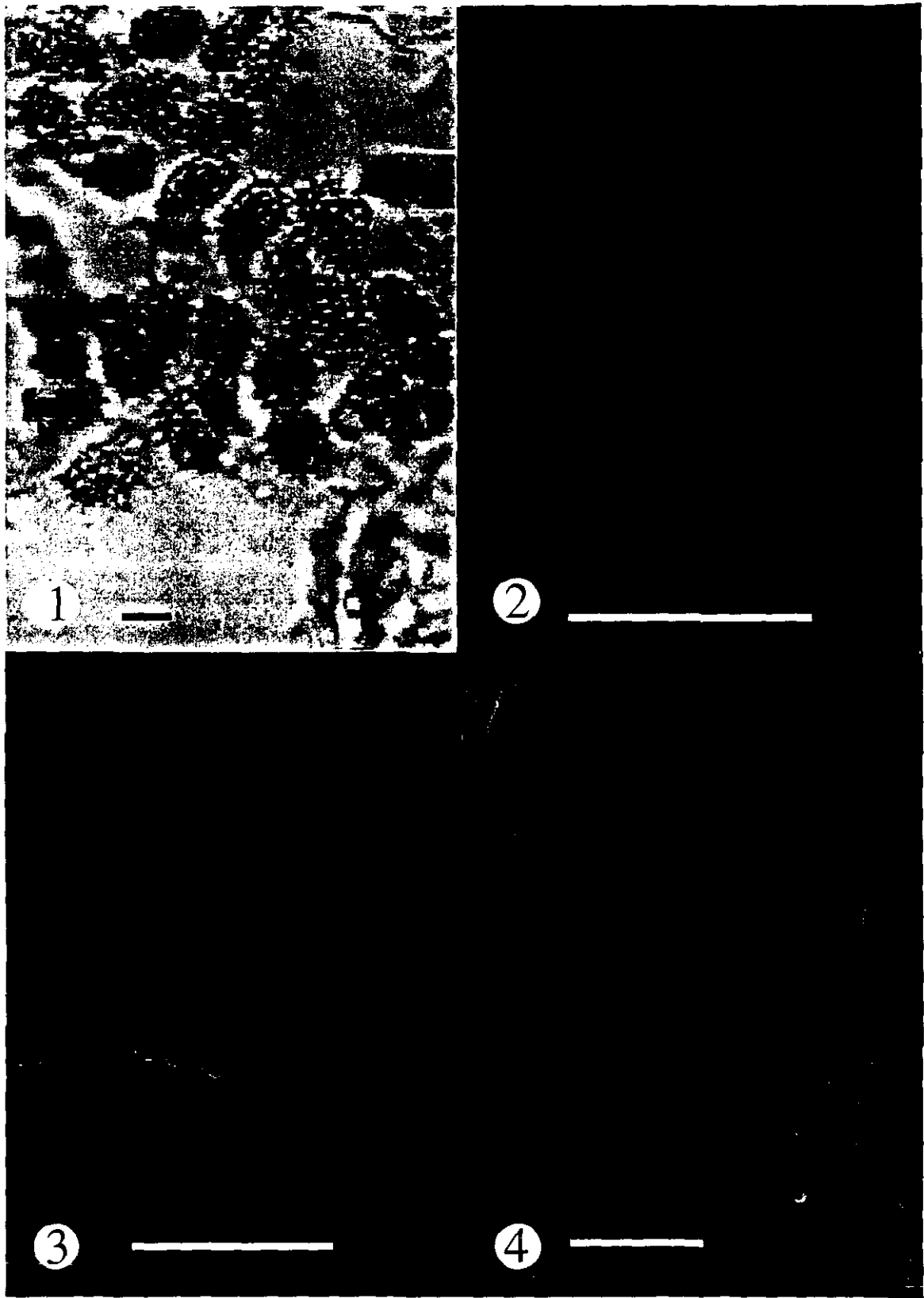
- \_\_\_\_\_. 1971a. The genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus* in North America. J. Cramer. Lehre.
- \_\_\_\_\_. 1971b. Notes on Clavarioid Fungi-IX. Addendum to *Clavulinopsis* in North America. *Persoonia* 6(2): 219-229.
- \_\_\_\_\_. 1975. *Ramaria* subgenus *Lentoramaria* with emphasis on North American Taxa. *Biblth. Mycol.* 43: 1-161.
- \_\_\_\_\_. 1981. *Ramaria* subgenus *Echinoramaria*. *Biblth. Mycol.* 79: 1-261.
- \_\_\_\_\_. 1988. The Clavarioid Fungi of New Zealand. Science Information Publishing Centre: New Zealand.
- \_\_\_\_\_, Pearman W.R. 1973. Spore ornamentation in *Ramaria* as depicted by scanning electron micrographs. *Persoonia* 7(2): 289-292.
- \_\_\_\_\_, E. Rahm, E. Schild. 1974. Notes on Clavarioid Fungi: Three New Species of *Clavariadelphus*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 63: 469-474.
- Roth V.L. 1988. The biological basis of homology. In: Humpriars CJ, ed. *Ontogeny and systematics*. Columbia University Press: New York. pp. 1-26
- Schild E. 1982. Studie uber Ramarien Schweiz. *Zeitschr. Pilzk.* 123: 33-45.
- Vázquez G, Cano-Canchola C, Sosa L, Obregón A, Flores-Carreón A, Herrera-Estrella A, Villegas M, Cifuentes J. 1995. Classical and molecular studies on edible species of *Ramaria* from México. In: Elliot T.J, ed. *Science and Cultivation of Edible Fungi*. A.A. Balkema: Rotterdam. p. 147-152.
- Vellinga E.C. 1988. Glosary. In: Bas C, Kuyper THW, Noordeloos ME, Vellinga EC eds. *Flora Agaricina Neerlandica Vol. I*. A.A. Balkema: Rotterdam. p. 54-64.
- Villegas M, De Luna E, Cifuentes J, Estrada-Torres A. 1999. Phylogenetic studies in Gomphaceae *sensu lato* (Basidiomycetes). *Mycotaxon* 70: 127-147.
- Welden A.L. 1966. *Stereum radicans*, *Clavariadelphus* and Gomphaceae. *Brittonia* 18: 127-131.
- Wilkinson M. 1995. A comparison of two methods of character construction. *Cladistics* 11: 297-308.



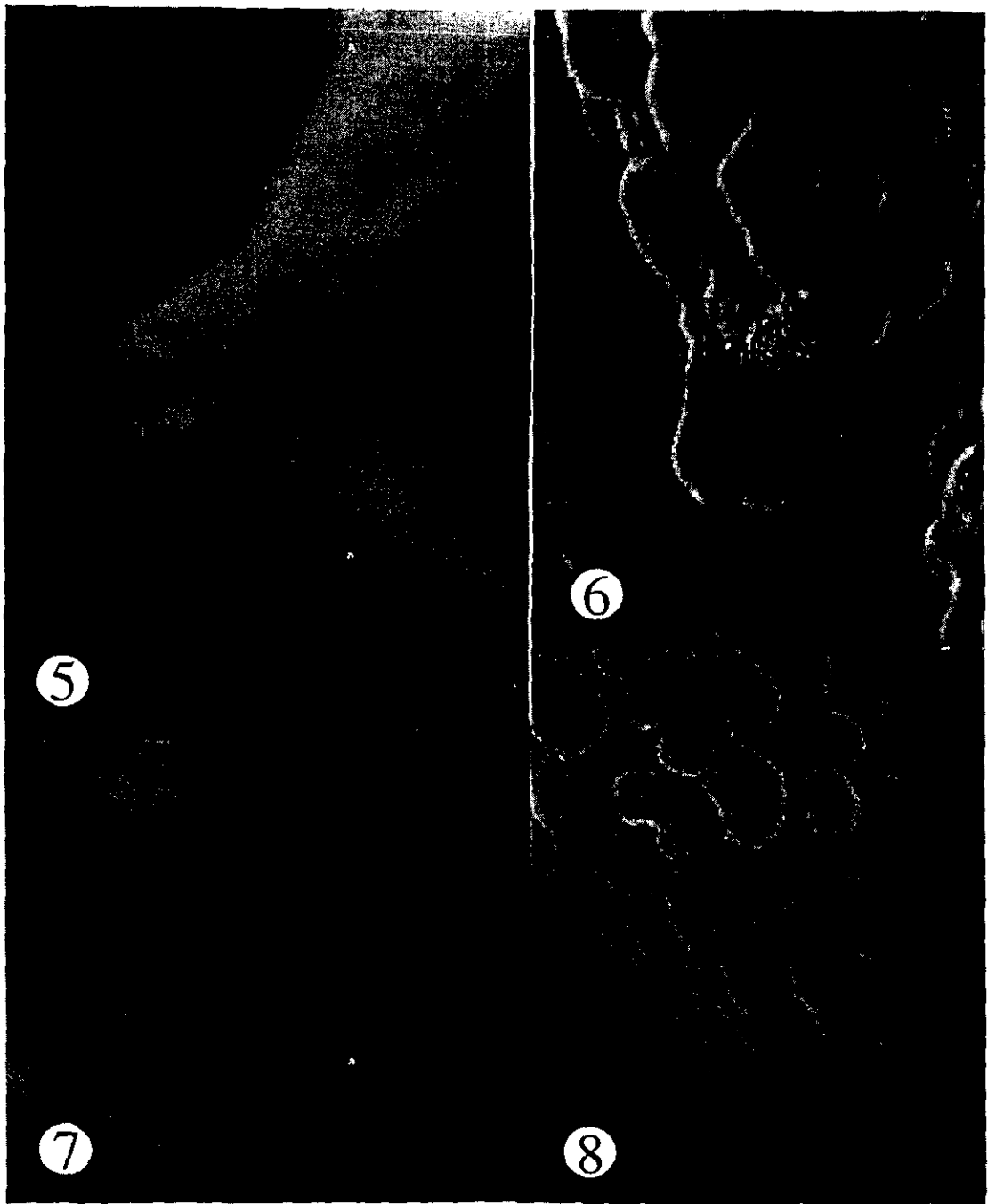
TABLE 1. List of representative specimens examined in Gomphaceae *sensu lato*.

Taxon	Specimens examined with SEM
<i>Beenakia fricta</i>	G. Guzmán 29615 (XAL)
<i>Cantharellus cibarius</i>	Peraza & Villegas R.M. 1814 (FCME); D. Vargas 481 (IBUG)
<i>Clavariadelphus pistillaris</i>	Smith 10419 (TENN); R. H. Petersen 4920 (TENN)
<i>Clavariadelphus truncatus</i>	Estrada Torres 2780 (TLXM); G. Guzmán 22547 (ENCB)
<i>Gloeocantharellus purpurascens</i>	F. Tapia 209 (XAL); E. Horak 13977 (TENN)
<i>Gomphus clavatus</i>	G. Guzmán 6845 (ENCB); A.H. Smith s.n. (TENN)
<i>Gomphus floccosus</i>	A. Estrada-Torres 3539 (TLXM); F.R. Bralish 1015 (TENN)
<i>Kavinia alboviridis</i>	A. Estrada-Torres 3058 (TLXM); H.S. Khara 4070 (TENN)
<i>Lentaria surculus</i>	R.E. Halling 5472 (TENN); R.H Petersen 597 (TENN)
<i>Ramaria abietina</i>	R.H. Petersen 2961 (TENN); L. Hernández Díaz 34 (TLXM)
<i>Ramaria cf. botrytis</i>	López & Villegas R.M. 575 (FCME); R. Lamothe & E Pérez-Silva 70 (MEXU)
<i>Ramaria cf. fennica</i>	Villegas R.M. 364 (FCME); S. López & Villegas R.M. 437 (FCME); Gavito y Santiago 21 (FCME)
<i>Ramaria gracilis</i>	Villegas R.M.1353 (FCME); W.B. Cooke 5000 (TENN)
<i>Ramaria grandis</i>	R.H. Petersen s.n. (TENN); Villegas R.M. 1691 (FCME)
<i>Ramaria rubripermanens</i>	Scates & Petersen 45911 (TENN); A. Estrada-Torres 3244 (TLXM); A. Kong Luz 2594 (TLXM)
<i>Ramaria stricta</i>	Smith & R.H.P. 31891 (TENN); L. Guzmán-Dávalos 3595 (IBUG); E.Pérez, R. Hernández y E. Aguirre (MEXU)
<i>Ramaricium polyporoideum</i>	E. D. Farr & J. Ginns 9732 (NFC); E. D. Farr & J. Ginns 9733 (NFC)
<i>Ramaricium sp.</i>	S.S. Rattan 4370 (TENN); S.S. Rattan 4371 (NFC)
<i>Ramariopsis corniculata</i>	R.H. Petersen 502 (TENN); Villegas R.M. 1144 (FCME)
<i>Ramariopsis kunzei</i>	Gutiérrez-Ruiz J. 139 (FCME); R.H. Petersen 3909 (TENN)

Herbaria: FCME = Facultad de Ciencias, UNAM, México; TENN = University of Tennessee, Knoxville, EUA; ENCB = Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional; TLXM = Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala; IBUG = Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara; XAL = Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México; MEXU = Instituto de Biología, UNAM, México; NFC = National Fungus Collection, New York.



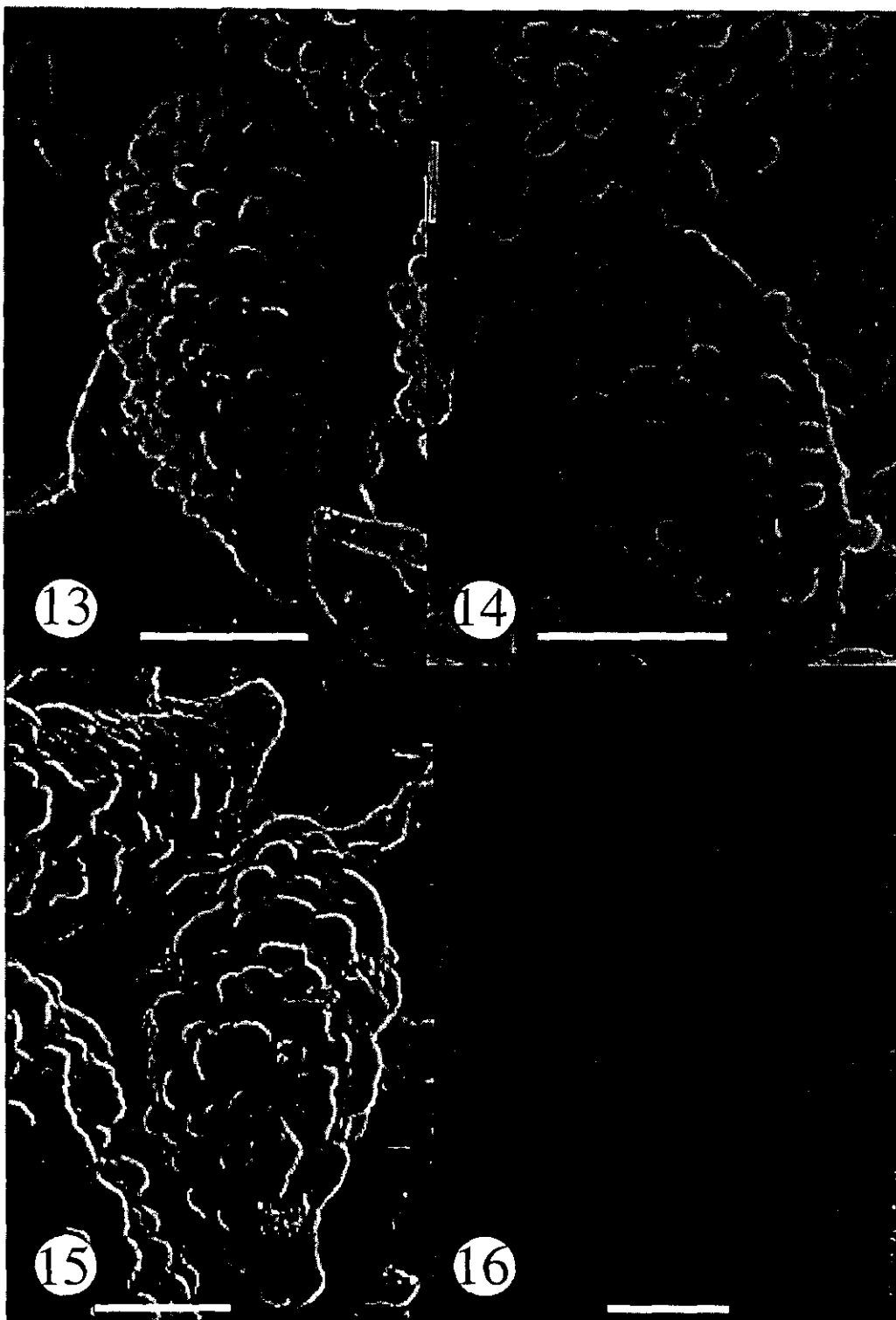
FIGS. 1-4. Color and shape of spores. 1. Yellow-brown spores under photonic microscope (*Ramaria grandis*). 2. Nomarski interference contrast of unequilateral spore (*Lentaria surculus*). 3-4. Scanning electron micrographs of globose spore in *Ramariopsis corniculata*(3) and ellipsoid spore in *Gomphus clavatus*(4). Scale bars: 1-2 = 10  $\mu\text{m}$ ; 3-4 = 5  $\mu\text{m}$ .



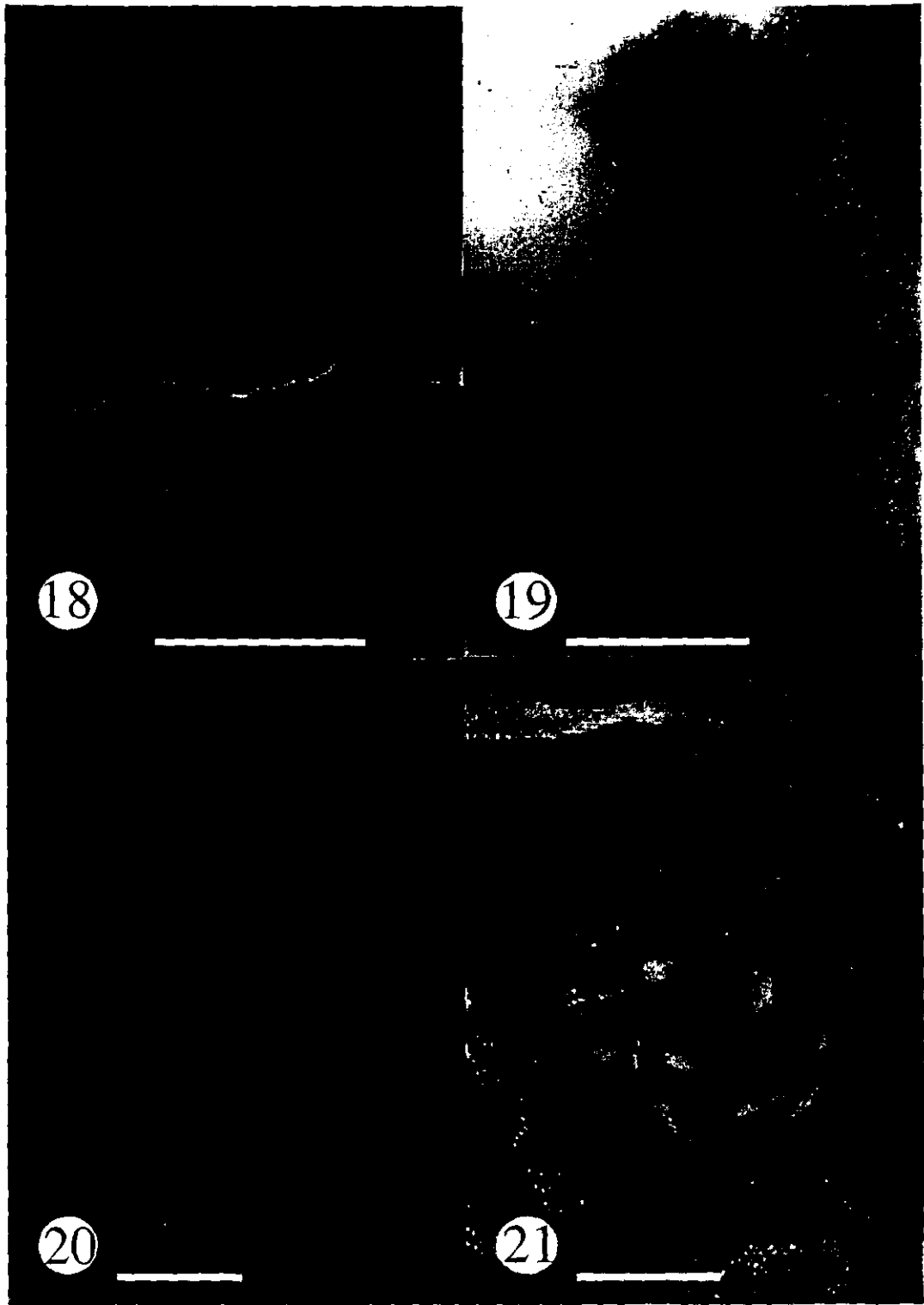
**FIGS. 5-8.** Scanning electron micrographs of base the spores and hilar appendix. 5. Hilar appendix with a confluent base (*Ramaricium* sp.). 6. Spore with pointy base and hilar appendix acuminate (*Ramaria* cf. *fennica*). 7. Spore with a round apical tip and hilar appendix obtuse (*Ramariopsis kunzei*). 8. Spore with pointy base and hilar appendix acuminate (*Gomphus clavatus*).



FIGS. 9-12. Scanning electron micrographs of spore without ornamentation and ornamented with pointed projections. 9. Spore smooth (*Cantharellus cibarius*). 10. Spore echinulate connected at their basal portion (*Ramaria grandis*). 11. Ornamentation baculate clearly separate from one another (*Ramaricium* sp.). 12. Spore echinulate (*Kavinia alboviridis*). Scale bars: 9 and 12 = 2.5  $\mu\text{m}$ .; 10-11 = 5  $\mu\text{m}$ .



**FIGS. 13-16.** Scanning electron micrographs of spores with round ornamentation. 13. Spore tuberculate-nodulose (*Ramaria abietina*). 14. Spores tuberculate-nodulose (*Ramaricium polyporoideum*). 15. Spores verrucoses with shorter and varied unions (*Ramaria cf. fennica*). 16. Spores verrucoses forming irregular "cords" (*Gomphus floccosus*). Scale bars: 13-15 = 2.5  $\mu\text{m}$ .; 16 = 5  $\mu\text{m}$ .



**FIGS. 17-20.** Scanning electron micrographs of ornamentation and Nomarski interference contrast of cyanophilic spores. 17. Spore rugulose (*Ramariopsis corniculata*). 18. Cyanophilic spores (*Ramaria grandis*). 19. Striates spores (*Ramaria rubripermanens*). 20. Echinulate spore with ornamentation separate (*Ramariopsis kunzei*). Scale bars: 17 = 5  $\mu\text{m}$ .; 18 = 10  $\mu\text{m}$ .; 19-20 = 2.5  $\mu\text{m}$ .

#### 4. LA DELIMITACIÓN DEL ORDEN GOMPHALES Y LAS RELACIONES FILOGENÉTICAS DE LOS GÉNEROS CONSIDERADOS

##### INTRODUCCIÓN

Al igual que en otras áreas de la biología, uno de los objetivos fundamentales de la taxonomía micológica, es encontrar clasificaciones de hongos que reflejen sus relaciones evolutivas que entre otros aspectos, nos permitan tener una referencia histórica para el entendimiento de su diversidad biológica. Después de varias décadas de discusión, es claro que los métodos cladísticos son los más robustos para la reconstrucción filogenética y clasificación de la biodiversidad tanto desde el punto de vista teórico como metodológico, donde sólo los grupos monofiléticos pueden ser reconocidos y nombrados formalmente como grupos taxonómicos (Frost y Kluge, 1994; De Luna y Mishler, 1996).

En este trabajo se presentan los resultados de estudios filogenéticos recientes en Gomphales, donde se discuten los caracteres considerados que parecen ser filogenéticamente informativos. Nuestro objetivo es presentar hipótesis robustas acerca de la filogenia de estos organismos para entender las relaciones de parentesco que guardan entre sí los mismos, además de obtener un marco de referencia para futuros estudios.

Como lo mencionan Villegas *et al.* (1999), los esquemas tradicionales de clasificación (Donk, 1964; Jülich, 1981; Hawksworth *et al.*, 1995) han presentado diversos agrupamientos y a diferentes niveles de los géneros *Gomphus*, *Pseudogomphus*, *Gloeocantharellus*, *Ramaria*, *Beenakia*, *Delentaria*, *Terenodon*, *Lentaria*, *Kavinia* y *Ramaricium*. Estos son hongos macroscópicamente heterogéneos, pero similares en cuanto a la coloración, ornamentación y reacción cianófila de sus esporas, así como en la respuesta positiva a las sales de hierro en el himenóforo de los basidiomas.

Diversos estudios, sobre todo en la última década, han confirmado relaciones entre hongos morfológicamente disímiles, por lo que actualmente las hipótesis no sólo en Basidiomicetos sino también en otros grupos de macromicetos, sustentan que la macromorfología es poco congruente con las relaciones que guardan entre sí estos organismos (Tehler, 1988; Kurtzman y Robnett, 1995; McLaughlin *et al.*, 1995).

Estudios sistemáticos previos con datos moleculares (Hibbett *et al.* 1997) y morfológicos (Villegas *et al.*, 1999), donde han sido considerados taxa como *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Beenakia*, *Kavinia*, *Ramaricium*, *Ramaria* y *Lentaria*, además de *Clavariadelphus*, *Ramariopsis* y *Cantharellus*, han mostrado que algunos de estos géneros conforman un grupo monofilético. El análisis de Hibbett *et al.* (op. cit.) mostró que géneros como *Gomphus*, *Ramaria* y *Clavariadelphus* conforman el "linaje gomfoide" que a su vez está relacionado a un nivel más inclusivo con Phallales, *Sphaerobolus* y *Geastrum*. En cambio, el estudio realizado por Villegas *et al.* (op. cit.), encuentra un grupo monofilético que incluye a los géneros *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium*,

*Ramaria* y *Lentaria*, pero la inclusión de *Clavariadelphus* dentro de los Gomphales no es consistente en ninguno de los análisis desarrollados. Por otra parte, con los datos morfológicos hasta entonces estudiados por estos mismos autores, la inclusión de *Lentaria* dentro del grupo monofilético fue igualmente consistente en el clado constituido por los seis géneros restantes, por lo cual se decidió considerarla como parte de los Gomphales, aunque si bien soportada por sinapomorfias homoplásicas. Ese trabajo preliminar permitió identificar qué unidades podían funcionar realmente como grupos externos, la evaluación general de la estructura del grupo a analizar, y el encauzar más adecuadamente el sistema de muestreo en unidades como *Ramaricium*; señaló la importancia de examinar mayor número de ejemplares tanto del grupo interno como externo, y además dirigió nuestra atención a un análisis morfológico más detallado de las esporas e hifas como caracteres potenciales y a reexaminar el significado de caracteres como la reacción a las sales de fierro en material fresco y deshidratado. Este artículo considera más evidencia morfológica a diferentes niveles que ha surgido de la revisión de numerosos especímenes y literatura relevante en torno a estos taxa, reportando avances de nuestra investigación sobre la filogenia de Gomphales tratando de dar respuestas más claras acerca de ¿qué géneros pueden estar incluidos más robustamente dentro de este grupo monofilético?, ¿a qué grupo es al que se le puede nombrar Gomphales?, ¿los géneros *Lentaria* y *Clavariadelphus* deben pertenecer a este grupo? Es importante también analizar y valorar los caracteres morfológicos que puedan ser de utilidad en el análisis filogenético de estos organismos, además de estimar críticamente los caracteres que tradicionalmente se han utilizado para diferenciarlos, por lo que en este artículo se incluye también, un análisis en detalle de la variación de cada carácter donde la justificación de cada estado es presentada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Una combinación total de 25 taxa, fueron examinados en este estudio de los cuales, veinte corresponden al grupo a analizar y los cinco restantes, representan grupos externos.

Las unidades cladísticas (UC), fueron seleccionadas considerando representantes a diferente nivel de los géneros *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Beenakia*, *Kavinia*, *Ramaricium*, *Ramaria* y *Lentaria*, además de los géneros *Clavariadelphus*, *Ramariopsis* y *Cantharellus* que aunque considerados por otros autores como posiblemente relacionados con los primeros (Corner 1950 y 1966, 1970; Jülich 1981, Methven 1990, Petersen 1967, 1971b, 1973 y 1988; Welden, 1966; Hibbett *et al.*, 1997), un análisis anterior (Villegas *et al.*, 1999), mostró que los siete primeros géneros conforman un grupo monofilético, mientras que *Clavariadelphus*, *Ramariopsis* y *Cantharellus* no pertenecen a este grupo bajo ninguna de las circunstancias analizadas, por lo que en este estudio fueron considerados como grupos externos adicionales. No ha existido la posibilidad de revisar géneros como *Terenodon*, *Pseudogomphus* y *Delentaria* que también han sido relacionados con algunos de estos taxa, ya que son monoespecíficos y solamente se conocen los ejemplares tipo (Jülich, 1981; Hawksworth *et al.*, 1995). Para el género *Gomphus*, se consideraron representantes de los subgéneros *Gomphus* (*G. clavatus*) y *Excavatus* (*G. floccosus*) reconocidos por Petersen (1970), con base en variaciones morfológicas de los basidiomas; algo similar fue tomado en cuenta para incorporar unidades de los géneros *Clavariadelphus* y *Ramariopsis* de acuerdo



con las propuestas clasificatorias de autores como Methven (1990) y Petersen (1969 y 1988). En el caso de *Ramaria*, que básicamente se caracteriza por presentar un basidioma ramificado con esporas ornamentadas de color café en diferente gradación, se han descrito más de 110 especies, por lo que fue importante considerar miembros de los subgéneros *Ramaria*, *Lentoramaria*, *Laeticolora* y *Echinoramaria* tradicionalmente reconocidos por autores como Corner (1970), Marr y Stuntz (1973) y Petersen (1971a, 1988), incluyendo además representantes de las secciones *Flaccidae* y *Dendrocladium* en que ha sido subdividido el subgénero *Echinoramaria* (Petersen, 1981).

A diferencia de análisis previos (Villegas *et al.*, 1999), pudieron estudiarse mayor número de ejemplares de *Ramaricium* que en este caso está representado por *Ramaricium* sp. y *R. polyporoideum*. *Gloeocantharellus* y *Kavinia* fueron representados con la única especie que hasta ahora se ha descrito para cada uno de ellos y *Cantharellus* con la especie tipo. Debido a su baja representatividad en los acervos de los herbarios, las especies con mayor número de ejemplares disponibles en las colecciones consultadas, fueron seleccionados para constituir las unidades de análisis de los géneros *Lentaria* y *Beenakia*.

Debido a que las relaciones de grupo externo para los Gomphales todavía no ha sido reconocida, la selección de grupos externos para la orientación de los árboles (Farris, 1972; Swofford, 1993) fue guiada por estudios cladísticos previos (Villegas *et al.*, 1999). Estos estudios sugieren que potencialmente pueden considerarse como grupos externos cercanos a representantes de los géneros *Cantharellus*, *Ramariopsis* y *Clavariadelphus* aunque no fue definido el grupo hermano de Gomphales, no obstante haberse realizado exploraciones bajo diferentes condiciones. Se siguen considerando además a *Clavulina*, *Gymnopilus subpurpuratus*, Amanitaceae, Russulaceae y Auriculariaceae como grupos externos lejanos para localizar más apropiadamente la raíz de los árboles que incluyen al grupo interno y taxa de los grupos externos adyacentes.

En el desarrollo de esta hipótesis se examinan caracteres adicionales a los ya estudiados de la macro y micromorfología, incluyendo microscopía electrónica de barrido de las diferentes unidades representativas analizadas, donde también fueron evaluados caracteres previamente utilizados por otros autores; esto implicó la revisión de más de 200 ejemplares herborizados y en fresco, provenientes de los herbarios: Facultad de Ciencias, UNAM, México (FCME), Universidad de Tennessee, Knoxville, EUA (TENN), U.S. National Fungus Collections, EUA (BPI), Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxacala, México (TLXM), Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México (ENCB), Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara, México (IBUG), Instituto de Biología, UNAM, México (MEXU) e Instituto de Ecología, A.C., México (XAL). Descripciones relevantes en la literatura fueron también consultadas para cada taxa.

Siendo evidente que la selección de caracteres y estados es la parte fundamental de todo estudio taxonómico, donde los caracteres y sus estados son la base empírica de la descripción y comparación en la biología sistemática y comparativa (De Luna y Mishler, 1996), la elección de caracteres en este trabajo se realizó considerando la variación observada en los géneros estudiados, haciendo además una discusión de cada uno de ellos con la finalidad de hacer más explícito el examen de su variación.

La búsqueda de árboles más parsimoniosos fue realizada utilizando el programa PAUP 3.1.1 (Swofford, 1993), con todos los caracteres considerados con el mismo peso y definidos como no ordenados. La matriz de datos consistió de 25 taxa y 46 caracteres (Tabla 1), donde las autoapomorfias fueron también consideradas inicialmente, de las cuales ninguna fue informativa a este nivel; sólo los caracteres 6, 9, 26, 27, 29 y 37 presentan codificaciones de multiestados, el resto son caracteres binarios y únicamente los caracteres 1, 12, 19, 30 y 38 fueron codificados como desconocidos (?) para los taxa: *Clavariadelphus truncatus*, *Ramaricium* sp., Auriculariaceae, *Gymnopilus subpurpuratus* y Russulaceae, respectivamente (Tabla 2). Debido al tamaño de unidades a analizar, sólo pudieron realizarse búsquedas por medio del método heurístico efectuando la adición de hasta 500 réplicas al azar y el algoritmo de intercambio de ramas TBR.

La homologación de caracteres de ornamentación de esporas y tipos de apéndice hilar ha sido problemática, por lo cual varias series de análisis considerando diferentes opciones de codificación para los datos observados fueron realizadas, las cuales son mostradas en la Tabla 3 y 4. La optimización de los estados de carácter en cada uno de estos análisis fue hecha utilizando la opción ACCTRAN de PAUP. Los cambios de caracteres por rama, fueron examinados en uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos en cada uno de los diferentes análisis realizados.

Diferentes medidas son actualmente usadas para estimar la estructura filogenética de una matriz de datos, para evaluar la estabilidad y estructura de un árbol entero y para examinar el soporte de clados en particular dentro de un árbol, antes de aceptar los árboles más parsimoniosos resultantes como una hipótesis filogenética. Se ha visto que la parsimonia e índices basados en caracteres, tales como el índice de decaimiento o índice de soporte de ramas (Bremer, 1994), son medios prometedores para estimar la confiabilidad de hipótesis filogenéticas. Consecuentemente, éstos fueron enfatizados para estimar el soporte en nuestros análisis. Los índices de decaimiento fueron estimados a partir de un consenso estricto de cada universo gradual de árboles subóptimos mediante el programa Auto Decay (Eriksson y Wikström, 1995). Adicionalmente, se examinó la persistencia de clados particulares en los consensos de mayoría de cada juego de árboles subóptimos de la misma muestra. Si un clado persiste en la mayoría de los árboles subóptimos su frecuencia en un consenso de mayoría puede ser indicativo de la confiabilidad de la hipótesis de la existencia de un grupo monofilético en los árboles más parsimoniosos.

## RESULTADOS

**DEFINICIÓN DE CARACTERES Y SU CODIFICACIÓN.** Los 46 caracteres presentados a continuación incluyen morfología macro y microscópica, considerando microscopía electrónica de barrido de los diferentes basidiomas observados. Un concentrado de todos estos caracteres y sus estados utilizados en los análisis cladísticos, puede encontrarse en la tabla 1. Otras características adicionales fueron también evaluadas; no obstante, éstas fueron muy homogéneas en algunos casos o por el contrario, en otros fueron muy heterogéneas o la distinción de estados con los parámetros con los que actualmente fueron valorados fue muy ambigua; tal es el caso del olor y sabor, estos rasgos se encuentran enlistados y discutidos en el apartado de Caracteres Excluidos.

### Forma del basidioma

El basidioma es considerado aquí como un esporoma macroscópico diferenciado en distintos grados de complejidad y que produce basidios, es evidente que dentro de los taxa aquí estudiados pueden reconocerse formas pileadas, ramificadas, efusas o resupinadas. Autores como Marr y Stuntz, (1973) y Petersen (1973) han sugerido que la forma ramificado-clavada observada en especies como *Ramaria claviramulata*, puede representar una conexión entre la forma clavada característica de géneros como *Clavariadelphus* y la ramificada presente en *Ramaria*, *Lentaria* o *Ramariopsis*. De igual manera, se ha sugerido que la forma clavada es la más ancestral de estas formas, a partir de la cual se considera han evolucionado las demás (Corner 1966, Petersen 1971a). En ausencia de estudios ontogenéticos que puedan clarificar si existen o no este tipo de transformaciones o de que las variaciones morfológicas aquí observadas sean transformaciones homólogas, aunadas al hecho de que puedan presentarse dos condiciones dentro de un mismo basidioma (por ejemplo, pileado y ramificado en individuos de *Gomphus clavatus*), da evidencia de que todas estas formas deben ser interpretadas más bien como caracteres independientes, de acuerdo con el criterio de conjunción (Patterson, 1982).

1.- **Basidioma pileado: 0 = presente; 1= ausente; ?= desconocido.** El término pileado, tradicionalmente ha sido utilizado de una manera muy general, para referirse a la parte superior dilatada de los esporomas macroscópicos y que porta un himenio (Font Quer, 1982; Ulloa, 1991; Hawkswort *et al.*, 1995). Visto de esta manera, es una estructura que puede presentarse en una gran diversidad de macromicetos aunque generalmente el término sólo se ha considerado para una estructura bien diferenciada con respecto del himenio y de bordes delgados, que se observa en los típicos agaricoides como Russulaceae, Amanitaceae o en géneros como *Gomphus*, *Gloeocantharellus* y *Cantharellus* considerados en este estudio (ver Lámina 1c). Hasta ahora, ningún taxónomo ha considerado que el ápice ampliamente truncado y estéril de *Clavariadelphus truncatus* (Lámina 1a), correspondiera con un píleo, sin embargo, si se toma en cuenta el sentido tan amplio y poco preciso del término, la estructura truncada del ápice de este taxón podría corresponder con un píleo aunque con forma un poco diferente a la típica. En ausencia de estudios ontogenéticos que nos permitan elucidar si corresponde o no a la misma estructura, su poca diferenciación con respecto al himenio y bordes gruesos, aunque con similaridad posicional a la de un píleo, esta estructura fue considerada como desconocida. Tradicionalmente y de acuerdo con la delimitación de Donk (1964), este carácter se ha utilizado para la diferenciación de géneros dentro de Gomphaceae

2.- **Basidioma efuso (resupinado): 0 = presente; 1 = ausente.** Un basidioma efuso o resupinado es aquel que crece completamente adherido al sustrato, generalmente sin formas definidas y mostrando en la superficie expuesta las estructuras reproductoras (himenio). En el caso de *Kavinia* y *Ramaricium*, el basidioma está representado por un subículo blanco a color café claro, membranoso-algodonoso y el himenio es liso o formado por dientes (Lámina 1b).

3.- **Basidioma clavado: 0 = presente; 1 = ausente.** El basidioma clavado o claviforme como el que se observa en *Clavariadelphus truncatus* y *C. pistillaris*, es diferenciable por su forma de clava o mazo, donde el ensanchamiento gradual hacia el ápice que es redondeado o

aplanado es evidente (Lámina 1a). Es una forma que puede estar también presente en otros hongos clavarioides e incluso en otros grupos de macromicetos hasta ahora no relacionados.

4.- **Basidioma ramificado: 0 = simple; 1 = ramificado.** La ramificación puede presentarse en distinta gradación, aunque se considera que algo evidentemente ramificado es como lo que se muestran en la Lámina 1d, donde la forma de las ramificaciones es generalmente cilíndrica. Al revisar diferentes colecciones de UC como *Gomphus floccosus*, *Clavariadelphus truncatus* y *Cantharellus cibarius*, se observó que existían algunos ejemplares cuyos basidiomas estaban bifurcados. Esta variación no pudo ser interpretada ya que es necesario contar con estudios de ontogenia y tener claro el concepto de “individuo” en hongos, entre otros aspectos, para poder codificar claramente esta variación ocasional; al parecer no se trata de un polimorfismo ya que se cuenta con recolecciones donde se tiene la seguridad de no haber mezclado materiales y todos los ejemplares posiblemente provengan de un mismo micelio, que para el caso de hongos se considera como el mismo organismo modular (Carlile, 1995), lo que implicaría que estas diferencias morfológicas pueden representar una expresión diferencial del geneto en los diferentes rametos. Al no contar con elementos suficientes que puedan dilucidar esta problemática, por el momento no se consideró esta variación y estas unidades fueron codificadas como simples, ya que los ejemplares bifurcados son raros. En otros casos como el de *Gomphus clavatus*, donde fueron observadas recolecciones con ejemplares que están típicamente ramificados y otros que son simples, estos datos fueron considerados como polimorfismos.

#### **El himenóforo**

Este término ha sido utilizado en dos diferentes sentidos: 1) para todo el píleo o inclusive todo el cuerpo fructífero que produce un himenio y 2) para aquella porción del cuerpo fructífero directamente adyacente o involucrada en la configuración del himenio y usualmente responsable de las diferentes formas himeniales (Donk, 1964; Ulloa, 1991; Hawksworth *et al.*, 1995). En este trabajo el término himenóforo es utilizado en el segundo sentido por considerarse de una manera más puntual.

En las unidades analizadas, pueden observarse himenóforos lisos, rugosos, en costillas o venaciones con diferente grado de profundidad, conformados por dientes o en láminas bien diferenciadas. Evidentemente, no es factible considerar a todo el carácter himenóforo con una sola hipótesis de homología transformacional ya que varias de las formas no son correspondientes con variaciones del himenio, observándose sólo evidencias de relación a partir de basidiomas en diferente estado de desarrollo, entre lo liso y lo rugoso o entre las venaciones con diferente profundidad. Por lo cual se consideraron los siguientes caracteres como independientes:

5.- **Himenóforo en dientes: 0 = presente; 1 = ausente.** (Lámina 2d). Este tipo de himenio es claramente diferenciable y hasta ahora, no se han encontrado evidencias que permitan establecer correspondencia o hipótesis de homología transformacional con otras variaciones del himenio.

6.- **Basidiomas maduros con himenóforo en costillas o venaciones. 0 = ausentes; 1 = poco profundas y reticuladas; 2 = profundas y no reticuladas.** Morfográficamente, las venaciones, sobre todo las profundas, pueden ser similares a las láminas; no obstante, es evidente que desde su formación, las costillas tienen un borde obtuso y fértil con ausencia de

una trama regular, además de que su profundidad puede ser variable aún dentro de un mismo basidioma y así mismo ser irregularmente anastomosadas, características que no comparten con las láminas (Lámina 2 a y e).

7.- **Himenóforo sin proyecciones: 0 = completamente liso; 1 = rugoso (al menos parcialmente); ? = no comparable.** Entre estos dos estados, sí es factible proponer una hipótesis de homología ya que se observó que dentro de una misma recolección de *Clavariadelphus truncatus* o de *Clavariadelphus pistillaris* (Lámina 2f), los basidiomas jóvenes son lisos y los adultos presentan partes lisas generalmente basales y rugosas (sin llegar a constituir venaciones) situadas generalmente hacia el ápice. Himenio completamente liso pudo observarse en todos los representantes considerados de *Ramaria*, *Ramaricium*, *Ramariopsis* y en *Lentaria surculus* (Lámina 2c).

8.- **Himenóforo en láminas: 0 = presente; 1 = ausente.** Las láminas, a diferencia de las venaciones o costillas, son proyecciones mucho más amplias y generalmente homogéneas en forma y tamaño dentro del himenóforo, con la presencia de un estrato central claramente diferenciado y borde estéril (Corner, 1966; Singer, 1986). Este carácter solamente se presenta en Russulaceae, Amanitaceae y *Gymnopilus subpurpuratus* (Lámina 2b), considerados aquí como grupos externos.

### Estípite

Este término, acuñado originalmente para referirse al tallo o tronco de las plantas arbóreas y posteriormente extensivo a otras partes de diversas plantas (Font Quer, 1982), ha sido adoptado por los micólogos para referirse principalmente al “pie” o pedicelo más o menos diferenciado que sostiene al píleo o resto del esporoma de los macromicetos, por medio del cual se unen al sustrato. Aunque su morfología externa en términos generales de forma y posición es similar, actualmente se desconoce si ontogenéticamente estas estructuras son equivalentes en los diversos grupos donde se observa (Moore, 1996). Sus características en cuanto a consistencia, ornamentación, coloración y componentes estructurales son muy variables, por lo que en este caso sólo se consideró su presencia y posición.

9.- **Diferenciación del estípite: 0 = claramente diferenciado; 1 = poco diferenciado; 2 = ausente.** El estípite es considerado como un pedicelo diferenciado con posición variable, que sostiene al resto del basidioma. Tomando como punto de referencia la posición del himenio y la delimitación del resto del basidioma, el estípite puede ser claramente diferenciado como en *Gomphus floccosus* (Lámina 1c), poco diferenciado (con límite superior difuso) como en *Clavariadelphus truncatus* (Lámina 1a), todos los representantes de *Ramaria* y *Ramariopsis* o ausente, en organismos con crecimiento resupinado como *Kavinia alboviridis* o *Ramaricium polyporoideum* (Láminas 2d y 1b).

10.- **Posición del estípite con relación al resto del basidioma: 0 = central; 1 = excéntrico; ? = no comparable.** Esta es una estructura que puede presentarse en diferentes grupos de macromicetos, sin tener claro si corresponden o no con el mismo patrón ontogenético o estructural; su semejanza en forma y posición nos han llevado a considerarlo como la misma estructura, con diferente ubicación respecto al resto del basidioma.

### Otros caracteres macroscópicos y macroquímica del basidioma

Existen muchos otros caracteres macroscópicos que pueden apreciarse en los diferentes basidiomas examinados, como son las formas de las diferentes partes que lo constituyen, tamaños, colores incluyendo cambios de los mismos, y consistencias, los cuales debido a su gran variación incluso dentro de los mismos individuos, es difícil de clasificar en estados discretos, por lo cual solo fueron considerados los siguientes.

11.- **Basidioma completamente gelatinosos: 0 = presente; 1 = ausente.** La consistencia de los basidiomas estudiados es muy variable y difícil de clasificar en intervalos discretos ya que además de haber combinaciones dentro de un mismo esporoma, ésta también tiende a variar con la edad y/o condiciones medioambientales. No obstante, la condición gelatinosa de los Auriculariaceae, es claramente diferenciable del resto de las variaciones.

12.- **Cambio de color del basidioma con la manipulación o al exponerse: 0 = presente; 1 = ausente; ? = desconocida.** Aunque el cambio de color, cuando presente, puede ser variable (amarillo-café, oliváceo, café-grisáceo, etc), no se sabe si los elementos que se están oxidando pueden pertenecer al mismo compuesto químico o son diferentes, por lo cual se consideró que el "complejo químico" en general, puede estar presente o ausente. Se observó que hay especies como *Cantharellus cibarius* donde se observó que los ejemplares revisados no cambian de color, sin embargo, Petersen (1985) anota que esta especie puede presentar un cambio de coloración; esta variación se codificó como un polimorfismo. No se cuentan con datos respecto a si en el género *Ramaricium* existe algún cambio de color al cortar o manipular a los basidiomas.

13.- **Reacción del basidioma a las sales de hierro en material fresco: 0 = presente; 1 = ausente.** Donk (1964) consideró este carácter como una reacción positiva del basidioma con un cambio de color a azul-verdoso. No obstante, para él fue claro que en otros grupos de hongos al parecer distantemente relacionados como lo es el género *Russula* del tradicional orden Agaricales, puede haber también reacción con estas sustancias en algunas de sus especies, virando el basidioma a rosa en diversas tonalidades o a verde. Petersen (1967) considera que este carácter no está limitado a Gomphaceae *sensu* Donk, pero la reacción es evidente en todos los taxa que se considera pertenecen a este grupo. Los mejores resultados son obtenidos con material fresco, sin embargo en material seco la reacción también es evidente pero dudosa en algunos casos.

Aunque se observan diferencias en el cambio de coloración, es difícil establecer una separación de estos cambios ya que las anotaciones hechas en material fresco fueron consideradas bajo diferentes grados de apreciación, por ejemplo: verde oscuro, verdoso, gris-verdoso oscuro, azul verdoso, con tonalidades verde azulosas o en algún tono de verde como lo consideran Marr y Stuntz (1973) para *Ramaria*. Petersen (1967) denotó que la reacción puede ser variable en los diferentes taxa, presentándose desde coloraciones grises en el himenio de *Cantharellus cibarius*, verde opaco en *Clavariadelphus truncatus* o gris verdoso en *Clavulinopsis corniculata*. En este caso, la reacción se consideró como positiva cuando se presentaba algún cambio en coloración entre gris a verde o azul en sus diferentes tonalidades ya que no existe un patrón discreto que justifique la distinción de estados en cuanto a coloración y velocidad de la reacción.

**14.- Cordones miceliares en la base del basidioma muy evidentes: 0 = presentes; 1 = ausentes.** De acuerdo con Ulloa (1991), Hawksworth *et al.* (1995) y Boddy (1999), a diferencia de los rizomorfos, los cordones miceliares son un conjunto de hifas con organización predominantemente paralela formando un haz o paquete, sin una estructura diferenciable en el ápice, aunque sí con crecimiento apical análogo al de las raíces de las plantas vasculares. La apariencia de estos cordones pueden variar desde los muy finos, pequeños y abundantes hasta los de longitud (incluso mas de 10 cm) y grosor considerables (1-2 mm). Debido al tipo de datos con que cuentan los ejemplares revisados y referencias bibliográficas, se decidió considerar sólo los que se presentan de manera muy evidente (largos y gruesos) ya que cuando son muy pequeños, frágiles y poco abundantes, generalmente pasan desapercibidos para el recolector y no queda casi muestra de éstos en los materiales herborizados. Por “incompletas” que sean las recolecciones, cuando los rizomorfos son muy conspicuos, de alguna manera queda constancia de ellos en los ejemplares.

Es una característica que se ha visto desarrollan muchos hongos saprobios, especialmente basidiomicetos, cuya habilidad de formar estas estructuras se ha considerado provee una solución a diferentes problemas de supervivencia en ambientes heterogéneos (Boddy, 1999).

**15.- Subículo. 0 = presente; 1 = ausente.** Ulloa (1991) y Hawksworth *et al.* (1995), hacen referencia de esta estructura como una conspicua trama de hifas con apariencia costroso-lanosa o de un fieltro, que cubre parte del sustrato sobre el que surge el resto del esporoma. Este carácter no es considerado como homólogo del tomento basal que ocasionalmente se llega a observar en la base de algunos basidiomas, ya que su morfología y posición es diferente. La similitud posicional y características anatómicas de lo observado en *Lentaria surculus*, *Beenakia fricta*, *Kavinia alboviridis* y *Ramaricium polyporoideum* sugieren que se trata del mismo carácter, no obstante, no hay estudios ontogenéticos de esta estructura.

### **Basidios**

El basidio es la célula u órgano característico de los Basidiomycetes donde, después de la cariogamia y meiosis, son producidas externamente las basidiosporas. En términos generales, se conoce que el esquema básico de inicio del desarrollo es similar en todos los grupos. No obstante, el patrón de comportamiento nuclear y morfogénesis de etapas posteriores a la cariogamia, pueden variar no sólo dentro de los diferentes órdenes y/o familias, sino incluso dentro de las diferentes especies en que han podido ser estudiados (Donk, 1964; Duncan y Galbraith, 1972; Wells, 1965). Uno de los problemas más evidentes para considerar los pocos caracteres hasta ahora evidenciados, es la terminología tan heterogénea y ambigua que ha sido utilizada para describir los eventos y estructuras observadas durante el proceso de formación de estas estructuras, como lo muestran en parte Hawksworth *et al.*, (1995 ). De las características observadas en los ejemplares revisados, sólo tres pudieron ser claramente diferenciables en estados discretos y por otra parte, debido a la falta de información para la mayoría de los taxa aquí estudiados respecto a otros caracteres observados por diferentes autores, bibliográficamente únicamente se obtuvo información para los datos considerados en el carácter diecinueve.

16.- **Tipos de basidios: 0 = holobasidios; 1 = fragmobasidios.** Los basidios pueden estar constituidos de una sola célula, en cuyo caso se les denomina holobasidios o estar constituidos por varias células y denominarse fragmobasidios. Con excepción de Auriculariaceae que típicamente presenta fragmobasidios (Lámina 4f) con septos transversales, el resto de los taxa estudiados presentan holobasidios (Lámina 3a).

17.- **Septación secundaria en los basidios: 0 = presente; 1 = ausente.** La mayoría de los holobasidios son unicelulares durante todo el proceso de formación y descarga de las esporas sin embargo, es característico que en el género *Clavulina*, los basidios formen un "septo" transversal en su madurez. Actualmente no existen estudios ultraestructurales que demuestren que realmente se trata de un septo o si sólo se trata de la presencia de una gran vacuola. Algunos autores como Petersen (1983) han considerado que dicha septación secundaria es parte del proceso de liberación de las basidiosporas.

18.- **Número de esterigmas en los basidios: 0 = de manera constante dos; 1 = en número variable (2 a 4).** El número de divertículos denominados esterigmas, que surgen de cada basidio y que sostienen a las basidiosporas, puede ser variable dentro de un mismo basidioma. La mayoría de los taxa aquí examinados presentan entre dos y cuatro esterigmas por basidio, pero característicamente en *Ramaria grandis* (Lámina 1a), los basidios son constantemente bispóricos.

19.- **Tipo de basidios con relación a la orientación del huso acromático: 0 = quiásticos; 1 =estéticos; ? = desconocido.** Dos fundamentales tipos de posición del huso acromático son reconocidos dentro de los hongos que forman basidios: quiástica y estética. Un holobasidio, puede denominarse quiástico o estético de acuerdo con la disposición del huso acromático durante la segunda división meiótica del núcleo; cuando éste es longitudinal y en diferentes niveles, se le denomina esticobasidio, pero cuando el huso es paralelo al eje mayor y en el mismo nivel se le denomina quiastobasidio. Los datos fueron obtenidos bibliográficamente de Donk (1964), Petersen (1967, 1979), Talbot (1968), Ulloa (1991) y Hawksworth *et al.* (1995). El dato para los Auriculariaceae se desconoce.

### **Basidiosporas**

Las esporas son uno de los elementos en que los taxónomos tradicionalmente han puesto mayor énfasis para la elaboración de clasificaciones a diferente nivel. Aunque todos los taxa considerados en este estudio comparten las características de presentar exosporas unicelulares de origen sexual, el color, la forma, tamaño, superficie y reacciones de estas estructuras hacia ciertos elementos químicos, pueden variar entre las diferentes unidades estudiadas.

La superficie de las esporas puede ser lisa u ornamentada, donde es evidente que la ornamentación puede presentarse en diferente forma y distribución. A este respecto, se presenta aquí información nueva, derivada de un estudio de los detalles de la superficie de las esporas, examinadas mediante microscopía electrónica de barrido (ver capítulo dos de esta tesis), la cual permitió establecer diferentes patrones de superficies, formas de la base de las esporas y del apéndice hilar. Respecto a las ornamentaciones, no existe hasta ahora justificación alguna que indique que todas las variaciones observadas sean entre sí transformaciones homólogas de la misma estructura. Las evidencias actuales son todavía confusas, ya que los estudios ultraestructurales realizados para algunos taxa de los géneros



*Ramaria*, *Beenakia* y *Gomphus* (Jülich y Star 1983; Perreau, 1967; Vázquez *et al.*, 1995; Keller 1986, 1997) muestran que la ornamentación surge de la última capa de la pared de las esporas, mientras que para ciertos taxa estudiados del género *Ramariopsis*, por ejemplo, (Pegler y Young, 1985), se señala que la ornamentación surge de capas más internas. No obstante, también existe evidencia, aunque sólo para algunos taxa, de que las capas de la pared no siempre se agregan en el mismo orden (Perreau, 1967; Cléménçon, 1973; Keller, 1986, 1997), por lo que aquí cabría la duda de que si lo que se está considerando como la última capa, equivale ontogenéticamente a lo mismo. Cabe aclarar que para el caso de *Ramaria*, que es el género que presenta mayor diversidad de ornamentaciones, ultraestructuralmente sólo han sido estudiados taxa con ornamentación verrugosa con anastomosis irregular, cuyas evidencias indican que la ornamentación surge de la capa más superficial (Keller, 1997). Algo similar sucede con los tipos observados de apéndice hilar, ya que aunque externamente sólo se observa variación en su forma, no sabemos si ultraestructuralmente esten constituidos por el mismo número de capas y si ontogenéticamente, éstas son equivalentes. Todos estos datos y observaciones nos indican que no es factible considerar a todas las manifestaciones de ornamentación como un solo carácter y por el contrario, no hay elementos suficientes para considerar a los tipos de apéndice hilar como caracteres separados, motivo por el cual, a pesar de la separación discutida aquí, estos datos fueron considerados bajo diferentes opciones en los diferentes análisis efectuados (ver tabla 3 y 4).

Por otra parte, la naturaleza química de la pared de las esporas ha sido también relevante en la taxonomía tradicional de la mayoría de los macromicetos, la cual esencialmente ha sido establecida por la condición amiloide, dextrinoide o no amiloide que presentan y su afinidad con el azul de algodón. Estos atributos también fueron evaluados en este estudio.

**20.- Exposición de las esporas en el basidioma: 0 = completamente expuestas; 1 = no completamente expuestas.** Si bien el himenio de los Hymenomyces está característicamente expuesto, su construcción puede ser diferente. A diferencia de otros Hymenomyces, donde la formación y adición de nuevos elementos es por un proceso de intercalación que surgen de la misma capa subhimenial, en el tradicional orden Aphyllophorales se ha observado que los nuevos basidios son formados por el incremento hacia los niveles superiores de nuevas ramas del subhimenio, que penetran entre los basidios viejos; esto en términos generales, conduce a dos tipos de euhimenio: el engrosado y el no engrosado, con numerosas condiciones intermedias. Por engrosamiento del himenio se entiende el que una vez que han madurado los primeros basidios y esporas formando un primer nivel o capa, por debajo de este primer nivel, en el himenio continúan creciendo tanto basidios como algunas hifas estériles que le dan soporte, lo que resulta en la formación de un segundo nivel por encima del primero, el cual tiende a cubrir e inclusive colapsar a los elementos del primer nivel; en ocasiones el crecimiento continúa y se forma una serie de niveles superiores llegando a cubrir parcialmente, los elementos formados anteriormente; este carácter es bastante evidente en especies como *Ramariopsis kunzei* y *Ramariopsis corniculata* (Lámina 3c). En otros casos, el incremento de nuevas ramas del subhimenio, es acompañado por una rápida desintegración de los elementos viejos, lo que hace que en el

himenio las esporas se encuentren continuamente expuestas (Lámina 3b). El himenio en conjunto puede presentarse en forma simple o en diversos grados de engrosamiento (Donk, 1964; Kühner, 1976)

21.- **Color de las esporas bajo el microscopio: 0 = hialinas; 1 = amarillo café (en diferentes gradaciones).** Aunque entre los taxa examinados se observaron gradaciones cuando hay presencia de color en las esporas, esta coloración siempre oscila en torno al amarillo café; problemas metodológicos han impedido considerar esta variación en estados discretos, considerándose aquí solamente el margen de coloración.

22.- **Simetría del cuerpo de las esporas: 0= equilaterales; 1 = inequilaterales.** Vistas las basidiosporas en posición lateral, por la posición en que se presenta el apéndice hilar, son pocas las esporas que son claramente simétricas; sin embargo, si tomamos en cuenta sólo el cuerpo de la espora procurando excluir el apéndice hilar, pueden observarse básicamente dos patrones: equilaterales o simétricas e inequilaterales o asimétricas. Como lo han hecho notar Largent *et al.* (1980), sólo las esporas de *Lentaria surculus* con forma casi sigmoidea y las de Auriculariaceae con forma alantoide a faseoliforme fueron consideradas como evidentemente inequilaterales.

23.- **Forma del cuerpo de las esporas: 0 = globosas; 1 = no globosas.** La variación de forma de las esporas en Gomphaceae *sensu lato* sobre todo a niveles taxonómicos inferiores, es amplia y difícil de estimar cualitativamente en estados discretos, sin embargo, es evidente que pueden diferenciarse claramente el estado globoso con respecto al resto de las formas elongadas en diferente gradación.

24.- **Forma de la base de las esporas: 0 = aguzadas o en punta; 1 = redondeadas.** Para los taxa estudiados, es evidente que la base del cuerpo de las esporas, en el sentido propuesto por Largent *et al.* (1980), presenta básicamente dos formas: una que se atenúa gradualmente hacia el apéndice hilar haciendo que termine en punta y otra donde la base es redondeada.

25.- **Esporas lisas: 0 = presentes; 1 = ausentes.** Vistas al microscopio electrónico de barrido, la superficie de las esporas consideradas como lisas es homogénea tanto en los estados jóvenes como en los maduros. Al no existir ninguna hipótesis de homología transformacional respecto a las que presentan una superficie ornamentada se decidió considerar a este tipo de superficie de esporas, como un carácter separado.

26.- **Superficie de las esporas con proyecciones en punta: 0 = cónicas y anastomosadas en la base; 1 = cónicas y claramente separadas; 2 = cilíndricas y claramente separadas; ? = no comparable.** Morfológica y posicionalmente, la manera en que se proyecta este tipo de ornamentación es muy similar, no obstante, hay diferencias en cuanto a la densidad de estas ornamentaciones de tal forma que en casos como *Ramariopsis kunzei*, las ornamentaciones se observan claramente separadas una de otra, en cambio, en casos como *Ramaria grandis* o *Beenakia fricta* cualitativamente se observa una mayor proporción de ornamentación con anastomosis en la base. La similitud en forma y posición de este tipo de ornamentación, nos lleva a conjeturar que se trata de expresiones de un mismo rasgo. Petersen (1981) consideró que puede presentarse variación en la forma del ápice de estas ornamentaciones; en este caso, no fueron consideradas estas diferencias al no observar prácticamente variación entre las unidades analizadas.

27.- **Superficie de las esporas con proyecciones bajas y redondeadas:** 0 = tuberculado-nodulosas; 1 = verrugosas; 2 = rugulosas; ? = no comparable. En este caso se trata de ornamentaciones con superficies redondeadas, las cuales pueden presentarse claramente separadas como en el caso de *Ramaricium polyporoideum* o anastomosarse entre sí en diferente gradación como en el caso de *Ramaria cf. fennica* o de *Gomphus floccosus*. La condición rugulosa de *Ramariopsis corniculata* sólo pudo ser diferenciada con microscopía electrónica.

28.- **Superficie de la espora con estrías longitudinales:** 0 = presentes; 1 = ausentes. Por el patrón de disposición longitudinal, este tipo de ornamentación es fácilmente diferenciable de las demás y hasta ahora sólo observado en el tradicional subgénero *Ramaria* de este mismo género. En *Ramaria cf. botrytis* y en *Ramaria rubripermanens* se observó conjunción de dos tipos de ornamentación en la misma espora (verrugas redondeadas, aisladas o escasamente unidas y estrías), lo que nos hace conjeturar que estas formas de ornamentación son independientes.

29.- **Forma de la base del apéndice hilar:** 0 = obtusa; 1 = acuminada; 2 = confluyente. Al igual que sucede con la ornamentación de las esporas, existen todavía demasiadas interrogantes respecto a la ontogenia del apéndice hilar, ya que si bien sabemos que la pared de las esporas está constituida por varias capas con número y posición variable dentro de los diferentes taxa hasta ahora estudiados (Keller, 1997), no se cuenta aún con datos que nos eluciden si en los taxa considerados en este trabajo, el apéndice hilar está surgiendo ontogenéticamente de la misma capa o se forma a partir de diferentes capas de la espora y si además está constituido por una o varias unidades de pared. Las evidencias actuales, sólo nos permiten considerar que la posición que guarda esta estructura con respecto al resto de la espora, su forma y surgimiento en general, es similar, por lo que es factible que se trate de un solo carácter con tres estados en cuanto a la forma de su base, sin tener tampoco claro la relación que puede existir entre estas formas. Por su forma, un apéndice hilar obtuso, es de los más claramente diferenciables y su presencia es independiente de la forma de la espora en cambio, la convergencia continua en el confluyente hace que sea imperceptible su diferenciación con respecto al cuerpo de la espora. Estas formas de la base del apéndice, pueden observarse también en otros grupos de basidiomicetos hasta ahora no relacionados (Pegler y Young, 1971).

30.- **Cianofilia en la ornamentación de las esporas maduras:** 0 = presente; 1 = ausente; ? = desconocido. Si bien la reacción cianófila no es un carácter que esté puntualmente relacionado con la presencia de ornamentación en esporas, ya que existen macromicetos donde la pared de la espora puede ser cianófila sin ser ornamentada, en el caso de Gomphaceae *sensu lato*, sólo hay presencia de reacción cianofílica en aquellos taxa con esporas ornamentadas. Como se mencionó en el capítulo 2, aún cuando esta reacción esté presente, se encuentran diferencias no claramente discernibles, por lo cual sólo pudo ser claramente diferenciable cuando se presentaba en la ornamentación de las esporas, codificándose como polimorfismo los casos donde dentro del mismo ejemplar se observaron esporas con y sin reacción en la ornamentación. En *Gymnopilus subpurpuratus*, la reacción sólo es observable en ejemplares jóvenes y después de varias horas que el reactivo ha sido

aplicado a las esporas por lo cual, no se tiene la certeza que se trate del mismo tipo de reacción.

Esta característica es una de las que Donk consideró importantes para delimitar a Gomphaceae. Para Petersen (1970), los miembros de Gomphaceae presentan una pared débilmente cianófila, pero la ornamentación se tiñe claramente. Keller (1986) considera que es la presencia de una capa suplementaria denominada mucostrato, la que le da el carácter cianofílico a la pared.

31.- **Esporas amiloides: 0 = presentes; 1 = ausentes.** La condición amiloide es evidenciada por la presencia de una coloración azul-violácea en las esporas al ser expuestas a reactivos que contengan yodo. En todos las unidades consideradas dentro del grupo interno, hay ausencia de esta reacción, sin embargo, es muy evidente en Russulaceae y algunos Amanitaceae, considerados aquí como grupos externos.

32.- **Esporas dextrinoides: 0 = presentes; 1 = ausentes.** A diferencia de la condición amiloide, el color rojizo que se obtiene al exponer a las esporas al reactivo de Melzer cuyo elemento principal es también el yodo, es considerada una reacción dextrinoide, la cual únicamente fue observada en *Gymnopilus subpurpuratus*.

#### Fíbulas

Estas estructuras, características del micelio secundario en la mayoría de los basidiomicetos e involucrada en el mantenimiento de la condición dicariótica de las células, hacen referencia a las proyecciones en forma de gancho que se observan cerca de los septos de las hifas generativas a las que también se le puede denominar conexión en grapa. Característicamente en muchos basidiomas, estas estructuras se observan de manera constante, sin embargo, en otros se encuentran ausentes. Por su forma y dimensión, se han descrito diferentes tipos de fíbulas (Petersen, 1988), detectándose en este caso sólo dos de ellas: los típicos ganchos delgados y bien diferenciados, denominados aquí simples (Lámina 3d) y los ensanchamientos al nivel de la septación (denominados aquí fíbulas ampuliformes y que pueden apreciarse en la Lámina 3 e y f), en los cuales no se tiene la certeza de que todos estén funcionando como fíbulas (Estrada-Torres, 1994). La presencia de ambos elementos dentro de un mismo basidioma de unidades como *Kavinia alboviridis* o *Ramaria rainieriensis* entre otros, nos permite deducir que se trata de dos caracteres independientes (De Luna y Mishler, 1996; Patterson, 1982).

33.- **Fíbulas simples en el basidioma: 0 = presentes; 1 = ausentes.** Para este caso, su presencia se consideró de manera general, es decir no estableciendo posición precisa dentro de las diferentes partes del basidioma ya que se observó que en términos generales, su posición puede ser indistinta.

34.- **Conexiones ampuliformes en el basidioma: 0 = presentes; 1 = ausentes.** Como lo mencionan Petersen (1975, 1988) y Estrada-Torres (1994), a diferencia de las fíbulas simples, las conexiones ampuliformes son ensanchamientos de las hifas a nivel de los septos que pueden estar asociadas con una fíbula o con un septo simple. Estas áreas infladas son comunes en varias especies del tradicional orden Aphyllophorales y raramente observadas en Agaricoides, Boletoides o Gasteromicetos.

35.- **Ornamentación delicada de las conexiones ampuliformes: 0 = presentes; 1 = ausentes.** En este caso, se están considerando ornamentaciones a los pequeños elementos

internos que se observan en la parte final del ensanchamiento y que le dan una apariencia puntulada (Lámina 3 f). En realidad no se sabe con precisión si se trata de ornamentaciones, ya que no se cuentan con estudios estructurales que puedan mostrar claramente a qué corresponden estos elementos a veces tan irregularmente distribuidos y localizados en una capa más interna de la superficie.

**36.- Fíbulas simples en la base de los basidios: 0 = presentes; 1 = ausentes.** A pesar de que las fíbulas pueden distribuirse indistintamente en los diferentes basidiomas, característicamente, los basidios de algunos taxa presentan fíbulas en la base y otros no. Autores como Bas (1969) han supuesto que en el proceso de formación del basidio algunos taxa pierden o no esta estructura. En este caso fue evidente que la mayoría de los taxa examinados evidentemente conservan los basidios con fíbulas en la base.

#### Hifas

Los esporomas de los hongos están constituídos básicamente por hifas, las cuales pueden ser de uno o varios tipos diferenciables entre sí y guardar un arreglo determinado en cada una de las partes que constituyen. Dentro de los Basidiomycota, se han reconocido diferentes tipos de hifas de acuerdo con su morfología, a los cuales en términos generales se hace referencia bajo el concepto de sistemas hifales, donde dependiendo del número de componentes, se les denomina monomítico, dimítico o trimítico, con posiciones intermedias entre sí (Pegler, 1996). No obstante, a cada uno de los componentes, dependiendo de sus características en cuanto a contenido, coloración, grosor de la pared, presencia o no de septos, etc. se les reconoce bajo un epíteto particular. La presencia conjunta de varios tipos de hifas en un mismo basidioma para algunas de las unidades estudiadas, permitió deducir que cada uno debe corresponder a caracteres independientes, considerándose aquí sólo los que presentaron variación y ésta a su vez fue discreta.

**37.- Componentes del subhimenio: 0 = hifas más o menos paralelas; 1= hifas evidentemente entreteljadas; 2 = células isodiamétricas en diferente gradación.** El subhimenio es considerado como el área adyacente al himenio o visto de otra manera, el plecténquima sobre el cual se desarrolla el himenio. Éste puede o no estar claramente diferenciado de otros tejidos y sólo en los agaricoides alcanza un estado de desarrollo tal que las hifas evidentemente tienden a transformarse en células isodiamétricas bien diferenciadas del resto de la capa fértil.

**38.- Hifas coscinoidales: 0 = presentes; 1 = ausentes; ? = desconocido.** El término coscinoidales, considerado en el sentido de Singer (1986) y Estrada-Torres (1994), corresponde con los elementos filamentosos de color amarillo-café, fuertemente vacuolados, lo que les da la apariencia de "tamiz" o de una estructura multiperforada; son elementos característicos observados en *Gomphus floccosus* y *Gloeocantharellus purpurascens* (Lámina 4b).

**39.- Hifas gloeopleróticas: 0 = presentes; 1 = ausentes.** Estas hifas también presentan una coloración amarillento-café, pero a diferencia de las coscinoidales, su contenido es homogéneo, con apariencia oleaginoso. No hay evidencia de su relación ontogénica con otro tipo de hifas, por lo que se decidió considerarlas como un carácter separado, sin embargo, fue evidente que en varios taxa podían o no estar presentes dentro de los diferentes ejemplares revisados, lo cual fue codificado como polimorfismo.

40.- **Hifas esqueléticas: 0 = presentes; 1 = ausentes.** Éstas son un tipo de hifas muy evidentes que se caracterizan por presentar paredes gruesas, ausencia de septos, generalmente refringentes, con el lumen más o menos obliterado, longitud indeterminada y que están unidas a hifas generativas (Lámina 4e). Autores como Corner (1950, 1970) han supuesto una afinidad entre *Lentaria* y el subgénero *Lentoramaria* del género *Ramaria* representado aquí por *R. gracilis* y *R. stricta*, considerando la presencia de hifas esqueléticas.

41.- **Hifas con superficie ornamentada: 0 = presentes; 1 = ausentes.** Estas hifas únicamente fueron observadas en ejemplares revisados de los géneros *Beenakia* y *Ramaricium*. En ambos casos se localizan entremezcladas con hifas generativas, siendo más frecuentes en los ejemplares de *Ramaricium* que en *Beenakia*. Autores como Parmasto y Ryvar den (1990) y Sung (1987), las han descrito como cubiertas con finas escamas redondeadas que no se disuelven con KOH. En el microscopio fotónico, estas hifas son muy similares a las hifas generativas, frecuentemente fibuladas, con pared delgada, pero con superficie rugulosa; vistas al microscopio electrónico, las ornamentaciones se observan como protuberancias irregulares en forma, aunque la mayoría tienden a ser redondeadas, menores de 1 µm y con distribución irregular (Lámina 4a).

#### **Cistidios**

Aunque el término cistidio ha sido considerado de manera general para aquellas células estériles de forma diferenciable al resto de las células del himenio, cuya función y relación ontogenética es desconocida (Ulloa, 1991; Font Quer, 1982; Largent *et al.* 1980, Hawksworth *et al.* 1995), lo cierto es que existen marcadas diferencias entre estas estructuras respecto a su forma, contenido, pared, tamaño con relación a los basidios y localización. No teniendo clara la relación que pueda existir entre estas diferencias, se decidió considerar a cada uno de los atributos mencionados anteriormente, como caracteres separados, tomando en cuenta además el hecho de que hay conjunción de algunos de ellos dentro de un solo individuo (Patterson, 1982).

42.- **Cistidios: 1 = presentes; 0 = ausentes.** Existen taxones como *Gloeocantharellus purpurascens* que característicamente presentan este tipo de estructuras y en otras como *Beenakia fricta*, siempre están ausentes. Aunque a estas células se les han aplicado diversos nombres de acuerdo con su posición, forma o características de contenido, es claro que se desconoce la función y relación ontogenética que hay entre ellos, motivo por el cual sólo se decidió considerar su presencia o ausencia, codificándose como polimorfismos cuando estaban presentes sólo en algunos ejemplares, sin considerar por el momento su similitud detallada que habrá que evaluar posteriormente. En el caso de Auriculariaceae, no se mencionan cistidios pero existen unas células intercalares a los basidios las cuales son nombradas hifas diverticuladas, que morfológicamente son similares a los denominados cistidios hifoides (Hawksworth *et al.* 1995), por lo cual dichas estructuras fueron interpretadas como cistidios.

43.- **Grosor de la pared de los cistidios: 0 = delgada; 1 = gruesa; ? = no comparable.** En este caso, se consideró como pared gruesa, aquella que se observa claramente diferenciable como tal, a manera de la que se observa en los macrocistidios presentes en algunos Russulaceae.

44.- **Contenido de los cistidios: 0 = con apariencia homogénea y hialina; 1 = con contenido vacuolizado o aceitoso; ? = no comparable.** Dentro de estas células estériles existen algunas como los leptocistidios o cistidios hifoides cuyo contenido es homogéneo y hialino, en cambio existen otros como los gloecocistidios (Lámina 4c) que presentan un contenido amarillento y altamente refractivo.

45.- **Posición de los cistidios con relación a los basidios: 0 = intercalares; 1 = no intercalares; ? = no comparable.** La posición que pueden presentar los cistidios también es variable y muchas veces depende de las partes en que se presenten en el basidioma (píleocistidios en el píleo, caulocistidios en el estípite, queilocistidios y pleurocistidios en las láminas, etc.). En este caso, las formas que presentan los basidiomas son variables y aunque los cistidios fueron observados únicamente en el himenio, aún dentro de éste, las diferentes posiciones observadas para estas células en algunas unidades como *Gymnopilus subpurpuratus* no pudieron ser comparadas, debido a la heterogeneidad de formas de himenio dentro de las diferentes unidades analizadas por lo cual, sólo se consideró su posición con relación a los basidios.

46.- **Tamaño de los cistidios con relación a los basidios: 0 = de casi igual o menor tamaño que los basidios; 1 = evidentemente mucho mayores que los basidios; ? = no comparable.** Existen cistidios que son de tamaño bastante grande con relación al resto de los componentes del himenio, sobresaliendo conspicuamente del mismo (macrocistidios, Lámina 4 d), en tanto otros son casi del mismo tamaño o menores que el resto de los componentes del himenio. Tratando de tomar en cuenta todas las características de estas estructuras, se consideró también este carácter, pero sólo en forma cualitativa.

#### **Caracteres excluidos**

Varios de los caracteres utilizados en este estudio no son nuevos, ya que bajo otros tratamientos han sido empleados por diferentes autores en clasificaciones tradicionales para hacer agrupamientos a diferentes niveles taxonómicos, sin embargo, es evidente también que otros caracteres que pudieron observarse y/o han sido manejados en la literatura especializada como los que se enlistan a continuación, no fueron incluidos en el análisis cladístico principalmente debido a la dificultad de establecer claramente estados discretos entre la variación detectada entre unidades o por la información incompleta en varios de éstas. Evidentemente, un estudio más puntual de estos atributos puede brindar la posibilidad de que puedan ser incluidos en futuros estudios.

1.- **Color, olor y sabor de los basidiomas.** Estas características varían enormemente y hasta ahora, son considerados poco estables a pesar de alternativas aparentemente más puntuales para su apreciación como es el caso de guías codificadas para el caso de los colores, lo que propicia que su descripción siga siendo muy ambigua. Estos caracteres además tienden a atenuarse o incluso desaparecer con la edad y aun estar influidos por factores como la concentración de humedad y luz ambiental o el grado de percepción de la persona que los está considerando (Smith *et al.*, 1979). Si bien, al revisar principalmente material fresco fueron detectados ciertos grupos de coloraciones y sabores en los basidiomas, no fueron observadas variaciones discretas que nos permitieran considerar estos caracteres, aunado a que en varios taxa la descripción de estos atributos es muy imprecisa o no fue considerada.

Tradicionalmente, el color se ha calificado de valor taxonómico primario sobre todo en los niveles taxonómicos inferiores, mientras que el olor y sabor únicamente se han considerado como complementarios para confirmar decisiones, ya que su uso es mucho más subjetivo de lo que a muchos micólogos les gustaría admitir.

En lo futuro, una alternativa de su uso sea quizás el manejo de otros parámetros para su observación a través de curvas de colorimetría para el caso del color o la obtención de principios químicos que los generan.

**2.- Contexto de los basidiomas.** Con la excepción de algo que es evidente y homogéneamente gelatinoso, la consistencia es otra característica que ha sido difícil de delimitar en estados discretos, pues aunque se logran percibir diferentes condiciones de este carácter en el material fresco, éstas son complicadas de describir con precisión, lo que ha propiciado gran ambigüedad en los datos con los que ahora se cuenta; otro factor que incrementa la dificultad de esto, es la combinación de consistencias que pueden encontrarse dentro de una misma estructura (carnoso-correoso, carnosos-esponjoso, correoso-corchoso, etc.) y el hecho de que dentro de una misma porción del basidioma puedan percibirse dos consistencias diferentes (por ejemplo, carnosos-esponjoso en la base y carnosos-fibroso hacia el ápice). Toda esta heterogeneidad no ha podido ser evaluada con precisión.

**3.- Reacción a las sales de fierro en material herborizado.** Las alternativas de utilizar reacciones macroquímicas en material herborizado, se ven limitadas por diversos factores como la naturaleza inestable de varios principios químicos reaccionantes, madurez de los basidiomas deshidratados, condiciones de deshidratación, entre otros; sin embargo, es evidente también que algunas de estas reacciones como la amiloidía, son bastante estables independientemente de las condiciones del material. La reacción del himenóforo a las sales de fierro en material herborizado, se observó bastante estable en la mayoría de los ejemplares estudiados, dando características similares de reacción que en el material fresco. No obstante, en los ejemplares de *Lentaria surculus* estudiados inicialmente, la reacción se evidenciaba de manera muy tenue en comparación con las otras unidades y no se contaba con datos de material fresco, pero material estudiado en etapas posteriores dió una reacción más evidente y se pudo contar además, con información de este tipo de reacción en material fresco; las diferencias de reacción en material seco se consideraron dadas por factores extrínsecos (modo de deshidratación del material), por lo que este carácter no fue ya considerado en la matriz de datos.

**4.- Otras reacciones macroquímicas.** Desde hace aproximadamente dos décadas, se ha intensificado el uso de diversas pruebas macroquímicas para diferentes grupos de macromicetos; en géneros como *Ramaria* y *Amanita*, autores como Marr y Stuntz (1973), Marr (1979), Marr *et al.* (1986), han aplicado un promedio de entre nueve y diez reactivos donde al igual que con las sales de fierro, el tipo de reacción se evidencia por un cambio de coloración en la parte del basidioma donde es aplicada. La mayoría de estas pruebas químicas, son aplicadas en material fresco, no obstante, en muchas de ellas se ha observado variación en cuanto al estado de madurez de los esporomas, parte donde se aplica e incluso condiciones ambientales en las que se encuentran desarrollando, lo que evidentemente ha redundado en la detección de gran variación intraespecífica y sólo en muy pocos casos se ha detectado variación entre diferentes taxones; estas evidencias contradictorias han disminuido



su utilización, lo que se ha reflejado en la ausencia de estos datos en la mayoría de los ejemplares donde generalmente estos compuestos son inestables y difíciles de detectar en material herborizado. El conocimiento de la presencia o ausencia de metabolitos secundarios específicos, está restringida a pocos ejemplos de macromicetos (Whalley y Edwards, 1995; Hoiland 1987; Vilgalys, 1991).

La ausencia de datos en muchas de las unidades analizadas y la variación no discreta en las que sí contaban con algunos datos, propició que esta evidencia no pudiera utilizarse.

**5.- Micelio basal.** Es frecuente que en la base de los basidiomas, se llegue a observar de manera conspicua micelio, la cantidad evidentemente está implicada con la capacidad del hongo de desarrollarlo o no y en que proporción, aunque seguramente están también implicados factores ambientales. Dentro de los basidiomicetos, existen géneros como *Leucopaxillus* que de manera constante desarrollan gran cantidad de micelio basal, en cambio en otros taxa, es incluso, difícil de observar o pasa prácticamente inadvertido por los recolectores.

Algunos de los ejemplares observados en este estudio contaban con datos de presencia de un conspicuo micelio basal, sin embargo, en ausencia de éste dato para varios de ellos y siendo éste un atributo donde la no evidencia del mismo en un ejemplar herborizado es difícil de interpretar, ya que pueden estar involucrados omisiones metodológicas de muestreo o tratarse de una verdadera carencia, característica que además ha sido descrita de manera ambigua en la bibliografía para varios de los taxa, se decidió no considerarlo hasta no contar con mayor información de los ejemplares en campo. Por otra parte, el micelio basal, puede también interpretarse de manera confusa con la presencia de una base hirsuta que llegan a presentar los basidiomas de unidades como *Ramariopsis kunzei*, que hasta ahora ha sido considerada como un carácter independiente.

**6.- Tamaño de estructuras macro y microscópicas.** Un número de caracteres potencialmente útiles, los podemos encontrar en las dimensiones de estructuras macro y microscópicas de los basidiomas. No obstante, la manera como hasta ahora se han manejado estos parámetros no permite la clara separación de estados, mostrándolos como evidentemente continuos. La variación de estos caracteres, tradicionalmente ha sido ampliamente utilizada a nivel específico, pero un estudio con más detalle considerando otras técnicas puede ser de suma utilidad.

**7.- Hifas generativas.** Tradicionalmente, las hifas generativas han sido consideradas como las estructuras tubulares no diferenciadas que son el principio constitutivo de los cuerpos fructíferos y que anatómicamente son la base de toda la diferenciación (Reijnders y Stalpers, 1992); morfológicamente, estas hifas son septadas, generalmente con pared delgada y hialinas. Consideradas bajo esta condición, hifas de este tipo fueron observadas de manera invariable en todas las unidades estudiadas. Sin embargo, fueron detectadas también modificaciones dentro de algunas de ellas como es el grosor de la pared, el cual puede presentarse en diferente gradación dentro de un mismo taxón o casos como que dentro de una misma hifa se presenten segmentos con pared delgada y segmentos con pared gruesa. En ausencia de conocimiento que nos permita interpretar estas variaciones y la heterogeneidad como se presentan dentro de las unidades, este carácter no fue considerado.

**8.- Cianofilia en esporas inmaduras.** Si bien fue perceptible un comportamiento heterogéneo de las esporas a la reacción en el azul de algodón, en varios de los taxa como *Gomphus* o *Gloeocantharellus* y algunas especies de *Ramaria*, el carácter cianófilo es más evidente en esporas inmaduras, notándose una marcada diferencia de tinción. En otros casos, como *Beenakia* o *Kavinia*, la reacción se observa homogénea tanto en esporas maduras como inmaduras. El caso más extremo se observó en *Ramariopsis*, donde además de una heterogeneidad en el sitio de reacción dentro de las esporas de un mismo ejemplar, es difícil interpretar la diferencia entre esporas maduras e inmaduras. Al no existir un patrón discreto que justificara la distinción de estados, este carácter fue omitido.

**9.- Forma de los basidios.** Aunque la variación en la forma de estas estructuras no es extrema, oscilando entre cilíndricos a clavados y siendo clara la diferencia entre estas dos formas, varios de los taxa aquí estudiados pueden presentar diferentes gradaciones de las mismas, la apreciación cualitativa de estas estructuras no permitió establecer estados más puntuales. Ambas formas de basidios pueden estar presentes dentro de los taxa incluidos dentro del grupo interno aunque con predominancia de la forma clavada. Tradicionalmente, la forma de los basidios se ha considerado de poca utilidad en la taxonomía, sin embargo, es un carácter que potencialmente podría ser utilizado a este nivel considerando otras alternativas de análisis del mismo.

**10.- Sustrato.** Dentro de la taxonomía tradicional, habitualmente se utiliza el sustrato en el que se desarrollan los hongos (terricola, lignícola, húmicola, etc.), como un carácter que ha permitido separar taxones a diferentes niveles. Homologar estos caracteres considerando los principios de la sistemática filogenética es difícil, motivo por el cual fueron excluidos.

**ANÁLISIS DE PARSIMONIA.** Los resultados más parsimoniosos considerando toda la evidencia morfológica hasta ahora estudiada, se alcanzaron en el análisis 1, donde se generaron 128 árboles igualmente parsimoniosos con una longitud de 134 (139 con autoapomorfias) y un índice de consistencia (IC) de 0.748 (IR = 0.652, CR = 0.555), los cuales son sumariados en un consenso estricto mostrado en la Figura 1, donde es evidente un grupo monofilético constituido por los géneros *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia* y *Ramaricium*. Este grupo está soportado por dos sinapomorfias (24: forma de la base de las esporas y 30: cianofilia en la ornamentación de esporas maduras) y la presencia de 2 caracteres que aunque homoplásicos, son informativos a este nivel (21: color de las esporas bajo el microscopio y 29: forma de la base del apéndice hilar). En la Figura 2 se muestra uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos en el análisis 1, donde están optimizados los cambios de caracteres en cada rama.

Evidentemente, no hay dificultad en aceptar que la correspondencia topográfica y similitud de estructuras maduras, constituyen un buen criterio empírico para postular conjeturas de homología (Patterson, 1982; De Pinna, 1991). Sin embargo, la definición de caracteres es una decisión sobre su independencia como fuente de información histórica de las transformaciones y definición de sus estados, donde cada observación comparativa se genera una a una de modo independiente de otras características. En la práctica, este último aspecto no siempre es fácil de lograr para todos los datos observados, sobre todo cuando la información es incompleta. En ausencia de un método objetivo para detectar dependencia de caracteres, la alternativa es guiar iterativamente el desarrollo de hipótesis sobre estos

caracteres taxonómicos mediante la elaboración de cladogramas preliminares que permitan observar el efecto de la remoción y/o codificación alternativa de los mismos (De Luna y Mishler, 1996; Hawkins *et al.*, 1997). Al explorar diferentes opciones de codificación de los caracteres de ornamentación de esporas (opciones 5A-5C, tabla 4) y características de la base del apéndice hilar (opciones 4A-4B, tabla 3), incluyendo la exclusión alternativa o completa de los mismos (análisis 7-12, tabla 5), se sigue recuperando el mismo grupo monofilético tal como en el análisis 1, aunque existe una evidente diferencia en el número de árboles obtenidos y longitud de los mismos (tabla 5). Además se obtienen algunos cambios en el arreglo de los nodos internos y externos a este grupo monofilético como puede observarse en los árboles de consenso estricto mostrados en las Figs. 3-5. En todos estos análisis, con igual número de UC (25), los índices de consistencia son similares en un rango que fluctúa entre 0.710 y 0.762 sugiriendo niveles de homoplasia similares entre estos juegos de datos y aunque el análisis 5, presenta un índice de consistencia menor (0.710), no hay una disparidad topológica evidente con respecto a los otros juegos de datos. Al comparar estos índices de consistencia con los obtenidos para otros organismos con similar número de unidades (Sanderson y Donohue, 1989; Ladiges *et al.* 1992; Wheeler *et al.*, 1993, Morrone, 1997 y Hovenkamp, 1999), por medio de una prueba de t ( $0.001 < P(|t| \geq 6.505)$ ), es evidente que en promedio, los niveles de homoplasia son significativamente menores en los Gomphales que los obtenidos en otros análisis de diferentes organismos con igual número de unidades.

Cada uno de los diferentes análisis realizados y un concentrado de los datos más relevantes de estos análisis, puede observarse en la Tabla 5. En todos ellos, los árboles siempre fueron orientados designando al conjunto de *Clavulina*, *Gymnopilus subpurpuratus*, Russulaceae, Amanitaceae y Auriculariaceae como grupos externos.

En análisis anteriores, el género *Lentaria* (Villegas *et al.*, 1999) era grupo hermano del clado que incluye a *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia* y *Ramaricium*. Este grupo se había reconocido dentro del orden Gomphales. Ahora la relación de *Lentaria* no se resuelve en ninguno de los consensos estrictos obtenidos en los diferentes análisis. En los consensos de los análisis 4, 9 y 10, *Lentaria* es grupo hermano del clado de los seis géneros anteriormente mencionados, pero en otros análisis (5, 6 y 8), *Lentaria* es el grupo hermano de *Ramariopsis*. En conclusión, no hay resolución respecto al grupo hermano del clado de los géneros *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia* y *Ramaricium*.

Los clados estables dentro del principal grupo monofilético A son dos. El primero (B) incluye a *Kavinia alboviridis*, *Beenakia fricta*, *Ramaricium polyporoideum* y *Ramaricium* sp. El segundo (C) agrupa a *Gomphus floccosus*, *Gloeocantharellus purpurascens* y *Gomphus clavatus* y aunque existe un tercero, éste solo incluye a parte de los representantes de *Ramaria* (*Ramaria gracilis* y *Ramaria stricta*). Externamente a este clado A, fue evidente que de manera invariable también se agrupan *Ramariopsis kunzei* con *R. corniculata* y *Clavariadelphus truncatus* con *C. pistillaris* (Figuras 1 y 3-5)

Al igual que en los análisis anteriores (Villegas *et al.* 1999), los géneros *Ramariopsis*, *Clavariadelphus* y *Cantharellus*, no formaron parte del grupo monofilético A bajo ninguna de las alternativas aquí planteadas y en el caso especial de *Clavariadelphus*, se encuentra

cada vez más distante del grupo monofilético robusto. Dado que se ha sugerido que *Clavariadelphus* está cercanamente relacionado con *Gomphus* y *Ramaria* (Hibbett *et al.*, 1997), también se realizó un análisis bajo la suposición topológica de que *Clavariadelphus* pertenezca al clado A, para evaluar así la factibilidad de esta hipótesis. Este análisis realizado bajo la opción "constraint" del programa PAUP, encontró 640 árboles más parsimoniosos con una longitud de 135 e IC = 0.741, IR = 0.652, lo que nos muestra que esta hipótesis es sólo 1 paso menos parsimoniosa que la obtenida sin limitaciones topológicas (análisis 1). Bajo esta condición, *Clavariadelphus* no se anida dentro del principal grupo monofilético reconocido en el análisis 1 (clado A), sino que la opción más parsimoniosa lo coloca como grupo hermano de este clado (Figura 5d).

El soporte de las ramas estimado mediante el análisis de decaimiento para el análisis uno, mostró que el clado A, que incluye a los géneros *Ramaria*, *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia* y *Ramaricium* es robusto (decay (D)= 3). También es robusta (D = 3) la rama constituida por *Gomphus floccosus*, *Gomphus clavatus* y *Gloeocantharellus purpurascens*, al igual que la de *Kavinia alboviridis*, *Beenakia fricta*, *Ramaricium polyporoideum* y *Ramaricium* sp. (Figura 1). El resto de los clados se colapsan en los árboles de consenso que son uno o dos pasos más largos que los más parsimoniosos.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los 12 análisis realizados en este trabajo, evidentemente sugieren que el linaje más robusto es el conformado por los géneros *Ramaria*, *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia* y *Ramaricium* (clado A). Este grupo monofilético soportado por dos sinapomorfias únicas (24: base de las esporas con forma aguzada y 30, ornamentación de las esporas maduras cianófila) y dos homoplasias (21: esporas de color amarillo ocre en diferente gradación vistas al microscopio fotónico y 29: base del apéndice hilar acuminado), ya había sido evidenciado en análisis anteriores (Villegas *et al.* 1999). No obstante, esa propuesta consideró que adicionalmente a los géneros mencionados anteriormente, *Lentaria* debería de formar parte del orden Gomphales. Tal grupo se basó en la presencia de sólo una sinapomorfia homoplásica (cordones miceliales en la base del basidioma muy evidentes), que para ese momento se interpretaba como independientemente derivada en este orden. La decisión de incluir *Lentaria* era congruente con la hipótesis intuitivas propuestas por Jülich (1981) y parcialmente la de Donk (1964). Los nuevos análisis aquí presentados han revelado que es incierto si *Lentaria* se encuentra dentro o no del clado de los Gomphales. La siguiente rama de inclusión ( Fig.1) implicaría que también el género *Ramariopsis* pasaría a formar parte de los Gomphales. Aunque esta idea ya ha sido sugerida previamente por Petersen (1988), el reconocer formalmente este clado, implicaría generar un nombre con nivel jerárquico diferente que incluya al clado A más *Lentaria* y *Ramariopsis*, o ampliar el concepto de Gomphales; en cambio, tradicionalmente ya existe un nombre para el clado A, cuyo reconocimiento taxonómico no implicaría cambios en la constitución del orden Gomphales excepto por la exclusión de *Lentaria*.

Aún con el "constraint" no se logra ubicar una estructura más parsimoniosa de *Clavariadelphus* dentro del clado A (Fig.1) y sólo es situado como grupo hermano de este clado (Fig. 5d), lo que significaría que bajo estas condiciones, existe la posibilidad de ampliar

el concepto de Gomphales como lo sugiere Hibbett *et al.*, (1997), o considerar que *Clavariadelphus* es el grupo hermano de los Gomphales. Es decir, es una cuestión de rango en el sentido de a que nombrar Gomphales.

Un estudio más detallado de las esporas (parte 3 de esta tesis), evidenció que la simetría inequilateral de estas estructuras, la forma redondeada de la base de las mismas y el apéndice hilar con base obtusa en el género *Lentaria*, lo hacen completamente diferente a los que se presentan en los seis géneros del grupo monofilético A aquí evidenciado, que presentan esporas equilaterales con una base terminada en punta y un apéndice hilar con base obtusa o confluyente. Anteriormente se había ya manifestado que la ausencia de color, ornamentación y reacción cianófila en las esporas de este género, lo hacían diferente con respecto a *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium*, *Gomphus* y *Gloeocantharellus* (Villegas *et al.*, 1999). El clado que incluye a *Lentaria* más los Gomphales no es estable en ninguno de los concensos estrictos de los diferentes análisis desarrollados (Figs. 1-5), además de que éste no es robusto como sugieren los resultados del análisis de decaimiento, por lo que todos estos datos, evidentemente sugieren que *Lentaria*, podría ser excluida del grupo de los Gomphales. Estos resultados son congruentes con lo propuesto por Estrada Torres (1994), en el sentido de no considerar no solo a *Lentaria* sino tampoco a *Clavariadelphus* en este agrupamiento, ya que considerando las diferencias que en cuanto color, ornamentación y reacción al azul de algodón de las esporas, además de los puntos de vista controversiales respecto a las afinidades de estos géneros, decide excluirlos. Otros autores como Corner (1970), habían también ya especulado sobre la supuesta relación entre *Lentaria* y algunos miembros del género *Ramaria*, considerándola dudosa, aunque tampoco contó con elementos suficientes para separar a *Lentaria* de lo que él reconoció como Ramariaceae.

La topología obtenida en el resto de la serie de análisis efectuada es muy similar a la del análisis uno, reconociéndose básicamente los mismos agrupamientos, mostrándose únicamente diferencias respecto a la relación entre algunas unidades de *Ramaria*. Ahora el problema es seleccionar cuál es el mejor tratamiento de los caracteres. Aunque en los análisis 2, 3, 5 y 6 se obtuvo un menor número de árboles (ver tabla 5), el criterio de parsimonia nos indica que los obtenidos en el análisis uno son la alternativa más aceptable. Esto nos lleva a reconocer que la mejor hipótesis de homología transformacional de los tipos de ornamentación de esporas es considerarlos como tres caracteres separados y las características del apéndice hilar como uno sólo.

La distribución de los caracteres de ornamentación de esporas y base del apéndice hilar en el cladograma mostrado en la figura 2, revela que únicamente el 29 (forma de la base del apéndice hilar) es informativo al nivel del clado A ya que si bien los caracteres 26 (esporas con proyecciones en punta) y 27 (esporas con proyecciones bajas y redondeadas) se muestran como sinapomorfias únicas, éstas lo son a un nivel menos inclusivo. Los efectos de la exclusión de alguno de ellos o ambos, sólo se ven reflejadas en la modificación de los análisis 9 y 10 (Figs. 4d y 5a).

De los caracteres enfatizados en la taxonomía tradicional para Gomphales o Gomphaceae (Donk, 1964; Jülich, 1981; Petersen, 1988; Estrada Torres, 1994; Hawksworth *et al.*, 1995), sólo el de la reacción cianofílica en las esporas se rescata aquí

como un carácter informativo a este nivel. De acuerdo con los resultados hasta ahora obtenidos, la coloración amarillo-café en diferente gradación de las esporas y la reacción del himenóforo a las sales de hierro, se han originado varias veces en grupos no relacionados.

Los representantes incluidos de *Ramaria* no constituyen un grupo monofilético en ninguno de los análisis efectuados. Un análisis cladístico detallado de los taxa clasificados en *Ramaria* (el más amplio de los miembros de Gomphales, con más de 110 especies descritas), sería importante para resolver la interrogante respecto a si los grupos infragenéricos reconocidos tradicionalmente por autores como Corner (1970), Pertersen (1975, 1981 y 1988), conforman o no un grupo monofilético. Aunque no fue planteado específicamente para resolver este problema, es interesante el agrupamiento que siempre se presenta entre *Ramaria gracilis* y *R. stricta*, taxones que tradicionalmente son agrupados dentro del mismo subgénero (*Lentoramaria*). Esta situación también habrá que valorarse posteriormente al igual que otras relaciones intergenéricas mostradas aquí entre los géneros *Gomphus* y *Gloeocantharellus* o entre *Kavinia*, *Beenakia* y *Ramaricium*.

Es importante también mencionar que aunque los géneros *Terenodon*, *Delentaria* y *Pseudogomphus* han sido también relacionados con los Gomphales (Corner, 1970; Maas Geesteranus, 1971; Heim, 1970), estos taxa no han podido ser evaluados en estos estudios por problemas de revisión de ejemplares (sólo se conocen los materiales tipo); futuros estudios podrán indicarnos si pertenecen o no a este grupo monofilético.

Este estudio ilustra además la necesidad de considerar un mayor número de grupos externos potenciales con la finalidad de evidenciar hipótesis más claras respecto al grupo hermano de los Gomphales, ya que ni en propuestas anteriores ni en las presentadas aquí, se han podido hacer inferencia robustas en este aspecto. Una posibilidad, como lo ha propuesto Hibbett *et al.* (1997) utilizando datos moleculares, sería incluir a algunos gasteromicetos, aunque será interesante considerar además un mayor número de miembros del tradicional orden Aphyllophorales donde habían estado incluidos los taxa aquí estudiados, los cuales tendrán que ser elegidos bajo un estudio más puntual, ya que la magnitud de este orden es muy grande y diversa, cuyas relaciones entre sí no han sido evaluadas bajo ningún enfoque robusto, lo mismo que la relación entre estos grupos y otros a niveles más inclusivos.

Por otra parte, es evidente que el principal grupo monofilético aquí reconocido (clado A, Fig. 1), muestra una acentuada heterogeneidad en cuanto a la macromorfología de los basidiomas que desarrollan cada uno de los géneros en él incluidos. Los planteamientos respecto a la evolución de las formas del basidioma e himenóforo en Hymenomyces y particularmente en el tradicional orden Aphyllophorales, básicamente han girado en torno a las siguientes planteamientos intuitivos: 1) las formas costrosas con himenio liso son las más primitivas (Bondarzew y Singer, 1943; Alexopoulos y Mims, 1979; Pilát, 1971), a partir de las cuales de manera múltiple (Oberwinkler, 1977) o siguiendo básicamente dos vías: costras con himenio liso estructuralmente más complejas o clavos geotrópicamente negativas (Parmasto, 1986), surgen las demás formas de basidiomas. 2) otra alternativa es la del surgimiento a partir de una forma clavarioide simple que evolucionó hacia formas ramificadas, presentes en casi todos los grupos de Hymenomyces, para posteriormente diversificarse en las demás formas conocidas actualmente (Corner, 1966, 1970; Kreisel,

1967; Petersen, 1971a; Jülich, 1981; Miller y Watling, 1987), asumiendo que los basidiomas corticioides son el resultado de simplificaciones secundarias. 3) hipótesis intermedias a las dos anteriores fueron también planteadas, considerando por un lado que la forma clavariode dio lugar a formas cantarelloides y de ahí a las agaricoides y por otro, las formas efusas con himenio liso evolucionaron hacia basidiomas reflejados, dimidiados o con hábitos similares (Parmasto, 1995) o el planteamiento de un ancestro poco diferenciado que, para el caso de los Aphyllophorales, evolucionó hacia un corticioide y de ahí multiparalelamente hacia formas cifeloides, mucroneloides, dos líneas de clavarioides y los efuso reflejados, de donde posteriormente surgen las demás formas (Cléménçon, 1997), estimándose además que algunos géneros con hábito corticioide de estructura más compleja como *Kavinia* y *Ramaricium* entre otros, son el resultado de una reducción secundaria (Parmasto, 1986; Cléménçon, 1997). La hipótesis planteada en este trabajo (Fig. 6), permite además evaluar estas conjeturas de evolución de la forma del basidioma, sigiriendo que la forma clavada con himenio liso a parcialmente rugoso es primitiva, cambiando a formas ramificadas de himenóforo liso para posteriormente y de forma paralela dar lugar por un lado a conformaciones pileadas que presentan himenóforos con venaciones y por el otro a esporomas corticioides con himenóforo liso, a partir de la cual, surgen formas corticioides por un lado y pileadas por otro, ambas con himenóforo dentado. Cabe aclarar que el intento de esta figura no es ilustrar la evolución de los taxa, sino la evolución de la forma del basidioma e himenóforo y los nombres sólo se dan para ejemplificar en que géneros se presentan estas formas.

### CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos hasta ahora nos permiten reconocer al orden Gomphales constituido por las familias: Beenakiaceae que incluye a los géneros *Beenakia*, *Kavinia* y *Ramaricium*; Ramariaceae con el género *Ramaria*, que aunque hasta ahora parece ser polifilético tendrá que ser evaluado posteriormente para ver si es o no segregado en más géneros, y Gomphaceae considerando a los géneros *Gomphus* y *Gloeocantharellus* (Fig.2), aunque es claro que las relaciones filogenéticas intergenéricas no son conclusivas con los datos aquí evaluados y tendrán que ser consideradas posteriormente. Hasta ahora, bajo ninguna de las alternativas analizadas, los géneros *Clavariadelphus*, *Ramariopsis* y *Cantharellus*, forman parte del grupo monofilético de los Gomphales por lo que todas estas hipótesis sugieren fuertemente que no deben clasificarse en este agrupamiento.

Todos estos datos soportan fuertemente el punto de vista expresado inicialmente por Donk (1964) aunque a otro nivel, en el sentido de que la evolución de los Gomphales notablemente implica una extensiva convergencia y paralelismo de formas de basidiomas que van desde las evidentemente resupinadas, pasando por las ramificadas hasta las características formas pileado-estipitadas de la mayoría de los hongos macroscópicos. Las formas de himenio, también muy heterogéneas, muestran diferentes alternativas de exponer a las esporas para su dispersión dentro de un mismo grupo monofilético. Al respecto, los resultados aquí obtenidos nos plantean que dentro de esta heterogeneidad de formas del basidioma e himenio, el cambio surge a partir de formas clavadas con himenio liso a parcialmente rugoso, que se modifican hacia formas ramificadas con himenio liso, siendo más recientes las formas pileadas con himenóforo en venaciones o en dientes y que en

concordancia con lo propuesto por Parmasto (1986) y Cléménçon (1997), las formas resupinadas como las de *Kavinia* y *Ramaricium* se presentan como basidiomas simplificados con himenio liso el primero y dentado en el segundo.

#### BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims, 1979. **Introductory Mycology**. John Wiley & Sons, New York.
- Bas, C., 1969. Morphology and subdivision of *Amanita* and a monograph of its section *Lepidella*. **Persoonia** 5: 285-579.
- Boddy, L. 1999. Saprotrophic cord-forming fungi: meeting the challenge of heterogeneous environments. **Mycologia** 91(1): 13-32.
- Bondarzew, A. and R. Singer, 1943. On natural system of the polypores. **Sovjetskaja Botanika** 1: 29-43.
- Bremer, K., 1988. The limits of amino-acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. **Evolution** 42: 795-803.
- \_\_\_\_\_, 1994. Branch support and tree stability. **Cladistics** 10: 295-304.
- Carlile, M.J., 1995. The Success of the Hypha and Mycelium. *In*: Gow, N.A.R. and G.M. Gadd (eds.). **The Growing fungus**. Chapman & Hall, New York.
- Cléménçon, H., 1973. Die Wandstrukturen der basidiosporen. III. *Cortinarius* und *Dermocybe*. **Zeitschr. F. Pilzk.** 39: 121-144.
- \_\_\_\_\_, 1997. **Anatomie der Hymenomyceten**. Université de Lausanne, Suisse.
- Corner, E.J.H., 1950. A monograph of *Clavaria* and allied genera. **Ann. Bot. Mem.** 1: 1-740.
- \_\_\_\_\_, 1966. **Cantharelloid Fungi**. Oxford University Press, Oxford.
- \_\_\_\_\_, 1970. **Supplement to a monograph of Clavaria and allied genera**. Cramer, Lehre.
- De Luna, E. y B.D. Mishler, 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. **Bol. Soc. Bot. México** 59: 131-146.
- De Pinn, M.C.C., 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. **Cladistics** 7: 367-394.
- Donk, M.A., 1964. A conspectus of the families of the Aphyllophorales. **Persoonia** 3: 199-324.
- Duncan, E.G. and M.H. Galbraith, 1972. Postmeiotic Events in Homobasidiomycetidae. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 58: 387-392.
- Estrada-Torres, A., 1994. **La familia Gomphaceae (Aphyllophorales: Fungi) en el estado de Tlaxcala**. Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, del IPN.
- Farris, J.S. 1972. Estimating phylogenetic trees from distance matrices trees from distance matrices. **Amer. Nat.** 106: 645-668.
- Font-Quer, P., 1982. **Diccionario de Botánica**. Editorial Labor S.A., México.



- Frost, D.R. and A.G. Kluge, 1994. A consideration of epistemology in systematic biology, with special reference to species. **Cladistics** 10: 259-294.
- Hawkins, J.A., C.E. Hughes and R.W. Scotland, 1997. Primary homology assessment, characters and character states. **Cladistics** 13: 275-283.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton and D.N. Pegler, 1995. **Dictionary of the fungi**. International Mycological Institute, CAB International, Wallingford.
- Heim, R., 1959. A propos de trois chanterelles americaines. **Rev. Mycol.** 19: 47-56.
- \_\_\_\_\_, 1970. Breves diagnoses latinae novitatum genericarum specificarumque nuper descriptorum. **Rev. Mycol.** 34(4): 341-347.
- Hibbett, D., E.M. Pine, E.Langer, G.Langer y M.J. Donoghue, 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 94: 12002-12006.
- Hoiland, K., 1987. A new approach to the phylogeny of the order Boletales (Basidiomycotina). **Nord. J. Bot.** 7(6): 705-718.
- Hovenkamp, P., 1999. Unambiguous Data or Unambiguous Results? **Cladistics** 15(2): 99-102.
- Jülich, W., 1981. **Higher taxa of Basidiomycetes**. J. Cramer, Vaduz.
- Jülich, W. and W.Star, 1983. Ultrastructure of basidiospores I. *Beenakia*. **Persoonia** 12(1): 67-74.
- Keller, J., 1986. Ultrastructure des parois sporiques des Aphyllophorales. **Mycol. Helv.** 2(1): 1-34.
- \_\_\_\_\_, 1997. **Atlas des Basidiomycetes**. Union Des Societes Souisses De Mycologie, Neuchatel.
- Kreisel, H., 1967. Die Fruchtkörpertypen der Basidiomyceten und ihre Evolution. **Feddes Repert.** 74: 209-218.
- Kühner, R., 1976. La notion d'espece chez les champignons superieurs. **Bull. Soc. Linneenne Lyon** 45 (10).
- Kurtzman C.P. y C.J. Robnett, 1995. Molecular relationships among hyphal ascomycetous yeasts and yeastlike taxa. **Can. J. Bot.** 73: S824-S830.
- Largent, D., D. Johnson y R. Watling, 1980. **How to identify mushrooms to genus III: Microscopic Features**. Mad River Press, Eureka.
- Lodiges, P.Y., S.M. Prober y G. Nelson, 1992. Cladistic and Biogeographic Analysis of the Blue ash Eucalypts. **Cladistics** 8: 103-124.
- Marr, C.D., 1979. Laccase and tyrosinase oxidation of spot test reagents. **Mycotaxon** 9: 299-305.
- Marr, C.D. y D.E. Stuntz, 1973. *Ramaria* in western Washington. **Biblth. Mycol.** 38: 1-232.
- Marr, C.D, D.W. Grund y K.A. Harrison, 1986. The taxonomic potential of laccase and tyrosinase spot tests. **Mycologia** 78 (2): 169-184.
- Maas Geesteranus, R.A., 1971. **Hydnaceous Fungi of the Eastern Old World**. Verh. K. Ned. Akad. Wet. Afd. Natuurk., Tweede Reeks 60. North-Holland Publishing Company, Amaterdam.

- McLaughlin, D.J., M.E. Berres y L.J. Szabo, 1995. Molecules and morphology in basidiomycete phylogeny. **Can. J. Bot.** 73(1): S684-S692.
- Methven, A.S., 1990. **The genus *Clavariadelphus* in North America**. J. Cramer, Berlin.
- Miller, O.K. and R. Watling, 1987. Whence cometh the agarics? A reappraisal. *In*: Rayner, A.D.M., C.M. Brasier and D. Moore (eds.). **Evolutionary biology of the fungi**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Moore, D., 1996. Inside Developing mushroom-cells, tissues and tissue patterns. *In*: Chiu, S.W. and D. Moore (eds.). **Patterns in Fungal Development**. Cambridge University Press, New York.
- Morrone, J.J., 1997. Cladistics of the New World Genera of *Listroderina* (Coleoptera: Curculionidae: Rhytirrhini). **Cladistics** 13(3): 247-266.
- Oberwinkler, F., 1977. Das neue System der Basidiomyceten. *In*: Frey, W., H. Hurka and F. Oberwinkler (eds.). **Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen**. Fischer, Stuttgart, New York.
- Parmasto, E., 1986. On the origin of the Hymenomycetes (What are corticioid fungi?). **Winalhia**, 16: 3-19.
- \_\_\_\_\_, 1995. Corticioid fungi: a cladistic study of a paraphyletic group. **Can. J. Bot.** 73: S843-S852.
- \_\_\_\_\_ and L. Ryvardeen, 1990. The genus *Beenakia* (Gomphaceae, Aphyllophorales). **Winalhia** 18: 35-42.
- Patterson, C., 1982. Morphological characters and homology. *In*: Joysey, K.A. and A.E. Friday (eds.). **Problems of Phylogenetic Reconstruction**. Academic Press, London.
- Pegler, D.N., 1996. Hyphal analysis of basidiomata. **Mycol. Res.** 100 (2): 129-142.
- Pegler, D.N. and T.W.K. Young, 1971. **Basidiospore morphology in the Agaricales**. J. Cramer, Lehre.
- \_\_\_\_\_, 1985. Basidiospore structure in *Ramariopsis* (Clavariaceae). **Trans. Br. Mycol. Soc.** 84(2): 207-214.
- Perreau, B.J. 1967. Recherches sur la differenciation et la structure de la paroi sporale chez les Homobasidiomycetes à spores ornées. **Ann. Sci. Nat. Paris** 12(8): 639-746.
- Petersen, R.H., 1967. Evidence on the interrelationships of the families of clavarioid fungi **Trans. Br. Mycol. Soc.** 50: 641-648.
- \_\_\_\_\_, 1969. Notes on Clavarioid Fungi. X. New species and Type Studies in *Ramariopsis*, with a Key to Species in North America. **Mycologia** 61: 549-559.
- \_\_\_\_\_, 1970. **The genera *Gomphus* and *Gloeocantharellus* in North America**. University of Tennessee Press, Knoxville.
- \_\_\_\_\_, 1971a. Progress in the study of clasification of the higher Basiomycetes. *In*: Petersen, R.H. (ed.). **Evolution in the higher Basidiomycetes**. University of Tennessee Press. Knoxville. pp. 3-28.
- \_\_\_\_\_, 1971b. Notes on Clavarioid Fungi-IX. Addendum to *Clavulinopsis* in North America. **Persoonia** 6(2): 219-229.

- \_\_\_\_\_, 1973. Aphylophorales II: The clavarioid and cantharelloid Basidiomycetes. *In: Ainsworth, G.C., F.K. Sparrow and A.S. Sussman (eds.). The Fungi, an Advanced Treatise. Vol. IVB.* Academic Press. New York.
- \_\_\_\_\_, 1974. Notes on Clavarioid Fungi. XIV. Cultures on *Lentaria Byssiseda*. *Mycologia* 66: 530-532.
- \_\_\_\_\_, 1975. *Ramaria* subgenus *Lentoramaria* with Emphasis on North American Taxa. J. Cramer, Vaduz.
- \_\_\_\_\_, 1979. Notes on Clavarioid Fungi. XVII. *Clavulinopsis* taxa in south-eastern Australia. *Sydowia Annales Mycologici* 32: 209-223.
- \_\_\_\_\_, 1981. *Ramaria* subgenus *Echinoramaria*. J. Cramer, Vaduz.
- \_\_\_\_\_, 1983. Notes on Clavarioid fungi. XVIII. A preliminary outline of *Clavulina* in south-eastern Australis. *Nova Hedwigia* 37: 19-35.
- \_\_\_\_\_, 1985. Notes on Clavarioid Fungi. XIX. Colored Illustrations of Selected Taxa, with Comments on *Cantharellus*. *Nova Hedwigia* 42: 151-162.
- \_\_\_\_\_, 1988. *The Clavarioid Fungi of New Zealand*. Science Information Publishing Centre, Wellington.
- Pilát, A., 1971. Diversity and phylogenetic position of the Thelephoraceae. *In: Petersen, R.H. (ed.). Evolution in the higher Basidiomycetes.* University of Tennessee Press. Knoxville. pp. 3-28.
- Reijnders, A.F.M. and J.A. Stalpers, 1992. *The Development of the Hymenophoral Trama in the Aphylophorales and the Agaricales*. Studies in Mycology 34. Institute of the Royal Netherlands, Academy of Sciences and Lettres, Netherlands.
- Sanderson, M.J. and M.J. Donohue, 1989. Patterns of variation in levels of homoplasy. *Evolution* 43: 1781-1795.
- Singer, R., 1945. New genera of fungi. II. *Lloydia* 8: 139-144.
- \_\_\_\_\_, 1986. *The Agaricales in modern taxonomy*. Koeltz, Koenigstein.
- Smith, H.A., H.V. Smith and N.S. Weber, 1979. *How to Know the Gilled Mushrooms*. Wm. C. Brown, Dubuque.
- Sung, J.H., 1987. *Wood-rooting Aphylophorales of the Southern Appalachian spruce-fir foerst*. J. Cramer, Berlin
- Swofford, D. 1993. *PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, version 3.1.1*. Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois.
- Talbot, P.H.B., 1968. Fossilized Pre-Patouillardian Taxonomy? *Taxon* 17: 620-628.
- Tehler, A. 1988. A cladistic outline of the Eumycota. *Cladistics* 4: 227-277.
- Ulloa, M., 1991. *Diccionario ilustrado de micología*. UNAM, México.
- Vázquez, G., C. Cano-Canchola, L. Sosa, A. Obregón, A. Flores-Carreón, A. Herrera-Estrella, M. Villegas y J. Cifuentes, 1995. Classical and molecular studies on edible species of *Ramaria* from México. *In: T. J. Elliot (ed.). Science and Cultivation of Edible Fungi*. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Vilgalys, R., 1991. Speciation and species concepts in the *Collybia dryophila* complex. *Mycologia* 83: 758-773.
- Villegas, M., E. De Luna, J. Cifuentes y A. Estrada-Torres, 1999. Phylogenetic studies in Gomphaceae sensu lato. *Mycotaxon* 70: 127-147.

- Whalley, A.J.S. y R.L. Edwards, 1995. Secondary metabolites and systematic arrangement within the Xylariaceae. **Can. J. Bot.** 73(1):802-810.
- Welden, A.L., 1966. *Stereum radicans*, *Clavariadelphus* and the Gomphaceae. **Brittonia** 18: 127-131.
- Wells, K., 1965. Ultrastructural Features of Developing and Mature Basidia and Basidiospores of *Schizophyllum commune*. **Mycologia** 57: 236-261.
- Wheeler, W.C., P. Cartwright y C.Y. Hayashi, 1993. Arthropod Phylogeny: a Combined Approach. **Cladistics** 13(1). 1-39.

1.- Basidioma pileado	0 = presente; 1 = ausente
2.- Basidioma efuso	0 = presente; 1 = ausente
3.- Basidioma clavado	0 = presente; 1 = ausente
4.- Basidioma ramificado	0 = no ramificado; 1 = ramificado
5.- Himenóforo en dientes	0 = presente; 1 = ausente
6.- Himenóforo en costillas o venaciones	0 = ausente; 1 = poco profundas y reticuladas; 2 = profundas
7.- Himenóforo sin proyecciones	0 = liso; 1 = rugoso (al menos parcialmente); ? = no comparable
8.- Himenóforo en láminas	0 = presente; 1 = ausente
9.- Diferenciación del estípite	0 = claramente diferenciado; 1 = poco diferenciado; 2 = ausente
10.- Posición del estípite	0 = central; 1 = excéntrico; ? = no comparable
11.- Basidioma completamente gelatinoso	0 = presente; 1 = ausente
12.- Cambio de color del basidioma al maltrato	0 = presente; 1 = ausente
13.- Reacción del himenóforo a las sales de hierro	0 = presente; 1 = ausente
14.- Cordones miceliales evidentes	0 = presentes; 1 = ausentes
15.- Subículo	0 = presente; 1 = ausente
16.- Tipo de basidios	0 = holobasidios; 1 = fragmobasidios
17.- Septación secundaria de los basidios	0 = presente; 1 = ausente
18.- Número de esterigmas en los basidios	0 = dos; 1 = dos a cuatro
19.- Tipo de basidio de acuerdo a la orientación del huso basidial	0 = quiástico; 1 = estictico
20.- Exposición de las esporas en el himenio	0 = completamente expuestas; 1 = parparcial- mente expuestas
21.- Color de las esporas bajo el microscopio fotónico	0 = hialinas; 1 = amarillo-café en diferente gradación
22.- Simetría de las esporas	0 = equilaterales; 1 = inequilaterales
23.- Forma de las esporas	0 = globosas; 1 = no globosas
24.- Forma de la base de las esporas	0 = aguzadas o en punta; 1 = redondeadas
25.- Esporas lisas	0 = presentes; 1 = ausentes
26.- Superficie de las esporas con proyecciones en punta	0 = cónicas y anastomosadas en la base; 1 = cónicas y claramente separadas; 2 = cilíndricas y separadas; ? = no comparable
27.- Superficie de las esporas con proyecciones bajas y redondeadas	0 = tuberculado-nodulosas; verrugosas; rugulosas; ? = no comparable
28.- Esporas con estrías longitudinales	0 = presentes; 1 = ausentes
29.- Forma de la base del apéndice hilar	0 = obtusa; 1 = acuminada; 2 = confluyente
30.- Cianofilia en la ornamentación de las esporas	0 = presente; 1 = ausente
31.- Esporas amiloides	0 = presentes; 1 = ausentes
32.- Esporas dextrinoides	0 = presentes; 1 = ausentes
33.- Fíbulas simples en el basidioma	0 = presentes; 1 = ausentes
34.- Fíbulas ampuliformes en el basidioma	0 = presentes; 1 = ausentes
35.- Ornamentación en las fíbulas ampuliformes	0 = presentes; 1 = ausentes; ? = no comparables
36.- Fíbulas en la base de los basidios	0 = presentes; 1 = ausentes
37.- Disposición de los elementos del subhimenio	0 = hifas entrelazadas; 1 = hifas paralelas; 2 = celular en diferente gradación
38.- Hifas coccinoidales	0 = presentes; 1 = ausentes
39.- Hifas gloeopleróticas	0 = presentes; 1 = ausentes
40.- Hifas esqueléticas	0 = presentes; 1 = ausentes
41.- Hifas con superficie ornamentada	0 = presentes; 1 = ausentes
42.- Cistidios	0 = presentes; 1 = ausentes
43.- Pared de los cistidios	0 = delgada; 1 = gruesa; ? = no comparable
44.- Contenido de los cistidios	0 = apariencia homogénea; 1 = contenido vacuolizado o aceitoso; ? = no comparable
45.- Localización de los cistidios en relación a los basidios	0 = intercalares; 1 = no intercalares; ? = no comparable
46.- Tamaño de los cistidios en relación a los basidios	0 = de igual o menor tamaño; 1 = sobresaliendo evidentemente; ? = no comparable

Tabla1. Caracteres y estados de carácter utilizados en el análisis cladístico uno.

Alternativa de codificación	Estados de carácter	Clave de referencia
Como un solo carácter: Forma de la base del apéndice hilar	0 = obtusa; 1 = acuminada; 3 = confluyente	4A
Como caracteres separados: 1) Apéndice hilar con base obtusa 2) Apéndice hilar con base acuminada 3) Apéndice hilar con base confluyente	0 = presente; 1 = ausente 0 = presente; 1 = ausente 0 = presente; 1 = ausente	4B

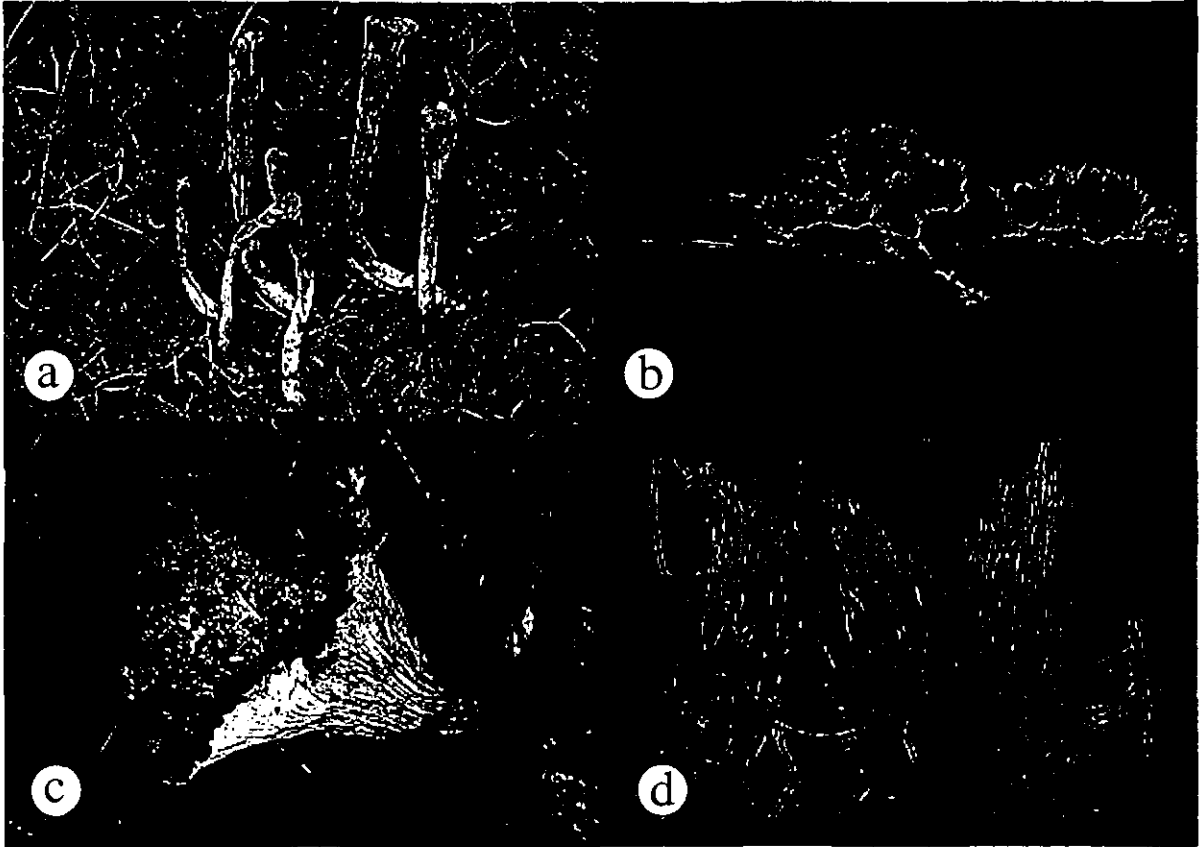
Tabla 3. Alternativas de codificación de los datos observados en el apéndice hilar.

Alternativa de codificación	Estados de carácter	Clave de referencia
Como tres caracteres separados: 1) Superficie de las esporas con proyecciones en punta  2) Superficie de las esporas con proyecciones bajas redondeadas  3) Superficie de las esporas con estrias longitudinales	0 = cónicas y anastomosadas en la base; 1 = cónicas y claramente separadas; 2 = cilíndricas y claramente separadas  0 = tuberculado-nodulosas; 1 = verrugosas; 2 = rugulosas  0 = presentes; 1 = ausentes.	5A
Como siete caracteres diferentes: 1) Esporas con ornamentaciones cónicas y anastomosadas en la base  2) Esporas con ornamentaciones cónicas y claramente separadas  3) Esporas con ornamentaciones cónicas y claramente separadas  4) Esporas con ornamentaciones tuberculado-nodulosas  5) Esporas con superficie verrugosa  6) Esporas con superficie rugulosa  7) Esporas con ornamentaciones formando estrias	0 = presentes; 1 = ausentes  0 = presentes; 1 = ausentes  0 = presentes; 1 = ausentes  0 = presentes; 1 = ausentes  0 = presentes; 1 = ausentes  0 = presentes; 1 = ausentes	5B
Como un solo carácter: Ornamentación de las esporas	0 = cónicas y anastomosadas en la base; 1 = cónicas y claramente separadas; 2 = cilíndricas y claramente separadas; 3 = tuberculado-nodulosas; 4 = verrugosas; 5 = rugulosas; 6 = estriadas	5C

Tabla 4. Alternativas de codificación de los datos de ornamentación de las esporas.

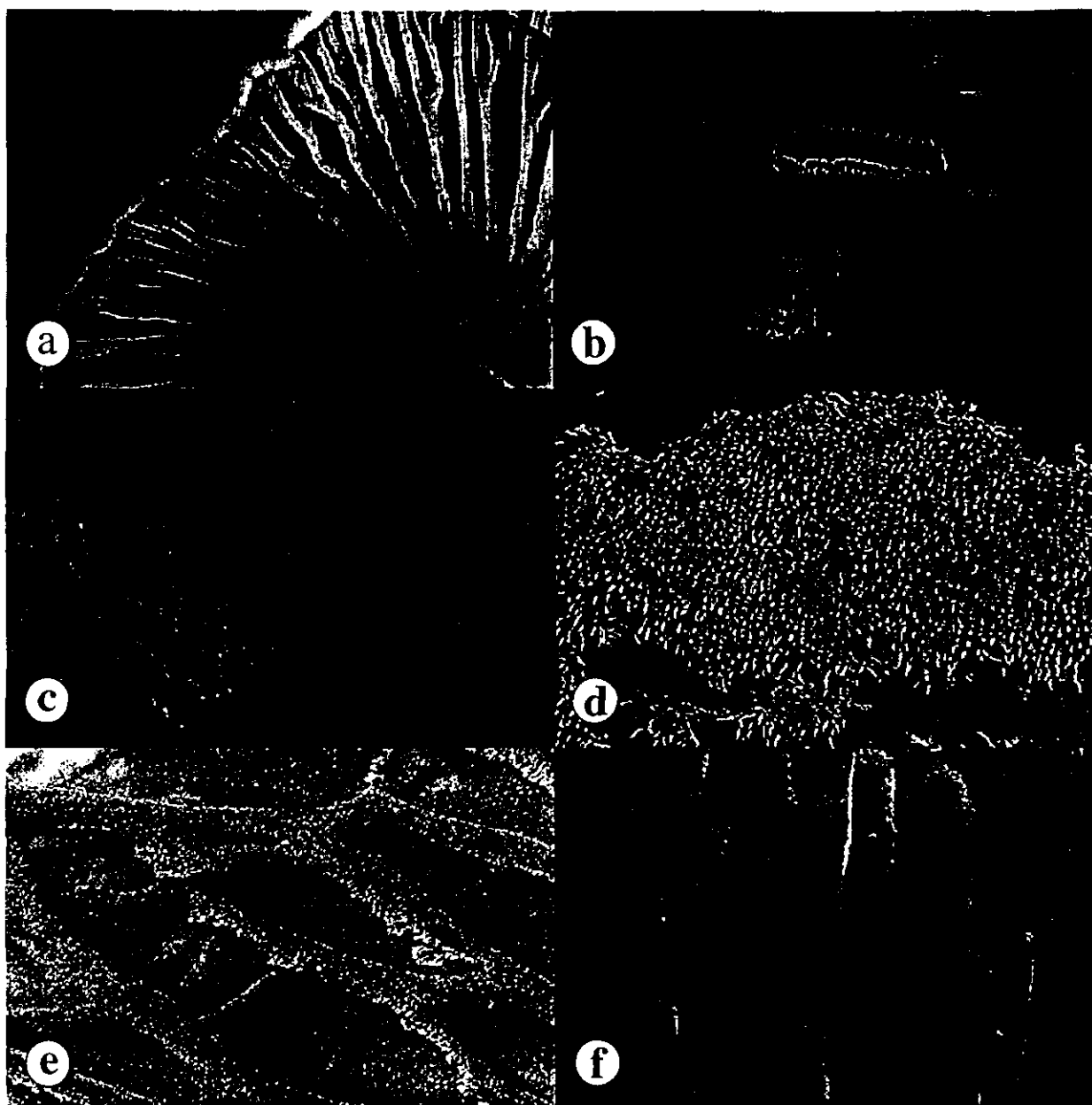
No. de análisis	Características del análisis	No. árboles obtenidos	Longitud	Indices
1	Tipos de apéndice hilar como un solo carácter y formas de ornamentación en tres caracteres diferentes.	128	134	IC = 0.748 IH = 0.652 IR = 0.746 CR = 0.555
2	Tipos de ornamentación en tres caracteres diferentes y formas de apéndice hilar como caracteres dife- rentes.	18	139	IC = 0.748 IH = 0.655 IR = 0.757 CR = 0.566
3	Todas las formas de ornamentación como un solo carácter y formas del apéndice hilar como caracteres dife- rentes.	36	143	IC = 0.748 IH = 0.657 IR = 0.753 CR = 0.564
4	Ornamentación de esporas y formas de apéndice hilar como un solo carác- ter	190	139	IC = 0.748 IH = 0.655 IR = 0.743 CR = 0.556
5	Todas las formas de ornamentación y tipos de apéndice hilar como caracte- res separados.	30	145	IC = 0.710 IH = 0.669 IR = 0.736 CR = 0.523
6	Tipos de ornamentación en siete caracteres diferentes y formas de apéndice hilar como un solo carácter.	60	140	IC = 0.721 IH = 0.664 IR = 0.735 CR = 0.530
7	Excluyendo datos de ornamentación de esporas y formas de apéndice hilar como caracteres separados	38	132	IC = 0.742 IH = 0.674 IR = 0.761 CR = 0.565
8	Excluyendo datos de apéndice hilar formas de ornamentación como caracteres separados.	41	135	IC = 0.726 IH = 0.667 IR = 0.730 CR = 0.530
9	Excluyendo datos de ornamentación y considerando datos de apéndice hilar como un solo carácter.	213	129	IC = 0.744 IH = 0.674 IR = 0.750 CR = 0.558
10	Excluyendo datos de apéndice hilar y ornamentación de esporas	7	123	IC = 0.756 IH = 0.675 IR = 0.754 CR = 0.570
11	Excluyendo datos de apéndice hilar y datos de ornamentación como tres caracteres diferentes.	12	130	IC = 0.762 IH = 0.654 IR = 0.750 CR = 0.571
12	Excluyendo datos de apéndice hilar y datos de onamentación de esporas considerados en un solo carácter.	16	134	IC = 0.761 IH = 0.657 IR = 0.746 CR = 0.568

Tabla 5. Resultados obtenidos considerando diferentes alternativas de codificación de los datos de ornamentación de esporas y forma de la base del apéndice hilar.

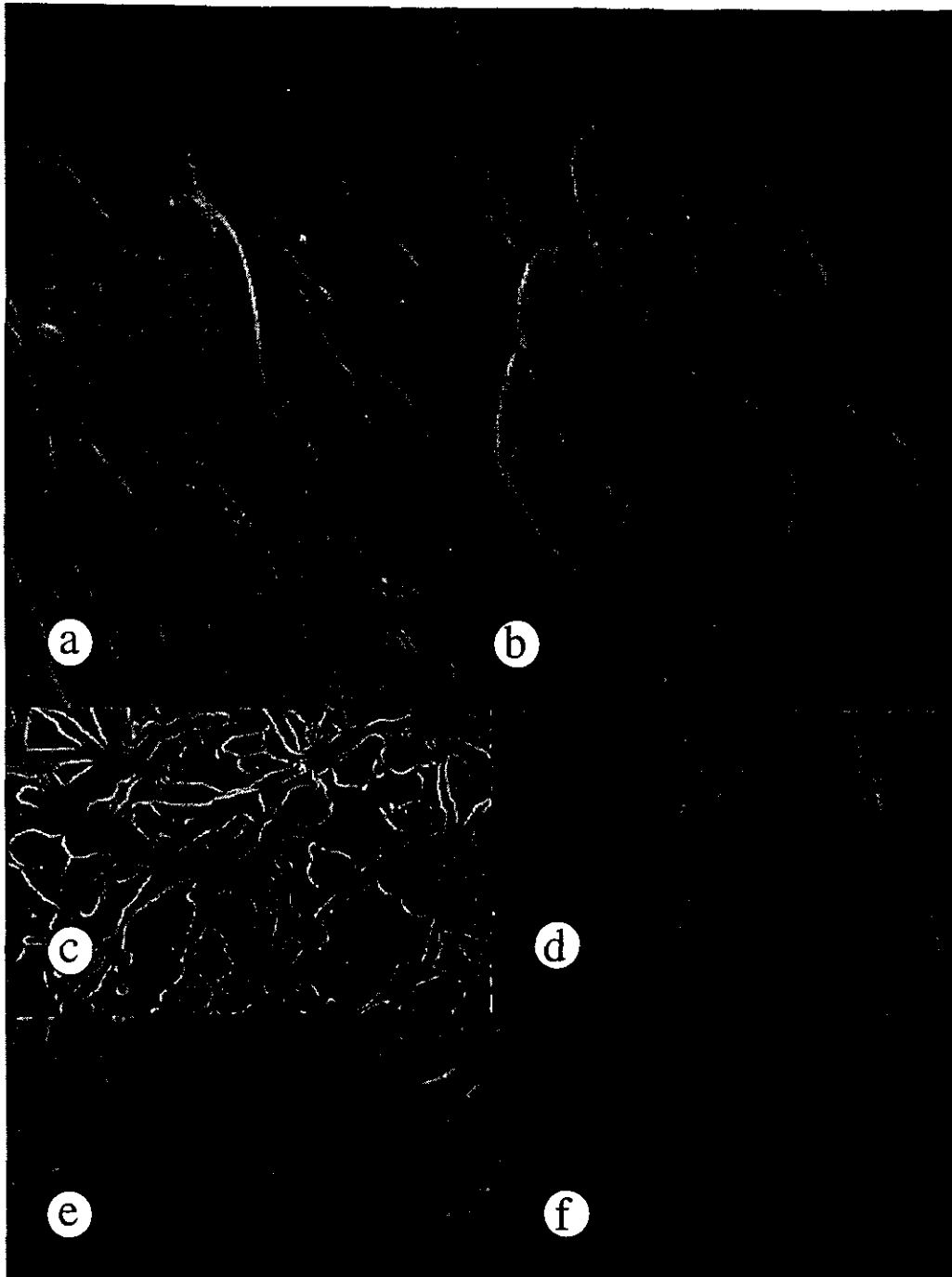


**Lámina 1.** **a)** Basidioma clavado, *Clavariadelphus truncatus* (Foto: T. Herrera); **b)** Basidioma resupinado, *Ramaricium polyporoideum* (Foto: S. Sierra); **c)** Basidioma pileado, *Gomphus floccosus* (Foto: J. Villarruel-Ordaz); **d)** Basidioma ramificado, *Ramaria gracilis* (Foto: J. Cifuentes).

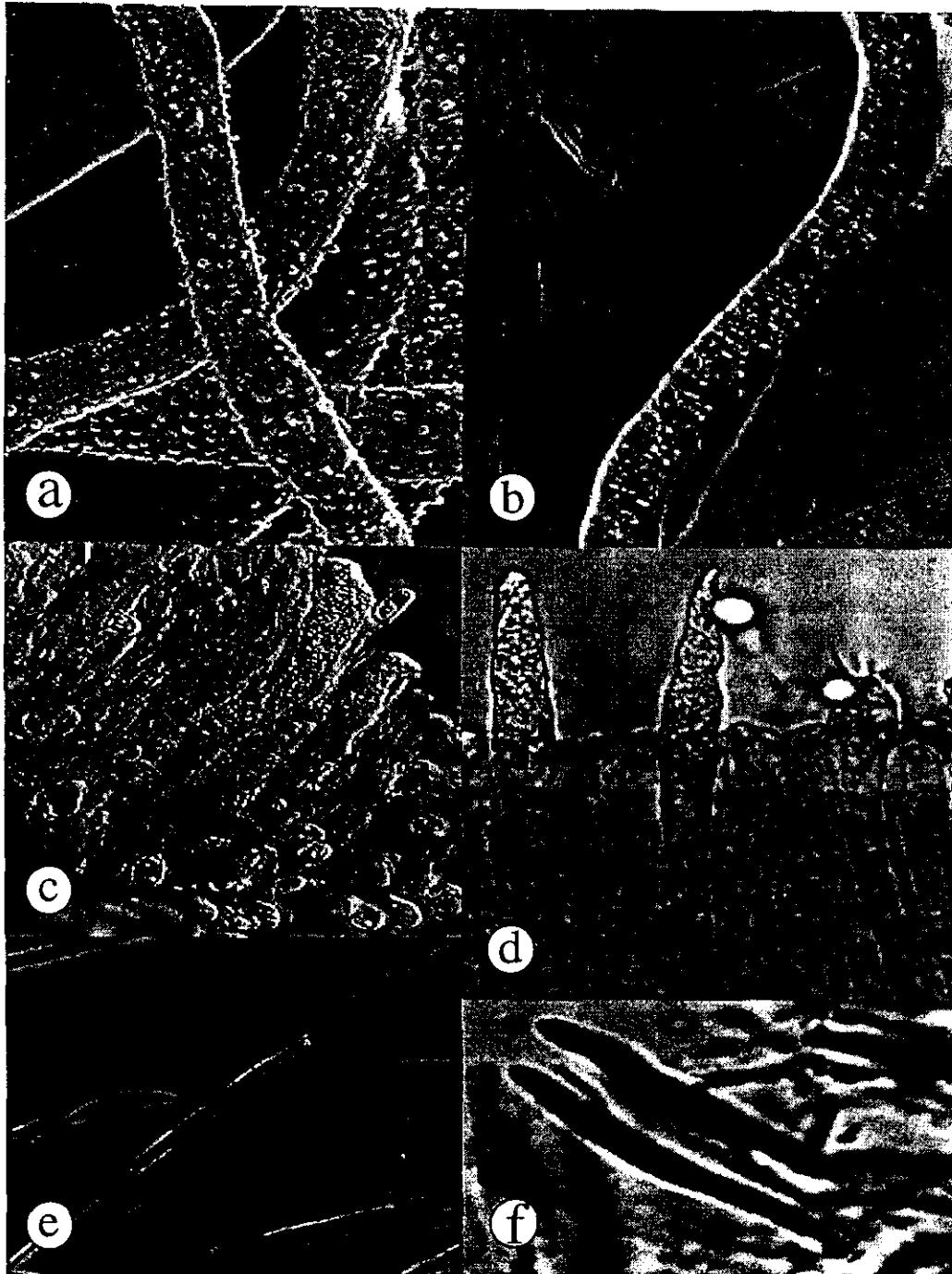




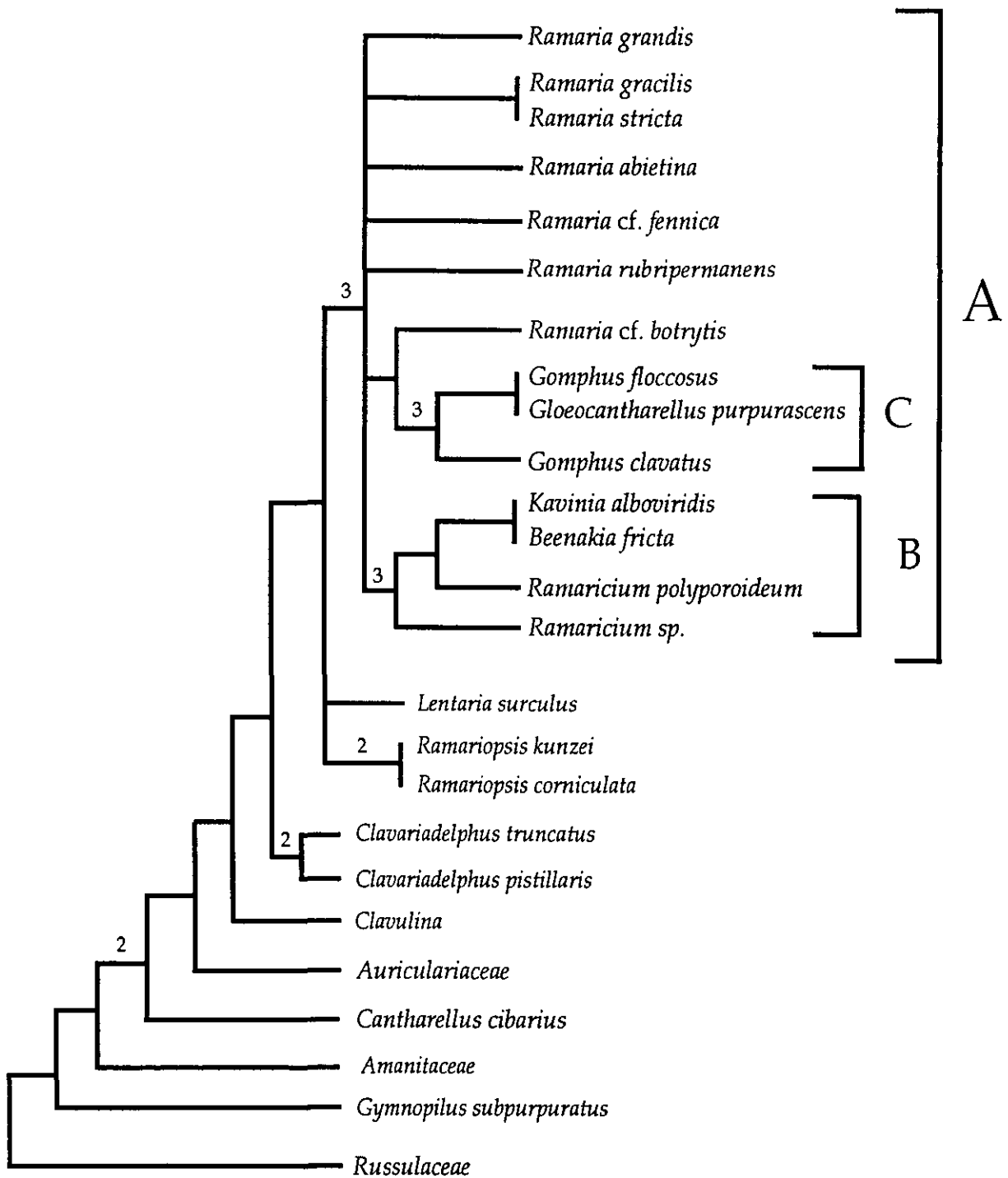
**Lámina 2.** Tipos de himenóforos. **a)** Himenóforo en costillas, *Cantharellus cibarius* (Foto: A. Montañez); **b)** Himenóforo en láminas, *Lactarius indigo* (Foto: Hernández-Muñoz); **c)** Himenóforo liso, *Ramaria* cf. *botrytis* (Foto: A. Estrada-Torres); **d)** Himenóforo en dientes, *Kavinia alboviridis* (Foto: E. Estrada-Torres); **e)** Himenóforo reticulado, *Gomphus floccosus* (Foto: A. Estrada-Torres); **f)** Himenóforo ligeramente rugoso, *Clavariadelphus truncatus* (Foto: A. Montañez).



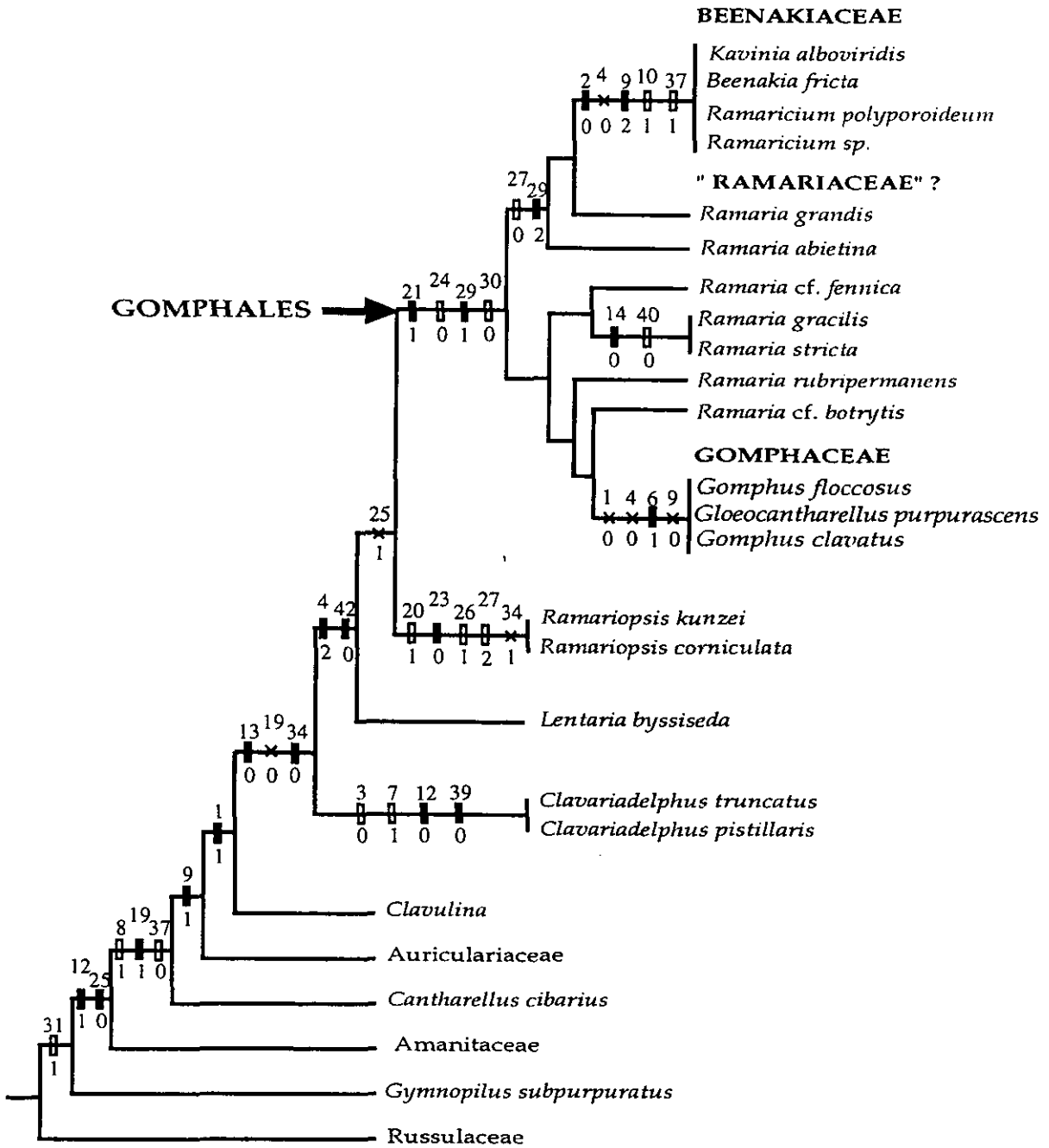
**Lámina 3.** Estructuras microscópicas observadas con contraste interferencial de Nomarski (a), microscopía electrónica de barrido (b-c) y fotónica (d-f). **a)** Holobasidio bispórico, *Ramaria grandis* (Foto: A. Estrada-Torres); **b)** Esporas completamente expuestas, *Ramaria* cf. *fennica* (Foto: T. Salas); **c)** Esporas parcialmente expuestas, *Ramariopsis corniculata* (Foto: T. Salas); **d)** Fíbula simple, *Beenakia fricta* (Foto: A. Estrada-Torres); **e)** Fíbula ampuliforme lisa, *Kavinia alboviridis* (Foto: A. Estrada-Torres); **f)** Fíbulas ampuliformes ornamentadas, *Ramaria gracilis* (Foto: A. Martínez-Mena).



**Lámina 4.** Estructuras microscópicas observadas con microscopía electrónica de barrido (a), contraste interferencial de Nomarski (b-d) y fotónica (c-f). **a)** Hifas ornamentadas, *Ramaricium polyporoideum* (Foto: S. Espinoza); **b)** Hifas coccinoidales, *Gomphus floccosus* (Foto: A. Estrada-Torres); **c)** Gloeocistidio, *Gloeocantharellus purpurascens* (Foto: A. Estrada-Torres); **d)** Macrocistidios, *Russula* sp. (Foto: A. Kong Luz); **e)** Hifas esqueléticas, *Ramaria gracilis* (Foto: M. Villegas); **f)** Frangmobsasidios, *Auricularia* sp. (Foto: S. Sierra Galván).



**Figura 1:** Consenso estricto obtenido en el análisis uno, donde se muestran los valores estimados del índice de decaimiento. Se indican además el principal grupo monofilético de interés obtenido (A) y los grupos que pueden reconocerse dentro de este (B y C).



**Figura 2.** Uno de los árboles más parsimoniosos obtenidos en el análisis 1, el cual ha sido simplificado para mostrar sólo los clados relevantes y los cambios de caracteres dentro de éstos. □ = sinapomorfía, ■ = paralelismo, x = reversión.

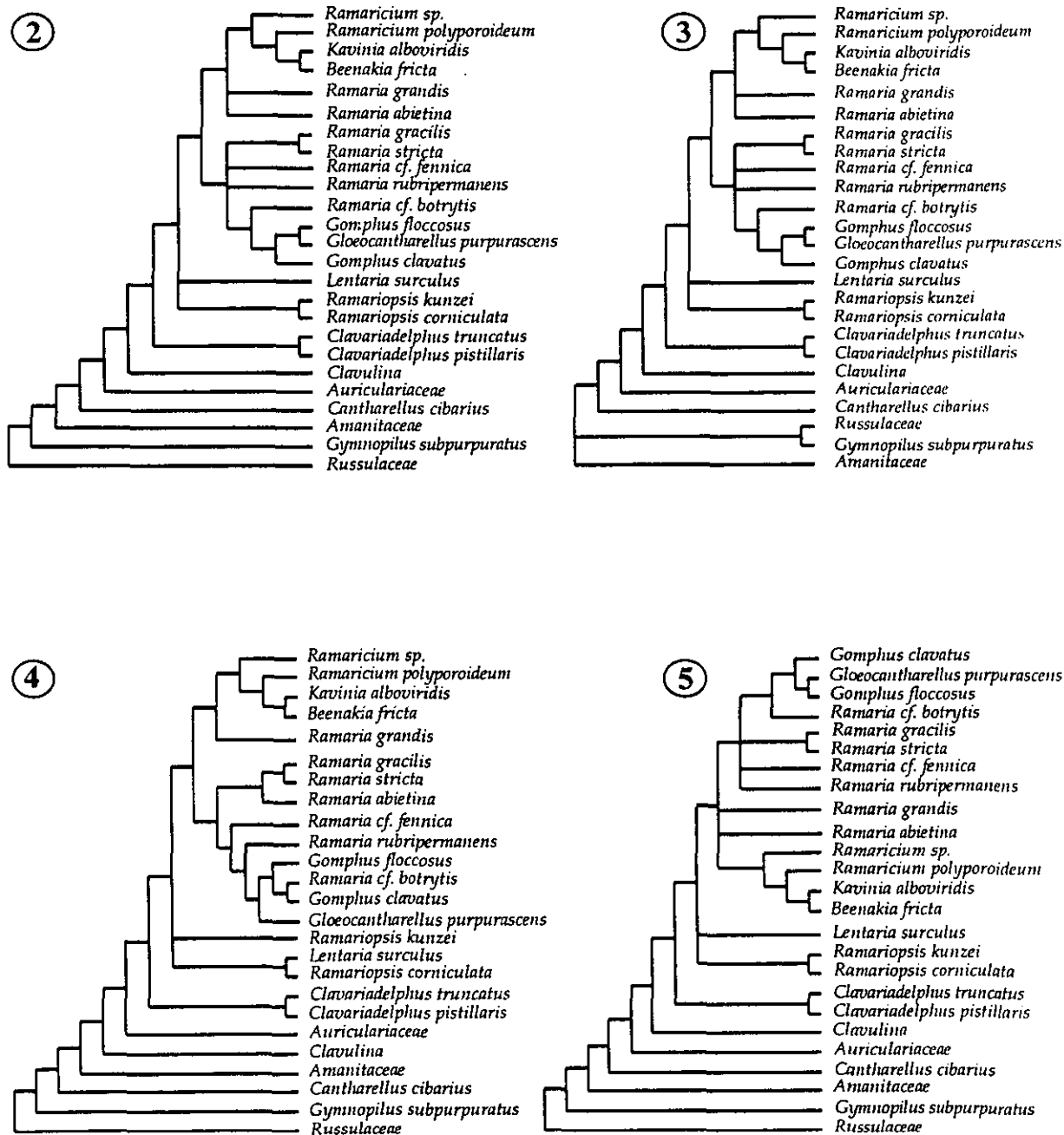


Figura 3. Cladogramas de consenso obtenidos en los análisis 2-5. 2. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 2. 3. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 3. 4. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 4. 5. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 5.

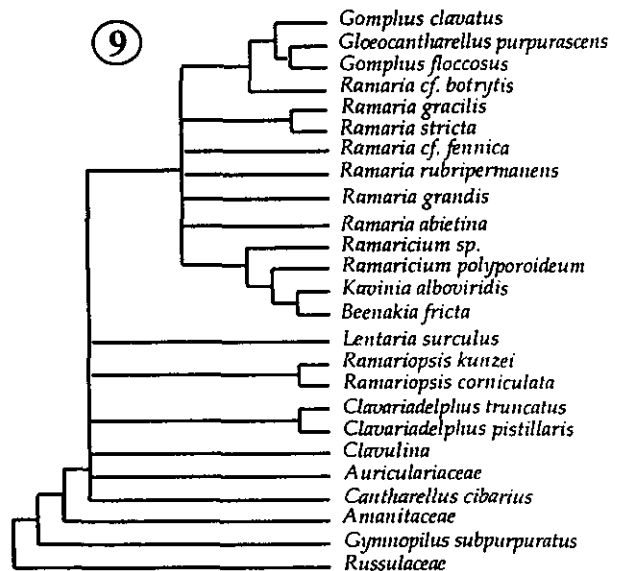
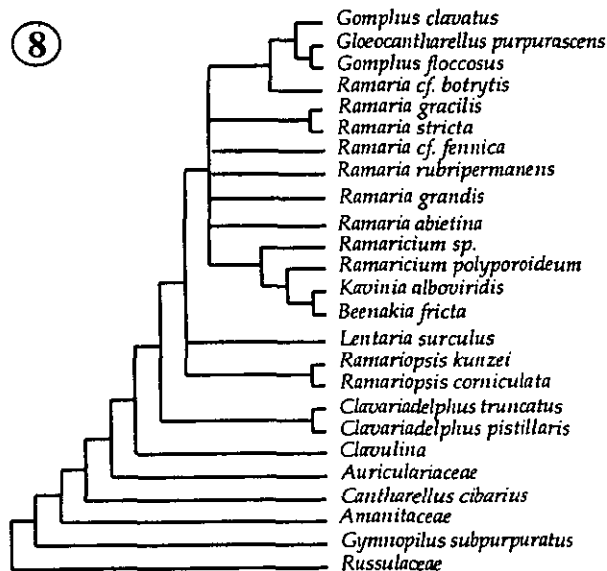
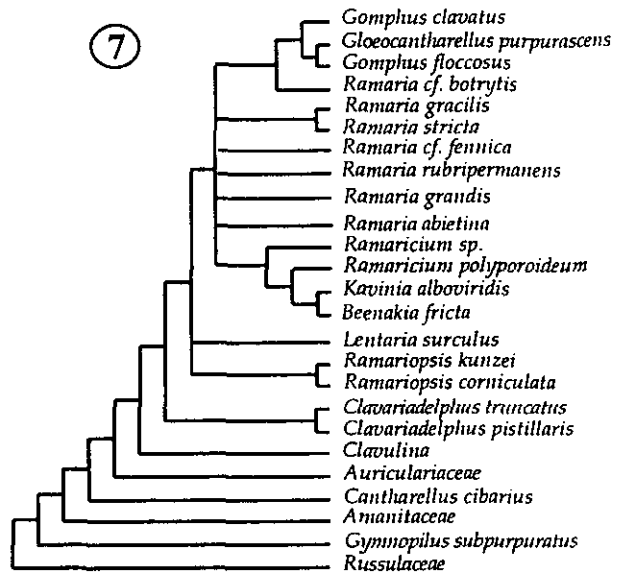
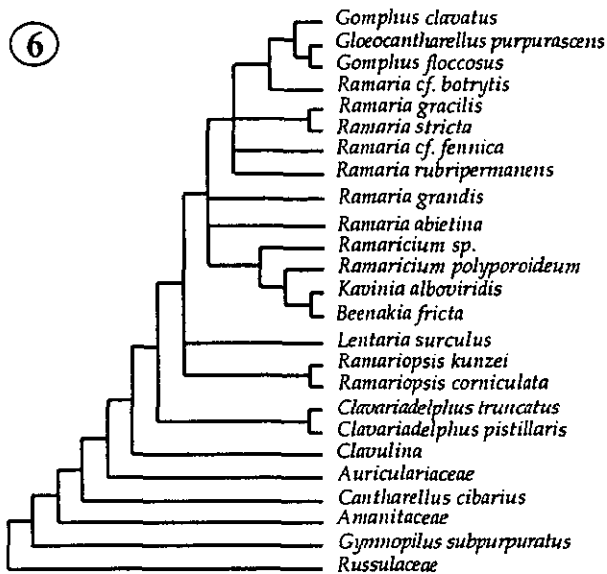


Figura 4. Cladogramas de consenso obtenidos en los análisis 6-9. 6. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 6. 7. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 7. 8. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 8. 9. Cladograma de consenso obtenido en el análisis 9.

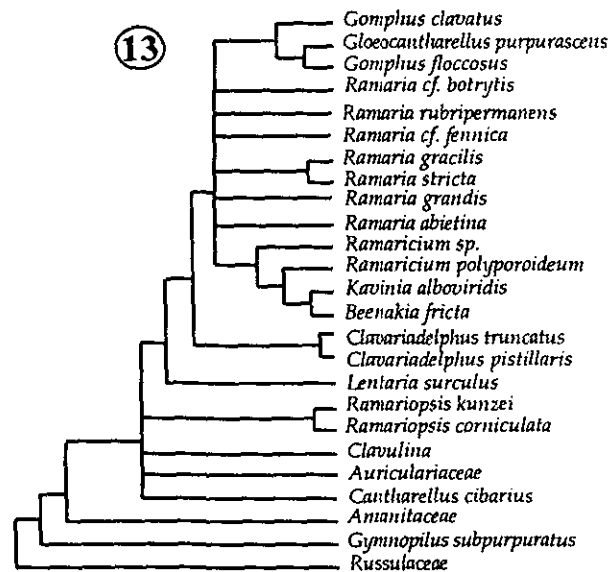
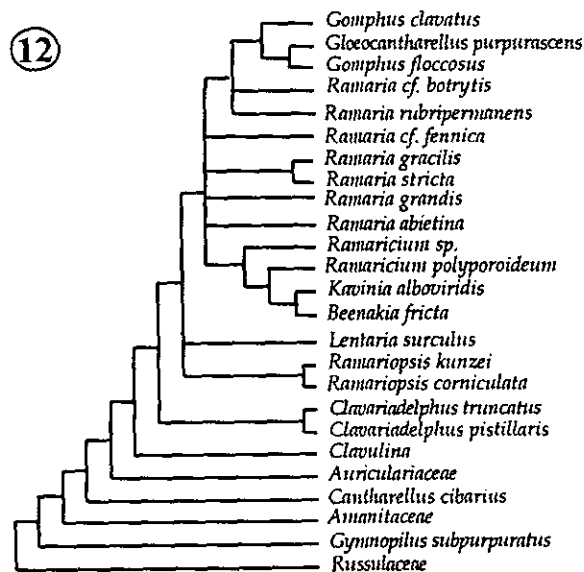
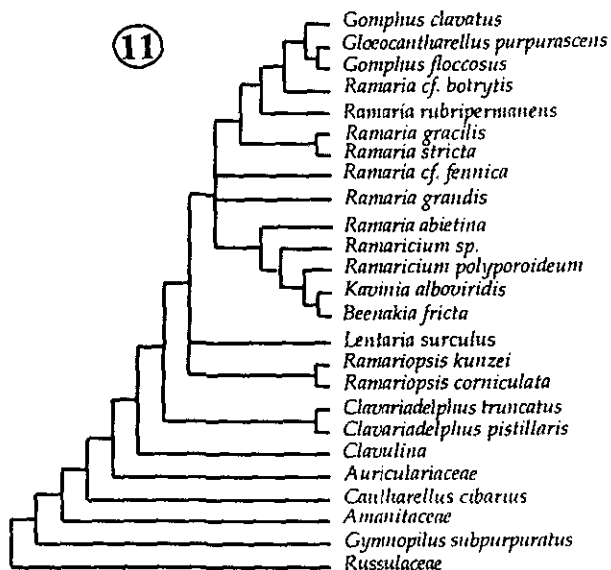
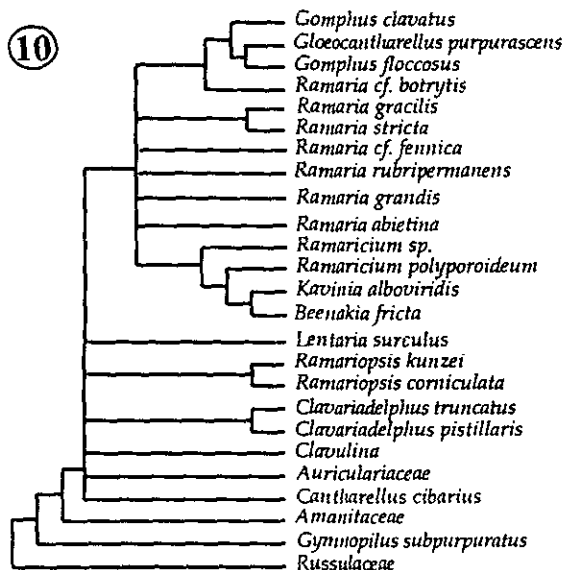
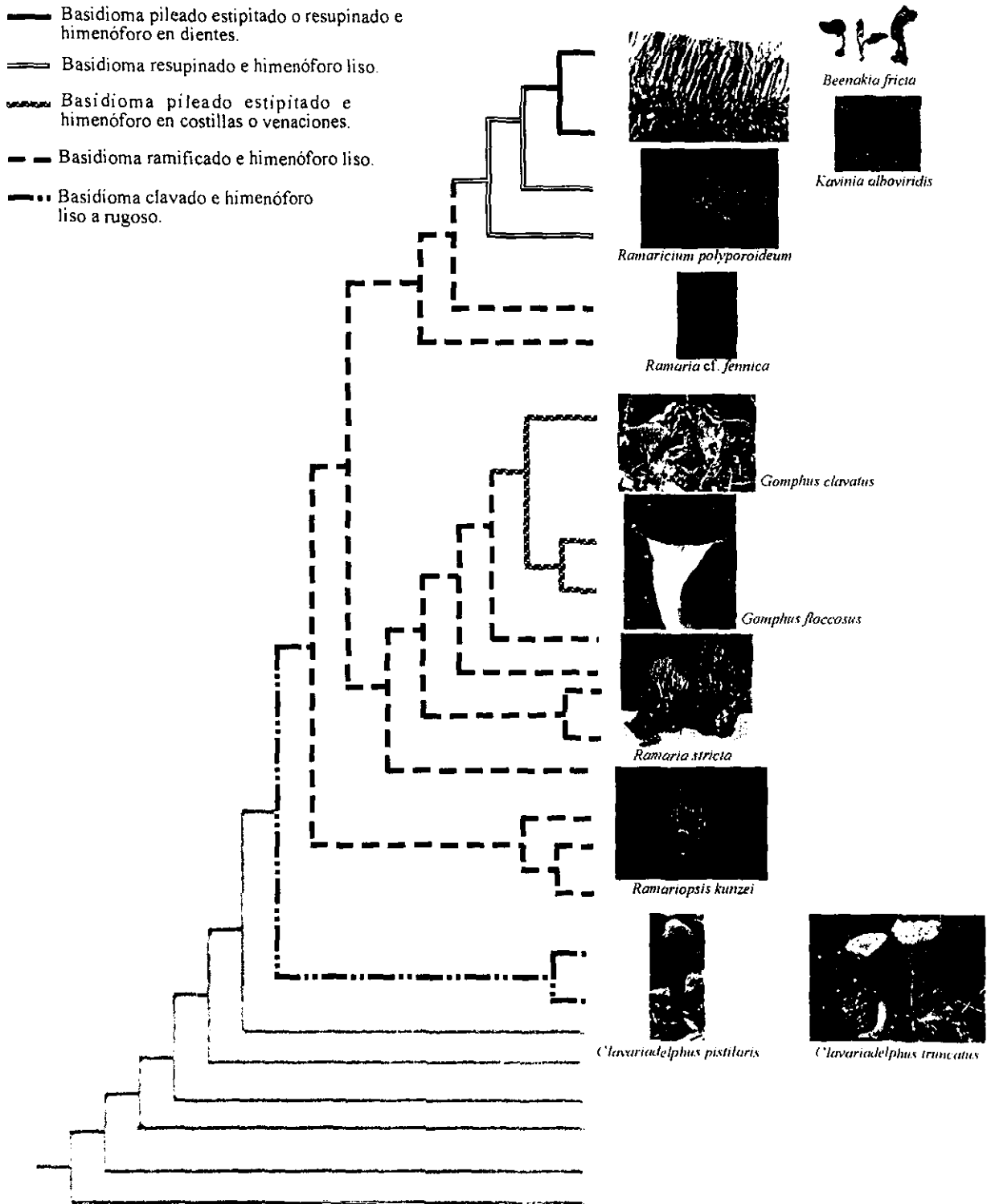


Figura 5. Cladogramas de consenso obtenidos en los análisis 10-12 y en el análisis de "constraint". 10. Cladograma de consensos obtenido en el análisis 10. 11. Cladograma de consensos obtenido en el análisis 11. 12. Cladograma de consensos obtenido en el análisis 12. 13. Cladograma de consenso obtenido en el análisis de "constraint", considerando a *Clavariadelphus* dentro del clado A de la Figura 1.





**Figura 6:** Evolución del basidioma e himenóforo. Los patrones del margen superior izquierdo indican las diferentes combinaciones de formas del basidioma e himenóforo.

## 5. DISCUSIÓN GENERAL

Históricamente, la circumscripción de este grupo ha sido problemática pues debido a la heterogeneidad de formas macroscópicas de los basidiomas e himenio, inicialmente fueron clasificados en diferentes familias (Sistema Friesiano), donde el punto básico de diferenciación era su aspecto macromorfológico. Si bien la propuesta de Donk (1961) de agruparlos en la familia Gomphaceae considerando básicamente caracteres microscópicos, vino a cambiar radicalmente la idea de que las formas de los basidiomas, al menos dentro del tradicional orden Aphyllophorales, poco tenían que ver con la relación que guardaban entre sí los géneros, tuvieron que pasar varias décadas para que esta clasificación tuviese aceptación, en el transcurso de los cuales y de manera paralela, otros autores especularon algunas relaciones entre estos géneros, aunque fueron pocos los que plasmaron claramente sus ideas a través de algún sistema clasificatorio (Corner, 1970; Petersen, 1971, 1988; Hawksworth *et al.*, 1995). Es así como hasta 1995, han sido planteadas al menos cuatro alternativas clasificatorias para los géneros *Beenakia*, *Gomphus*, *Kavinia*, *Lentaria*, *Ramaria*, *Ramaricium*, *Gloeocantharellus*, *Pseudogomphus*, *Delentaria* y *Terenodon*, que van desde agrupar a todos en la familia Gomphaceae (Donk, 1961) o en Ramariaceae, Hydanaceae y Cantharellaceae (Corner, 1970) dentro del orden Aphyllophorales; diferenciarlos en cuatro familias (Ramariaceae, Lentariaceae, Gomphaceae y Beenakiaceae) dentro de un orden Gomphales (Jülich, 1981) o tres familias (Ramariaceae, Gomphaceae y Lentariaceae) en un orden Gomphales y una (Beenakiaceae) en el orden Boletales (Hawksworth, *et al.*, 1995), existiendo también opiniones intermedias en cuanto a que géneros agrupar dentro de cada familia (Petersen, 1988, Estrada-Torres, 1994). Si bien todas estas clasificaciones han intentado integrar información comparativa acerca de estos géneros, la problemática es saber cuál de ellas está planteando la mejor hipótesis de agrupamiento con base en las relaciones evolutivas de los organismos.

Los organismos pueden parecerse por compartir caracteres que se hallaban en un ancestro lejano o por caracteres presentes en el ancestro común más reciente que dió origen al grupo del que forman parte (Crisci, 1998). Es tarea de la sistemática el descubrimiento de la organización e interpretación de toda esa variación que se observa en los seres vivos y el planteamiento de hipótesis, que nos permitan analizar y sintetizar la información dentro de un sistema de clasificación, que además de ser predictivo, refleje la historia de la vida de estos organismos (Systematics Agenda 2000). No obstante que han surgido diferentes posiciones filosóficas y metodologías para elaborar hipótesis respecto a los procesos que han generado los diferentes patrones biológicos, la revolución conceptual iniciada con los métodos cladísticos ha revitalizado a la sistemática mediante la formalización de los procesos para la evaluación de hipótesis sobre caracteres y grupos taxonómicos (Janvier, 1984; De Luna 1995).

Los análisis filogenéticos se centran en descubrir las relaciones evolutivas entre los grupos de organismos que descienden de un ancestro común; establecen las bases para una clasificación de la diversidad biológica en grupos naturales, es decir, grupos monofiléticos (Patterson, 1978; Forey *et al.* 1992). Los grupos taxonómicos que corresponden a grupos con historia común, no sólo representan nuestro mejor esfuerzo de entendimiento de la

organización de la variación de la biodiversidad, sino que además, las clasificaciones que de ellos se derivan, representan hipótesis sobre grupos naturales, es decir, tales grupos taxonómicos incluyen elementos de la biodiversidad que comparten una historia evolutiva común. Éstos son los únicos grupos que tienen un papel real en los procesos genéticos, fisiológicos, ecológicos, adaptativos, etc. Las inferencias filogenéticas son factibles y necesarias como base para la clasificación, además de que de ellas es posible obtener otro tipo de información como la integración de conocimiento básico y aplicado, micobiotas, monografías, uso de la diversidad biológica, etc. las cuales serán más informativas si se sustentan en una perspectiva histórica que se obtiene al considerar la filogenia de los taxa (Systematics Agenda 2000).

Es así como se decide abordar el estudio filogenético de este grupo de macromicetos, como base para su clasificación, considerando las diferentes alternativas clasificatorias hasta ahora propuestas.

Los análisis preliminares además de evidenciamos que unidades podían funcionar como grupos externos, nos mostraron que si existe un grupo monofilético, el cual puede estar constituido por los géneros *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Ramaria*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium* y *Lentaria* y que internamente es factible reconocer a otros agrupamientos menos inclusivos, pero evidentemente, había que hacer un estudio más profundo de los caracteres a utilizar.

Al igual que en muchos otros análisis filogenéticos, uno de los primeros problemas en la revisión taxonómica de un grupo, es cómo reconocer y definir a los caracteres de una manera precisa, donde todo sistémata frecuentemente se enfrenta a la disyuntiva de decidir qué significan las similitudes observables y continuamente se encuentra cuestionándose si éstas en realidad representan o no homologías reales que permitan reconstruir la filogenia del grupo. Desafortunadamente, la homología como la relación histórica de dos o más partes no es observable y lo único disponible es el patrón jerárquico de todas las similitudes entre un grupo particular de muestras, por lo que en cualquier tipo de datos, homología primaria es una conjetura que resulta de un proceso inferencial-deductivo (De Pinna, 1991, De Luna y Mishler, 1996).

Siendo éste un grupo macroscópicamente tan heterogéneo, en primera instancia resulta problemático comparar ciertas similitudes donde constantemente surgen interrogantes como: ¿lo pileado-dentado es comparable con lo pileado laminado o lo pileado con venaciones?; ¿el himenóforo dentado de un basidioma resupinado puede ser comparado con el himenóforo dentado de un basidioma pileado-estipitado?; ¿en realidad todas las formas de ornamentaciones que se observan en la superficie de las esporas, corresponden al mismo carácter? Si bien las tecnologías y procedimientos para la obtención de datos en Micología, al igual que en otras ramas de la biología se incrementan día a día y el número de datos generados es cada vez mayor, en muchos casos esto está siendo todavía de manera fragmentaria; es decir han sido aplicadas en pocos casos. Esto ha implicado que a partir de la observación de muy pocos ejemplares o taxones, la información tiende a generalizarse hacia todos los miembros de agrupamientos contenidos en clasificaciones tradicionales, lo que puede conllevar a interpretaciones erróneas de los mismos. Por otra parte, aunque todos los caracteres son potencialmente informativos de historia filogenética, el problema es poder

diferenciar cuál tipo de caracteres puede contener información filogenética a este nivel. De aquí que aunque estas nuevas formas de obtención de datos han vigorizado los estudios sistemáticos en hongos, son los cambios en los métodos de su análisis los que han tenido una influencia más significativa en la taxonomía de estos organismos (De Luna, 1995).

Un análisis cuidadoso de las similitudes permitió reconocer 46 caracteres susceptibles de compararse. No obstante, existieron datos como el de la ornamentación de la superficie de las esporas y formas del apéndice hilar, que a pesar de haberse observado con más detalle, fue problemático homologarlos; de aquí la necesidad de recurrir a la alternativa de ser evaluados bajo diferentes opciones de codificación. El desarrollo de estudios ultraestructurales y ontogenéticos en estas taxa en lo futuro, pueden elucidar una mejor comparación entre estas similitudes. Varios caracteres que tradicionalmente han sido considerados diagnósticos de ciertos géneros, como la reacción del himenóforo a las sales de hierro, los diferentes patrones de ornamentación de las esporas, presencia de fibulas ampuliformes, entre otros, fueron encontrados como simpleseomórficos es decir, con una distribución no informativa a nivel de orden o familia. Otras características observadas en algunas unidades, como consistencias, olor, sabor, reacciones macroquímicas u otros atributos microscópicos de los basidiomas, no pudieron ser evaluados por falta de datos en la mayoría de los taxa o continuidad cualitativa en los mismos; al respecto, es importante mencionar que la limitante de trabajar con ejemplares de colecciones que cambian sustancialmente su morfología de la condición fresca a la herborizada, es sobresaliente en muchos de estos casos.

Los resultados hasta ahora obtenidos nos indican que, en contraste con lo propuesto inicialmente por Donk (1964) para Gomphaceae; Corner (1970) para Ramariaceae, Hydnaceae y Cantharellaceae; Jülich (1981) para Gomphales y Hawksworth *et al.* (1995) para Gomphales y Boletales, el conjunto de los géneros *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium* y *Ramaria* conforman un grupo monofilético y que como se muestra en las Figs. 1, algunos de estos esquemas clasificatorios son parcialmente coincidentes (Donk, 1961; Jülich, 1981; Hawksworth *et al.*, 1995) con la hipótesis obtenida en este estudio y que por el contrario, en otros casos, son marcadamente contrapuestas (Corner, 1970).

Los resultados de los análisis de parsimonia son consistentes también con la exclusión de la familia Lentariaceae del principal grupo monofilético obtenido y sólo la retención de los géneros: *Gomphus*, *Gloeocantharellus*, *Kavinia*, *Beenakia*, *Ramaricium* y *Ramaria* dentro de éste. El nombre de Gomphales puede ser aplicado a este grupo monofilético, como anteriormente lo había propuesto Jülich, (1981), aunque como ya se mencionó anteriormente, con la modificación de la exclusión de *Lentaria* de este agrupamiento. Dentro de éste orden es factible reconocer también a las familias Beenakiaceae, Gomphaceae y aunque no claramente agrupada a la familia Ramariaceae. El reconocimiento de esta última familia, se considera básicamente por aplicar un nombre a las unidades restantes aquí analizadas y considerando el esquema ya propuesto de Jülich (1981). Sin embargo, como se menciona en el capítulo 2, un análisis subparsimonioso indicó que puede ser monofilético, pero como se refiere también en el capítulo 4, es necesario plantear otro tipo de análisis que pueda dar respuesta a esta alternativa.

El orden Gomphales, estaría representado aquí por hongos que forman basidiomas anuales macroscópicos, resupinados (como en *Ramaricium* o *Kavinia*), ramificados (como en *Ramaria* u ocasionalmente en *Gomphus*) o pileados (*Gomphus*, *Beenakia* y *Gloeocantharellus*), la forma del píleo puede ser variable (flabeliforme, turbinado o infundibuliforme); el estípite cuando presente, puede ser central o excéntrico al resto del basidioma y poco o bien diferenciado del mismo. Contexto homogéneo (no diferenciado en capas que muestren diferente consistencia), blanquecino o de color café en diferentes tonalidades, de consistencia delgada (casi membranosa) y laxa o carnosa en diferente gradación (ocasionalmente con partes gelatinosas). Coloración externa de los basidiomas variable incluyendo tonalidades blanquecinas, brillantes u oscuras. Superficie himenial unilateral o anfigena, lisa, rugosa, en dientes o venaciones con diferente profundidad las cuales pueden anastomosarse formando reticulaciones en diferente gradación.

Sistema hifal monomítico o dimítico con hifas esqueléticas, coscinoidales o gleopleróticas; hifas generativas hialinas con pared delgada o ligeramente engrosada y frecuentemente infladas. Fíbulas presentes en la mayoría de los taxa, las cuales pueden ser simples o ampuliformes. Cistidios poco frecuentes, cuando presentes, elongados y fusiformes. Basidios quíásticos, claviformes, comúnmente tetraspóricos, menos frecuentemente bispóricos, con o sin fíbulas basales. Esporada de color café en varias tonalidades; esporas ornamentadas en diferente gradación y con ornamentación cianófila, inamiloides.

Hábitat: terrestres, humícolas o lignícolas. La distribución hasta ahora conocida para estos taxa, es más amplia en bosques templados, disminuyendo gradualmente hacia bosques subtropicales y tropicales, donde muchos de sus miembros forman asociaciones micorrízicas con plantas o son importantes degradadores de materia orgánica en descomposición (humus o madera principalmente).

Todos estos resultados, soportan también el punto de vista de que en la evolución de los Gomphales está presente una extensiva convergencia y paralelismo de formas morfológicas del basidioma e himenio y aunque al respecto se han planteado diferentes hipótesis, los datos aquí obtenidos apoyan la idea de que la forma clavada es una de las más primitivas dentro de este grupo, evolucionando hacia formas ramificadas y que las formas pileadas surgen más de una vez en diferentes agrupamientos, siendo las formas resupinadas modificaciones secundarias a partir de otras formas.

Hasta aquí hemos avanzado en el reconocimiento de un grupo monofilético, pero la misma iteratividad de la sistemática filogenética, nos lleva con estas bases, a hacernos nuevos cuestionamientos tanto a niveles taxonómicos más inclusivos como internamente en los Gomphales. En el primer caso, una de las primeras preguntas que surge es: ¿quien es el grupo hermano del principal grupo monofilético aquí reconocido? *Lentaria*, *Ramariopsis* o incluso *Clavariadelphus*? Del género *Lentaria* por una parte, aunque con 17 especies hasta ahora descritas, la alternativa inmediata puede ser el tratar de agregar más unidades al análisis que puedan representar mejor su variación. Sin embargo, en el caso de *Ramariopsis*, la problemática es más acentuada ya que no existen hasta ahora propuestas de consenso sobre la delimitación del género donde dependiendo del punto de vista, puede estar constituido entre 8 y 25 especies (Comer, 1970; Petersen, 1978), representar toda esta

variación es un reto mayor. En un nivel todavía más inclusivo, Hibbett *et al.*, (1997) y Pine *et al.*, (1999), han propuesto un linaje “gomfoide-faloide” donde quedan agrupados géneros como *Gloeocantharellus*, *Gomphus*, *Ramaria*, *Lentaria*, *Clavariadelphus*, *Sphaerobolus*, *Geastrum* y *Pseudocolus*. De acuerdo a la hipótesis generada en los estudios aquí presentados, la inclusión de *Lentaria* y *Clavariadelphus* dentro de los Gomphales no está completamente en conflicto con las presentadas por estos autores, esto puede ser sólo diferencia de rango. No obstante, nuestros resultados mostraron que el clado que incluye a *Lentaria*, *Ramariopsis* y *Clavariadelphus* más los Gomphales no es estable en ninguno de los consensos estrictos obtenidos, además de ser menos robusto como lo sugirieron los análisis de deacaimiento. Por otra parte, el análisis de “constraint”, mostró que incluir a *Clavariadelphus* dentro de los Gomphales, genera una estructura un paso menos parsimoniosa donde sólo es situado como grupo hermano del principal clado aquí reconocido. Sin embargo, al comparar estos trabajos, es evidente que hay disparidad en cuanto a las unidades examinadas. Hibbett *et al.*, (1997) y Pine *et al.*, (1999), no incluyen a unidades como *Beenakia*, *Kavinia*, *Ramaricium* y *Ramariopsis*; en éste trabajo no se encuentran representado ningún phalloide, pero fue evidente que *Ramariopsis* guarda una relación cercana a *Lentaria* y *Clavariadelphus*. Futuros estudios que incluyan datos morfológicos y/o moleculares, tendrán que considerar estas nuevas hipótesis de clasificación, con la representación de un mayor número de unidades, que den respuestas más robustas a éste nivel.

Internamente en los Gomphales, es inminente la pregunta de: ¿los géneros *Pseudogomphus*, *Delentaria* y *Terenodon*, pertenecen al principal grupo monofilético evidenciado en este trabajo?. Tradicionalmente se ha especulado que sí, por la similaridad que se observa en cuanto a las características de sus esporas de los taxa incluidos en Gomphaceae *sensu* Donk con éstos géneros (Maas Geesteranus, 1971; Hawksworth *et al.*, 1995). Sin embargo si la hipótesis aquí presentada es robusta, es de esperarse que al menos el género *Delentaria* que presenta esporas hialinas y lisas, similares a las de *Lentaria* no se agrupe con el principal clado monofilético reconocido en nuestro estudio como Gomphales, ya que todos los taxa en el incluidos, presentan esporas ocráceas, ornamentadas y con reacción cianófila. Estos géneros fueron descritos posteriormente a la propuesta de Donk (1961), son monoespecíficos de los cuales sólo se conoce el material tipo el cual después de pertenecer a una colección particular, fueron recientemente incorporados al Herbario de Edimburgo (E), debido a lo cual no han podido ser revisados en detalle ya que la información bibliográfica hasta ahora existente sobre ellos, es limitada.

Un detallado análisis cladístico es también requerido para la colección de especies clasificadas hasta ahora dentro del género *Ramaria*, para resolver el cuestionamiento de si las más de 110 especies descritas hasta ahora dentro de este género, pueden ser reconocidas formalmente como un grupo taxonómico separado dentro de los Gomphales.

Aún dentro de éste como en futuros planteamientos en torno a los Gomphales, la fuente de caracteres morfológicos no está agotada, muchos otros datos necesitan ser explorados. Por ejemplo, si bien la microscopía electrónica de barrido ha facilitado la observación de superficies, los pocos estudios de microscopía electrónica de transmisión han revelado sólo parcialmente la ultraestructura de esporas y prácticamente no se conoce

nada de las hifas, basidios, cistidios, etc. La observación del desarrollo en organismos multicelulares a menudo es complejo y depende de una multitud de cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos, regulados por morfógenos, hormonas y factores de crecimiento (Moore, 1996), y la mayoría de las observaciones sólo han hecho alusión a la morfología externa, por lo que prácticamente no se conoce nada del desarrollo de estructuras, ni de caracteres químicos o estudios ontogenéticos, que potencialmente pueden ser importantes para construir la clasificación. Evidencia adicional a partir del desarrollo de estudios moleculares donde también es factible encontrar información histórica a diferentes niveles, puede ser requerida para complementar estos estudios.

#### BIBLIOGRAFÍA CITADA

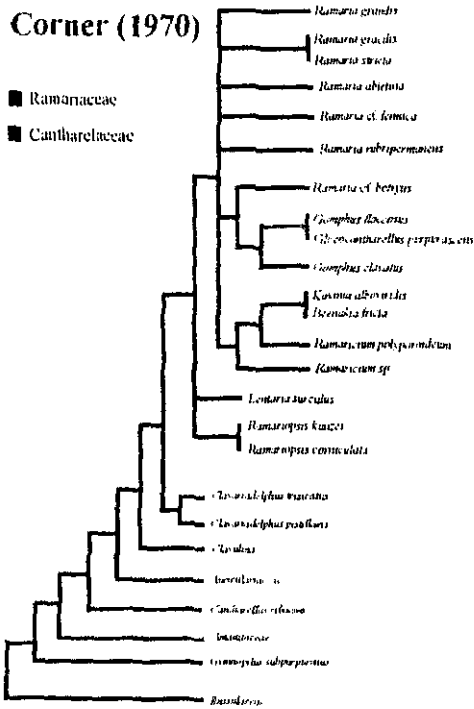
- Anónimo 1994. Systematics Agenda 2000. Charting the biosphere. Produced by Systematics Agenda 2000, a consortium of the American Society of Plant Taxonomists, the Society of Systematic Biologists and Willy Hennig Society, in cooperation with the Association of Systematics Collections.
- Brooks, D.R. and E.O. Wiley 1985. Theories and methods in different approaches to phylogenetic systematics. **Cladistics** 1: 1-11.
- Corner, E.J.H. 1970. **Supplement to a monograph of *Clavaria* and allied genera.** Cramer, Lehre.
- Crisci, J.V. 1998. La sistemática de nuestro tiempo: hechos, problemas y orientaciones. **Bol. Soc. Bot. México** 63: 21-32.
- De Luna, E. y B.D. Mishler, 1996. El concepto de homología filogenética y la selección de caracteres taxonómicos. **Bol. Soc. Bot. México** 59: 131-146.
- De Luna, E. 1995. Bases filosóficas de los análisis cladísticos para la investigación taxonómica. **Acta Botánica Mexicana** 33: 63-79.
- De Pinna, M.C.C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. **Cladistics** 7: 367-394.
- Donk, M.A. 1961. Four new families of Hymenomycetes. **Persoonia** 1: 405-407.
- Donk, M.A. 1964. A conspectus of the families of the Aphylophorales. **Persoonia** 3: 199-324.
- Eldredge, N. and J. Cracraft 1980. **Phylogenetic patterns and the evolutionary process. Method and theory in comparative biology.** Columbia University Press, New York.
- Estrada-Torres, A., 1994. **La familia Gomphaceae (Aphylophorales: Fungi) en el estado de Tlaxcala.** Tesis Doctoral. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, del IPN.
- Forey, P.L., J. C. Humphries, I.J. Kitching, R.W. Scotland, D.J. Siebert and D.M. Williams 1992. **Cladistics. A Practical Course in Systematics.** Clarendon Press, Oxford.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton and D.N. Pegler, 1995. **Dictionary of the fungi.** International Mycological Institute, CAB International, Wallingford.

- Hibbett, D., E.M. Pine, E.Langer, G.Langer and M.J. Donoghue, 1997. Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. **Proc. Natl. Acad. Sci.** **94**: 12002-12006
- Janvier, P. 1984. Cladistics: theory, purpose and evolutionary implications. *In*: Pollard, J.W. (ed.). **Evolutionary theory paths into the future**. Wiley Interscience, New York.
- Jülich, W., 1981. **Higher taxa of Basidiomycetes**. J. Cramer, Vaduz.
- Maas Geesteranus, R.A., 1971. **Hydnaceous Fungi of the Eastern Old World**. North-Holland Publishing Company, London.
- Moore, D., 1996. Inside Developing mushroom-cells, tissues and tissue patterns. *In*: Chiu, S.W. and D. Moore (eds.). **Patterns in Fungal Development**. Cambridge University Press, New York.
- Patterson, C. 1978. Verifiability in systematics. **Systematic Zoology** **27**: 218-222.
- Petersen, R.H., 1971. Progress in the study of clasification of the higher Basiomycetes. *In*: Petersen, R.H. (ed.). **Evolution in the higher Basidiomycetes**. University of Tennessee Press. Knoxville. pp. 3-28.
- Petersen, R.H., 1978. Notes on clavarioid fungi. XV. Reorganization of *Clavaria*, *Clavulinopsis* and *Ramariopsis*. **Mycologia** **70**: 660-671.
- Petersen, R.H., 1988. **The Clavarioid Fungi of New Zealand**. Science Information Publishing Centre, Wellington.
- Pine, E.M., D.S. Hibbett and M.J. Donoghue, 1999. Phylogenetic relationships of cantharelloid and clavarioid Homobasidiomycetes based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. **Mycologia** **91**: 944-963.



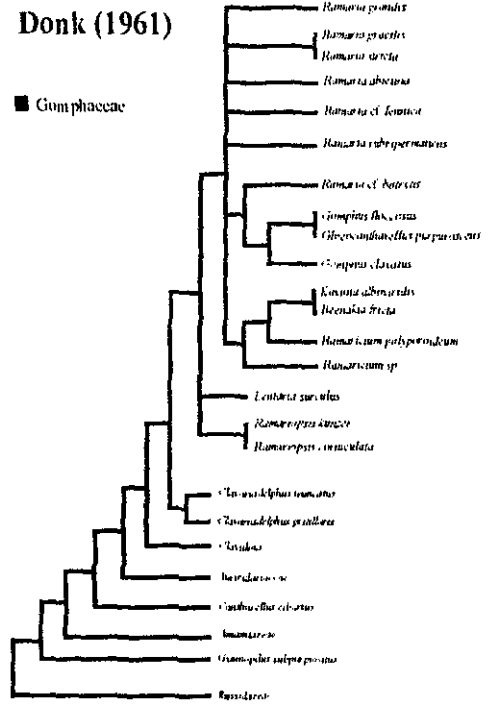
**Corner (1970)**

- Ramariaceae
- Cantharellaceae



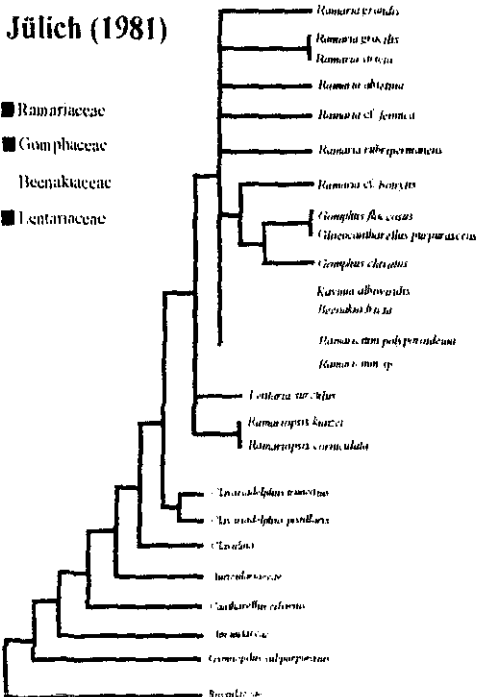
**Donk (1961)**

- Gomphaceae



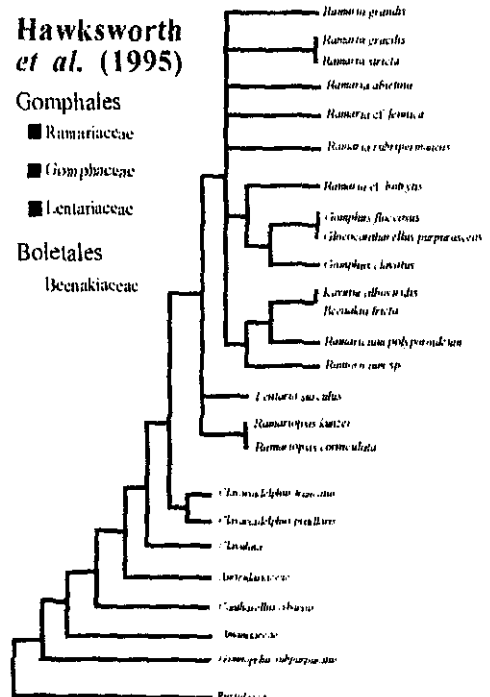
**Jülich (1981)**

- Ramariaceae
- Gomphaceae
- Boenakiaceae
- Lentinaceae



**Hawksworth et al. (1995)**

- Gomphales
- Ramariaceae
- Gomphaceae
- Lentinaceae
- Boletales
- Boenakiaceae



**Figura 1:** Hipótesis de las relaciones filogenéticas de Gomphales, desarrolladas en el presente trabajo. En cada caso la filogenia es la misma y sólo se marcan en color la distribución de los taxa de acuerdo a propuestas previas de clasificación.

## **ANEXO**

**LISTA DE EJEMPLARES EXAMINADOS PARA LA REVISIÓN DE CARACTERES MORFOLÓGICOS DE LOS TAXA INCLUIDOS EN LOS DIFERENTES ANÁLISIS.**

***Beenakia fricta* Maas G.**

**MÉXICO: VERACRUZ:** Mpio. de Amatlán de los Reyes, SO de Peñuela, cerro de La Cueva de Lourdes, jul. 26, 1990, **G. Guzmán 29615 (XAL).**

***Gloeocantharellus purpurascens* (Hesler) Sing.**

**MÉXICO: VERACRUZ:** Mpio. de Xalapa, SO de Xalapa, camino a San Andrés Tlanelhuayocan, colonia Cerro Colorado, nov. 21, 1990, **F. Tapia 422 (XAL)**, ag. 19, 1990, **F. Tapia 209 (XAL).**

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: CAROLINA DEL NORTE:** Coweeta Hydrologic Lab. Macon Co., jul. 22, 1987, **E. Horak s.n. (TENN 47427)**; Indian Creek, ag. 24, 1941, **L.R. Hesler s.n. (TENN 13977).**

***Gomphus clavatus* Pers. per S.F. Gray**

**MÉXICO: HIDALGO:** Huasca, Ag. 14, 1978, **E. Pérez, R. Hernández y R. Lamothe 12237 (MEXU).** 1 km al SO de Huasca, cerca de la carretera Pachuca-San Miguel Regla, jul. 28, 1968, **G. Guzmán 6845 (ENCB)**; 2 km al SO de Huasca, carretera Pachuca-San Miguel Regla, oct. 19, 1969, **G. Guzmán 7751 (ENCB).** **MICHOACÁN:** Mpio. de Charo, Parque Nacional Insurgente José Ma. Morelos, sept. 9, 1983, **Arias Montes S. s.n. (FCME 11541)**; Puerto Garnica a 49 kms de Cd. Hidalgo, carretera Morelia-México, sept. 6, 1981, **L. Dávalos 249 (ENCB).** **QUERÉTARO:** Parador Santa Martha, km 230 carretera Jalpan-Xilitla, sept. 10, 1988, **R. Nava 354 (ENCB)**

**SUIZA:** sept. 9, 1972, **Bienz Herr S. 24 (TENN 36781)**; ejemplar adquirido en la Exposición Micológica de Davos, ag. 30, 1971, **G. Guzmán 9502 (ENCB).**

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: MICHIGAN:** Northeast corner of Otsego Co., ag. 5, 1968, **R.L. Shaffer s.n. (ENCB).** **IDAHO:** Priest River N Idaho, sept. 28, 1966, **A.H. Smith s.n. (TENN 31935).**

***Gomphus floccosus* (Schw.) Sing.**

**MÉXICO: DISTRITO FEDERAL:** Deleg. Cuajimalpa, Desierto de los Leones, oct. 4, 1978, **Rojas Granados s.n. (FCME 518).** **ESTADO DE MÉXICO:** Mpio. de Amanalco, Agua Bendita, km 39 carretera Toluca-Amanalco-Valle de Bravo, jul. 7, 1990, **Elizalde López s.n. (FCME 3326)**; Mpio. de Villa de Allende, Parque Bosencheve, ag. 19, 1980, **Cifuentes 777 (FCME 10621).** **GUERRERO:** Mpio. de Chichihualco, Km 4.5 entre El Carrizal y Atoyac, ag. 6, 1982, **Urbán P. s.n. (FCME 12105)**; **Pérez-Ramírez 4 (FCME 10128).** **HIDALGO:** Mpio. del Mineral del Monte, Pueblo Nuevo, El Chico, ag. 15, 1978, **Pérez-Silva s.n. (MEXU)**; Parque Nacional El Chico, sept. 3, 1978, **J. Rzedowski s.n. (ENCB)**; Llanos Grandes, Parque Nacional El Cerezo, sept. 18, 1983, **E. Fanti 384 (IBUG).** **JALISCO:** Mpio. de Cd. Guzmán, subida antigua al Nevado de Colima, 1 km antes de

llegar a los depósitos, ag. 3, 1992, **R. Rodríguez-Delgadillo 2381 (IBUG)**; alrededores del refugio La Joya, Parque Nacional Nevado de Colima, oct. 13, 1994, **S.V. Rubio 119 (IBUG)**; Nevado de Colima, sept. 14, 1994, **J. Ruíz s.n. (IBUG)**. MICHUACÁN: Mpio. de Cd. Hidalgo, km 186 carretera Toluca-Morelia, jul. 29, 1983, **Márquez V. s.n. (FCME 11572)**; Parque Nacional Cerro Garnica, ag. 18, 1983, **Fajardo O. s.n. (FCME 12075)**; Mpio. de Zinapécuaro, Laguna Larga, zona de protección forestal Los Azufres, ag. 19, 1988, **Villegas R.M. 1109 (FCME 14655)**. TLAXCALA: Mpio. de Ixtenco, Volcán La Malintzi, Cañada Grande, jul. 30, 1988, **A. Montoya-Esquivel 133 (TLXM)**; jul. 25, 1990, **A. Montoya-Esquivel 703 (TLXM)**; sep. 28, 1988, **A. Kong-Luz 976 (TLXM)**; ag. 30, 1991, **A. Kong-Luz 2143 (TLXM)**; ag. 4, 1989, **A. Montoya-Esquivel 388 (TLXM)**; jul. 25, 1990, **A. Montoya-Esquivel 703 (TLXM)**; Mpio. de Tlaxco, Barranca del Río Zahuapan, 6 kms al E de Tlaxco, sep. 14, 1993, **JLM y P-1742 (TLXM)**; Parque recreativo El Rodeo, jul. 16, 1992, **Trevilla y Hernández Muñoz 402 (FCME 5235)**; Mpio. de Trinidad Sánchez Santos, ladera SE del Volcán La Malintzi, de 4-7 kms al E de Fco. Javier Mina, may. 27, 1994, **A. Kong-Luz 2681 (TLXM)**; Mpio. de Tlaxco, 5 km al NO de Tlaxco, barranca del Río Zahuapan, jul. 29, 1994, **A. Estrada-Torres 3576 (TLXM)**; Mpio. de Tlaxco, Tlaxco, ag. 10, 1989, **A. Montoya Esquivel 436 (TLXM)**; Mpio. de Huamantla, Cañada Grande, ladera E del volcán La Malintzi, Parque Nacional La Malinche, sept. 19, 1990, **A. Estrada-Torres 3121 (TLXM)**. VERACRUZ: Atopa 1.9 kms al O de Tembladeras, ejido Ingenio El Rosario, zona E del Cofre de Perote, may. 23, 1985, **V.M. Bandala 122 (XAL)** y oct. 13, 1985, **V.M. Bandala 557 (XAL)**; presa del Alto Pixiquiac, camino a Tembladeras, zona O del Cofre de Perote, jul. 16, 1981, **G. Guzmán 19519 (XAL)**; Mpio. de Villa Aldama, Cruz Blanca, jun. 14, 1994, **V.M. Bandala 2470 (XAL)**; Mpio. de Xico, Los Gallos, ejido Ingenio El Rosario, sept. 24, 1986, **L. Villarreal 2657 (XAL)**.

ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: CAROLINA DEL NORTE: Highlands, ag., 16, 1936, **F.R. Bralish 1015 (TENN 9248)**. OHIO: Cedar Falls State Park, Hocking Co., jun 8, 1972, **W.B. & V.G. Cooke 45677 (TENN 44850)**

***Kavinia alboviridis* (Morg.) Gilbert.**

MÉXICO: TLAXCALA: Mpio. de Ixtenco: Volcán La Malintzi, Cañada Grande, ag. 15, 1987, **A. Estrada-Torres 1947 (TLXM)**; ag. 12, 1988, **A. Estrada-Torres 2288 (TLXM)**; ag. 22, 1990, **A. Estrada-Torres 3058 (TLXM)**; sep. 19, 1990, **A. Estrada-Torres 3121 (TLXM)**.

INDIA: Seoj. Bhadarwah, J & K, oct. 6, 1966, **H. S. Khara 4143 (TENN 38377)**; Kothi, Kulm, H.P., oct. 15, 1965, **H.S. Khara 4070 (TENN 38349)**.

***Lentaria surculus* (Berk.) Corner**

MÉXICO: CHIAPAS: Yaxchilán, dic. 19, 1985, **L. Butrón s.n. (ENCB)**; Mpio. de Ocosingo, Bonampak, en. 17, 1984, **J.C. Anell 86-A (XAL)**. QUINTANA ROO: campo experimental San Felipe Bacalar, Chetumal, ag. 23, 1980, **R.E. Chio 93 (ENCB)**; km 8

carretera Puerto Morelos-Vallarta, ag. 8, 1983, **G. Guzmán 23836 (ENCB)**. VERACRUZ: Estación Biológica de los Tuxtlas, camino Catemaco-Montepio, jul. 9, 1972, **G. Guzmán 10207-B (ENCB)**. YUCATÁN: 14 kms al SO de Colonia, ag. 5, 1978, **K.D. McFarland & A.J. Sharp s.n. (ENCB)**.

NUEVA ZELANDA: Ngomoko Track, Urewera N.P., may. 26, 1981 **R. H. Petersen 597 (TENN 42201)**.

VENEZUELA: Territorio Federal Amazonas, Departamento Rio Negro, 2 km al E de Culebra, a lo largo del Rio Cunucunuma, ag., 10, 1987, **R.E. Halling 5472 (TENN 47557)**.

***Ramaria abietina* (Pers. : Fr.) Quél.**

MÉXICO: ESTADO DE MÉXICO: Mpio. de Ocuilan, Parque Nacional Lagunas de Zempoala, alrededores de la Laguna de Quila, jun. 28, 1986, **A. Estrada-Torres 1597 (TLXM)**; Quila, sept. 26, 1996, **Villegas R.M. 1842 (FCME)**; Mpio. de Ocuilan, Alrededores de la Laguna de Quila, Parque Nacional Lagunas de Zempoala, ag. 1, 1987, **A. Estrada-Torres 1903 (TENN)**; km 3.5 carretera Sta. Martha-Lagunas de Zempoala, ag. 28, 1966 **Hernández y Sánchez 430 (ENCB)**; Mpio. de Naucalpan, carretera Naucalpan-Toluca, La Glorieta, desviación hacia Villa Alpina, sept. 25, 1988, **R. Nava s.n. (ENCB)**. HIDALGO: Mpio. de Omitlán de Juárez, a 5 kms de Omitlán de Juárez rumbo a Pachuca, sept. 4, 1980, **Cifuentes 895 (FCME 11210)**; Parque Nacional El Chico, Sn Miguel El Cerezo, oct. 17, 1982, **R. Valenzuela 837 (ENCB)**. TLAXCALA: Mpio. Trinidad Sánchez Santos, Volcán La Malintzi, Ladera SE de 5-6 kms al E de Fco. Javier Mina, ag. 10, 1994, **L. Hernández Díaz 34 (TLXM)**.

ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: CALIFORNIA, Patrick's point St. Pk. California, nov. 12, 1967, **R. H. Petersen 2961 (TENN 33323)**. MICHIGAN: Rush Lake, Marguette Co., ag. 26, 1971, **Jenkins s.n. (TENN 36222)**

***Ramaria cf. botrytis* (Fr.) Rick.**

MÉXICO: DURANGO: Reserva de la Biósfera de la Michilía, 20-30 kms al S de Piedra Herrada, ag. 18, 1982, **G. Rodríguez 601 (ENCB)**. ESTADO DE MÉXICO: Las Rajas, km 29 carretera México-Toluca vía Naucalpan, ag. 15, 1968, **E. González 95 (ENCB)**. HIDALGO: Real de Huasca, jul. 30, 1976, **R. Lamothe y E. Pérez 70 (MEXU)**; 1 km al SO de Huasca, cerca de la carretera Pachuca-San Miguel Regla, jul 28, 1968, **G. Guzmán 6857 (ENCB)** y **G. Guzmán 6854 (ENCB)**. GUERRERO: Mpio. de Taxco, km 2 desviación al Cerro del Huizteco, ag. 10, 1985, **López S. y Villegas R. M. 575 (FCME 13611)**. JALISCO: Zapopan, alrededores de la U.A.G., sept. 28, 1987, **S.M. Martínez 30 (IBUG)**; ejemplar obtenido en la segunda exposición de Hongos de Jalisco, ag. 15, 1982, **G. Nieves Hdz. s,n, (IBUG)**; km 12-13 de la brecha a la Estación de Microondas en el Cerro de Tequila, sept. 28, 1986, **M. Olivia Rdez. 449 (IBUG)**; Mpio. de Tequila, Montaña Azul, faldas del Volcán Tequila, ag. 10, 1984, **L. Guzmán-Dávalos 1647 (IBUG)**. MORELOS: camino al Valle de Tepeite, NO de Santa María, oct. 13, 1984, **R. Valenzuela 4287**

(ENCB); Hueyapan, De Avila A., A. Welden y G. Guzmán 11-B (ENCB). QUERÉTARO: Mpio. San Joaquín. Parque San Joaquín, nov. 6, 1983, L. Colón 605 (ENCB); sept. 29, 1884, R. Valenzuela 4179 (ENCB).

***Ramaria cf. fennica* (Karst.) Rick.**

MÉXICO: GUERRERO: Mpio. de Taxco, km 2 desviación al Cerro del Huizteco, jul. 20, 1985, López S. y Villegas R.M. 437 (FCME 13227), Lina y Cifuentes 2092 (FCME 13508), Parque Cerro de Huizteco, jul. 19, 1985, Delgado F. y Santiago 23 (FCME 13383), Gavito y Santiago 21 (FCME 13604); Mpio. de Chilpancingo, camino a la Cañada de Agua Fría, Omoltemi, jul. 10, 1985, Villegas R. M. 364 (FCME 13131); Mpio. de Tlapa, km 18 de la desviación a Zapotitlán, carretera Chilpancingo-Tlapa, ag. 20, 1981, Cappello 170 (FCME 11982); Mpio. de Atlixac, km 76 carretera Chilpancingo-Tlapa, jul. 16, 1982, Rodríguez s.n. (FCME 1755).

***Ramaria gracilis* (Pers. : Fr.) Quél.**

MÉXICO: ESTADO DE MÉXICO: Mpio. de Amanalco, Agua Bendita, km 39 carretera Toluca-Amanalco-Valle de Bravo, jul. 7, 1990, Villegas R.M. 1353 (FCME 3328), sept. 8, 1990, Villegas R.M. 1412 (FCME 3324); Mpio. de Temascaltepec, desviación a El Polvorín, km 54 carretera Toluca-Temascaltepec, jul. 23, 1988, Pérez-Ramírez y Torres 870 (FCME 14452); Mpio. de Valle de Bravo, km 21 de la desviación a Valle de Bravo, carretera Toluca-Temascaltepec, oct. 7, 1989, Villegas R.M. 1318 (FCME 2431); km 4 circuito Manantiales-Avandaró, jul. 22, 1989, Carranza C. y Villegas R.M. 1242 (FCME 2140); Mpio. de Villa de Allende, unidad de experimentación y monitoreo de la biodiversidad San Cayetano, ag. 12, 1994, Villegas R.M. 1668 (FCME 6610). GUERRERO: Mpio. Chilpancingo, Cañada de La Perra, Omiltemi, ag. 20, 1985, Padilla, H. s.n. (FCME 13063); Palo Hueco, Omiltemi, jul. 9, 1984, López Ch. s.n. (FCME 13075). MICHOACÁN: Mpio. de Cd. Hidalgo, Parque Nacional Cerro Garnica, oct. 6, 1983, Fajardo Ortiz s.n. (FCME 11330); km 163 carretera Toluca-Morelia, jul. 28, 1983, Illescas M. s.n. (FCME 11711). TLAXACALA: Mpio. de Tlaxco, km 4-5 El Rosario-Parque recreativo El Rodeo, ag. 15, 1992, Hernández Muñoz y Pedraza 1042 (FCME 2150).

ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: CALIFORNIA: Siskiyou Co., W.B. Cooke 5000 (TENN 31199). CAROLINA DEL NORTE: Shortoff Road., Macon Co., jul. 28, 1963, R. H. Petersen 447 (TENN 30969);

***Ramaria grandis* (Pk.) Corner**

MÉXICO: JALISCO: Estación Biológica Chamela, sept. 18, 1976, R. Hernández M. 10964 (MEXU). GUERRERO: Mpio. de Taxco, Parque Cerro del Huizteco, sept. 19, 1994, Villegas R.M. 1691 (FCME 7764).

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: CAROLINA DEL NORTE:** Coweeta Hydro. Lab. Macon Co. ag. 15, 1971, **R.H. Petersen s.n. (TENN 36164)**. **TENNESSEE:** Blount Co. of The Great Smoky Mountains National Park, sept. 19, 1966, **PDO s.n. (TENN 32324)**

***Ramaria rubripermanens* Marr & Stuntz**

**MÉXICO: TLAXCALA:** Mpio. de Tlaxco, El Rosario, Cerro El Peñón, jul. 24, 1991, **A. Estrada-Torres 3244 (TLXM)**; camino hacia La Cascada, Mariano Matamoros, ag. 11, 1993, **A. Kong Luz 2589 (TLXM)**; Mpio. de Ixtenco, Cañada Grande, Volcán La Malintzi, jul. 31, 1988, **A. Estrada-Torres 2196 (TLXM)**, nov. 4, 1988, **A. Estrada-Torres 2426 (TLXM)**, jul. 31 1991, **A. Estrada-Torres 3253 (TLXM)**; Ejido Mariano Matamoros, camino hacia La Casacada, ag. 11, 1993, **A. Kong Luz 2594 (TLXM)**; Javier Mina, may. 18, 1990, **A. Montoya Esquivel 608 (TLXM)**.

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: IDAHO:** Kootenar Co., jun. 7, 1954, **R.H. Petersen 55537 (TENN 45911)**. **OREGON:** Morrow Co. Oregon Cutsfork Country Park, jun. 15, 1985, **R.H.Petersen & M. Rogers 59127 (TENN 46683)**

***Ramaria stricta* (Pers. :Fr) Quèl.**

**MÉXICO: ESTADO DE MÉXICO:** carretera a Chalma, zona del Parque Nacional Lagunas de Zempoala, **E. Fanti 194 (ENCB)**; km 125 carretera Toluca-Colorines, Estación Cinegética S.A.G., jun. 21, 1959, **G. Guzmán s.n. (ENCB)**; Salazar, Cerro La Campana, sept. 1, 1963, **M. Gispert y T. Herrera (MEXU 2645)**; carretera a Chalma, 6 kms adelante del Parque Nacional Lagunas de Zempoala, **R. Hirata 316 (ENCB)**; Mpio. de Amanalco, Agua Bendita, km 39 carretera Toluca-Amanalco-Valle de Bravo, jul. 21, 1990, **Villegas R.M. 1384 (FCME 3319)**. **GUERRERO:** Mpio. de Chichihualco, km 4.5 entre El Carrizal y Atoyac, sept. 20, 1980, **Báez Razo s.n. (FCME 11991)**; Mpio. de Tlapa, km 18 sobre la desviación a Zapotitlán, carretera Chilpancingo-Tlapa, ag. 18, 1981, **Cappello S. 171 (FCME 4696)**. **JALISCO:** Mpio. de Cd. Guzmán, Nevado de Colima, km 14 brecha El Fresnito-Antenas del Canal 13, sept. 12, 1986, **L. Guzmán-Dávalos 3595 (IBUG)**; Mpio. de Manzanmitla, Sierra de Manzanmitla, sept. 8, 1991, **J. Rodríguez González 4 (IBUG)**. **OAXACA:** La Cumbre, ag. 21, 1976, **E. Pérez, R. Hernández y E. Aguirre (MEXU)**. **PUEBLA:** km 7 carretera Zaragoza-Zacapoaxtla, sept. 16, 1980, **E. Pérez et al. (MEXU)**. **NAYARIT:** Mpio. de Tepic, La Noria, Reserva Ecológica del Cerro San Juan, sept. 25, 1991, **Villegas R.M. 1431 (FCME 4076)**. **TLAXCALA:** Mpio. de Tlaxco, parque recreativo El Rodeo, sept. 4, 1992, **Pedraza Casado y Hernández Muñoz 464 (FCME 4765)**; km 4-5 del Rosario-Parque recreativo El Rodeo, sept. 5, 1992, **Villegas R.M. 1510 (FCME 4938)**; Mpio. de Terrenate, Cañada Villareal, sept. 22, 1993, **A. Estrada-Torres 3551 (TLXM)**

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA:** California, nov. 11, 1967, **R.H.Petersen 3002 (TENN 33229)**. **IDAHO:** Binarch Creek, sept. 14, 1965, **A.H. Smith and R.H.Petersen 2540 (TENN 31891)**

***Ramaricium polyporoideum* (Berk. et Curt.) Ginns.**

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: MARYLAND:** Prince Frederick Co., Scientists Cliffs, apr. 12, 1992, **E. & D. Farr, J. Ginns 09732 y 09733 (NFC 215162, 1110140; NFC 215163, 111039).**

***Ramaricium* sp.**

**INDIA:** Jagat Sukh, Kuln, sept. 24, 1971, **S.S. Rattan 4370 (TENN 38511), S.S. Rattan 4371 (NFC USO295965).**

***Ramariopsis corniculata* (Schaeff.) Petersen**

**MÉXICO: ESTADO DE MÉXICO:** Mpio. de Temascaltepec, desviación a El Polvorín, km 54 carretera Toluca-Temascaltepec, sept. 24, 1988, **Villegas R.M. 1144 (FCME 14482).** **GUERRERO:** Mpio. de Taxco, Parque Cerro del Huizteco, sept. 6, 1985, **Delgado F. y Pérez-Ramírez 569 (FCME 14482).** **MICHOACÁN:** Mpio. de Ocampo, Laguna Seca, sept. 17, 1999, **García-Sandoval 1999-3 y 1999-6 (FCME).**

**BÉLGICA:** Hamoir, Belgium, oct. 28, 1950, **F. Darimont (TENN 41318)**

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: MICHIGAN:** Wilderness State Park, sept. 8, 1951, **C.R. Leathers s.n. (TENN 31219)**

**NUEVA ZELANDA:** Lake Waikaremoana, Urewera N.P., **R.H. Petersen 502 (TENN 42314)**

***Ramariopsis kunzei* (Fr.) Donk**

**MÉXICO: ESTADO DE MÉXICO:** Mpio. de Valle de Bravo, km 4 circuito Manantiales-Avándaro, oct. 8, 1989, **Villegas R.M. 1326 (FCME 2146);** km 4.5 circuito Manantiales-Avándaro, sept. 10, 1985, **Gutiérrez-Ruíz J. 144 (FCME 2138);** km 21 sobre la desviación a Valle de Bravo, carretera Toluca-Temascaltepec, sept. 18, 1989, **Gutiérrez-Ruíz J. 139 (FCME 2441);** Amecameca, Cañada de Nexpayantla, carretera Nexcapa-Tlamacas, oct. 1974, **Mayo E. 88 (ENCB);** Lagunas de Zempoala, sept. 13, 1959, **Ruíz O. y T. Herrera 3494 (MEXU).** **GUERRERO:** Mpio. de Chichihualco, km 4.5 entre El Carrizal y Atoyac, ag. 30, 1980, **Pérez-Ramírez L. 280 (FCME 11983),** oct. 5, 1980, **Olivo A. s.n. (FCME 12001);** Mpio. de Taxco, Parque Cerro del Huizteco, ag. 30, 1995, **Villegas R. M. 1804 (FCME 7011).** **JALISCO:** Mpio. de Autlán, Puerto de La Vaca en el predio Las Joyas, Sierra de Manantlán, oct. 13, 1985, **L. Guzmán-Dávalos 2848 (IBUG).** **MICHOACÁN:** Zona de Puerto Garnica, Región de Mil Cumbres, sept. 10-12, 1982, **G. Guzmán 22666 (ENCB).**

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA: IDAHO:** Priest River, sept. 19, 1968, **A.H.S. s.n. (TENN 33736);** sept. 25, 1968, **R. H. Petersen 3909 (TENN 34057).** **TENNESSEE:** Great Smoky Mountains National Park, N CRIB GAB, SEPT. 5, 1977, **Chris Petersen s.n. (TENN 40462).**



*Cantharellus cibarius* Fr.

**MÉXICO:** **CHIAPAS:** Mpio.de Ocozocuahutla, Laguna Bélgica km 18.5 carretera Ocozocuahtla-Malpaso, sept. 6, 1979, **Mena Lucía 23 (FCME 879)**. **CHIHUAHUA:** Mpio. de Bocoyna, Babureachi, 6-7 kms al NNE de Bocoyna, **Moreno Fuentes A. V-12 (FCME 5630)**. **DISTRITO FEDERAL:** Deleg. Tlalpan, Parres, km 38.9 carretera México-Cuernavaca, jul. 28, 1982, **Nava Juárez s.n. (FCME 4735)**. **ESTADO DE MÉXICO:** Mpio. de Villa de Allende, Unidad de experimentación y monitoreo de la biodiversidad San Cayetano, jul. 16, 1994, **Arteaga Hernández y Vidal Gaona 117 (FCME 6490)**; Mpio. de Amanalco, Agua Bendita, Km 39 carretera Toluca-Amanalco-Valle de Bravo, jul. 21, 1990, **Manrique Lozano y Cifuentes 3011 (FCME 3228)**; Mpio. de Temascaltepec, Desviación a Presa Chica, km 71 carretera Toluca-Tejupilco, sept. 23, 1988, **Bronillet T. y Pérez-Ramírez 909 (FCME 14560)**. **GUANAJUATO:** Mpio. de Santa Rosa, Monte San Nicolás, sept. 9, 1995, **Peraza Reyes y Villegas 1814 (FCME 16406)**. **GUERRERO:** Mpio. de Chichuhualco, Los Morros, oct. 5, 1980, **Negrete Zamudio s.n. (FCME 10147)**. **JALISCO:** Mpio. de Tlajomulaco de Zúñiga, Cerro Viejo, arriba de la barranca El Caballito, sept. 6, 1990, **L. Guzmán-Dávalos 5186 (IBUG)**; Cerro Viejo, arriba de la barranca El Caballito, sept. 6, 1990, **D. Vargas 481 (IBUG)**; Mpio. de Autlán, Puerto de los Masos, sept. 25, 1993, **E. Martínez s.n. (IBUG)**; Mpio. de Mascota, La Virgencita, km 22 antes de San Sebastián del Oeste, brecha Mascota-San Sebastian, sept. 11, 1987, **L. Guzmán-Dávalos 4036 (IBUG)**; brecha antigua a San Isidro Mazatepec, 10 km de Guadalajara, ag. 12, 1989, **R. Soltero 786 (IBUG)**; Mpio. de Tecolotlán, 3.5 km al O de Quila, Picacho-Las Vigas, **J.J. Guerrero 897A (IBUG)**; Mpio. de Zapopan, Bosque de la Primavera, km 20 carretera a Nogales, sept. 16, 1992, **M. Rodríguez 6 (IBUG)**; cerro El Tepopote, sept. 24, 1991, **L. Guzmán-Dávalos 5514 (IBUG)**; Mpio. de Tequila, km 4-7 de la brecha a la Estancia de Microondas, región N. del cerro Tequila, ag. 17, 1986, **G. Nieves Hernández s.n. (IBUG)**; km 8 de la brecha de Tequila hacia el cerro Tequila, ag. 19. 1985, **L. Guzmán-Dávalos 2465 (IBUG)**; a 5 kms de La Manzanilla de la Paz, rumbo a Manzanilla, oct. 6, 1984, **L.Guzmán-Dávalos 1772 (IBUG)** **TLAXCALA:** Mpio. de Tlaxco, Parque Recreativo El Rodeo, jul. 5, 1992, **Aguilar Ríos y Pérez-Ramírez 1641 (FCME 4754)**. **VERACRUZ:** Mpio. de Xico, Los Gallos, 1.5 kms al N del ingenio El Rosario, dic.3, 1990, **E. Ochoa 201(XAL)**, nov. 9, 1994, **J. Rico 672(XAL)**, dic. 12, 1984, **L. Villarreal s.n. (XAL)**, nov. 6, 1990, **D.M. Murrieta s.n. (XAL)**.

*Clavariadelphus pistillaris* (Fr.) Donk

**ESTADOS UNIDOS DE NORTEAMÉRICA:** **TENNESSEE:** Great Smoky Mountains National Park, Grassy Patch, ag. 22, 1938, **Smith 10419 (TENN 33784)**; Roaring Fork Trall, jul. 27, 1970, **R.H. Petersen 4920 (TENN 34966)**; Virginia Mountain Lake, ag. 10, 1942, **S.L. Meyer (TENN 14706)**.

*Clavariadelphus truncatus* (Quél.)Donk

MÉXICO: DISTRITO FEDERAL: Deleg. Contreras, Faldas del Ajusco, sept. 25, 1977, **Estudiantes de la Fac. de Ciencias, UNAM (FCME 713)**; falda S del Pico del Aguila, zona del Ajusco, sept. 23, 1957, **Hernández Corzo s.n. (ENCB)**. ESTADO DE MÉXICO: km 15 carretera Amecameca-Tlamacas, Cueva del Negro, sept. 26, 1982, **G. Rodríguez 1067 (ENCB)**; Paso de Cortes, Amecameca, oct. 2, 1983, **E. Fantí s.n. (ENCB)**; Mpio. de Ocuilan, alrededores de la Laguna de Quila, Parque Nacional Lagunas de Zempoala, ag. 17, 1985, **A. Estrada-Torres 1418 (ENCB)**; Laguna de Quila, sept. 26, 1996, **Villegas R.M. 1841 (FCME)**; Barranca de Ameyalco, camino a Amecameca-Tlamacas, sept. 1969, **Antonio López González s.n. (ENCB)**; La Marqueza, Parque Nacional Miguel Hidalgo, oct. 6, 1963, **A. Villamar 10 (ENCB)**; Parque Nacional Lagunas de Zempoala, carretera Laguna Principal-Chalma, sept. 9, 1979, **G. Guzmán 17815 (ENCB)**. HIDALGO: Parque Nacional El Chico, oct. 6, 1974, **D. Ramos Zamora 102 (ENCB)**; Las Ventanas, Parque Nacional El Chico, oct. 5, 1970, **N.P. Muñoz Sevilla 8423 (ENCB)**; Mpio. de Epazoyucan, Peñas Largas, ag. 3, 1975, **M. Medina e I. García 1112 (ENCB)**, ag. 9, 1975, **M. Medina e I. García 1134 (ENCB)**. JALISCO: km 19 de la brecha a la Estación de Microondas, N del cerro Tequila, sept. 14, 1986, **M. Olivia Rdez. 349 (IBUG)**, camino al Nevado de Colima, lado O, ag. 27, 1970, **D. García 434 (IBUG)**. MICHOACÁN: Mpio. de Cd. Hidalgo, Parque Nacional Cerro Garnica, sept. 8, 1983, **Reza Emilio s.n. (FCME 12063)**; Puerto Garnica 49 km de Cd. Hidalgo, carretera Morelia-México, sept. 6, 1981, **L. Dávalos 255 (ENCB)**; km 187 carretera Zitácuaro-Morelia, cerca de Puerto Garnica, sept. 9, 1982, **G. Guzmán 22547 (ENCB)**. MORELOS: Mpio. de Hutzilac, km13 carretera Tres Marias-Chalma, Laguna de Quila Zempoala, ag. 19, 1978, **Gutiérrez N. s.n. (FCME 558)**; carretera Xochimilco-Oaxtepec, Fraccionamiento Los Robles, sept. 20, 1980, **L. Ortiz s.n. (ENCB)**. TLAXCALA: Mpio. de Tlaxco, km 4-5 del Rosario-Parque Recreativo El Rodeo, sept. 5, 1992, **Martínez Cornejo y Pérez-Ramírez 1645 (FCME 4926)** y **A. Montoya Esquivel 1186 (TLXM)**; Rancho Escondido, km 31 carretera Apizaco-Poza Rica, sept. 8, 1989, **A. Estrada-Torres 2780(TLXM)**; Mpio. de Huamantla, Cañada Frande, ladera E del Volcán La Malintzi, Parque Nacional La Malinche, sept. 19, 1990, **A. Estrada-Torres 3114 (TLXM)**.

*Clavulina* spp.

MÉXICO: DISTRITO FEDERAL: km 58 carretera Ajusco-Jalatlaco, ag. 25, 1980, **Pérez Silva 62 (MEXU)**. ESTADO DE MÉXICO: km 21 desviación a Valle de Bravo, oct. 7, 1989, **Villegas R. M. 1315 (FCME 2440)**; km 4.5 desviación a Los Manantiales, Avandaro, oct. 8, 1989, **Villegas R.M. 1325 (FCME 2145)**; Mercado de Amecameca, sept. 18, 1997, **S. González 17 (ENCB)**. MICHOACÁN: Mpio. de Zinapécuaro, Laguna Larga, zona de protección forestal Los Azufres, ag. 14, 1987, **Domínguez M. y Villegas 915 (FCME 13898)**. TLAXCALA: Mpio. de Ixtenco, Fractura Central, ladera E del Volcán La Malintzi, oct. 4, 1989, **A. Estrada-Torres 2839 (TLXM)**.

*Gymnopilus subpurpuratus* Guzmán-Dávalos & Guzmán

JALISCO: Mpio. de Zapopan, Jardín del Instituto de Botánica, Universidad de Guadalajara, Nextipac, jul. 23, 1987, L. Guzmán-Dávalos 3914 (IBUG), ag. 11, 1989 4855 (ENCB), jul. 10, 1989, L. Guzmán-Dávalos 4773 (ENCB).