

Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala

Caracterización molecular de hongos macromicetos  
del municipio de Villa del Carbón, México; utilizando la  
región LSU rDNA.

Tesis de Licenciatura que para obtener el título de Biólogo  
presenta:

Christian A. Feregrino Feregrino

Los Reyes Ixtacala, Tlalnepantla de Baz. México, México. Febrero del 2013



## **Agradecimientos.**

A mis padres por todo lo que soy, les debo más que 23 años de vida y las oportunidades me han brindado, y seguramente sin importar lo que pase, me seguirán brindando.

A mis hermanos por ser parte esencial de mi personalidad, porque no estaría en este lugar de no ser por ello y por ustedes.

A la Universidad de México, la Universidad Nacional porque es, sin lugar a dudas, el orgullo más grande que se puede tener, vivir con la sangre azul y la piel dorada.

A mi asesor, el Dr. Jorge Campos por tener la confianza y detreza de rescatarme y dirigirme por el camino correcto. Así como al Dr. Miguel Morales por todas sus enseñanzas.

A José Antonio “Tony” porque nunca hubiese terminado de escribir esta tesis de la manera en que lo hice sin conocerte, y sin tu música; sin el soundtrack con el que ahora se cuenta nuestra historia.

A Adriana, mi tantas cosas, pero siempre mi gran amiga. No puedo hacer justicia en este texto por todo lo que te agradezco, así que no lo intentaré.

A Anabel, por tantos destinos, tanto espacio, pero sobre todo tantas risas. Siempre tendremos una nueva anécdota que sobrevivir para después contarla.

A Ariadna, por hacerme saber que los pasos que doy, siempre van en la dirección correcta; o por lo menos engañarme lo suficiente como para que siga caminando.

A José Luis, porque a pesar de todo, siempre seré una persona agradecida.

A Magaly, gracias por ser mi primer compañera en esta gran aventura. No dudo que lo seguirás siendo hasta el final.

A Patty, por permanecer ahí, aquí a mi lado aunque no a la misma estatura, desde el primer día y hasta el último. Y si, siempre te estuve hablando a ti.

Por supuesto a Ismael, Raúl, Obed, Isaac, Jaime, el Dr. Lalo, la Dra. Martha, y al M. en C. Alex por su compañía a lo largo de mi carrera.

A todos gracias por tanto, y perdón por tan poco.

**- Desde la región más transparente del aire, Christian Feregrino<sup>2</sup>**



## **Contenido**

Resumen. ....	1
Abstract. ....	1
Introducción. ....	2
Diversidad y Ecología. ....	2
Etnomicología. ....	7
Caracterización molecular. ....	15
Objetivos. ....	20
Zona de estudio. ....	21
Materiales y métodos. ....	22
Muestreo. ....	22
Caracterización taxonómica. ....	22
Etnomicología. ....	23
Métodos moleculares. ....	24
Resultados. ....	27
Caracterización morfológica. ....	27
Etnomicología. ....	28
Análisis Molecular. ....	36
Análisis y discusión. ....	47
Riqueza observada. ....	47
Etnomicología. ....	53
Caracterización molecular. ....	67
Conclusiones. ....	71
Perspectivas. ....	72
Literatura citada. ....	73

## Índice de Figuras.

Figura 1 Breve resumen de la clasificación taxonómica de Basidiomicetes ectomicorrízicos.....	6
Figura 2 Electroforesis del DNA extraído de algunas muestras.....	36
Figura 3 Electroforesis de los productos de PCR de LSU rDNA.....	37
Figura 4 Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias de hongos agaricales, excluyendo al género <i>Amanita</i> .....	40
Figura 5 Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias del género <i>Amanita</i> .....	41
Figura 6 Árbol filogenético obtenido a partir de secuencias de Boletales.....	42
Figura 7 Árbol filogenético obtenido a partir de secuencias del género <i>Gymnopus</i> .....	43
Figura 8 Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias del género <i>Russula</i> .....	44

## Índice de Cuadros.

Cuadro I. Clasificación de los hongos colectados, de acuerdo a claves taxonómicas. ....	27
Cuadro II. Nombres vernáculos y número de menciones observados en el ejercicio del listado libre. ....	29
Cuadro III. Nombres vernáculos que sólo se observaron en el ejercicio de reconocimiento. ....	31
Cuadro IV. Número de veces que se reconoció cada espécimen mostrado a los informantes. ....	32
Cuadro V. Porcentaje de identidad de secuencias obtenidas con secuencias del GeneBank utilizando BLAST. ....	37
Cuadro VI. Comparación de la caracterización molecular y morfológica, incluyendo nombres vernáculos. ....	45
Cuadro VII. Comparación de los nombres vernáculos observados, las especies a las que algunos de ellos se refieren y las reportadas en Guzmán 1997. ....	56
Cuadro VIII. Comparación de los nombres obtenidos mediante el ejercicio de reconocimiento, la especie a la que probablemente se refieren y las reportadas por Guzmán en 1997. ....	59



- Para tí, pequeño jardinero y amante de los árboles  
- le dijo a 'Sam -, tengo sólo un pequeño regalo - y le puso en la mano una cajita de simple madera gris, sin ningún adorno excepto por una runa de plata en la tapa. [...] Esta caja contiene tierra de mi jardín, y lleva las bendiciones que Galadriel todavía puede otorgar.

- J. R. R. Tolkien, El Señor de los Anillos: La Comunidad del Anillo, Libro Dos, Capítulo VIII: Adiós a Lórien

'Sam Gamgee plantó retoños en todos aquellos lugares en donde antes había árboles especialmente hermosos o queridos, y puso un grano del precioso polvo de Galadriel en la tierra, junto a la raíz. [...] Durante todo el invierno, esperó tan pacientemente como pudo, tratando de contenerse para no ir a ver a cada rato si algo ocurría. La primavera colmó con creces las más locas esperanzas de 'Sam. En su propio jardín los árboles comenzaron a brotar y crecer como si el tiempo mismo tuviese prisa y quisiera vivir veinte años en uno.

- J. R. R. Tolkien, El Señor de los Anillos: El Retorno del Rey, Libro Seis, Capítulo IX: Los Puertos Grises



# Caracterización molecular de hongos macromicetos del municipio de Villa del Carbón, México; utilizando la región LSU rDNA.

Christian A. Feregrino Feregrino

## **Resumen.**

Los hongos son un grupo de organismos altamente diverso que cumplen funciones primordiales en los bosques templados del mundo asociados en relaciones micorrízicas. Se caracterizaron morfológica, etnobiológica y molecularmente 75 cuerpos fructíferos de hongos macromicetos colectados en las zonas boscosas que rodean la cabecera municipal de Villa del Carbón, México. Utilizando claves taxonómicas especializadas, se registraron 30 especies distintas, de las cuales 15 son comestibles; a partir de encuestas semiestructuradas se obtuvieron 110 nombres tradicionales que reciben algunas de éstas especies en Villa del Carbón; utilizando la región LSU del rDNA se pudieron caracterizar también 30 especies distintas haciendo uso de métodos bioinformáticos y filogenéticos.

## **Abstract.**

The fungi are a highly diverse group of organisms which, associated on mycorrhizal relationships, account for primary functions on the temperate forests of the world. 75 fruiting bodies of macro-fungi, collected in the forested areas around Villa del Carbón, México, were morphological, ethnobiological and molecularly characterized. Using specialized taxonomic keys, 30 different species were registered, of which 15 are edible; a total of 110 traditional names used in Villa del Carbón for some of this species were registered through semi structured surveys; 30 different species were also characterized using the LSU region of the rDNA with the help of specialized software and phylogenetic methods.

## **Introducción.**

### Diversidad y Ecología.

El 70% de la biodiversidad del planeta se encuentra en 17 países, y entre estos México ocupa el cuarto puesto con más del 12% de la biota mundial. Esta riqueza biológica es explicable por la constitución tan compleja de México, expresada en su accidentada topografía y gran heterogeneidad fisiográfica, climática y ecológica (Mittermeier & Goettsch 1992).

Los principales ecosistemas de México son los bosques templados de Pino, Pino – Encino y Encino que corren prácticamente a través de todo el país sobre la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre Occidental, Eje Neovolcánico Transversal, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre de Chiapas (Rzedowski 2006). Estos bosques ofrecen un hábitat esencial y una gran variedad de especies de árboles vitales para la generación de relaciones simbióticas micorrízicas.

México tiene la mayor diversidad en el planeta de Pinos con 72 especies del género *Pinus* (Perri 1991) y Encinos con 161 especies del género *Quercus* (Valencia 2004); además se conocen cerca de 7000 especies de hongos, de un total de 200 000 especies estimadas para el país (Guzmán 1998).

Las relaciones simbióticas que desarrollan las plantas, les permiten adquirir características novedosas a través de las propiedades de su compañero simbiote. Los simbioses, generalmente nutricionales, muestran una relación mutualista en la cual reciben de las plantas esqueletos de carbohidratos y a cambio permiten a la planta resistencia al estrés y tener acceso a los nutrientes muy esparcidos en el terreno, a los cuales no se tiene acceso fácilmente (Raina *et al.* 2004).

Los simbioses más abundantes del reino vegetal son los hongos (Peterson *et al.* 2004) y esta relación es la más prevalente sobre el planeta. Se presentan desde algas hasta angiospermas (Raina *et al.* 2004), se encuentran asociados a una inmensa variedad de familias vegetales y de manera prácticamente omnipresente en los biomas terrestres (Weiß *et al.* 2011).

Generalmente se refiere que el beneficio que obtienen los hongos micorrízicos, llamados entonces micobiontes, dentro de la relación simbiótica es el carbono que les proporcionan sus plantas hospederas (fitobiontes), e incluso, que son dependientes de este suministro (Baldrian 2009). En concreto, las micorrizas compensan o mitigan el crecimiento pobre de las raíces de las plantas y les provee de una mejor absorción de los nutrientes y minerales del suelo; así proporcionando ventaja selectiva y una mayor sobrevivencia. En la actualidad, la relación ha evolucionado a tal grado que algunas plantas tienen un requerimiento obligado de asociación con un hongo micorrízico (Raina *et al.* 2004).

Está demostrado por evidencia fósil que las asociaciones fúngicas primitivas con plantas terrestres existieron y pudieron haber jugado un papel importante en la colonización terrestre por parte de las plantas primitivas (Raina *et al.* 2004). La asociación micorrízica parece haber evolucionado como un mecanismo de sobrevivencia para ambos simbiosomas en ambientes de baja temperatura, fertilidad del suelo, sequías periódicas, enfermedades y otras condiciones naturales adversas (Gupta *et al.* 2004).

Las micorrizas, se separan en dos grandes grupos, endomicorrizas y ectomicorrizas (Peterson *et al.* 2004); divididos en siete tipos de acuerdo a su morfología como a continuación se enlista: Micorrizas vesicular-arbusculares (VAM, del inglés *Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae*), orquioides, ericoides, arbutoides, monotropoides, ectendomicorrizas y ectomicorrizas (EM, del Inglés *Ectomycorrhizae*) (Raina *et al.* 2004).

Las endomicorrizas penetran inter e intracelularmente al tejido del hospedero y las más abundantes son las VAM ya que el 90% de las plantas, desde talofitas hasta angiospermas tienen esta asociación. Las VAM son generadas por hongos zigomycetes biótros obligados y no pueden ser cultivados de manera aislada o en cultivos axénicos. Este tipo de micorrizas se caracteriza por hifas intracelulares formando espirales, hifas intercelulares, hifas intracelulares con numerosas ramificaciones llamadas arbuscúlos, y las hifas inter o intracelulares hipertrofiadas llamadas vesículas (Raina *et al.* 2004).

Los hongos con hifas que no penetran a las células vivas y que sólo rodean a las raíces se conocen como ectomicorrizas. Estas micorrizas se caracterizan por una envoltura fúngica alrededor de las raíces y una red de Hartig, o plexus fúngico entre las células epidérmicas y corticales (Raina *et al.* 2004, Marjanović & Nehls 2008). Durante la micorrización se colonizan sólo las raíces secundarias o terciarias, las cuales reducen su crecimiento y son entonces llamadas “raíces cortas”. Estas aumentan su ramificación en patrones específicos de acuerdo a cada hongo, y presentan una reducción en la formación de pelos radiculares. Aun así, todo el sistema radicular es denominado una micorriza (Gupta *et al.* 2004; Lakhanpal 2004).

El micelio extendido en el suelo de los hongos EM puede funcionar transfiriendo nutrientes directamente desde las hojas caídas, especialmente en suelos tropicales (Peterson *et al.* 2004). Las micorrizas se conectan con otras partes de la colonia de hongos por hifas especializadas en transporte; y las colonias de hongos EM llevan a cabo un intercambio intenso de nutrientes y metabolitos (Marjanović & Nehls 2008), aunque generalmente se refiere que las ectomicorrizas mejoran la eficiencia en el uso y obtención del agua por parte de los árboles, sólo se ha demostrado cierto en los casos en que la planta hospedera se encuentra en una fase juvenil temprana; esta situación no se encuentra clara para el caso de las plantas adultas y en condiciones naturales; e incluso, se han encontrado resultados negativos en este aspecto (Lehto & Zwiazek 2011).

Además de su importancia para la adquisición de nutrimentos, el micelio de los hongos ectomicorrízicos sirve como una fuente importante de alimento para los animales del suelo y organismos saprótrofos, y de esta manera alimenta al ecosistema del suelo con energía derivada de la actividad fotosintética de los árboles (Wallander *et al.* 2010) Por otra parte, existen indicios de que los hongos ectomicorrízicos son saprótrofos facultativos cuando el suministro de carbono por parte de la planta no es adecuado, pero esto aún no está resuelto (Baldrian 2009).

Se estima que en la simbiosis ectomicorrízica participan cerca de 5415 especies de hongos (Molina *et al.* 1992) (2100 sólo en América del norte), y 2000 de plantas

leñosas. Cerca de 4450 especies de hongos EM desarrollan cuerpos fructíferos voluminosos sobre la superficie de la tierra y pertenecen a muchas familias de Basidiomycetes ([Fig. 1](#)) y a algunas de Ascomycetes (Molina *et al.* 1992). También se ha demostrado que la diversidad de especies que conforman las comunidades ectomicorrízicas en bosques templados aumenta con la edad de la vegetación en conjunto (Ma *et al.* 2010; Wallander *et al.* 2010).

En la mayoría de los casos de EM, el micobionte es específico a una o unas pocas especies de fitobiontes, mientras que los fitobiontes tienen la capacidad de formar consorcios con una amplia variedad de micobiontes, muchas veces de manera simultánea. De hecho, aparentemente los fitobiontes eligen micobiontes selectivamente de acuerdo a la fase de desarrollo, condiciones ecológicas y posiblemente fluctuaciones climáticas (Raina *et al.* 2004).

Sin embargo, en algunas asociaciones ectomicorrízicas, el micobionte y el fitobionte han mantenido relaciones evolutivas cercanas a lo largo de la historia; en las cuales la especiación del micobionte ocurre a la par de la del fitobionte, o tiene alguna dependencia con respecto al fitobionte (Rochet *et al.* 2011). Algunos micobiontes ectomicorrízicos especializados incluso han llevado a cabo migraciones dependientes de sus fitobiontes desde las regiones boreales hasta el hemisferio sur (Kennedy *et al.* 2011).

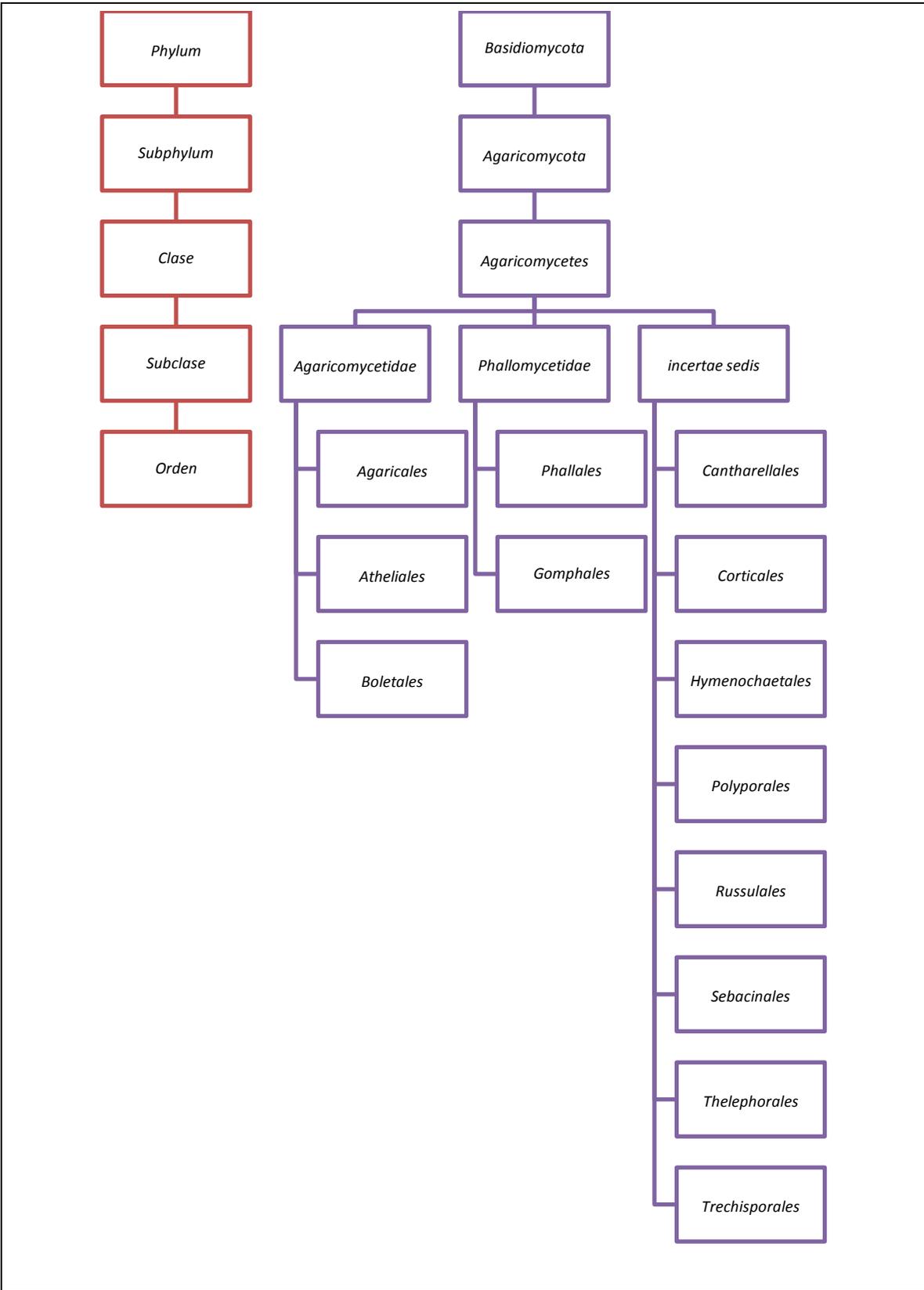


Figura 1. Breve resumen de la clasificación taxonómica de Basidiomicetes ectomicorrízicos.

Se ha demostrado que, en algunos casos, la composición específica de las comunidades ectomicorrízicas se encuentra determinada por el contenido de materia orgánica y pH en el suelo (Tedersoo *et al.* 2009); existen también evidencias de que las comunidades ectomicorrízicas están determinadas por la composición vegetal, que a su vez es determinada por las comunidades ectomicorrízicas, pues el crecimiento y sobrevivencia de plántulas son favorecidos en suelos dominados por congéneres y comunidades ectomicorrízicas afines (O'Brien *et al.* 2011).

Las ectomicorrizas, entre las gimnospermas son características de las Pinaceae y algunas Cupressaceae; también de las familias de dicotiledóneas Fagaceae, Betuleceae, Salicaceae Dipterocarpeae y Myraceae; y además se presenta en algunas Rosaceae, Mimosaceae, Leguminoseae, Ericaceae y Juglandaceae. Actualmente no se conocen ectomicorrizas en plantas monocotiledóneas (Gupta *et al.* 2004; Lakhanpal 2004; Raina *et al.* 2004).

### Etnomicología.

La gran mayoría de las ectomicorrizas son generadas por hongos cuyos cuerpos fructíferos son macromicetos y epígeos; estos se han entremezclado con el desarrollo de las sociedades a lo largo de la historia y generalmente han sido vistos como recursos comestibles, medicinales, mágicos o como agentes tóxicos.

En las diferentes culturas del mundo coexisten dos actitudes hacia el consumo de hongos: micofílica y micofóbica. Inclusive existe la percepción de que las personas “educadas” son cuidadosas en cuanto a los hongos, mientras que aquellas de culturas menos desarrolladas tienden a consumirlos más asiduamente (Michelot & Melendez-Howell 2003). Se reportan un total de 2166 hongos comestibles en el mundo (Boa 2004).

México es uno de los países más ricos biológica y bioculturalmente de todo el planeta, ya que ocupa el lugar 11 de manera neta y relativa a su área de extensión territorial (Loh & Harmon 2005); por lo que sus diversidades, cultural y biológica, se ven muy a menudo entremezcladas en relaciones etnobiológicas. Por ello

existen cerca de 320 especies fúngicas comestibles en México (Boa 2004), de los cuales tradicionalmente se consumen 275 (Garibay-Orijel *et al.* 2010) y alrededor de 112 de ellos se venden en mercados locales (Villarreal & Moreno-Pérez 1989).

La relación etnomicológica mexicana parece tener raíces y orígenes antiquísimos, ya que incluso se han interpretado representaciones de hongos en códices prehispánicos (particularmente *Amanita muscaria* o *Ustilago maydis* en el Códice Dresden) además de que se han encontrado diversas rocas talladas en la forma de hongos, principalmente en la zona maya, aunque también algunas pocas en regiones de otras culturas mexicanas, como por ejemplo, la zona purépecha (Guzmán 2003).

Los nombres que las diferentes poblaciones humanas les dan a los distintos hongos son muy variables, y generalmente se refieren a colores, formas, hábitat, utilidad, etc. El conocimiento acerca de la comestibilidad o toxicidad de los hongos varía de cultura a cultura e incluso entre poblaciones que comparten la misma cultura (Shepard *et al.* 2008). Existen en cada población, además, ciertas personas reconocidas por sus habilidades de identificación y conocimiento acerca de los hongos (Montoya *et al.* 2008).

En las inmediaciones del Parque Nacional Izta-Popo y Zoquiapan algunos hongos son aún nombrados con vocablos Nahuas de acuerdo a su forma en general, la forma y textura de alguna parte específica, el color y el hábito ecológico. Algunos nombres comprenden *Mazayel* o 'hígado de venado' para *Boletus edilus* s. l. y *Nextamalli* o 'masa de tortilla' para un *Hebeloma* sp. Los nombres a veces corresponden a múltiples hongos del mismo género, tal es el caso de los *Laccaria* que son llamados *xocoyotl* o *xocoyoll*, los *Lactarius* que son llamados *chinnanacatl* 'hongo enchilado' y algunos *Hebeloma* que son llamados *Nextli* o *Nejo* 'tortilla blanca' (Pérez-Moreno *et al.* 2008).

En la zona del Cofre de Perote, Veracruz también se utilizan nombres Nahuas para designar algunos hongos, basados en su forma. Ejemplo de ello son *Tecomate* o 'vasija' para *Amanita caesarea* haciendo referencia a su volva en

forma de copa, *Tzenso* o 'enredado' para *Clitocybe clavipes* debido a que crece en grupos y *Queshque* para *Lactarius indigo* que comparte con un ave azul (Jarvis *et al.* 2004).

Un análisis acerca del conocimiento tradicional de los alrededores del volcán La Malitzin en Tlaxcala informa que los habitantes Mestizos y Nahuas consideran que los hongos son algo diferente a las plantas o animales, contestando "nada más hongos", mientras que los de origen Otomí consideran que son alguna clase de plantas (aunque utilizan un vocablo específico para los hongos, discutido más abajo). También se expone la idea que tienen los tlaxcaltecas acerca de que los hongos se generan de la nada, que pueden habitar el campo (sembradíos), el llano (pastizales) o el monte (bosque) además de otras características del conocimiento tradicional, como denominaciones morfológicas, fenología, usos, y gastronomía (Montoya *et al.* 2002). Estudios en otras comunidades tlaxcaltecas registran además de estos datos una variedad de nombres en Náhuatl para los hongos (Montoya *et al.* 2003).

Los Mazahuas que habitan la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca entre Michoacán y México llaman a los hongos en general *cjoójó* dentro del grupo de cosas naturales que no se mueven *tenxe yo dya nyomb'u*; se usa este vocablo como sufijo para nombrar a los hongos, por ejemplo *kishimocjoójó* 'hongo jitomate' para *A. caesarea*, se usa *juaxcjoójo* 'hongo mazorca'; alternativamente se usa el prefijo *cje* (probablemente una contracción de *cjoójó*) como en el caso de *cjeb'atsiji* 'hongo azul' para *Lactarius indigo* o *cjenguatssi'i* 'hongo patas de pájaro' para *Ramaria spp.* (Farfán *et al.* 2007).

Los Otomíes de Ixtenco, Tlaxcala utilizan la palabra *kho* o *y'kho* para denominar específicamente a los hongos, este vocablo también es utilizado por los Otomíes de Acambay, México, así como en diversas lenguas indígenas, este término se utiliza como partícula adicional en el nombre del algún hongo específico; tal es el caso de *ntsanikho* 'hongo escobeta' para nombrar a los hongos del género *Ramaria*, el de *rpich min kho* 'hongo pedo de coyote' para *Lycoperdon perlatum* y el de *kexke kho* 'hongo azul' para referirse a *Lactarius indigo* (Montoya *et al.* 2002)

Los Purépechas habitantes de Michoacán reconocen a los hongos como algo diferente a las plantas o los animales y se categorizan todos bajo el término *terekuicha* que significa 'todos los hongos que se encuentran en la tierra' o 'todas las flores del suelo que se encuentran en la tierra'. Los *terekuicha* se dividen detalladamente en tres clases: los que tienen láminas bajo el pilio, los que tienen poros bajo el pilio y los demás. Estos tres grupos se subdividen en 11 grupos diferentes en base a su forma, color, consistencia en fresco y hábitat; precisamente los criterios utilizados en la clasificación micológica occidental (Mapes *et al.* 1981).

Entre los habitantes de Ixtlán, Oaxaca se conoce a la mayoría de los hongos con el vocablo Zapoteco *Beshia*; algunos nombres más específicos corresponden incluso a especies taxonómicas aunque su nomenclatura no es tan detallada; tal es el caso de *Agaricus pampeanus* conocido como *Beshia sh que cuayo*, *Hygrophoropsis aurantiaca* llamado *Beshia de que ya yeri* e *Hypomyces lactifluorum* cuyo nombre Zapoteco corresponde a *Beshia ya wela*. Algunos nombres corresponden a un grupo de especies y variedades del mismo género como *Beshia beretze* que corresponde a las especies del género *Hydnum*; incluso se han registrado nombres usados para más de dos especies de distintos géneros (Garibay-Origel *et al.* 2006).

Los mayas Tzeltales de Chiapas también agrupan a los hongos en un grupo que excluye a las plantas y animales denominado *chejchew*. Las dos categorías menores inmediatas son *chikin te'* que incluye 26 géneros populares de hongos que crecen sobre cualquier tipo de madera y *chejcew* que incluye 28 géneros populares de todos los hongos que crecen en el suelo. Utilizan un vocabulario bien desarrollado con más de 150 términos que describen características de la morfología de los hongos como el tamaño, forma, textura, sabor, hábitat y hábito de crecimiento; este vocabulario grande y sofisticado se parece a la terminología científica occidental para nombrar las características que también se consideran diacríticas a este grupo (Lampman 2007).

Los mayas quichés llaman hoy en día *itzel ocox* 'hongo diabólico' (Michelot & Melendez-Howell 2003) o *kaquiljá* 'Relámpago' a *A. muscaria*; *yuyo* también es un nombre que se le da a *A. muscaria* y al comestible *A. caesaerae* (Guzmán 2003), con el cual frecuentemente se le confunde (Michelot & Melendez-Howell 2003). Actualmente en México y Guatemala *A. muscaria* es considerado un hongo diabólico por ser altamente tóxico (Guzmán 2003).

Por otro lado, *A. pantherina* se conoce en América latina como pantera, *pixaca*, hongo loco u hongo malo; esta especie, en algunos casos accidentales de envenenamiento, se ha confundido con las especies comestibles *A. rubecens* y *A. spissa* (Michelot & Melendez-Howell 2003).

En el marco de las relaciones etnomicológicas de alimentación, se ha reportado que en la población de Villa del Carbón, México, los hongos del Orden Gomphales más comúnmente consumidos por los pobladores pertenecen al género *Ramaria* y son *R. araiospora* var. *araiospora*, *R. celerivirescens* y *R. rubripermanens* var. *Rubripermanens*, debido principalmente al tamaño, consistencia carnosa, sabor suave y abundancia de los cuerpos fructíferos. En este lugar, todos los hongos de dicho género son llamados por los pobladores *ua ts'int's'u* (Otomí, pie de pájaro), *k'eñisú ú* (Mazahua, hongo pie de pájaro), patitas de pájaro o simplemente patitas. Por otra parte, los hongos del género *Gomphus* reciben el nombre de cornetas o trompetas, y los pertenecientes al género *Clavariadelphus* son llamados clavos o dedos de muerto (Aguilar-Cruz & Villegas 2010).

En el Valle de Toluca se han registrado 34 especies de hongos comestibles pertenecientes a los géneros *Agaricus*, *Amanita*, *Clavaria*, *Clitocybe*, *Collybia*, *Cortinarius*, *Inocybe*, *Lycoperdon*, *Lyophyllum*, *Tricholoma* (Agaricales), *Boletus* (Boletales), *Cantharellus* (Cantharellales), *Gomphus* (Phallales), *Helvella*, *Morchella*, *Sarcosphaera* (Ascomycota: Pezizales), *Lactarius*, *Russula* (Russulales) y *Ramaria* (Gomphales) y en la temporada de lluvias se estima un consumo de hasta una tonelada semanal; estos hongos son recolectados con base en el conocimiento tradicional de los hongos comestibles y *locos* para

después ser vendidos en mercados locales por mujeres mestizas (Mariaca *et al.* 2001).

En la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca entre Michoacán y México se registraron 31 hongos silvestres comestibles dentro de los géneros *Agaricus*, *Amanita*, *Arachnion*, *Armillaria*, *Bovista*, *Clitocybe*, *Collybia*, *Laccaria*, *Lycoperdon*, *Lyophyllum*, *Macrolepiota* (Agaricales), *Cantharellus* (Cantharellales), *Clavicornia*, *Suillus* (Boletales) *Gomphus* (Phallales), *Lactarius*, *Russula* (Russulales), *Ramaria* (Gomphales), *Helvella* y *Morchella* (Ascomycota: Pezizales) (Farfán *et al.* 2007).

Un estudio de producción de hongos silvestres comestibles en bosques de *Pinus hartwegii* y *Abies Religiosa* localizados en Santa Catarina del Monte, México reporta un total de 24 especies dentro de los géneros *Agaricus*, *Lepiota*, *Clitocybe*, *Collybia*, *Lycoperdon*, *Melanoleuca*, *Pholiota*, *Rhodophyllum*, *Lyophyllum* (Agaricales), *Boletus* (Boletales), *Cantharellus* (Cantharellales), *Gomphus* (Phallales) *Lactarius*, *Russula* (Russulales), *Ramaria* (Gomphales), *Helvella* y *Morchella* (Ascomycota: Pezizales); con una producción máxima en Septiembre en el bosque de Oyamel favorecida por la precipitación, temperatura y humedad (Arteaga & Moreno 2006).

En los tianguis que existen alrededor de la Sierra Nevada (México - Puebla), se ha reportado la venta de 65 especies de hongos comestibles; dentro de los cuales destacan los pertenecientes a los géneros *Agaricus*, *Amanita*, *Armillaria*, *Clitocybe*, *Collybia*, *Entoloma*, *Floccularia*, *Hebeloma*, *Hygrophorus*, *Laccaria*, *Lycoperdon*, *Lyophyllum*, *Melanoleuca*, *Psathyrella*, *Tricholoma* (Agaricales), *Boletus*, *Hygrophoropsis*, *Suillus* (Boletales), *Cantharellus*, *Clavulina* (Cantharellales), *Gomphus* (Phalales), *Helvella*, *Morchella* (Ascomycota: Pezizales), *Hypomyces* (Ascomycota: Hypocreales), *Lactarius*, *Russula* (Russulales) y *Ramaria* (Gomphales). Las especies se reportaron de la siguiente manera: 42 para el mercado de San Martín Texmelucan, Puebla; 37 para el mercado de Ozumba, México; 30 para el mercado de Amecameca, México; y 27 para el mercado de Chalco, México (Estrada-Martínez *et al.* 2009).

Un estudio similar se llevó a cabo en la misma región, pero abarcando 11 mercados regionales (principalmente el de Ozumba), de él se desprendió un listado de 91 hongos silvestres comestibles pertenecientes, agregando a la lista anterior, a los siguientes géneros: *Ampulloclitocybe*, *Cortinarius*, *Flammulina*, *Gymnopus*, *Lepiota*, *Leucoagaricus*, *Pleurotus*, *Pluteus*, *Xerula* (Agaricales), *Chroogomphus*, *Retiboletus* (Boletales), *Gyromitra* (Ascomycota: Pezizales) y *Panus* (Polyporales), vendidos en su mayoría [93%] por mujeres, madres solteras y entre 40 y 60 años; aunque la recolección es una actividad familiar. En este estudio se reportó además que en las localidades rurales el conocimiento tradicional es más detallado que en las localidades urbanas (Pérez-Moreno *et al.* 2008).

Por otra parte, en un bosque templado dominado por *Pinus* y *Abies* en Tlaxcala, durante la temporada de lluvias crecen los siguientes géneros con un valor alimentario y a veces comercial: *Amanita*, *Calvatia*, *Clitocybe*, *Entoloma*, *Gymnopus*, *Hebeloma*, *Hygrophorus*, *Laccaria*, *Lyophyllum*, *Melanoleuca*, *Pleurotus*, *Tricholoma* (Agaricales), *Boletus*, *Chroogomphus*, *Rhizopogon*, *Suillus* (Boletales), *Cantharellus* (Cantharellales), *Clavariadelphus*, *Gomphus* (Phallales), *Climacocystis* (Polyporales) *Helvella*, *Morchella*, *Sarcosphaera* (Ascomycota: Pezizales), *Hypomyces* (Ascomycota: Hypocreales) *Lactarius* (Russulales), *Gautieria* y *Ramaria* (Gomphales) (Montoya *et al.* 2003; Montoya *et al.* 2004; Montoya *et al.* 2008). Se calculó también la Significancia Cultural de los hongos en diferentes localidades de los alrededores, considerando sólo la frecuencia de nombramiento en un ejercicio de enlistado libre (Montoya *et al.* 2003; Montoya *et al.* 2004)

En las laderas del Cofre de Perote se registraron 18 especies de hongos silvestres comestibles dentro de los géneros *Amanita*, *Armillaria*, *Clavaria*, *Clitocybe*, *Lyophyllum*, *Tricholoma* (Agaricales), *Boletus* (Boletales), *Cantharellus* (Cantharellales), *Ramaria* (Gomphales), *Gomphus* (Phallales), *Helvella* (Ascomycota: Pezizales), *Hypomyces* (Ascomycota: Hypocreales), *Lactarius* y *Russula* (Russulales) (Jarvis *et al.* 2004).

En la comunidad de Ixtlán, municipio de Oaxaca, se han registrado 38 especies de hongos silvestres comestibles dentro de los géneros *Agaricus*, *Amanita*, *Cortinarius*, *Hygrophorus*, *Laccaria*, *Tricholoma* (Agaricales), *Cantharellus*, *Hydnum* (Cantharellales), *Gomphus* (Phallales), *Hericium*, *Lactarius* (Russulales), *Hygrophoropsis* (Boletales), *Hypomyces* (Ascomycota: Hypocreales), *Neolentinus* (Gloeophyllales), *Ramaria* (Gomphales) y *Sparassis* (Polyporales); de las cuales 31 crecen en bosques de Pino-Encino y 5 en bosques de *Quercus* (Garibay-Origel *et al.* 2006).

De la misma comunidad oaxaqueña, se ha reportado que los hongos con más significatividad cultural para sus habitantes son *Cantharellus cibarius* y *Amanita caesarea*. Esto después de calcular un Índice de Significatividad Cultural de Hongos Comestible propuesto por los mismos investigadores, que contempla la abundancia percibida, frecuencia de uso, percepción de sabor, uso en alimentos, transmisión de conocimiento, posibles efectos sobre la salud y precio de cada hongo (Garibay-Origel *et al.* 2007).

En un bosque templado dominado por *Pinus* y *Quercus* al Sur de México (Chiapas), durante los meses pico de la temporada de lluvias – Junio y Julio -, aparecen cantidades copiosas de esporocarpos de hongos micorrízicos; los más prominentes pertenecen a los géneros *Amanita* – el grupo de hongos comestibles más preciados -, *Cortinarius* (Agaricales), *Lactarius*, *Russula* (Russulales), *Boletus*, *Leccinum*, *Suillus* (Boletales), *Cantharellus* (Cantharellales), *Ramaria*, *Clavulina* (Gomphales), e *Hypomyces* (Ascomycota: Hypocreales). Otros, como *Morchella* (Pezizales) aparecen al final de la época de lluvias, e incluso después (Shepard *et al.* 2008).

Existen además, aunque pocos, estudios realizados en zonas tropicales de México, donde también existen actitudes micofílicas y comercio extendido de los hongos silvestres comestibles (Rúan-Soto *et al.* 2004; Rúan-Soto *et al.* 2006; Mata 1987).

Los hongos presentan una fuente sana y diferente de nutrición parecida a la de la carne; especialmente durante la estación lluviosa, cuando los cultivos de comida aún no son cosechables y muchos recursos alimenticios son escasos (Montoya *et al.* 2008; Shepard *et al.* 2008).

Aunque las diferentes etnias con actitudes micofílicas, como los Mayas de tierras altas, muy probablemente desconocen los detalles del micelio no visible, y los procesos micorrízicos y reproductivos; claramente entienden las relaciones ecológicas entre ciertos hongos y sus árboles hospederos. Reconocen, por ejemplo, que el *yuy* grueso crece cerca o bajo los pinos, mientras que el *yuy* delgado crece invariablemente bajo encinos (Sheppard *et al.* 2008).

Los sistemas de conocimiento tradicional y su necesaria relación con el conocimiento científico han sido materia de análisis desde dos perspectivas: la de estudiar y apropiarse del conocimiento tradicional, en la cual las etnociencias [como la etnomicología] tienen como objeto de estudio al conocimiento tradicional (Toledo 1990); y la de construir una sociedad del conocimiento plural induciendo y favoreciendo el diálogo horizontal entre los sistemas de conocimiento tradicionales y los sistema de conocimiento científico concreto (Pérez & Argueta 2011).

El estudio presente es una contribución al registro y reporte bibliográfico del conocimiento tradicional y no un análisis antropológico.

#### Caracterización molecular.

Diversas técnicas moleculares han sido utilizadas en los estudios taxonómicos de hongos, los métodos moleculares utilizados en la clasificación de hongos incluyen análisis inmunoquímicos, de isoenzimas, polipéptidos, secuencias de DNA (*Deoxyribonucleic acid*, Ácido desoxirribonucleico) retrotranscrito a partir de RNA (del inglés *Ribonucleic acid*, Ácido ribonucleico), RAPD's (*Random Amplification of Polymorphic DNA*, Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico), microsátélites y RFLP's (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, Polimorfismo en la Longitud del Fragmento de Restricción) (Gupta *et al.* 2004; Saxena *et al.* 2004).

La sistemática y los métodos de caracterización son necesarios ya que siempre es muy complicado definir e identificar cada hongo; pues los diferentes tipos de hongos son una confusión de colores, tamaños y formas (Gupta *et al.* 2004).

El análisis de mutaciones y alteraciones en secuencias ha sido aplicado para construir huellas digitales de DNA en diversas especies. Se han diseñado primers (cebadores) de PCR (*Polymerase Chain Reaction*, Reacción en Cadena de la Polimerasa) basados en regiones altamente conservadas del DNA para amplificarlos, proveyendo una herramienta útil para estudios taxonómicos y filogenéticos. La técnica consiste en la amplificación enzimática de fragmentos de DNA que comprenden secuencias terminales reconocidas por primers específicos; y los productos amplificados son secuenciados dando lugar a huellas digitales de DNA (White *et al.* 1990; Gupta & Satyanarayana 2004; Krishna 2005).

La región del DNA que se secuencia y analiza debe cumplir con ciertas características: la región debe estar evolucionando a una tasa apropiada ya que regiones demasiado conservadas proveerán muy pocos cambios analizables; debería presentarse idealmente como una copia sencilla, o al menos evolucionar como una región de copia sencilla [para evitar comparaciones parálogas]; y debe tener la misma función en todos los taxones, para evitar presiones evolutivas diferenciales (Bruns *et al.* 1991).

Las regiones altamente divergentes proveen de resultados menos robustos debido a que el nivel de homoplasia (paralelismos, convergencias y reversiones) aumenta al incrementarse la probabilidad de cambio en cada posición, y el número de alineamientos posibles que son casi igualmente buenos se vuelve demasiado grande para fines prácticos (Hillis & Dixon 1991).

Un requisito para la identificación taxonómica de un organismo utilizando secuencias de su genoma, es la comparación con organismos previamente caracterizados. Las bases de datos disponibles como la de GenBank del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*, Centro Nacional de Información Biotecnológica) son quizá la fuente más grande e importante de secuencias de

nucleótidos asociados a organismos caracterizados. Las herramientas que se utilizan para la comparación de nucleótidos son rápidas para procesar megabases en segundos, sensibles para reportar similitudes potencialmente interesantes; estadísticamente rigurosas, evalúan la significatividad de los resultados; y de fácil uso. Tal es el caso de BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*, Herramienta de Búsqueda de Alineamiento Local Básica) (Wolfsberg & Madden 1999).

Los genes que codifican a los ribosomas de los hongos (*ribosomal DNA* o rDNA) se encuentran tanto en el núcleo como en las mitocondrias y las diferentes regiones de cada uno divergen a distintas tasas (Bruns *et al.* 1991). El rDNA nuclear de todos los eucariotas típicamente contiene varios cientos de copias repetidas una detrás de otra de la unidad transcripcional y los espaciadores no transcritos. La unidad transcripcional del rDNA contiene los genes para las subunidades ribosomales 28S o LSU (*Large Subunit*), 5.8S, y 18S o SSU (*Small Subunit*). Las regiones espaciadoras entre los transcritos o ITS 1 y 2 (*Internal Transcribed Spacer*) que separan a los genes 18S, 5.8S y 38S; y la región espaciadora del transcrito externo o ETS (*External Transcribed Spacer*) que se encuentra secuencia arriba de 18S. Las copias adyacentes del rDNA se encuentran separadas por un espaciador no transcrito o NTS (Nontranscribed Spacer) (Hillis & Dixon 1991).

La región LSU muestra más variación en cuanto a las tasas de evolución de sus distintos dominios que SSU y por lo tanto funciona más efectivamente para la inferencia de relaciones filogenéticas entre organismos relacionados más cercanamente; y aunque las comparaciones a tiempos extremadamente antiguos, este gen generalmente ha funcionado para examinar eventos evolutivos que llegan hasta el Paleozoico (Hillis & Dixon 1991). Las estructuras secundarias de esta región LSU eucariota lo dividen en 7 dominios estructurales, funcionales y evolutivos que se encuentran separados por apareamientos de bases de rango largo (Clark *et al.* 1984).

Las filogenias, o árboles evolutivos son las estructuras básicas necesarias para pensar claramente acerca de las diferencias entre especies, y analizar esas

diferencias estadísticamente. Éstas se pueden obtener mediante alguno de diversos métodos matemáticos que resultan en información numérica acerca de la distancia filogenética que existen entre los organismos. De entre estos métodos, los más controvertidos son los Bayesianos; debido a que se utiliza una distribución anterior, y no posterior, del árbol que se está infiriendo. El uso de esta distribución anterior permite interpretar el resultado como una distribución con base en los datos, la ecuación más general con la que se representa este modelo es el de la probabilidad de la hipótesis de acuerdo a los datos (Felsenstein 2004).

$$Prob(H|D) = \frac{Prob(H)Prob(D|H)}{Prob(D)}$$

Prob = Probabilidad

H = Hipótesis

D = Datos

Los modelos de sustitución genéticos en que se basan los estudios filogenéticos varían en cuanto al número de parámetros variables que se toman en cuenta, desde el más simple de Jukes & Cantor (JC) en que las secuencias cuentan con la misma probabilidad de cambio de una a cualquier otra; incluyendo a los modelos (K80, K2P, etc.) que permiten tasas desiguales entre las transiciones y las transversiones; los modelos que además incluyen 4 frecuencias de bases desiguales (F81, HKY85, etc.); hasta el modelo Reversible de Tiempo General (GTR por sus siglas en inglés) que consiste de un vector de equilibrio de frecuencia de bases y la frecuencia a la cual cada base ocurre en cada sitio (Felsenstein 2004).

El análisis de los polimorfismos presentes en el gen nuclear que codifica para el RNA presente en la subunidad grande de los ribosomas ha sido de gran utilidad principalmente para la identificación a nivel específico y la reconstrucción de filogenias de hongos ectomicorrízicos formadas por Agaricales (Lebel *et al.* 2004; Moreau *et al.* 2006; Geml *et al.* 2008), Cantharellales (Bougoure *et al.* 2005), Boletales (Halling *et al.* 2008), Atheliales, Corticales, Hymenochaetales, Techisporales, Polyporales, Phallales (Larsson *et al.* 2004), Sebacinales (Setaro *et*

*al.* 2006, Tedersoo *et al.* 2006), Russulales (Eberhardt & Verbeken 2004; Stubbe *et al.* 2010), Thelephorales (Haug *et al.* 2005) y Pezizales (Ascomycota) (Urban *et al.* 2004, Hansen *et al.* 2005, Taşkin *et al.* 2010). En México se reportan pocos estudios acerca de LSU rDNA, incluyendo algunas especies de Cantharelales (Guevara & Garza 2005), aunque cabe destacar que en este no se realizan identificación específica ni reconstrucción filogenética.

Los hongos que se encuentran cercanamente relacionados forman clados fuertemente apoyados en las filogenias de ITS, mientras que las dificultades de alineamiento hacen que la aplicación de ITS sea problemática para filogenias de mayor nivel; por estas razones, se han usado las secuencias de LSU rDNA para estimar las relaciones filogenéticas, por ejemplo, de los Helotiales (Ascomycota) (Wang *et al.* 2006).

Se ha observado que las filogenias que combinan a ITS y LSU revelan los mismo clados que en las filogenias de ITS, en *Alnicola* e *Hymenogaster* (Agaricales) (Dahlman *et al.* 2000); que las secuencias de LSU han mostrado ser las más útiles para la sistemática molecular de los Agaricales y Boletales al nivel de orden, género, o especie (Peitner *et al.* 2003); y que el LSU rDNA contiene regiones altamente divergentes en todos los Pezizales (Ascomycota) (Læssøe & Hansen 2007). Se analiza al gen de LSU rDNA debido a su uso tradicional en la filogenética de hongos y su facilidad de amplificación usando primers universales (Dentinger *et al.* 2010).

Esta investigación busca caracterizar a los hongos basidiomicetos de Villa del carbón mediante tres aproximaciones distintas; la científica habitual basada en caracteres fenotípicos y morfológicos de los cuerpos fructíferos; la clasificación tradicional que existe entre los pobladores de Villa del Carbón, México; y la caracterización molecular que utiliza la comparación de información genética contenida en el DNA de cada célula fúngica. Así mismo, se realiza una comparación y una complementación entre las tres, en un esfuerzo por resolver de manera más efectiva y completa la identidad de cada organismo encontrado.

## **Objetivos.**

### Objetivo general.

- Caracterizar hongos macromicetos del municipio de Villa del Carbón, México mediante técnicas moleculares utilizando la región LSU rDNA.

### Objetivos particulares.

- Determinar las especies de organismos constituyentes de la vegetación arbórea de la zona de colecta.
- Determinar a los organismos colectados con base en su morfología mediante claves taxonómicas especializadas.
- Registrar el conocimiento etnomicológico que poseen los habitantes de la cabecera municipal de Villa del Carbón.
- Identificar a los hongos potencialmente comestibles de Villa del Carbón, México.
- Determinar a los organismos colectados de acuerdo a las secuencias obtenidas de LSU rDNA.
- Conocer las relaciones filogenéticas de los organismos colectados con base en las secuencias LSU rDNA.

### **Zona de estudio.**

Villa del Carbón es un municipio del estado de México que se encuentra en la parte noreste de la entidad y tiene una extensión de 320.51 km<sup>2</sup>. La altitud de la localidad fluctúa entre los 2300 y los 3600 msnm y la mayor parte del terreno es accidentado. El clima de la región es templado con invierno seco (Cwb) y la temperatura media anual es de 20 °C con una alta humedad constante. Los suelos predominantes en el territorio municipal son el Luvisol crónico (Lc), Feozem háplico (Hh) y Cambisol eútrico (Be). El presente estudio se centró en la región de los bosques latifoliados, uno de los tipos de vegetación más ampliamente distribuida, que es dominada por *Quercus* (Fagaceae) (SMA, GEM 2010). Las colectas de cuerpos fructíferos se llevaron a cabo en dos zonas, la primera comprendida entre las coordenadas 19°45'35.41" N, 99°26'58.08" W; 19°45'32.39" N, 99°26'38.01" W; 19°45'45.10" N, 99°26'36.54" W; y 19°45'45.39" N, 99°26'52.97". Y la segunda zona que se encuentra entre 19°45'48.16" N, 99°27'19.20" W; 19°45'43.58" N, 99°27'04.91" W; 19°45'56.82" N, 99°27'01.62" W; y 19°45'59.50" N, 99°27'15.08" W.

## **Materiales y métodos.**

### Muestreo.

Se realizaron colectas en el campo los días 31 de Julio, 1, 21 y 22 de Agosto del 2010 para tomar muestras de hongos macromicetos del suelo. El muestreo fue dirigido y con el objetivo de coleccionar la mayor cantidad de hongos posibles, considerando que los cuerpos fructíferos a coleccionar, crecen únicamente en época de lluvias. Al localizar a los hongos a simple vista, se tomaron los cuerpos fructíferos y se colocaron en bolsas de papel encerado o papel estraza, que a su vez fueron colocadas en canastas para evitar que los hongos se maltratasen. (ARC-PPRI, 1999)

Para cada hongo coleccionado se tomaron fotografías y se registró: georeferencia, tipo de vegetación circundante, fecha, coleccionador y nombre común u observación etnomicológica. Después fueron transportados hasta la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FESI).

Los cuerpos fructíferos de los hongos fueron descritos morfológicamente (forma del pilio, las láminas, el estípote, color, textura, cambios de color) y se mantuvieron refrigerados a -20 °C. Se tomaron muestras de tejido; para lo cual se separó el pilio del estípote y se llenaron dos tubos de reacción con el tejido que se encuentra más alejado del suelo y agentes externos; se procuró que la muestra no estuviera contaminada con larvas de dípteros u otros insectos. Los tubos fueron etiquetados con el número de la muestra y se mantienen refrigerados a -70 °C.

### Caracterización taxonómica.

La caracterización de la vegetación se realizó a partir de caracteres poco variables que se presentan en las hojas y últimas ramillas de los árboles. La caracterización de cada individuo se llevará a cabo con la ayuda de claves taxonómicas especializadas (Calderón de Rzedowski & Rzedowski 2001) y el asesoramiento del personal responsable del herbario de la FES Iztacala [IZTA].

Para realizar la caracterización micológica, se llevó un proceso similar al anterior, describiendo principalmente las características diacríticas de los cuerpos fructíferos mencionadas con anterioridad (forma del pilio, láminas, estípite, etc.); utilizando inicialmente claves taxonómicas generales de identificación de hongos macromicetos (Guzmán 1979). Posteriormente los ejemplares de árboles y hongos fueron depositados como ejemplares al herbario IZTA.

### Etnomicología.

El conocimiento etnomicológico de la localidad fue registrado mediante la aplicación de una encuesta semiestructurada a 29 personas elegidas al azar que habitan en la cabecera municipal de Villa del Carbón. Este grupo de estudio incluyó a comerciantes y compradores de hongos, así como recolectores y amas de casa en general.

Las preguntas contenidas en la encuesta se diseñaron con el fin de conocer cuántos hongos conocen las personas, si reconocen a los hongos contenidos en este estudio, cuales son los hongos percibidos como un recurso comestible en la comunidad, cuales son los hongos que la gente no consume como un recurso comestible y por qué; y finalmente, si perciben alguna relación entre ciertos hongos y ciertos árboles en las zonas boscosas de la localidad. La entrevista tiene la siguiente estructura:

1. El informante deberá nombrar todos los hongos que pueda recordar.
2. El informante deberá mencionar los diferentes usos que conozca para los hongos antes mencionados.
3. El informante señalará si percibe alguna relación entre ciertos hongos y ciertos árboles.
4. El informante reconocerá por nombre y uso a los hongos utilizados en este estudio mediante fotografías, haciendo énfasis en los hongos comestibles.
5. El informante mencionará a los hongos que más comúnmente consume.
6. El informante indicará algunas formas de cocinar o preparar a los hongos.

7. El informante señalará qué hongos no son percibidos como un recurso comestible y por qué.
8. Opcionalmente el informante señalará los lugares de colecta de los hongos.

Adicionalmente, se identificará a los hongos potencialmente comestibles mediante una revisión y comparación bibliográfica con el objetivo de realizar un listado de los hongos con potencial alimenticio de la localidad, con el fin de comparar a los reportes bibliográficos con el conocimiento etnomicológico de los habitantes del municipio de Villa del Carbón; y hacer una contribución a este último.

#### Métodos moleculares.

Se realizó la extracción de DNA de la muestra de tejido mediante el método AP (Fulano y Sultana com. pers.), que consiste en macerar 0.1 g de muestra en 750 µl de buffer AP (Urea 7M, NaCl 0.35M, Tris base 0.05M, EDTA 0.02M, Sarcosina 1%), centrifugar a 12000 RPM por 1 min y tomar el sobrenadante, limpiar con 500 µl de fenol-cloroformo (1:1), centrifugar a 12000 RPM por 3 min y tomar la fase acuosa, precipitar con 500 µl de isopropanol y 50 µl de acetato de amonio 10M, centrifugar a 12000 RPM por 10 min y tirar el sobrenadante, lavar con etanol 70%, centrifugar a 12000 RPM por 3 min y tirar el sobrenadante, y finalmente resuspender en 50 µl de H<sub>2</sub>O libre de nucleasas.

La integridad del DNA extraído se verificó mediante una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 0.8%. Se utilizaron 0.5 µg de una escalera de DNA de 100 pb (Fermentas, Thermo Fischer Scientific) y se agregaron 5 µl de DNA extraído y diluido en H<sub>2</sub>O. La electroforesis se llevó a cabo con 110 V y 100 mA durante 40 min (Voytas 2000).

A partir del DNA genómico extraído, la región D1/D2 del gen nuclear de LSU rDNA fue amplificado por PCR (Kramer & Coen) con el par de primers específicos LR0R (ACCCGCTGAACTTAAGC) y LR3 (CCGTGTTTCAAGACGGG) (White et al. 1990).

La reacción de PCR se efectuó con las siguientes concentraciones: 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5 µM de cada dNTP (Sigma-Aldrich Química), 10 µM de cada primer (Sigma-Aldrich Química), 2 U *Taq* polimerasa (Instituto de Ecología, UNAM), 1X de Buffer de amplificación (Invitrogen, Life Technologies). Las PCR se llevaron a cabo en un termociclador (Applied Biosystems) procediendo con el siguiente perfil: (1) 94°, 3 min; (2) 5 ciclos de: (I) 94°, 1 min; (II) 45°, 1 min; (III) 72°, 1 min; (3) 30 ciclos de: (I) 94°, 1 min; (II) 50°, 1 min; (III) 72°, 1 min; (4) 72°, 5 min; (5) 4° continuo (Dahlman *et al.* 2000).

Se comprobó la amplificación de los fragmentos mediante una electroforesis horizontal en un gel de agarosa al 1% (Voytas 2000). Las reacciones que no mostraron un resultado positivo se optimizaron disminuyendo la cantidad de DNA, con diluciones empíricamente determinadas de 1:10 y 1:100.

Los fragmentos de DNA fueron secuenciados utilizando un secuenciador Applied Biosystems 3130 de 16 capilares a partir del primer LR0R (posición 26 – 42 en LSU de *Saccharomyces cerevisiae*) y LR3 (posición 651 – 635 en LSU de *S. cerevisiae*) en dirección 5' – 3' hasta aproximadamente 450 pb.

Gracias a que las secuencias de una y otra cadena coinciden en, por lo menos, la sección media; empleando el software MEGA 5 (Tamura K. 2011) se obtuvo la secuencia complementaria reversa de una de ellas y posteriormente ambas se alinearon para obtener sólo una secuencia de mayor tamaño.

Las secuencias resultantes se compararon con los datos registrados en el Centro Nacional para la Información de la Biotecnología (NCBI GenBank) mediante una búsqueda BLAST para caracterizar a los hongos hasta el máximo grado taxonómico posible. Las muestras se caracterizaron de acuerdo a la máxima identidad presentada por los registros del GenBank. Las secuencias generadas durante este estudio se agregaron a los bancos de información del GenBank como una contribución al conocimiento de la diversidad fúngica (Wolfberg & Madden 1999).

Cada secuencia de LSU rDNA obtenida en este estudio se utilizó, junto con las tres secuencias más afines obtenidas del GenBank, para reconstruir, mediante métodos bayesianos, algunos árboles filogenético de los hongos que forman parte de esta comunidad utilizando el software MrBAYES (Huelsenbeck et. al. <http://mrbayes.sourceforge.net/>); para efectuar los distintos análisis, se realizó primero una prueba utilizando el software JModelTest (Darriba et al. 2012) para determinar cual es el modelo evolutivo que mejor se ajusta a cada grupo de datos; para tal efecto se utilizaron los siguientes parámetros:

No todos los modelos de evolución genética que resultaron del análisis realizado con jModeltest están disponibles para ser utilizados con los estudios filogenéticos de MrBayes, por lo cual se optó, siguiendo las recomendaciones del proveedor, por utilizar el siguiente modelo más complejo. Por tal motivo, los modelos que se emplearon en los distintos análisis son: GTR + G para los grupos del orden agaricales y el género *Gymnopus*, GTR + G + I para el género *Russula* y HKY85 + G para el orden Boletales y el género *Amanita*.

Los análisis se realizaron por grupos taxonómicos para obtener resultados más fácilmente legibles; se añadieron además una o varias secuencias de especies pertenecientes a grupos taxonómicos evolutivamente lejanos a manera de grupo externo para poder inferir el lugar en que los árboles filogenéticos tienen su raíz. Con base en estos resultados se corroboró la efectividad de los métodos de caracterización observando las afinidades evolutivas que se reflejaron en los filogramas obtenidos.

## Resultados.

### Caracterización morfológica.

La vegetación arbórea del área de colecta, consta de dos especies dominantes que pertenecen al género *Quercus* (Fagaceae). Con la ayuda y asesoría de la Dra. Silvia Romero, jefe del Laboratorio de Árboles y Arbustos de la FESI, los árboles de este estudio fueron identificados como *Quercus castanea* Née y *Quercus obtusata* Bonpl. Se presentan también en la zona de colecta, aunque de manera bastante escasa, árboles de la especie *Arbutus xalapensis* Kunth (Ericaceae).

Se colectaron 75 cuerpos fructíferos de hongos macromicetos epigeos en los alrededores de la cabecera municipal de Villa del Carbón. Se identificaron 30 especies diferentes de hongos Basidiomicetos que pertenecen a 10 familias del orden Agaricales, la familia Boletaceae del orden Boletales y la familia Russulaceae perteneciente a los Russulales ([Cuadro I](#)). Además se ha identificado una especie de hongos Ascomicetos del orden de los Pezizales. Todo esto utilizando claves taxonómicas y observando caracteres morfológicos.

Cuadro I. Clasificación de los hongos colectados, de acuerdo a claves taxonómicas. Las especies comestibles aparecen sombreadas.

Orden	Familia	Género y especie	Especímenes
Basidiomycota			
Agaricales	Amanitaceae	<i>Amanita annulatovaginata</i>	VC078
		<i>Amanita caesarea</i>	VC118
		<i>Amanita flavoconia</i>	VC116, 144
		<i>Amanita sp.</i>	VC104
		<i>Amanita sp. 2</i>	VC134
		<i>Amanita rubescens</i>	VC076, 079, 081 084, 085, 086, 088, 092, 093, 102, 103, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 128, 136, 137
		<i>Amanita vaginata</i>	VC135
	Agaricaceae	<i>Lycoperdon peckii</i>	VC098
		<i>Lycoperdon umbrinum</i>	VC114, 115

	Coprinaceae	<b><i>Coprinus aff. atramentarius</i></b>	VC124, 095
	Hygrophoreaceae	<b><i>Hygrophorus sp. 1</i></b>	VC082
	Marasmiaceae	<b><i>Gymnopus aff. fibrosipes</i></b>	VC100
		<b><i>Gymnopus dryophilus</i></b>	VC117
		<b><i>Gymnopus sp.</i></b>	VC077, 096, 099
		<b><i>Marasmius rotula</i></b>	VC094, 105
		<b><i>Marasmius sp.</i></b>	VC129
		<b><i>Marasmius sp. 2</i></b>	VC090
	Pluteaceae	<b><i>Pluteus sp.</i></b>	VC083
	Psathyrellaceae	<b><i>Psathyrella candolleana</i></b>	VC119, 139
	Strophariaceae	<b><i>Stropharius semiglobata</i></b>	VC121
	Tricholomataceae	<b><i>Infundibulicybe gibba</i></b>	VC145
Boletales	Boletaceae	<b><i>Leccinum rugosiceps</i></b>	VC111
		<b><i>Strobilomyces floccopus</i></b>	VC080
Russulales	Russulaceae	<b><i>Russula aff. lepida</i></b>	VC087, 089
		<b><i>Russula sp. 1</i></b>	VC113
		<b><i>Russula sp. 2</i></b>	VC123
		<b><i>Russula aff. alutacea</i></b>	VC101, 133
		<b><i>Russula aff. queletii</i></b>	VC 151
		<b><i>Russula mexicana</i></b>	VC147, 148, 149, 152
Ascomycota			
Pezizales	Helvellaceae	<b><i>Helvella crispa</i></b>	VC126

### Etnomicología.

Se realizaron 29 encuestas semiestructuradas a 16 personas elegidas al azar y 13 comerciantes de hongos el 26 de Febrero del 2012, día Domingo y de Tianguis en la cabecera municipal de Villa del Carbón. Las entrevistas se realizaron a personas jóvenes (15 – 30 años), adultas (30 – 45 años) y de la tercera edad (45 + años) de ambos sexos sin distinción.

Las personas que no vendían hongos, no vendían ningún otro producto, algunos realizaban compras en el tianguis y otros descansaban. Las personas que venden hongos son en total 13 y en su mayoría se trata de mujeres adultas o de la tercera edad, aunque en dos casos se trató de hombres, uno adulto y uno joven. Las personas que venden hongos lo hacen sobre una superficie de plástico de aproximadamente un metro cuadrado y todos refieren que son ellos mismos quienes los colectan.

Cabe destacar que sólo una mujer vendía hongos en ese momento ya que los cuerpos fructíferos sólo se encuentran disponibles en el bosque hasta el mes de Diciembre, esto es importante porque las personas no tiene ningún hongo a la vista al realizar los listados libres; todos los comerciantes vendían en ese momento otros recursos forestales no maderables que recolectan, diversas hortalizas que ellos mismos cultivan y dulce de maíz llamado pinole.

En el ejercicio del listado libre (pregunta 1 de la encuesta) se registraron 70 nombres vernáculos, mientras que en el ejercicio de reconocimiento por fotografías (pregunta 4) se registraron 40 nombres vernáculos no mencionados en los listados libres; registrando así en total 110 nombres vernáculos que se presentan en Español y Otomí ([Cuadros II y III](#)).

Cuadro II. Nombres vernáculos y número de menciones observados en el ejercicio del listado libre.

<b>Nombre vernáculo</b>	<b>Menciones</b>	<b>Nombre vernáculo</b>	<b>Menciones</b>
Amarillo	1	de madroño	11
Amontonado	2	de maguey	2
Ardilla	1	de sereno	2
Azul	5	Dulce	1
Azulejo	1	Dulce de tronco	1
Bandejo	5	Durazno	2
Blanco	1	Elote	1
Calda	1	Enano	1
Cema	10	Galambo	1

Cema amargosa	5	<i>Kechimón</i> (Otomí)	17
Cema amarilla	2	<i>kechimón</i> blanco	1
Cema blanca	10	<i>kechimón</i> rojo	1
Cema bruja	1	<i>Kechimoncillo</i>	1
Cema carbonera	1	Lechero	6
Cema de encino	2	Mantequero	6
Cema de escoba	1	Morado	1
Cema de madroño	1	Mosco pringa	1
Cema de mejorana	1	Oreja	2
Cema de ocote	1	Oreja blanca	3
Cema de oyamel	1	Oreja colorada	2
Cema de pasto	1	Oreja de puerco	5
Cema de tequesquite	1	Paloma	2
Cema galambo	1	Patita	3
Cema morada	2	Patita de pájaro	11
Cema negra	1	Patita temblona	3
Cema piedrita	1	Pericón	5
Cema venada	1	Perrito	1
Chuin	11	Picoso	1
Clavito	2	Seta	1
Corral	1	Tejamanil	3
de Caballo	1	Ternero	1
de campo	1	Shero	3
de encino	9		
de llano	10		
de llano blanco	1		

Cuadro III. Nombres vernáculos que sólo se observaron en el ejercicio de reconocimiento.

<b>Nombres exclusivos del ejercicio de reconocimiento</b>			
Arrierito	Colorado	Kechimón corriente	Oreja de ratón
Asado	de gato	Madroño blanco	Orejita
Bola de llano	de lagartijo	Madroño de hoja	Padrecito
Bolita	de lama	Madroño morado	Pancita
Bolondanga	de palo	Madroño rojo	Pepita
Burro	de tronco	Manteco amarillo	Perrito amarillo
Cema hervida	Gelatina	Mantequero blanco	Señora
Cema loca	Hongo loco	Montero	Tablita
Ceso hueco	Hornera	Mosco	
Chora	Hueco	<i>Ocoshal</i>	
Chorita	Huevo	Oreja de conejo	

Los listados libres dieron en promedio 8 nombres de hongos por cada persona, se excluyó de los promedios el listado de una persona que sólo mencionó un hongo debido a que no representa su conocimiento acerca de los hongos pues no deseaba ser entrevistada. Los listados libres de las personas que no venden hongos dieron en promedio 7 hongos, siendo los listados más cortos de 1 y 2 hongos y los más extensos de 15 nombres; los listados libres de las personas que comercian hongos tienen en promedio 10 nombres, teniendo los listados más breves 4 hongos y los más largos hasta 17 nombres vernáculos.

El nombre más frecuentemente enlistado fue 'kechimón', que apareció en 17 listas; aunque cabe destacar que las 'cemas' en conjunto, incluyendo todas las variaciones de colores, hábitats y formas de 'cema', aparecieron un total de 45 veces en las listas. De los nombres enlistados libremente, 36 aparecieron solamente una vez, doce de ellos se enlistaron solamente dos veces, siete se nombraron en tres ocasiones, once se enlistaron entre cinco y diez ocasiones, y solamente cuatro nombres vernáculos se enlistaron más de diez veces.

Todos los nombres que la gente mencionó corresponden a hongos comestibles, excepto por los ‘de llano’, ‘de lama’, y ‘de tronco’ o ‘de palo’; algunos de estos nombres corresponden al conocimiento de relaciones de hábitat con ciertos árboles, tal es el caso de los hongos ‘de encino’, ‘de madroño’, ‘de maguey’, ‘cema de encino’, ‘cema de madroño’, ‘cema de ocote’, ‘cema de oyamel’ y ‘cema de tequesquite’.

Se utilizó una libreta etnomicológica conteniendo 55 fotografías que representan a 49 especímenes y 36 especies, algunos representaban a la misma especie en diferentes estadios de desarrollo o descomposición, en la cual las personas debían reconocer a los 49 especímenes y nombrar a los que conocieran. Los habitantes de Villa del Carbón nombraron al menos una vez a 48 especímenes de la libreta ([Cuadro IV](#)).

Cuadro IV. Número de veces que se reconoció cada espécimen mostrado a los informantes. Rec = Número de reconocimientos, (X) Número de veces que se uso ese nombre en particular.

Espécimen	Rec	Nombres
[Teleforaceae] 1	3	Oreja de puerco roja, de tronco, de palo
[Teleforaceae] 2	11	de tronco (9)
[Teleforaceae] 3	5	de tronco (2), de encino (2)
<i>Amanita annulatovaginata</i>	14	Encino (4), Perrito (4), Ardilla (3)
<i>Amanita caesarea</i>	22	Kechimón (9), Kechimoncillo (9)
<i>Amanita flavoconia 1</i>	23	Kechimón (17), Kechimoncillo (6)
<i>Amanita flavoconia 2</i>	19	Kechimón (9), Kechimoncillo (8)
<i>Amanita rubescens 1</i>	16	Mantequero (12)
<i>Amanita rubescens 2</i>	21	Mantequero (16)
<i>Amanita rubescens 3</i>	14	Mantequero (8)
<i>Amanita rubescens 4</i>	17	Mantequero (14)
<i>Amanita rubescens 5</i>	13	Mantequero (12)
<i>Amanita rubescens 6</i>	10	Mantequero (7)
<i>Amanita rubescens 7</i>	20	Mantequero (15)
<i>Amanita sp. (1)</i>	9	Kechimón (3), Mantequero (3)

<i>Amanita sp. (2)</i>	3	Madroño, Mantequero blanco, Mosco
<i>Amanita vaginata</i>	14	Perrito (6), Ardilla (4)
<i>Coprinus aff. atramentarius (1)</i>	10	de lama (7)
<i>Coprinus aff. atramentarius (2)</i>	4	de lama (2)
<i>Crepidotus aplanatus</i>	3	Perrito, de tronco, gelatina
<i>Gymnopus aff. fibrosipes</i>	2	de encino, de maguey
<i>Gymnopus sp. 1</i>	4	Encino (3)
<i>Gymnopus sp. 2</i>	9	de encino (5)
<i>Psathyrella candolleana</i>	3	Mantequero (2)
<i>Hygrophorus sp. (1)</i>	6	Mantequero (5)
<i>Hygrophorus sp. (2)</i>	8	Encino (3)
<i>Infundibulocybe gibba</i>	18	Tejamanil (7)
<i>Lycoperdon candidum</i>	19	de llano (11), de sereno (3), bolita (3), de gato (3)
<i>Marasmius aff. rotula (1)</i>	0	
<i>Marasmius aff. rotula (2)</i>	1	Arrierito
<i>Marasmius sp.</i>	2	Palomita, de encino
<i>Pluteus sp.</i>	5	Kechimoncillo (2)
<i>Russula aff. alutacea (1)</i>	23	Madroño (22) rojo (4)
<i>Russula aff. alutacea (2)</i>	19	Madroño (17)
<i>Russula aff. lepida 1</i>	13	Madroño (9)
<i>Russula aff. lepida 2</i>	21	Madroño (16) morado (4)
<i>Russula aff. queletii</i>	17	Madroño (16)
<i>Russula mexicana</i>	18	Madroño (17)
<i>Russula mexicana</i>	16	Madroño (15)
<i>Russula mexicana</i>	18	Madroño (17)
<i>Russula sp. (1)</i>	4	Ardilla (3)
<i>Russula sp. (2)</i>	11	Madroño (3), Madroño blanco (2)
<i>Strobilomyces floccopus</i>	20	Cema (12) negra (6)
<i>Stropharius semiglobata</i>	2	de lama, Kechimón
<i>Leccinum rugosiceps</i>	23	Cema* (22)

VC122	10	Tejamanil (2), Lechero (2)
VC130	5	de encino, Tejamanil, Clavito, Mantequero, Ocoshal
VC143	1	de tronco
VC151	7	Kechimón (2), Mosco (2)

Las personas entrevistadas reconocieron en promedio 19 especímenes de la libreta etnomicológica; las personas que no venden hongos identificaron en promedio 16 especímenes, de este grupo, la informante que reconoció la menor cantidad de hongos sólo nombró 4 especímenes y las que reconocieron mayor cantidad de especímenes nombraron hasta 27; los comerciantes de hongos distinguieron en promedio 23 especímenes, de este conjunto, el informante que menor cantidad de especímenes reconoció sólo denominó 4 y la que identificó más hongos reconoció hasta 40 cuerpos fructíferos.

De la libreta etnomicológica, tres de las especies se identificaron en 23 ocasiones; estas fueron *Russula olivacea*, *Leccinum rugosiceps* y *Amanita caesarea*; *Amanita aff. rubescens* y *Russula bella* se reconocieron en 21 ejercicios. Dos especies se nombraron sólo en una ocasión, *Marasmius rotula* y *Podoscypha petalodes*.

Como en el caso del ejercicio de listado libre, la gran mayoría de los hongos nombrados son consumidos como alimentos, aquellos que no se consumen o no se conocían tan detalladamente reciben genéricamente el nombre de ‘de encino’, ‘de llano’, ‘de palo’ o ‘de tronco’, y ‘de lama’ o simplemente no son reconocidos. Los hongos que se refirieron como los más consumidos fueron en general *Amanita caesarea*, *Boletus spp.*, *Russula spp.*, *Amanita rubescens*, *Lactarius indigo* y *Ramaria spp.*

La manera mas simple en que los habitantes de Villa del Carbón cocinan a los hongos, es asando a *A. caesarea* y *Russula spp.*, que al igual que *Laccaria spp.* y *Boletus spp.* también son fritos en aceite y servidos con epazote, cebolla, chiles picados y crema; *L. indigo* es consumido en quesadillas, salsa verde u otros platillos sustituyendo a la carne de cerdo; *A. rubescens* se consume también

asado o en una salsa de tomate junto con pollo; *Ramaria spp.* generalmente son cocinados capeados y fritos.

Existen tres grupos de hongos que no se consumen en Villa del Carbón: de los que se desconoce su comestibilidad y no se consumen tradicionalmente, los que no son comestibles debido a su consistencia, y los que 'hacen daño', 'hongos malos' u 'hongos locos'; ningún informante mencionó algún hongo mortal. La información acerca de la toxicidad de algunos hongos se ha transmitido de generación en generación, como el caso de *Amanita muscaria*.

Existen, además de la información acerca de especies particulares, diferentes ideas acerca de la toxicidad de algunos hongos; por ejemplo, la mayoría de los informantes refiere que los hongos se deben cocinar con bastante ajo, y se debe evitar consumirlos si el ajo cambia a algún color (morado o verde por lo general); algunos piensan también que los hongos se deben cocinar por separado y no se deben revolver al cocinarlos, pues pueden hacer daño (especialmente los que crecen en montones); otra creencia es que no se deben consumir dulces inmediatamente después de comer hongos, o que los niños no deben comer hongos (probablemente por la misma razón); una idea también bastante difundida es que los gusanos que contienen algunos hongos son los causantes de la toxicidad, y no el hongo por sí mismo, por lo que no se deben comer hongos con gusanos.

Una de las personas abordadas para ser entrevistada, dijo no conocer ni consumir ningún hongo, pues teme envenenarse; los informantes refirieron consumir los hongos con cierta precaución cuando no los reconocen y una de las comerciantes informó que ella misma consume los hongos al dudar de su comestibilidad antes de ofrecerlos a la venta. Todos los entrevistados dijeron que el conocimiento micológico lo adquirieron a través de sus padres y familia en general.

Los recolectores de hongos señalaron 3 hábitats particulares donde recogen hongos; 'el monte' que por lo general es el bosque, 'el llano' que son los pastizales naturales o lugares que han sido altamente afectados en cuanto a su vegetación, y

'el campo' que son las parcelas donde se siembran distintos productos. Un grupo de 3 personas recolectoras de hongos señalaron (6 meses antes de la aplicación de estas entrevistas) el área que algunas veces visitan para recolectar los hongos que posteriormente venden; fue de este sitio de donde se extrajeron todos los hongos que se utilizaron para la realización de este estudio.

### Análisis Molecular.

Utilizando la técnica de extracción AP, se obtuvo el DNA total de los 75 hongos colectados a lo largo de este estudio. La técnica de extracción resultó efectiva prácticamente para todas las muestras.

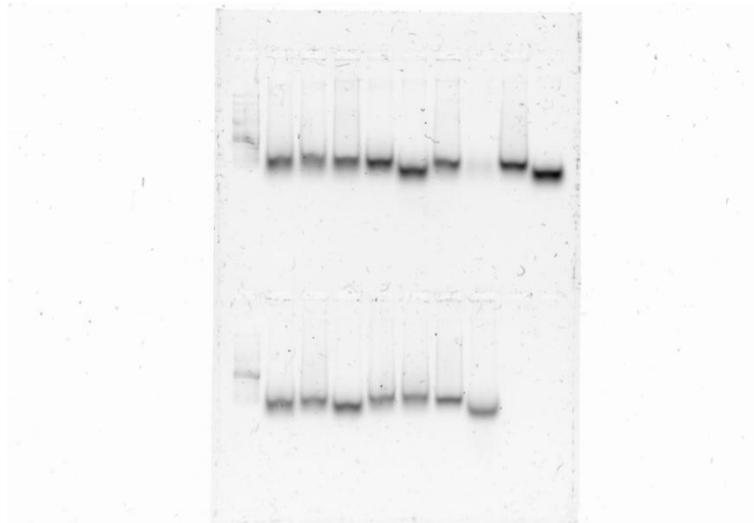


Figura 2 Electroforesis del DNA extraído de algunas muestras. Carril 1: Escalera 100pb; Carril 2-10: DNA total; Carril 11: Escalera 100 pb; Carril 12-18: DNA total.

Utilizando el DNA extraído, se realizó exitosamente la amplificación del fragmento LSU D1/D2, por medio de la PCR, utilizando los primers universales LR0R y LR3. De esta amplificación se obtuvieron fragmentos de aproximadamente 600 pb de longitud ([Fig 3](#)).

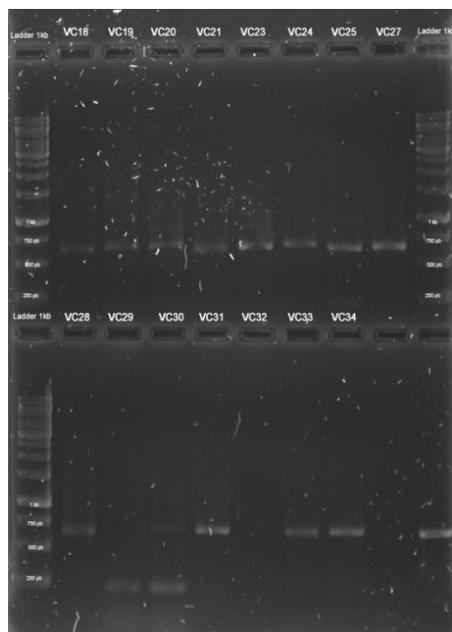


Figura 3 Electroforésis de los productos de PCR de LSU rDNA. Carril 1: Escalera 1 kb; Carril 2-4: Productos de PCR; Carril 5-6: Control negativo.

Se obtuvieron 49 secuencias del fragmento LSU rDNA a partir de las cuales realizaron los respectivos análisis BLAST y se designó a cada muestra con la especie determinada del registro que mostró la identidad máxima. La información se muestra en el [Cuadro V](#).

Cuadro V. Porcentaje de identidad de secuencias obtenidas con secuencias del GeneBank utilizando BLAST.

Muestra	Especie	Número acceso	Identidad
VC76	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC77	<i>Gymnopus menehune</i>	AY639424 (25)	99%
VC79	<i>Amanita sp.</i>	FJ196895	100%
VC80	<i>Strobilomyces floccopus</i>	AY645053 (684155)	99%
VC83	<i>Pluetus granulatus</i>	HM562226	99%
VC84	<i>Amanita rubescens</i>	FJ890042 (43)	99%
VC85	<i>Amanita rubescens</i>	FJ890042 (43)	99%
VC86	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC87	<i>Russula nitida</i>	EU598164	99%

VC88	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC89	<i>Russula nítida</i>	EU598164	99%
VC90	<i>Gloiocephala sp.</i>	AF261354	97%
VC92	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC93	<i>Amanita sp.</i>	FJ196895	100%
VC94	<i>Marasmius rotula</i>	AF261345	91%
VC96	<i>Gymnopus indoctus</i>	AY639418	99%
VC97	<i>Gymnopus biformis</i>	FJ750264	95%
VC98	<i>Lycoperdon norvegicum</i>	DQ112631	100%
VC99	<i>Gymnopus menehune</i>	AY639425 (24)	99%
VC100	<i>Gloiocephala aquatica</i>	NG027642	96%
VC101	<i>Russula sphagnophila</i>	AF506464	98%
VC102	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC103	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC104	<i>Amanita subglobosa</i>	JN941152 (57)	99%
VC105	<i>Marasmius rotula</i>	DQ457686 (AF261345)	99%
VC106	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC107	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC108	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC109	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC111	<i>Leccinum rugosiceps</i>	AY612813	95%
VC112	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC113	<i>Russula sphagnophila</i>	AF506464	98%
VC117	<i>Gymnopus dryophilus</i>	AF042595 (NG027632)	99%
VC118	<i>Amanita sp.</i>	FJ890047	99%
VC119	<i>Psathyrella candolleana</i>	AM712281 (DQ986225;110874)	96%
VC121	<i>Hypholoma / Inocybe / Stropharia</i>		100%
VC122	<i>Gymnopus dryophilus</i>	AF042595 (NG027632)	99%
VC123	<i>Russula cerolens</i>	HQ604832 (33)	99%
VC124	<i>Coprinopsis cinérea</i>	JQ045869	99%

VC127	<i>Hypsizygus tessulatus</i>	AY293189	99%
VC128	<i>Amanita sp.</i>		99%
VC129	<i>Gloiocephala aquatica</i>	NG027642	96%
VC133	<i>Russula sphagnophila</i>	AF506464	99%
VC134	<i>Amanita pantherina</i>	AB088768 (GQ401355;AF024467)	99%
VC135	<i>Amanita vaginata</i>	AF024482	98%
VC136	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC137	<i>Amanita rubescens</i>	AF097383	99%
VC139	<i>Psathyrella candolleana</i>	DQ389720 (AM712281)	99%
VC140	<i>Polyporus arcularius</i>	GU048614 (13)(AJ487939)	100%
VC142	<i>Gymnopus menehune</i>	AY639424 (25)	99%
VC143	<i>Podoscypha petalodes</i>	AF518639 (EF537892)	99%
VC144	<i>Amanita flavoconia</i>	EU522816 (FJ890041)(HQ539693)	99%
VC145	<i>Infundibulicybe gibba</i>	DQ457682	100%
VC146	<i>Gymnopus iocephalus</i>	AY639420	99%
VC147	<i>Russula xerampelina</i>	HM240542	99%
VC148	<i>Russula xerampelina</i>	HM240542	99%
VC149	<i>Russula cf. xerampelina</i>	AY228344	99%
VC151	<i>Russula sphagnophila</i>	AF506464	99%
VC152	<i>Russula sphagnophila</i>	AF506464	99%

Utilizando las secuencias recuperadas de cada uno de los organismos colectados se realizaron, por grupos taxonómicos, análisis filogenéticos mediante métodos bayesianos y se obtuvieron los árboles de relaciones filogenéticas que se muestran en las sucesivas figuras. La agrupación se realizó con base en afinidades taxonómicas, en todos los casos se utilizó un grupo externo utilizando un espécimen de algún orden distinto; excepto el análisis realizado para los hongos del orden Agaricales, donde debido a la diversidad que se incluyó, se utilizaron como grupos externos a algunas especies de dos órdenes distintos,

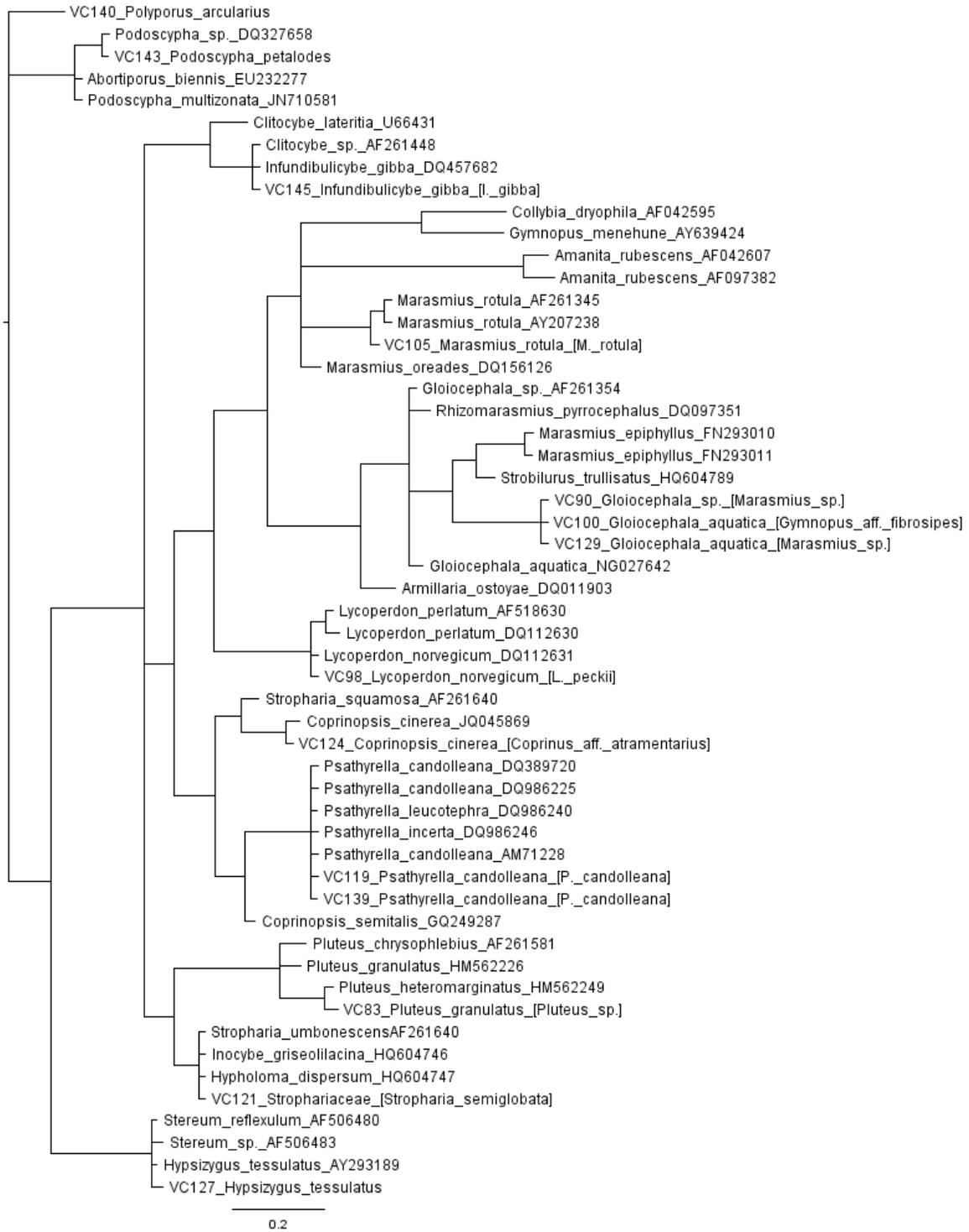


Figura 4 Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias de hongos agaricales, excluyendo al género *Amanita*. Grupos externos: orden Polyporales y familia Stereaceae

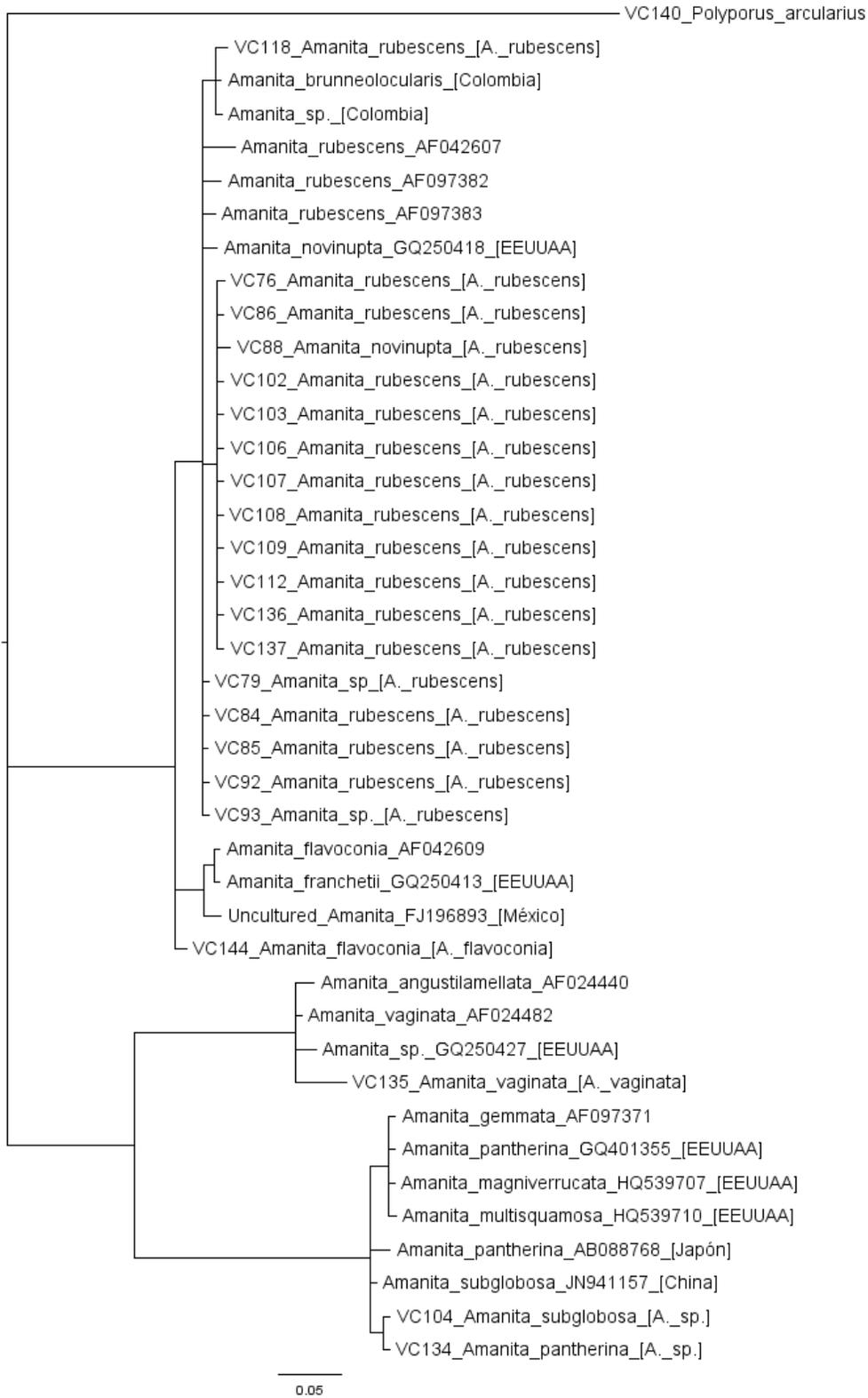


Figura 5 Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias del género *Amanita*. Grupo externo: *Polyporus arcularis*

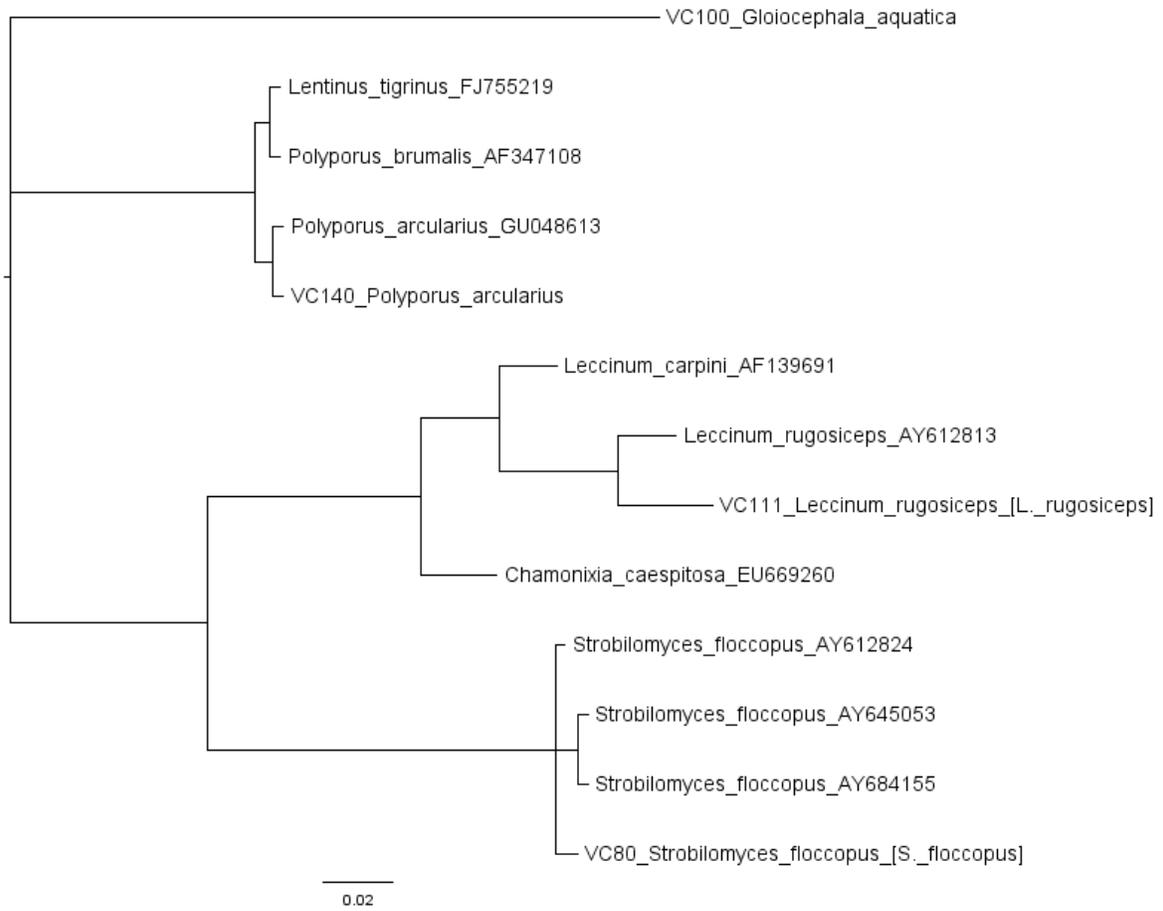


Figura 6 Árbol filogenético obtenido a partir de secuencias de Boletales. Grupos externos: Polyporales y *Gloiocephala aquatica*.

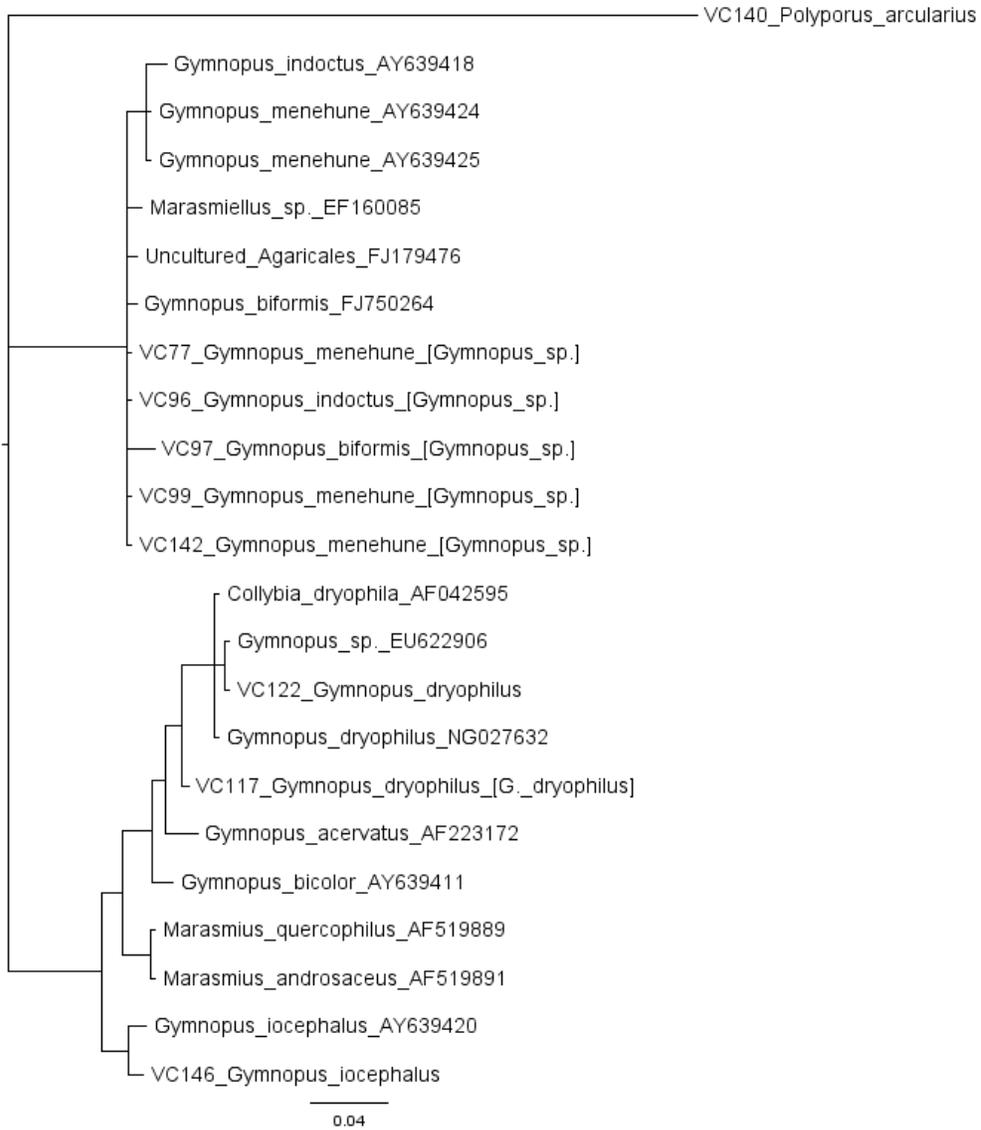


Figura 7 Árbol filogenético obtenido a partir de secuencias del género *Gymnopus*. Grupo externo: *Polyporus arcularis*.

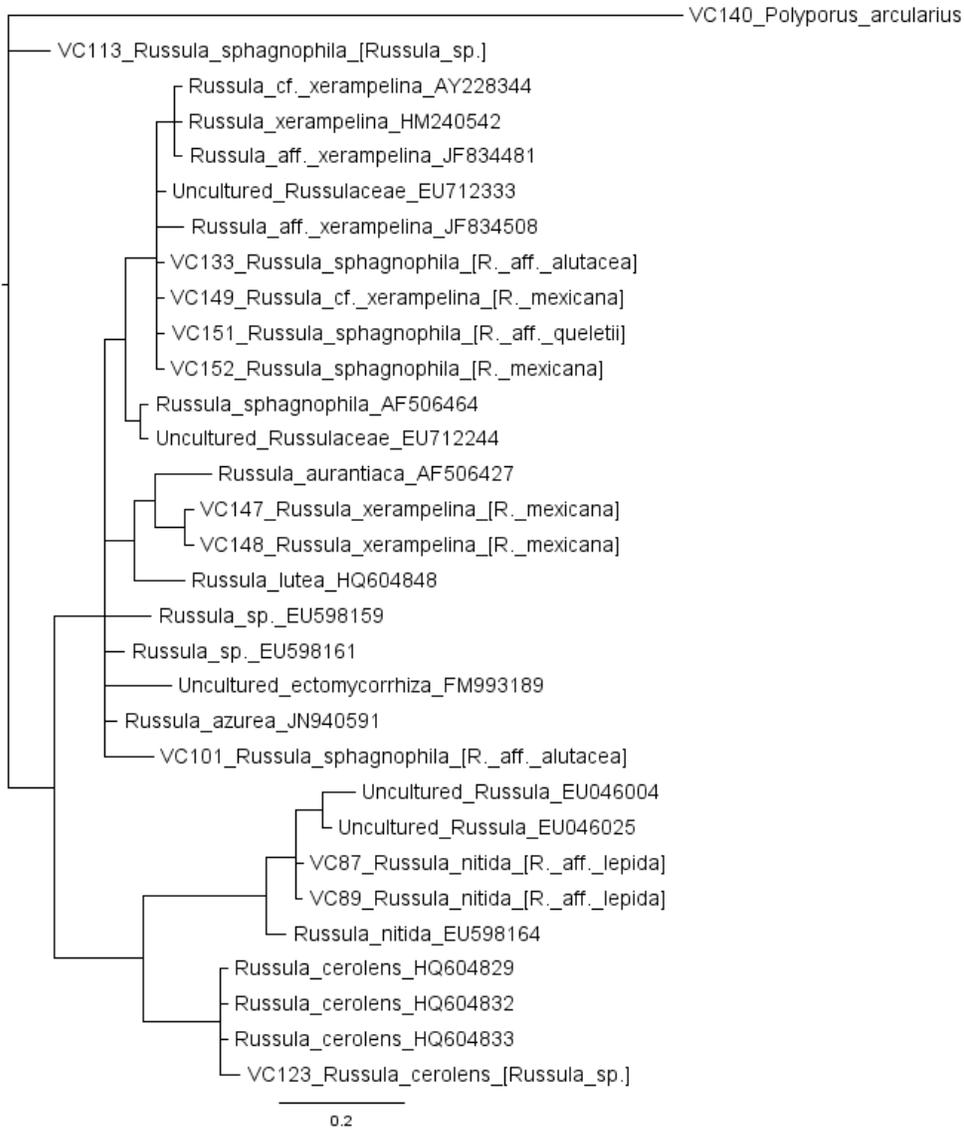


Figura 8 Árbol filogenético obtenido a partir de las secuencias del género *Russula*. Grupo externo: *Polyporus arcularis*.

Al realizar una comparación ([Cuadro VI](#)) entre las caracterizaciones molecular y morfológica, se observa que coinciden en la mayoría de las especies, aunque en algunos casos no es así, e incluso algunas especies caracterizadas como diferentes morfológicamente resultan ser la misma genéticamente, y viceversa.

Cuadro VI. Comparación de la caracterización molecular y morfológica, incluyendo nombres vernáculos.

Molecular	Morfológica	Vernácula
	<i>Amanita caesarea</i>	Kechimón
	<i>Amanita annulatovaginata</i>	De Encino
<i>Amanita flavoconia</i>	<i>Amanita flavoconia</i>	Kechimón [cillo]
<i>Amanita pantherina</i>	<i>Amanita sp. 2</i>	
<i>Amanita rubescens</i>	<i>Amanita rubescens</i>	Manteco, Mantequero
<i>Amanita sp.</i>		
<i>Amanita subglobosa</i>	<i>Amanita sp. 1</i>	
<i>Amanita vaginata</i>	<i>Amanita vaginata</i>	Perrito
<i>Coprinopsis cinérea</i>	<i>Coprinus aff. atramentarius</i>	de Lama
<i>Gloiocephala aquatica</i>	<i>Gymnopus aff. fibrosiceps</i>	
	<i>Marasmius sp. 1</i>	
<i>Gloiocephala sp.</i>	<i>Marasmius sp. 2</i>	
<i>Gymnopus biformis</i>		
<i>Gymnopus dryophilus</i>	<i>Gymnopus dryophilus</i>	
<i>Gymnopus indoctus</i>	<i>Gymnopus sp.</i>	de Encino
<i>Gymnopus iocephalus</i>		
<i>Gymnopus menehune</i>	<i>Gymnopus sp.</i>	de Encino
	<i>Hygrophorus sp.</i>	
<i>Hypholoma / Inocybe / Stropharia</i>	<i>Stropharius semiglobata</i>	de Lama
<i>Hypsizygyus tessulatus</i>	Teleforaceae	de Palo
<i>Infundibulicybe gibba</i>	<i>Infundibulicybe gibba</i>	Tejamanil

<i>Leccinum rugosiceps</i>	<i>Leccinum rugosiceps</i>	Cema
<i>Lycoperdon norvegicum</i>	<i>Lycoperdon peckii</i>	de Llano
	<i>Lycoperdon umbrium</i>	
<i>Marasmius rotula</i>	<i>Marasmius rotula</i>	
<i>Pluetus granulatus</i>	<i>Pluteus sp.</i>	
<i>Podoscypha petalodes</i>		
<i>Polyporus arcularius</i>		
<i>Psathyrella candolleana</i>	<i>Psathyrella candolleana</i>	
<i>Russula cerolens</i>	<i>Russula sp. 2</i>	
<i>Russula nítida</i>	<i>Russula aff. lepida</i>	de Madroño
<i>Russula sphagnophila</i>	<i>Russula aff. alutacea</i>	
	<i>Russula sp. 1</i>	
	<i>Russula aff. queleti</i>	
<i>Russula xerampelina</i>	<i>Russula mexicana</i>	
<i>Russula cf. xerampelina</i>		
<i>Strobilomyces floccopus</i>	<i>Strobilomyces floccopus</i>	Cema, Cema negra

## **Análisis y discusión.**

### Riqueza observada.

La zona de colecta se encuentra dominada en el estrato arbóreo por dos de las más de 161 especies de *Quercus* reportadas en México (Valencia 2004); bosques que cuentan también con estas especies de encinos han sido estudiados con el objetivo de conocer la diversidad de hongos macromicetos ahí presentes, o bien, de acercarse al conocimiento tradicional de las sociedades que los rodean.

*Quercus castanea* Née es un árbol de entre 5 y 20 metros de altura que se desarrolla normalmente sobre suelos arcillosos o arenosos con pedregosidad, se distribuye desde el Sur de los estados de Durango, Sinaloa y Sonora hasta Centroamérica (Arizaga *et al.* 2009); y se ha reportado en un estudio como parte de la vegetación asociada a las comunidades de hongos en Ixtlán, Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2006), que no enlista en sus resultados a ninguno de los hongos encontrados en el presente trabajo.

*Quercus obtusata* Bonpl. Es un árbol de entre 3 y 20 metros de altura que se desarrolla sobre suelos arenosos y arcillosos, es una especie endémica de México y se restringe al centro del país (Arizaga *et al.* 2009); su presencia como parte de la vegetación ha sido reportada en los estudios micológicos de Ixtlán, Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2006) que no reporta ninguna coincidencia en cuanto a la diversidad de hongos con respecto a esta investigación, y el de Villa del Carbón (Aguilar-Cruz & Villegas 2010) que, al tener como objetivo sólo a las especies del género *Ramaria*, tampoco enlista a ninguno de los hongos referidos en los resultados del actual estudio.

La otra especie arbórea presente en la zona de colecta, *Arbutus xalapensis* Kunth, se presenta de manera escasa y sólo fue observada seis veces a lo largo de las caminatas de recolección que se realizaron durante este estudio. El nombre común que recibe *A. xalapensis* es el de “madroño”, llega a medir hasta 9 metros de altura, crece generalmente en suelos ligeramente ácidos bien drenados y se distribuye desde Texas hasta Guatemala (Seiler *et al.* 2010). El trabajo

etnomicológico, ya antes mencionado, realizado en Ixtlán, Oaxaca también cita a *A. xalapensis* como uno de los componentes de la vegetación arbórea de ese lugar; cabe destacar que en el trabajo en cuestión, ninguno de los árboles aquí enlistados forma parte de la vegetación dominante y sólo aparecen esporádicamente a manera de vegetación secundaria.

De las 34 especies de hongos macromicetos colectadas en este estudio, se identificaron 16 que son consumidas habitualmente en Villa del Carbón. Aparentemente esta es una subestimación de la cantidad real de especies consumidas en esta localidad, pues la cantidad de nombres vernáculos es mucho mayor y no corresponde totalmente a las especies incluidas en esta investigación.

Esta subestimación se debe, probablemente, a que las colectas que se llevaron a cabo para desarrollar este estudio se realizaron exclusivamente en los bosques de *Quercus*, que representan sólo uno de los cuatro ecosistemas con los que cuenta el municipio de Villa del Carbón; dichos ecosistemas son los bosques de coníferas dominados por *Pinus* y *Abies* (Pinaceae), los bosques latifoliados dominados por *Quercus*, los bosques mixtos de pinos y encinos, y los pastizales inducidos (SMA, GEM 2010).

Estas 16 especies de hongos silvestres comestibles representan solamente el 5.8% del total de 275 hongos que se reportan como consumidos tradicionalmente en México (Garibay-Orijel *et al.* 2010). Comparados con estudios similares localizados también en bosques templados del Eje Novolcánico Transversal de México este resultado representa, de la región al oeste del Valle de México, el 47% de los 34 hongos reportados en las zonas aledañas al Valle de Toluca, México (Mariaca *et al.* 2001), el 51% de los 31 reportados en la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán (Farfán *et al.* 2007); y de la porción al este del Valle de México el 67% de los 24 reportados para Santa Catarina del Monte, México (Arteaga & Moreno 2006), el 18% de los 91 reportados para las zonas aledañas a la Sierra Nevada de el Distrito Federal, México, Morelos y Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2009; Estrada-Martínez *et al.* 2009), el 17% de las 94 especies reportadas en el Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala (Montoya *et al.*

2003; Montoya *et al.* 2004; Montoya *et al.* 2008), y el 89% de las 18 especies reportadas para las faldas del Cofre de Perote, Veracruz (Jarvis *et al.* 2004).

*Amanita annulatovaginata* Beeli es un hongo ectomicorrízico de bosques tropicales y subtropicales descrito originalmente en el Congo (Gilbert 1940) y que ha sido reportado en México solamente en el estado de Veracruz (Guzmán 1997). No cuenta con registros previos de comestibilidad alguna y en el municipio de Villa del Carbón tampoco se consume.

El complejo *Amanita caesarea* en México comprende un grupo de 6 hongos ectomicorrízicos de bosques de encino y de pino que tienen características altamente semejantes: *A. basii*, *A. tecomate*, *A. tullossii*, *A. yema*, *A. jacksonii* y *A. laurae* (Guzmán & Ramírez Guillén 2001); el espécimen tipo de este complejo fue descrito originalmente en Italia y se considera endémico de Eurasia (Neville & Poumarat 2004). El complejo *A. caesarea* ha sido reportado como comestible en México en los estados de Michoacán (Mapes *et al.* 1981), Tlaxcala (Montoya *et al.* 2002; Montoya *et al.* 2003; Montoya *et al.* 2008), Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2006), Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2007), Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008), Chiapas (Sheppard *et al.* 2008) y México (Arteaga & Moreno 2006; Estrada-Martínez *et al.* 2009; Pérez-Moreno *et al.* 2008). En este último estudio *A. caesarea* aparece como uno de los 10 hongos con mayor importancia etnomicológica en las inmediaciones de la Sierra Nevada.

En el estado de Tlaxcala, alrededor del Parque Nacional La Malinche los cuerpos fructíferos de estos hongos aparecen entre Julio y Septiembre, es de los hongos más abundantes, alcanza el precio más alto en los mercados locales (Montoya *et al.* 2003) y crece en bosques de pino y de encino (Montoya 2002). En el Centro de México el complejo *A. caesarea* es también el más costoso de todos los hongos comercializados (Pérez-Moreno *et al.* 2008). En Oaxaca este hongo es apreciado por la población como uno de los que tienen mejor sabor (Garibay-Orijel *et al.* 2007).

*Amanita flavoconia* Atkinson es un hongo ectomicorrízico (Kuo 2005) presente en México, que sólo cuenta con un registro de comestibilidad en el país que no

específica el lugar en que es consumido y se encuentra, debido a este registro, en una lista mundial de hongos comestibles siendo en México el único país donde se consume (Boa 2004). Es consumido por los habitantes de Villa del Carbón, aunque probablemente sólo cuando las verrugas amarillas de su píleo han desaparecido; fue esta la manera en que les fue mostrada la especie en fotografías.

*Amanita rubescens* Persoon es un hongo ectomicorrízico descrito originalmente en el norte de Europa y que se considera endémico de Eurasia, diversas especies referidas como *A. rubescens* en América probablemente se refieran a *A. novinupta*, *A. flavorubens*, *A. brunneolocularis* (Kuo 2008) e inclusive alguna especie nueva. *A. rubescens sensu lato* se ha registrado como comestible en los estados de Tlaxcala (Montoya *et al.* 2002; Montoya *et al.* 2008), Veracruz (Jarvis *et al.* 2004), Oeste (Mariaca *et al.* 2001) y Este de México (Arteaga & Moreno 2006; Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009), Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009), y Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2009).

Se ha reportado que en el Valle de Toluca, México esta especie fructifica de Julio a Septiembre (Mariaca *et al.* 2001), en Texcoco, México lo hace de Julio hasta Diciembre (Arteaga & Moreno 2006), mientras que en Tlaxcala empiezan a aparecer sus cuerpos fructíferos en los últimos meses de la época de lluvias solamente en bosques de *Pinus-Alnus* (Montoya *et al.* 2002); en Ixtlán, Oaxaca *A. rubescens s. l.* fue uno de las especies de basidiomicetes con mayor producción de biomasa (Garibay-Orijel *et al.* 2009), y en los mercados regionales alrededor de la Sierra Nevada, fue también uno de las especies comercialmente más abundantes (Pérez-Moreno *et al.* 2008). Esta especie de hongos es consumida activamente por los pobladores de Villa del Carbón, y a lo largo de las colectas tuvo la mayor abundancia aparente, ya que se colectaron 19 especímenes.

*Amanita vaginata* Bulliard es un hongo ectomicorrízico descrito originalmente en Francia que muy probablemente también sea un complejo de especies distintas. Es considerado comestible en los estados de Tlaxcala (Montoya *et al.* 2004),

México, Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009) y Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2009). En la zona de la Sierra Nevada, esta especie alcanzó una de las importancias etnomicológicas más altas (Estrada-Martínez *et al.* 2009); en La Malinche, Tlaxcala *A. vaginata s. l.* fue colectado en Septiembre en bosques de *Pinus-Alnus* (Montoya *et al.* 2004); en Ixtlán, Oaxaca esta especie fructifica a lo largo de casi toda la temporada de lluvias aunque generando poca biomasa (Garibay-Orijel *et al.* 2009). Esta especie no se consume como alimento en Villa del Carbón.

*Lycoperdon peckii* Morgan es un hongo saprótrofo descrito inicialmente en Canadá y que en México solamente se ha reportado en la zona Norte del país (Moreno *et al.* 2010). Existe, al igual que en el caso de *Amanita flavoconia*, un registro que refiere su consumo tradicional en México sin especificar una localidad, y asimismo se encuentra en un listado mundial de hongos comestibles siendo este país el único donde se consume (Boa 2004). Los habitantes de Villa del Carbón perciben a esta especie como un recurso comestible solamente en estadios juveniles.

*Lycoperdon umbrinum* Persoon es un hongo saprótrofo descrito en un principio en la zona Norte de Europa y presente en México. Esta especie cuenta con un registro de comestibilidad en Santa Catarina del Monte, México donde fructifica de Junio a Diciembre (Arteaga & Moreno 2006); además, la lista mundial de hongos comestibles refiere que esta especie sólo se consume en México (Boa 2004). Los habitantes de Villa del Carbón refieren que se consume en estados juveniles cuando el interior aún es blanco.

*Gymnopus dryophilus* Bulliard es un hongo saprótrofo muy común en los bosques de Norteamérica. Se consume tradicionalmente en los estados de Tlaxcala (Montoya *et al.* 2002; Montoya *et al.* 2004; Montoya *et al.* 2008), México, Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009) y Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2009). En Tlaxcala esta especie fructifica de Julio a Octubre solamente en bosques de *Pinus-Alnus* (Montoya *et al.* 2004), mientras que en Ixtlán, Oaxaca los cuerpos fructíferos aparecen desde Junio hasta Octubre (Garibay-Orijel *et al.* 2009) en los mercados de las inmediaciones de la Sierra Nevada esta especie se

enlisto entre los más comercialmente abundantes (Pérez-Moreno *et al.* 2008). En Villa del Carbón esta especie no se consume y se desestima

*Infundibulicybe gibba* Harmaja o *Clitocybe gibba* Persoon es un hongo saprótrofo asociado a los bosques templados latifoliados. Esta especie de hongos se consume tradicionalmente en los estados de Tlaxcala (Montoya *et al.* 2002; Montoya *et al.* 2003; Montoya *et al.* 2004; Montoya *et al.* 2008), México (Arteaga & Moreno 2006; Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009), Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009) y Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2009). En Tlaxcala estos hongos son transportados aparte debido a su fragilidad (Montoya *et al.* 2003), fructifican en bosques de *Abies religiosa* desde Junio hasta Octubre (Montoya *et al.* 2004); en los mercados alrededor de la Sierra Nevada *I. gibba* es uno de los hongos comercialmente más abundantes (Pérez-Moreno *et al.* 2008); en Santa Catarina del Monte, México los cuerpos fructíferos de esta especie aparecen de Julio a Noviembre (Arteaga & Moreno 2006). Esta especie es consumida activamente por los habitantes de Villa del Carbón.

*Leccinum rugosiceps* Singer es un hongo ectomicorrízico americano asociado a los árboles del género *Quercus*. Se ha reportado su presencia en México en los estados de Tlaxcala (Montoya-Esquivel 1998), Hidalgo (Rodríguez-Ramírez & Moreno 2010), Querétaro y Guanajuato (Landeros *et al.* 2006). Su comestibilidad sólo se ha registrado en el estado de Tlaxcala (Montoya-Esquivel 1998) y debido a este registro se encuentra también en la lista mundial de hongos silvestres comestibles donde se indica que en México es el único país donde se consume (Boa 2004). *L. rugosiceps* es consumido activamente en la comunidad de Villa del Carbón.

*Strobilomyces floccopus* Persoon es una especie de hongos ectomicorrízicos, especialmente asociados con encinos presente en México. Para esta especie existe sólo un registro de comestibilidad en México, el cual no especifica la localidad en que es consumida; se encuentra también en la lista mundial de hongos silvestres comestibles, que indica que además se consume en Rusia y Ucrania (Boa 2004). Este hongo es consumido sólo por algunos de los habitantes

de Villa del Carbón, ya que otros consideran que su color negro es evidencia de su toxicidad.

*Russula mexicana* Burlingham es un hongo ectomicorrízico descrito originalmente en México (Burlingham). Estos hongos son consumidos tradicionalmente en los estados de México, Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008) y Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2008). En un estudio realizado en Ixtlán, Oaxaca esta especie se encontró entre las menos abundantes, pues se colectó sólo un cuerpo fructífero, a comparación de los más de 1000 que se colectaron de algunas otras especies (Garibay-Orijel *et al.* 2008). Esta especie es consumida por los habitantes de Villa del Carbón.

*Helvella crispa* Scopoli es un hongo ectomicorrízico con una amplia distribución (). Esta especie se ha reportado como comestible en los estados de Michoacán (Mapes *et al.* 1981) Tlaxcala (Montoya *et al.* 2002; Montoya *et al.* 2003; Montoya *et al.* 2004; Montoya *et al.* 2008), México (Mariaca *et al.* 2001; Arteaga & Moreno 2006; Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009), Puebla (Pérez-Moreno *et al.* 2008; Estrada-Martínez *et al.* 2009) y Oaxaca (Garibay-Orijel *et al.* 2009). En el Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala los cuerpos fructíferos de *H. crispa* aparecen de Agosto a Octubre en bosques de *Abies religiosa* (Montoya *et al.* 2004) y alcanzan los precios más altos en los mercados locales (Montoya *et al.* 2003); este hongo fructifica entre los meses de Septiembre a Diciembre en el Valle de Toluca (Mariaca *et al.* 2001) y Santa Catarina del Monte, México (Arteaga & Moreno 2006). Este hongo es consumido tradicionalmente en el municipio de Villa del Carbón.

### Etnomicología.

La comercialización de los hongos comestibles de Villa del Carbón se lleva a cabo en una zona del tianguis que está reservada especialmente para los puestos que venden también otros recursos forestales no maderables y hortalizas de producción escasa; la gran mayoría de las personas que se dedican a esta actividad comercial son mujeres y sólo se observaron a dos hombres, aunque

estos muy probablemente acompañan a mujeres de su familia a vender, pues ellos no tenían un puesto propio.

El comercio de hongos comestibles en los mercados es bastante común en los pueblos de México, y ha sido registrado en diferentes zonas montañosas y templadas del eje neovolcánico transversal mostrando algunas semejanzas con el proceso comercial de hongos en Villa del Carbón, como es el caso del Valle de Toluca, México donde esta actividad se realiza en los días de tianguis; en esta localidad la venta de hongos es realizada exclusivamente por mujeres mestizas que se hacen acompañar por algún familiar o conocido y esporádicamente por sus esposos, aunque también aquí la colecta se realiza por toda la familia; las vendedoras salen de sus casas desde las seis de la mañana llevando consigo en promedio 10 kilogramos de hongos y ganan de 30 a 80 pesos al día descontando los gastos de transporte, derecho de piso y uso de sanitarios (Mariaca *et al.* 2006).

En las inmediaciones del Parque Nacional La Malinche, Tlaxcala la venta de hongos es una actividad bastante importante en el poblado de Javier Mina, donde 75 personas invierten hasta 10 horas de caminatas a lo largo de hasta 20 kilómetros para realizar sus colectas de alrededor de 5.3 kilogramos por las cuales obtienen ganancias de \$ 29 pesos en promedio (Montoya *et al.* 2002).

En los poblados rurales que rodean a la Sierra Nevada en México y Puebla esta actividad también se realiza a pie y recorriendo grandes distancias, muy a menudo desde antes del amanecer y hasta el atardecer; específicamente en el mercado de Ozumba los precios de los hongos no son fijos debido a que el regateo es una práctica común, el comercio de hongos en este mercado se lleva a cabo en un 93% por mujeres aunque la colecta se lleva a cabo usualmente por toda la familia, la venta de hongos se practica junto con la venta de otros productos forestales no maderables (Pérez-Moreno *et al.* 2008); en contraste, en cuatro mercados tradicionales alrededor de esta Sierra, la venta de los hongos se realiza por mujeres que no venden ningún otro producto (Estrada-Martínez *et al.* 2009).

En otras regiones del país, que no pertenecen al eje neovolcánico transversal, pero que igualmente comparten un ecosistema de bosques templados, el comercio de hongos también presenta algunas coincidencias con el que se desarrolla en Villa del Carbón; tal es el caso de el pueblo de Ixtlán, Oaxaca, donde los hongos se venden en los días de Tianguis (Garibay-Orijel *et al.* 2007).

Los 110 nombres que se reportan en este trabajo constan de 63 sustantivos principales únicos y 47 variaciones de algunos de estos, indicados principalmente con adjetivos de color; destaca el grupo de las cemas, donde “cema” es el nombre principal y además se conocen 20 variantes de cema, dependiendo del color, hábitat o morfología del hongo.

Los 110 nombres enlistados en este trabajo superan por casi el 200% a las 30 especies encontradas; lo cual nos indica que el alcance de este trabajo fue mínimo, ya que los 110 nombres vernáculos se refieren a hongos comestibles casi exclusivamente y sólo 15 de las 30 especies colectadas son comestibles. Y, aunque por supuesto algunos nombres hacen referencia al mismo hongo, considerando la gran diversidad que presenta este grupo de organismos, no sería arriesgado estimar una diversidad real de cerca de 220 especies de hongos macromicetos en los alrededores de la cabecera municipal de Villa del Carbón.

El libro “Los Nombres de los Hongos y lo Relacionado con ellos en América Latina” (Guzmán 1997), que contiene más de 5,500 nombres comunes basados en aproximadamente 1,750 especies, contiene sólo 50 de los 110 nombres que se encontraron a lo largo de este trabajo. 43 de estos nombres son sustantivos sin adjetivar, es decir, pareciese que en este libro no se enlistan o no se toman en cuenta diversas variantes de algunos nombres, por ejemplo variantes de color. Sin embargo, 8 de los nombres que aparecen tanto en el presente trabajo como en el libro antes citado, son sustantivos con adjetivo y se trata de las variantes de oreja y de patitas.

Es importante señalar que a lo largo de este estudio no se logró asignar una probable especie a todos los nombres vernáculos de los listados libres, por obvias

razones; incluso algunos nombres que sólo se mencionaron en el ejercicio de reconocimiento no se pudieron asociar a alguna especie en particular, pues aunque todos estos nombres fueron mencionados al observar un hongo en particular, algunos sólo fueron mencionados por una persona y no fueron repetidos por nadie más, lo cual nos lleva a pensar que se trató de una confusión al reconocer el hongo en cuestión.

En los [Cuadros VII y VIII](#) se muestran, en la primera columna, todos los nombres que se registraron a lo largo de este trabajo; en la segunda columna se enlista la probable especie a la que se refieren los diferentes nombres, asociada en base a reconocimiento de fotografías o descripciones de los habitantes; y en la última columna se encuentran las especies que “Los Nombres de los Hongos y lo Relacionado a Ellos en América Latina” refiere como sinonimia científica a cada nombre vernáculo.

Cuadro VII. Comparación de los nombres vernáculos observados, las especies a las que algunos de ellos se refieren y las reportadas en Guzmán 1997.

<b>Nombre vernáculo</b>	<b>Probable especie.</b>	<b>Guzmán 1997</b>
Amarillo		<i>A. luteovirens; C. cibarius</i>
Amontonado		<i>Lyophyllum decastes</i>
Ardilla	<i>Russula sp. 1</i>	<i>Russula amoena, cyanoxantha</i>
Azul	<i>Lactarius indigo</i>	<i>Lactarius indigo</i>
Azulejo		<i>Cortinarius calochrous</i>
Bandejo		
Blanco		<i>Russula brevipes, delica</i>
Calda		
Cema	Boletaceae	<i>Boletus edilus et aff.</i>
Cema amargosa		
Cema amarilla		
Cema blanca		
Cema bruja	<i>Strobilomyces floccopus</i>	
Cema carbonera	<i>Strobilomyces floccopus</i>	

Cema de encino		
Cema de escoba		
Cema de madroño		
Cema de mejorana		
Cema de ocote		
Cema de oyamel		
Cema de pasto		
Cema de tequesquite		
Cema galambo		
Cema morada		
Cema negra		
Cema piedrita		
Cema venada		
Chuin	<i>Lactarius indigo</i>	
Clavito		<i>Armillariella polymyces et aff.</i>
Corral		Formadores de anillos de hada
de Caballo	<i>Coprinus spp. et aff.</i>	<i>Coprinus spp.</i>
de campo	Desarrollados en campo	Desarrollados en el campo
de encino		<i>Armillariella spp.</i>
de llano	<i>Lycoperdon spp.</i>	<i>Agaricus campestris</i>
de llano blanco	<i>Lycoperdon spp.</i>	
de madroño	<i>Russula spp.</i>	<i>Russula spp.</i>
de maguey		<i>Pleurotus levis, opuntiae</i>
de sereno	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
Dulce		
Dulce de tronco		
Durazno		<i>Cantharellus cibarius</i>
Elote		<i>Morchella spp.</i>
Enano		
Galambo		<i>Boletus erythropus</i>

<i>Kechimón</i> (Otomí)	<i>Amanita caesarea</i>	<i>Amanita caesarea</i>
<i>kechimón</i> blanco		
<i>kechimón</i> rojo		
<i>Kechimoncillo</i>	<i>Amanita flavoconia</i>	
Lechero	<i>Lactarius spp.</i>	
Mantequero	<i>Amanita rubescens</i>	<i>Amanita rubescens</i>
Morado		
Mosco pringa	<i>Amanita aff. muscaria</i>	
Oreja		<i>Clitocybe squamulosa</i>
Oreja blanca	<i>Infundibulocybe gibba</i>	<i>Pleurotus spp.</i>
Oreja colorada		<i>Polyporus sanguineus</i>
Oreja de puerco		<i>Gomphus floccosus</i>
Paloma		<i>Armillaria luteovirens</i>
Patita	<i>Ramaria spp.</i>	<i>Clavariadelphus spp.</i>
Patita de pájaro	<i>Ramaria spp.</i>	<i>Clavaria; Clavariadelphus; Ramaria</i>
Patita temblona		
Pericón		<i>Cantharellus cibarius</i>
Perrito	<i>Amanita vaginata</i>	<i>Lycoperdum perlatum</i>
Picoso	<i>Lactarius spp.</i>	
Seta	<i>Pleurotus spp.</i>	<i>Boletaceae</i>
Tejamanil	<i>Infundibulocybe gibba</i>	Formadores de anillos de hada
Ternero	<i>Lycoperdon spp.</i>	<i>Calvatia cyathiformis</i>
Shero		

Cuadro VIII. Comparación de los nombres obtenidos mediante el ejercicio de reconocimiento, la especie a la que probablemente se refieren y las reportadas por Guzmán en 1997.

<b>Nombre vernáculo</b>	<b>Probable especie.</b>	<b>Guzmán 1997</b>
Arrierito	<i>Marasmius spp.</i>	
Asado	<i>Russula sp.</i>	
Bola de llano	<i>Lycoperdon spp.</i>	<i>Calvatia cyathiformis</i>
Bolita	<i>Lycoperdon spp.</i>	<i>Bovista; Lycoperdon</i>
Bolondanga	<i>Lycoperdon spp.</i>	
Burro	<i>Strobilomyces floccopus</i>	<i>Coprinus spp.</i>
Cema hervida		
Cema loca	<i>Strobilomyces floccopus</i>	
Ceso hueco	<i>Russula sp. 2</i>	
Chora	<i>Russula sp. 2</i>	
Chorita	<i>Russula sp. 2</i>	
Colorado	<i>Russula aff. lepida</i>	<i>Russula lepida</i>
de gato	<i>Lycoperdon spp.</i>	
de lagartijo	<i>Lycoperdon spp.</i>	<i>Lycoperdon perlatum</i>
de lama	<i>Coprinus spp.</i>	<i>Psilocybe coprophyla; Coprinus</i>
de palo		<i>Fomes pinicola et allí</i>
de tronco		<i>Armillariella spp.</i>
Gelatina		<i>Tremella spp.</i>
Hongo loco	Veneno	Venenosos
Hornera	<i>Strobilomyces floccopus</i>	
Hueco	<i>Russula sp. 2</i>	
Huevo	<i>Amanita caesarea</i>	<i>Amanita caesarea</i>
<i>Kechimón corriente</i>	<i>Amanita flavoconia</i>	
Madroño blanco	<i>Russula aff. lepidota</i>	
Madroño de hoja	<i>Russula aff. lepidota</i>	
Madroño morado	<i>Russula aff. lepidota</i>	
Madroño rojo	<i>Russula spp.</i>	

Manteco amarillo	<i>Amanita flavoconia</i>	
Mantequero blanco	<i>Amanita sp. 2</i>	
Montero	<i>Amanita caesarea</i>	
Mosco	<i>Amanita muscaria</i>	
Ocoshal		Desarrollado en hojarasca
Oreja de conejo	<i>Helvella crispa</i>	<i>Helvella crispa</i>
Oreja de ratón	<i>Helvella crispa</i>	<i>Helvella crispa</i>
Orejita	<i>Helvella crispa</i>	<i>Infundibulocybe gibba</i>
Padrecito	<i>Strobilomyces floccopus</i>	
Pancita	<i>Helvella crispa</i>	<i>Boletus edilus et aff.</i>
Pepita	<i>Amanita rubescens</i>	<i>Amanita muscaria</i>
Perrito amarillo		
Señora	<i>Russula aff. alepiota</i>	
Tablita	<i>Infundibulocybe gibba</i>	

Al analizar los listados libres que dio como resultado esta investigación, no se encontró ningún hongo que fuera mencionado por más del 90% de los informantes, y sólo el complejo *Amanita caesarea*, *Lactarius indigo* y *Ramaria spp.* fueron mencionados por 50% o más de los informantes. Los hongos que fueron mencionados por entre el 35 y el 49% de los habitantes fueron *Russula spp.*, *Boletus spp.*, *Lycoperdon spp* y una especie de *Boletus* blanca.

Los resultados del ejercicio de reconocimiento mostraron que ninguna especie de hongo es reconocida por más del 90% de los encuestados; mientras que los hongos reconocidos por más de la mitad de la población son *Amanita flavoconia*, *Russula aff. alutacea*, *Leccinum rugosiceps*, *Russula aff. lepida*, *Amanita rubescens*, *Strobilomyces floccopus*, *Lycoperdon candidum*, *Russula mexicana*, *Infundibulocybe gibba*, *Russula aff. queletii*, *Amanita vaginata* y *Amanita annulatovaginata*.

En los mercados del Valle de Toluca, se registraron 67 nombres comunes que corresponden a 34 especies de hongos, que se presentan tanto en Español como en Otomí y Mazahua (Mariaca *et al.* 2001); lo que representa un poco más del 50% de los nombres que se registran en el presente trabajo.

Uno de los estudios realizados en los mercados regionales alrededor de la Sierra Nevada, en los estados de México y Puebla registró 100 nombres comunes para hongos silvestres comestibles; estos nombres se presentan en Náhuatl y Español (Pérez-Moreno *et al.* 2008). Otro estudio menciona que los hongos más conocidos entre la población de esta zona son *Lyophyllum decastes s.l.* y *Amanita caesarea*, que son mencionados por más de la mitad de los 200 encuestados (Estrada-Martínez *et al.* 2009). La presente investigación tiene un listado de nombres comunes sólo un poco mayor, y coincide *A. caesarea* como uno de los hongo más comúnmente.

En tres poblaciones de Tlaxcala, al Este del Parque Nacional La Malinche, se registraron 121 nombres comunes que designan a 41 especies de hongos silvestres comestibles. Los hongos más conocidos entre los habitantes de estas tres localidades son *Amanita caesarea*, *Boletus pinophilus*, *Lyophyllum ovisporum*, *Entoloma clypeatum*, *Hebeloma aff. mesophaeum* y *Ramaria spp.*; mientras que las especies reconocidas por más de la mitad de la población son *Cantharellus cibarius*, *Russula delica*, *Hygrophorus chrysodon*, *Gomphus floccosus*, *Agaricus campestris*, *Lactarius deliciosus*, *Laccaria bicolor* y *Hebeloma lacunosa* (Montoya *et al.* 2002). El listado de nombres comunes antes mencionado es ligeramente más grande que el construido a lo largo de la nuestra investigación, probablemente debido a que se registró en tres poblaciones, pues ninguno de los listados individuales de cada localidad rebasa los 105 nombres; ambos trabajos registran a *A. caesarea*, *Ramaria spp.* y especies de los géneros *Boletus* y *Russula* entre los hongos más conocidos por las distintas poblaciones.

Un estudio realizado en San Isidro Buensuceso, Tlaxcala en las inmediaciones del Parque Nacional La Malinche, contiene un listado de 105 nombres comunes utilizados para designar a 58 especies, registrados entre listados libres y ejercicios

de reconocimiento. En esta localidad las especies más frecuentemente mencionadas fueron *Gomphus floccosus*, *Ramaria spp.* y *Boletus pinophilus*; mientras que más de la mitad de los encuestados mencionaron a *Amanita caesarea*, *Cantharellus cibarius*, *Clitocybe spp.*, *Laccaria bicolor*, *Lyophyllum decastes*, *Morchella spp.* y *Russula delica* (Montoya et al. 2003).

En un estudio que además de San Isidro Buensuceso agrega a la población de Francisco Javier Mina, reporta que las especies más mencionadas en el estudio del listado libre fueron *Boletus pinophilus*, *Amanita caesarea*, y *Cantharellus cibarius*; los hongos mencionados por más de la mitad de los encuestados fueron *Lyophyllum decastes*, *Gomphus floccosus*, *Hebeloma mesophaeum*, *Laccaria trichodermophora*, *Ramaria spp.*, *Morchella spp.* y *Russula delica* (Montoya et al. 2004). El estudio presente, contiene una lista de nombres comunes de longitud similar al registrado en Tlaxcala, y contiene también entre los hongos más mencionados a *Amanita caesarea*, *Ramaria spp.* y a los hongos del género *Russula*.

Se reporta que en Ixtlán de Juárez, Oaxaca la población utiliza 26 nombres tradicionales que corresponden a 43 especies de hongos (Garibay-Orijel et al. 2006); en esta población el hongo más mencionado fue el complejo *Amanita caesarea* y los hongos que fueron mencionados además por más de la mitad de los 95 encuestados fueron *Ramaria spp.*, *Neolentinis lepideus* y *Agaricus pampeanus* (Garibay-Orijel et al. 2007). La lista que se presenta en este reporte representa tan sólo el 25% de la que se muestra en la actual investigación, aunque ambos estudios coinciden en que las especies más mencionadas son *A. caesarea* y *Ramaria spp.*.

En la región de la alta montaña de Chiapas, se registraron 55 nombres en Tzeltal y 50 en Tzotzil, con un promedio de 16.4 nombres mencionados por cada uno de los 14 informantes en los listados libres. Los hongos más reconocidos entre los Tzeltales, tanto en listados libres como en ejercicios de reconocimiento fueron *Amanita spp.* (especialmente el complejo *Amanita caesarea*), *Cantharellus spp.* y *Lactarius spp.* de colores amarillos así como otros de los géneros *Cantharellus* y

*Lyophyllum*; mientras que los Totziles reconocen más comúnmente a *Boletus spp.*, *Suillus spp.*, *Ramaria spp.*, *Armillaria spp.*, *Amanita caesarea*, *Agaricus spp.*, *Ganoderma spp.*, *Pleurotus spp.*, y *Cantharellus spp.* (Sheppard *et al.* 2008). Los listados aquí referidos representan cerca de la mitad de los enlistados en nuestra investigación, pero muestran, al igual que este trabajo, a *Amanita caesarea*, *Boletus spp.*, y *Ramaria spp.* como las especies más reconocibles entre la población encuestada.

En general, el complejo *Amanita caesarea* es uno de los hongos más importantes para las poblaciones de las zonas montañosas templadas del país, o incluso el más importante. Los resultados de este trabajo y sus comparaciones con la bibliografía del tema, muestran también que *Ramaria spp.* es uno de los hongos más mencionados y reconocidos entre las poblaciones de zonas montañosas que han sido estudiadas. *Russula spp.* y *Boletus spp.* son también importantes, aunque al parecer en menor medida, para las personas que habitan zonas templadas incluyendo a Villa del Carbón.

*Lactarius indigo* es una especie conocida por la mayoría de los habitantes de Villa del Carbón aunque no presenta la misma importancia en las demás zonas montañosas del país; incluso para algunas personas es considerado un hongo venenoso (Montoya *et al.* 2002); otros de los hongos que tienen importancia, no obstante menor, en la población aquí estudiada son *Lycoperdon spp.* pero estos hongos no son tan conocidos en las demás poblaciones de poblaciones templadas que se han estudiado hasta el momento.

Algunos hongos del género *Lyophyllum* (particularmente *L. decastes*), *Cantharellus cibarius*, *Gomphus floccosus* y *Agaricus spp.* se presentan también como especies etnobiológicamente importantes, aunque no es gran medida, de algunas zonas montañosas del país; si bien no en todas, y tampoco son de importancia en Villa del Carbón.

El complejo *Amanita caesarea* es llamado **kichimón** o **kechimón** en Villa del Carbón, ninguno de estos nombres se encuentra reportado en la literatura, aunque

se hallan registrados los similares kechimo, keximo, kishmú (Guzmán 1997) y kishimocjoójó (Farfán *et al.* 2007); pareciese que kechimo es una derivación de kishmú en la lengua otomí, ambas están relacionadas con el mazahua keximo (Guzmán 1997) y kishimocjoójó que es una palabra compuesta por kishimo y -cjoójó, que significan tomate y hongo respectivamente (Farfán *et al.* 2007). La relación entre las palabras se debe a que ambas lenguas, otomí y mazahua, son las más cercanas en el subgrupo Otopameano que pertenece a la familia lingüística Otomangue ().

El significado del otomí kishmú no se registra en ningún documento, incluyendo a “Los Nombres de los Hongos y lo Relacionado a Ellos en América Latina” donde se reporta como nombre común de *A. caesarea* (Guzmán 1997), ninguno de los nombres aquí mencionados fueron encontrados en los vocabularios otomíes revisados a lo largo de esta investigación.

El supuesto vocablo otomí original “kishmú” muy probablemente derivó de la siguiente manera: en kichimón y kechimo paralelamente; en ambos casos se agregó la vocal alta anterior “i” para formar una nueva sílaba media “chi”, y particularmente en el primer caso se agrega una consonante nasal al final “n”, mientras que para dar origen al segundo vocablo, la palabra pasa de ser aguda a grave; al convertirse en un préstamo lingüístico Otomí – Español, la palabra se fue adaptando a las reglas fonéticas hispánicas, en el 90% del léxico español, las palabras agudas terminan en consonante y las graves en una vocal (Huale *et al.* 2001). Kechimón, de esta manera, probablemente es una derivación secundaria de kichimón y no de kechimo; al requerirse sólo la disminución en la altura de la primera vocal.

Aunque no todos, muchos de los habitantes de Villa del Carbón discriminan entre kichimón y kichimoncillo. Algunas personas mencionaron que se toma como referencia la volva del hongo, o lo que ellos llaman el “huevo”; ya que si esta está presente se trata de un kichimón del complejo *A. caesarea*, pero si el hongo en cuestión no cuenta con volva, se trata entonces de un kichimoncillo de la especie *A. flavoconia*. En muchos casos esta distinción no se realiza y todos los hongos

que parecen ser parte del complejo *A. caesarea* son llamados kichimón; el nombre de kichimoncillo no se encontró registrado en ninguno de los documentos revisados a lo largo de esta investigación.

En general, los hongos pertenecientes al género *Russula* son llamados “de Madroño” en Villa del Carbón, los informantes mencionaron que este nombre se debe a que los hongos del género *Russula* crecen cerca de los árboles *Arbutus xalapensis* cuyo nombre común es precisamente Madroño; es importante mencionar que a lo largo de este estudio se encontró la gran mayoría de los especímenes del género *Russula* creciendo en lugares donde no crecía ningún madroño.

Algunas especies en particular son nombradas agregando al nombre el color que caracteriza al hongo, como por ejemplo “de Madroño rojo”, “de Madroño morado” y “de Madroño blanco”. El nominativo “de Madroño” se encontró reportado solamente en “Los Nombres de los Hongos y lo Relacionado a Ellos en América Latina” (Guzmán 1997), mientras que los compuestos con algún color característico no se encuentran reportados en la literatura.

En Latinoamérica *Boletus edulis* es ampliamente llamado “cema” (Guzmán 1997), nominativo que hace referencia a una pieza de pan; es seguramente a la consistencia y los poros del esporocarpo que les debe este nombre. Muchas otras especies de boletales comparten estas características y por ende comparten también el nombre de cema. En Villa del Carbón, aparentemente, todos los boletales de tamaño considerable son llamados “cema” aunque cada uno cuenta con un apelativo distintivo que hace referencia a su color o textura; tales son los casos de la cema amarilla como se conoce a *Leccinum rugosiceps* y la cema negra o carbonera que se refiere a *Strobilomyces floccopus*.

El hecho de que los hongos comestibles sean virtualmente los únicos que reciben nombres tradicionales es un fenómeno bastante común a lo largo de las zonas templadas y montañosas del país. En las inmediaciones del Parque Nacional La Malinche 97 de 105, aproximadamente el 92%, de los nombres usados por las

poblaciones del lugar corresponden a hongos comestibles (Montoya *et al.* 2003); el estudio realizado en la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca cuenta con 31 nombres comunes de hongos silvestres, que se refieren todos a hongos comestibles (Farfán *et al.* 2007); en un estudio realizado en Ixtlán, Oaxaca se registraron 43 especies de hongos que eran reconocidos por la población, de los cuales 93% son consumidos activamente por la población (Garibay-Orijel *et al.* 2006); este fenómeno se repite también entre los Mayas Tzeltales y Tzotziles de la región montañosa de Chiapas, que tienen un sistema bastante complicado de clasificación casi enteramente enfocado a los hongos comestibles (Lampman 2008).

Sin embargo, existen lugares con una tradición diferente, que nombra a los hongos indistintamente; tal es el caso de los alrededores del lago de Pátzcuaro, Michoacán, donde parece ser que los hongos son nombrados y clasificados en base a sus características morfológicas sin tomar en cuenta si los cuerpos fructíferos son consumidos o no; usan, además partículas nominales especiales para referirse a los hongos tóxicos (Mapes *et al.* 1981).

Es fácil, con base en los resultados obtenidos en este estudio y su comparación con varios otros (Montoya *et al.* 2003; Montoya *et al.* 2004; Garibay-Orijel *et al.* 2006; Garibay-Orijel *et al.* 2007), saber que las principales características por las cuales los hongos son consumidos son su sabor, su consistencia y su inocuidad; por lo cual es fácil también, deducir que las características que hacen que los hongos no sean consumidos son mal sabor, consistencia inadecuada o nocividad. Pero existe también la condición, por lo menos en Villa del Carbón, de que algunos hongos no se consumen por simple desconocimiento, ya que en varias ocasiones al realizar la pregunta “¿Por qué no se come este hongo?” algunas personas respondían “porque sabe mal”, “porque hace daño”, “porque son correosos” o “no sé, pero no se come”.

Los lugares, o hábitats donde crecen los hongos son constantemente clasificados de la misma manera a lo largo de las zonas templadas del país: los pastizales aquí llamados “el llano”, los cultivos denominados “el campo” y los bosques o “el

monte". Las comunidades náhuatl alrededor del Parque Nacional La Malinche en Tlaxacala, reconocen además de los tres principales al maguey, la orilla de los caminos, y discriminan entre bosque de oyamel, pino y encino como diferentes hábitats de los hongos (Montoya *et al.* 2003); los habitantes de Ixtlán, Oaxaca por su parte reconocen también a los "pastizales", a los cultivares que llaman "rancho" y dos tipos de bosque, el "monte" que se encuentra en altitudes superiores a ~2200 msnm y "tierra caliente" que se encuentra bajo esta altitud (Garibay-Orijel *et al.* 2006).

#### Caracterización molecular.

La técnica de extracción de DNA "AP" desarrollada en el CINVESTAV Irapuato resultó efectiva prácticamente para todas las muestras de tejido de los hongos debido a que requiere de gran cantidad de urea que permite recuperar el DNA de tejido con un alto contenido de mucosidad, como es el caso de varios cuerpos fructíferos de hongos.

Del mismo modo, el par de primers LR3 y LR0R (White *et al.* 1990) así como las condiciones estandarizadas para realizar la reacción de PCR (Dahlman *et al.* 2000) resultaron efectivas para la gran mayoría de las muestras sin necesidad de realizar modificación alguna.

En general, la caracterización molecular mediante BLAST en la base de datos GenBank del NCBI coincidió en gran medida con la caracterización morfológica realizada usando claves especializadas y en varias ocasiones con lo reportado acerca de los nombres vernáculos registrados (Cuadro VI)

Tanto la caracterización morfológica como la molecular coinciden en varios de los hongos más importantes socialmente en Villa del Carbón, tal es el caso de *A. flavoconia*, *A. rubescens*, *L. rugosiceps*, *I. gibba* y *S. floccopus*. En el caso especial de *A. rubescens*, la caracterización molecular indica que probablemente se encuentren dos especies distintas de *Amanita* en el lugar, que morfológicamente son parecidas.

En este sentido surge de manera conspicua la situación de las especies pertenecientes al género *Russula* ya que ninguna de las especies resultantes de la caracterización molecular coincide con las especies obtenidas mediante el uso de claves especializadas; incluso hay casos en que una especie genéticamente igual puede caracterizarse como tres distintas de manera morfológica, y viceversa.

Lo último se explica debido a que la identificación morfológica de este género presenta muy numerosas dificultades y está basada en caracteres muy variables, frecuentemente ridículos; incluso algunos expertos expresan que: “La identificación avanzada del género *Russula* es una pesadilla que va mucho más allá del ya frustrante reino de la micología avanzada. De hecho, me permitiré decirlo: la identificación del género *Russula* es una broma.” (Kuo 2009).

Pareciera ser entonces que la biología molecular es la respuesta concisa ante estos rasgos altamente variables, pero la realidad es que se necesita de un estudio comparativo más detallado y exhaustivo, ya que la mera identificación mediante una búsqueda BLAST no arroja otro resultado sino una caracterización realizada por otros micólogos muy seguramente basada en las claves morfológicas clásicas. Sin embargo, aunque lo anterior nos deje la impresión de que tampoco la caracterización molecular es la respuesta al “frustrante mundo de la micología avanzada”, si representa una herramienta confiable y reproducible para acceder al conocimiento y trabajo de expertos en el área.

Es con el afán de realizar un análisis un tanto más detallado, que en este trabajo se optó por realizar un estudio filogenético para discernir entre los grupos que se pudiesen formar, y conocer qué tan efectivas son las técnicas de caracterización empleadas.

En la figura 4 se observan las relaciones filogenéticas que mantienen los hongos del orden Agaricales, exceptuando a los pertenecientes a la Familia Amanitaceae (género *Amanita*) y el género *Gymnopus*. En este gráfico se observan 9 subgrupos, incluyendo a los dos grupos externos que se utilizaron (Polyporales y Russulales: Stereaceae); estos grupos reflejan a lo géneros *Infundibulicybe*,

*Marasmius*, *Gloiocephala*, *Lycoperdon* y *Pluteus*, así como dos grupos de la familia Strophariaceae.

Esta misma figura confirma la caracterización de la muestra VC143 al menos como un hongo perteneciente al género *Podoscypha*, a la muestra VC127 como perteneciente al género *Stereum*, a la muestra VC145 como la especie *Infundibulicybe gibba* (antes *Clitocybe*), a la muestra VC105 como la especie *Marasmius rotula*, a la muestra VC98 como la especie *Lycoperdon norvegicum*, a la muestra VC124 como la especie *Coprinopsis cinerea*, a las muestras VC119 y VC139 como pertenecientes al género *Psathyrella* y a la muestra VC83 como perteneciente a *Pluteus*. El análisis no tiene la resolución suficiente como para resolver la posición taxonómica de las muestras VC90, VC100 y VC129 caracterizadas como *Gloiocephala sp.* y *Gloiocephala sp.* así como para la muestra VC121 solamente caracterizada como miembro de la familia Strophariaceae.

La figura 5 muestra las relaciones evolutivas que mantienen los hongos del género *Amanita* de acuerdo con la información que proporciona el marcador LSU rDNA. Se observan, además del grupo externo, sólo tres grupos bien definidos; aún así, no se obtuvo la resolución suficiente para resolver la posición taxonómica de ninguna muestra con respecto a la información del banco de datos.

La figura 6 muestra las relaciones evolutivas que existen entre los hongos del orden Boletales, incluyendo al grupo externo de los Polyporales, y un miembro del orden Agaricales. Se observan tres agrupaciones que representan a los Polyporales y a los géneros *Strobilomyces* y *Leccinum*. Este resultado confirma la caracterización de la muestra VC140 como la especie *Polyporus arcularis*, a la muestra VC111 como *Leccinum rugosiceps* y a la muestra VC80 como la especie *Strobilomyces floccopus*.

En la figura 7 se observa el resultado del análisis filogenético realizado a los hongos pertenecientes al género *Gymnopus*, utilizando como grupo externo a *Polyporus arcularis*, se observan dos grupos definidos; aunque no existe

resolución suficiente para determinar las relaciones de nivel inferior que se mantienen entre estos organismos.

Por último, en la figura 8 se pueden apreciar las relaciones del género *Russula*, donde se aprecian tres grupos claramente definidos, así como el grupo externo *Polyporus arcularis* y una muestra (VC113) cuya relación no fue resuelta por el análisis. De este análisis en particular sólo se pueden confirmar las caracterizaciones de la muestra VC123 como la especie *Russula cerolens* y las muestras VC87 y VC89 como *Russula nitida*. El resto de las muestras incluidas resultaron con una posición muy difusa dentro de las relaciones evolutivas. La explicación es, de nuevo, la complejidad y confusión que hay al caracterizar al género *Russula*, pues debe tenerse en cuenta que las secuencias que se encuentran en el GenBank son de organismos caracterizados morfológicamente.

En general, estos resultados reflejan la naturaleza del gen LSU rDNA como marcador molecular, ya que su resolución a niveles específicos no es la suficiente para reconstruir con claridad las relaciones que mantienen los organismos; a diferencia de los niveles ordinales, en que la resolución de este fragmento genético es lo bastante alta como para conocer cuales son los vínculos evolutivos que mantienen los organismos. Este hecho ha sido reconocido anteriormente en algunos otros estudios (Wang *et al.* 2006).

## Conclusiones.

La vegetación del lugar estudiado es un bosque templado dominado por dos especies de encino, *Quercus castanea* y *Quercus obtusata* y con la presencia de *Arbutus xalapensis*, y no se encuentra reportada ninguna asociación entre la diversidad arbórea y la diversidad fúngica encontrada.

De las 31 especies encontradas, *Amanita annulatovaginata* y *Lycoperdon peckii* representan nuevos registros para el centro de México.

En Villa del Carbón se utilizan 110 nombres vernáculos en Español y Otomí; siendo, en promedio, las personas que comercian hongos las que tienen un conocimiento mayor acerca de los hongos. Las personas que comercian hongos en Villa del Carbón también tienen una mayor habilidad para reconocer hongos al observarlos.

60 de los 110 nombres aquí registrados, son denominaciones que no se encuentran enlistados en la bibliografía especializada.

Las especies comestibles más importantes para los habitantes de la región son *Amanita caesareae* y los hongos de la familia Boletaceae.

De las 31 especies encontradas, 16 son potencialmente comestibles. *Amanita vaginata* y *Gymnopus dryophilus* aunque ampliamente considerados comestibles en varios puntos del centro del país, no se perciben como un recurso comestible en Villa del Carbón. No existen hongos que sean consumidos exclusivamente en Villa del Carbón.

La caracterización molecular arrojó como resultado una lista de 30 especies, que a nivel de género coincide totalmente con la caracterización morfológica, y que en ocasiones resuelve la especie en cuestión.

Los filogramas muestran que la caracterización molecular es una respuesta confiable, puesto que se ve confirmada por las relaciones evolutivas que distintos organismos mantienen unos con otros.

## **Perspectivas.**

Los datos obtenidos en este estudio acerca de la riqueza específica de hongos, muestran que la diversidad fúngica real en Villa del Carbón excede las 31 especies aquí mencionadas. Por esto, un estudio taxonómico más riguroso y completo es necesario en Villa del Carbón, ya que no existe en la literatura encontrada a lo largo de este estudio, un listado fúngico del lugar.

El estudio etnomicológico puede también llevarse a proporciones más amplias, agregando variables y realizando análisis antropológicos para comprender, evaluar y rescatar el pasado y futuro del conocimiento tradicional de los habitantes de Villa del Carbón.

Los resultados obtenidos a partir de la caracterización molecular muestran que existe la posibilidad de que ciertas especies presentes en Villa del Carbón no han sido descritas totalmente, sería pertinente realizar análisis poblacionales y taxonómicos específicos de ciertos grupos fúngicos.

La información genética permite también la realización de estudios ecológicos para conocer las relaciones simbióticas que estos hongos sostienen con los árboles presentes en la región de estudio.

Los datos obtenidos durante la realización de esta investigación (fotos, referencia geográfica, secuencias genéticas) son suficientes para ser incluidos en un proyecto de “Código de Barras” internacional para futura referencia científica.

## Literatura citada.

- Aguilar-Cruz, Y., Villegas, M. 2010. Especies de Gomphales comestibles en el municipio de Villa del Carbón México. *Revista Mexicana de Micología*. 31: 1 – 8.
- ARC – Plant Protection Research Institute, Biosystematics Division. 1999. A SAFRINET manual for mycology: Collecting and Preserving Fungi. Baxter, A. P., van der Linde, E. eds. The Swiss Agency for Development and Cooperation.
- Arizaga, S., Martínez C., J., Salcedo C., M., Bello G., M. A. 2009. Manual de la biodiversidad de encinos Michoacanos. INE, México. 30 – 33; 94 – 97.
- Arteaga M., B., Moreno Z., C. 2006. Los hongos comestibles de Santa Catarina del Monte, Estado de México. *Revista Chapingo, Serie ciencias forestales y del ambiente*. 12: 125 – 131.
- Baldrian, P. 2009. Ectomycorrhizal fungi and their enzymes in soils: is there enough evidence for their role as facultative soil saprotrophs? *Oecologia*. 161: 657 – 660.
- Boa, E. R. 2004. Wild edible fungi, A global overview of their use and importance to people. Non-wood forest products, FAO. Roma, Italia.
- Bougoure, J. J., Bougoure, D. S., Cairney, J. W. G., Dearnaley, J. D. W. 2005. ITS-RFLP and sequence analysis of endophytes from *Acianthus*, *Caladenia* and *Pterostylis* (*Orchidaceae*) in southwestern Queensland. *Mycological research*. 109: 452 - 460.
- Bruns, T. D., White, T. J., Taylor, J. W. 1991. Fungal Molecular Systematics. *Annual review of ecology and systematics*. 22: 525 – 564.
- Calderón de Rzedoski, G., Rzedowski R., J. 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. 2da ed., Instituto de Ecología A.C. CONABIO. México DF. 1406 pp.

- Clark, C. G., Tague, B. W., Ware, V. C., Gerbi, S. A. 1984. *Xenopus laevis* 28S ribosomal RNA: a secondary structure model and its evolutionary and functional implications. *Nucleic Acids Research*. 12: 6197 – 6220.
- Dahlman, M., Danell, E., Spatafora, J. W. 2000. Molecular systematics of *Craterellus*: cladistics analysis of nuclear LSU rDNA sequence data. *Mycological Research*. 104: 338 – 394.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModelTest2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
- Dentinger, B. T.M., Ammirati, J. F., Both, E. E., Desjardin, D. E., Halling, R. E., Henkel, T. W., Moreau, P-A., Nagasawa, E., Soyong, K., Taylor, A. F., Watling R., Moncalvo, J-R., McLaughlin, D. J., 2010. Molecular phylogenetics of porcini mushrooms (*Boletus* section *Boletus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 57: 1276 – 1292.
- Eberhardt, U., Verbeken, A. 2004. Sequestrate *Lactarius* species from tropical Africa: *L. angiocarpus* sp. nov. and *L. dolichocaulis* comb. nov. *Mycological Research*. 108: 1024 – 1052.
- Estrada-Martínez, E., Guzmán, G., Cibrián T., D., Ortega P., R. 2009. Contribución al conocimiento etnomicológico de los hongos comestibles silvestres de mercados regionales y comunidades de la Sierra Nevada (México). *Interciencia*. 34: 25 – 33.
- Farfán, B., Casas, A., Ibarra-Manríquez, G., Pérez-Negrón, E. 2007. Mazahua ethnobotany and subsistence in the Monarch Butterfly Biosphere Reserve, Mexico. *Economic Botany*. 61: 173 – 191.
- Felsenstein, J. 2004. *Inferring Phylogenies*. Sinauer Associates, EEUUAA. 580 pp.
- Garibay-Orijel, R., Cifuentes, J., Estrada-Torres, A., Caballero, J. 2006. People using macro-fungal diversity in Oaxaca, Mexico. *Fungal Diversity*. 21: 41 – 67.

- Garibay-Orijel, R., Caballero, J., Estrada-Torres, A., Cifuentes, J. 2007. Understanding cultural significance, the edible mushrooms case. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 3:4.
- Garibay-Orijel, R., Martínez-Ramos, M., Cifuentes, J. 2009. Disponibilidad de esporomas de hongos comestibles en los bosques de pino-encino de Ixtlán de Juárez, Oaxaca. *Revista mexicana de Biodiversidad*, 80: 521 – 534.
- Garibay-Orijel, R., Rúan-Soto, F., Estrada-Martínez, E. 2010. El conocimiento micológico tradicional, motor para el desarrollo del aprovechamiento de los hongos comestibles y medicinales. En: Martínez-Carrera, D., Curvetto, N., Sobal, M., Morales, P., Mora, V. M. (Eds.), *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas en el siglo XXI*. Red Latinoamericana de Hongos Comestibles y Medicinales – COLPOS – UNS – CONACyT – AMC – UPAEP – IMINAP. Puebla, México. 243 – 270.
- Geml, J., Tulloss, R. E., Laursen, G. A., Sazanova, N. A., Taylor, D. L. 2008. Evidence for strong inter- and intracontinental phylogeographic structure in *Amanita muscaria*, a wind-dispersed ectomycorrhizal basiodiomycete. *Molecular phylogenetics and evolution*. 48: 649 – 701.
- Gilbert, E.-J. 1940. Amanitaceae. *Iconographia Mycologica*. 27 suppl. 1-3: 1-427.
- Guevara G., G., Garza O., F. 2005. Estudio de la subunidad mayor del ADN ribosomal nuclear de algunas especies del género *Cantharellus* de México. *Revista Mexicana de Micología*. 20: 21 – 26.
- Gupta, V., Satyanarayana, T., Garg, S. 2004. General Aspects of micorriza. En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. (eds), *Mycorrhizal Biology*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 27 - 44.
- Gupta, V., Satyanarayana, T. 2004. Molecular genetics of ectomycorrhizal fungi. En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. (eds), *Mycorrhizal Biology*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 119 - 134.

- Guzmán, G. 1979. Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera. 2da ed, Limusa, México DF. 452 pp.
- Guzmán, G. 1997. Los nombres de los hongos y lo relacionado con ellos en América Latina (Introducción a la etnomicología y micología aplicada de la región. Sinonimia vulgar y científica). Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz. 356 pp.
- Guzmán, G. 1997. Hongos del estado de Veracruz. Instituto de Ecología A.C. Bases de datos SNIB2010-CONABIO proyecto No. E006. México, D.F.
- Guzmán, G. 1998. Inventoring the Fungi of Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 7: 369 – 384.
- Guzmán, G., Ramírez-Guillén, F. 2001. The *Amanita caesarea*-complex. *Bibliotheca Mycologica* 187. Stuttgart. 66 pp.
- Guzmán, G. 2003. Fungi in the Maya culture: Past, present and future. En: Gómez-Pompa, A., Alle, A. F., Fedick, S. L., Jiménez-Osorio, J. J. (eds). *The lowland maya área: Three millennia at the human-wildland interface*. Food Products Press, New York. 315 – 326.
- Halling, R.E., Osmundson, T. W., Neves, N.-A. 2008. Pacific boletes: Implications for biogeographic relationships. *Mycological research*. 112: 437 – 447.
- Hansen, K., LoBuglio, K. F., Pfister, D. H., 2005. Evolutionary relationships of the cup-fungus genus *Peziza* and Pezizaceae inferred from multiple nuclear genes: RPB2,  $\beta$ -tubulin, and LSU rDNA. *Molecular Phylogenetics and evolution*. 36: 1 - 23.
- Haug, I., Weiß, M., Homeier, J., Oberwinkler, F., Kottke, I. 2005. Russulaceae and Thelephoraceae form ectomycorrhizas with members of the Nyctaginaceae (Charophyllales) in the tropical mountain rain forest of Southern Ecuador. *New Phytologist*. 165: 923 – 936.

- Hillis, D. M., Dixon, M. T. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The quarterly review of Biology*. 66: 411 – 453.
- Huale, J. I., Olarrea, A., Escobar, A. M. 2001. *Introducción a la lingüística hispánica*. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido. p. 106.
- Jarvis, M. C., Miller, A. M., Sheahan, J., Ploetz, K., Ploetz, J., Watson, R. R., Palma R., M., Pascario V., C. A., García A., J., López R., A., Orr, B. 2004. Edible wild mushrooms of the Cofre de Perote región, Veracruz, Mexico: An ethnomycological study of common names and uses. *Economic Botany* 58 (S): 111 – 115.
- Kennedy, P. G., Garibay-Orijel, R., Higgins, L. M., Angeles-Arguiz, R. 2011. Ectomycorrhizal fungi in Mexican *Alnus* forests support the host co-migration hypothesis and continental-scale patterns in phylogeography. *Mycorrhiza*. DOI 10.1007/s00572-011-0366-2.
- Krishna, K. R. 2005. *Mycorrhizas: A Molecular Analysis*. Science Publishers Inc. USA.
- Kuo, M. 2005. *Amanita flavoconia* [en línea]. MushroomExpert.com <[http://www.mushroomexpert.com/amanita\\_flavoconia.html](http://www.mushroomexpert.com/amanita_flavoconia.html)> [Consulta: 10 Mayo 2012].
- Kuo, M. 2008. *Amanita rubescens* [en línea]. MushroomExpert.com <[http://www.mushroomexpert.com/amanita\\_rubescens.html](http://www.mushroomexpert.com/amanita_rubescens.html)> [Consulta: 10 Mayo 2012].
- Kuo, M. 2009. The genus *Russula* [en línea]. MushroomExpert.com <<http://www.mushroomexpert.com/russula.html>> [Consulta: 13 Septiembre 2012].
- Lakhanpal, T. N. 2004. Ectomycorrhiza – an overview. En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. (eds), *Mycorrhizal Biology*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 101 - 118.
- Lampman, A. M. 2007. General principles of ethnomycological classification among the Tzeltal Maya of Chiapas, Mexico. *Journal of Ethnobiology*. 27: 11 – 27.

- Landeros, F., Castillo, J., Guzmán, G., Cifuentes, J. 2006. Los hongos (macromicetos) conocidos en el cerro el Zamorano (Querétaro-Guanajuato), México. *Revista Mexicana de Micología* 22: 25 – 31.
- Larsson, K-H., Larsson, E., Kõljalg, U., 2004. High phylogenetic diversity among corticoid homobasidiomycetes. *Mycological Research*. 108: 983 – 1002.
- Læssøe, T., Hansen, K. 2007. Truffle trouble: what happened to the tuberales? *Mycological research, British Mycological Society*. 111: 1075 – 1099.
- Lebel, T., Thompson, D. K., Udovicic, F. 2004. Description and affinities of a new sequestrate fungus, *Barcheria willisiana* gen. et sp. nov. (*Agaricales*) from Australia. *Mycological Research* 2: 206 – 213.
- Lehto, T., Zwiazek, J. J. 2011. Ectomycorrhizas and water relations of trees: a review. *Mycorrhiza*. 21: 71 – 90.
- Loh, J., Harmon, D. 2005. A global index of biocultural diversity. *Ecological indicators* 5: 231 – 241.
- Ma, D., Yang, G., Mu, L. 2010. Morphological and molecular analyses of ectomycorrhizal diversity in *Pinus densiflora* seedlings. *Symbiosis*. 51: 233 – 238.
- Mapes, C., Guzmán, G., Caballero N., J. 1981. Elements of the purepecha mycological classification. *Journal of Ethnobiology*. 1: 231 – 237.
- Mariaca M., R., Silva P., L. del C., Castaños M., C. A. 2001. Proceso de recolección y comercialización de hongos comestibles silvestres en el Valle de Toluca, México. *Ciencia Ergo Sum*. 8: 30 – 40.
- Marjanovié, Ž., Nehls, U. 2008. Ectomycorrhiza and water transport. En: Varma, A. (ed), *Mycorrhiza: State of the art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology and Structure and Systematics*. 3ra ed. Springer-Verlag. 149 – 160.

- Mata, G. 1987. Introducción a la etnomicología maya de Yucatán; El conocimiento de los hongos en Pixoy, Valladolid. *Revista mexicana de Micología*. 3: 175 – 188.
- Michelot, D., Melendez-Howell, L. M. 2003. *Amanita muscaria*: chemistry, biology, toxicology and ethnomycology. *Mycological Research*, British Mycological Society. 107 (2): 131 – 146.
- Mittermeier, M. A., Goettsch, C. 1992. La importancia de la diversidad biológica de México. En: Sarukhán, J. Dirzo (comp), *México ante los retos de la biodiversidad*. CONABIO, México. 63 – 73.
- Molina, H., Massicote, H., Trappe, J. M. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community ecological consequences and practical application. En: Allen, M. F. (ed), *Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process*. Routledge, Chapman and Hall. 357 – 423.
- Montoya, A., Estrada-Torres, A., Caballero, J. 2002. Comparative ethnomycological survey of three localities from La Malinche volcano, Mexico. *Journal of Ethnobiology*. 22: 103 – 131.
- Montoya, A., Hernández-Totomoch, O., Estrada-Torres, A., Kong, A. 2003. Traditional knowledge about mushrooms in a Nahua community in the state of Tlaxcala, Mexico. *Mycologia*. 95: 793 – 806.
- Montoya, A., Kong, A., Estrada-Torres, A., Cifuentes, J., Caballero, J. 2004. Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fungal Diversity*. 17: 115 – 143.
- Montoya, A., Hernández, N., Mapes, C., Kong, A., Estrada-Torres, A. 2008. The collection and sale of wild mushrooms in a community of Tlaxcala, Mexico. *Economic Botany*. 62 (3): 413 – 424.
- Montoya-Esquivel, A. 1998. Ethnomycology of Tlaxcala, México. *Mcllvainea* 13 (2): 6 – 12.

- Moreau, P-A., Peitner, U., Gardes, M. 2006. Phylogeny of the ectomycorrhizal mushroom genus *Alnicola* (Basidiomycota, Cortinariaceae) based on rDNA sequences with special. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 38: 794 – 807.
- Moreno, G., Lizárraga, M., Esqueda, M., Coronado, M. L. 2010. Contribution to the study of gasteroid and sectioid fungi of Chihuahua, Mexico. *Mycotaxon*. 112: 291 – 315.
- Neville, P. and S. Poumarat. 2004. *Amaniteae*. 1. *Fungi Europaei* 9: 1-1119.
- O'Brien, M., Gomola, C. E., Horton, T. R. 2011. The effect of forest soil and community composition on ectomycorrhizal colonization and seedling growth. *Plant Soil*. 341: 321 – 331.
- Peitner, U., Ladurner, H., Simonini, G. 2003. *Xerocomus cisalpinus* sp. nov., and the delimitation of species in the *X. chrysenteron* complex based on morphology and rDNA-LSU sequences. *Mycological Research*, British Mycological Society. 107: 659 – 679.
- Pérez R., M. L., Argueta V., A. 2011. Saberes indígenas y dialogo intercultural. *Cultura científica y saberes locales*. 5, 10: 31 – 56.
- Pérez-Moreno, J., Martínez-Reyes, M., Yescas-Pérez, A., Delgado-Alvarado, A., Xoconostle-Cázares B. 2008. Wild mushroom markets in central Mexico and a case study at Ozumba. *Economic Botany* 62: 425 – 436.
- Perri, J. 1991. *The pines of Mexico and Central America*. Timber Press, Portland Oregon.
- Peterson, R. L., Massicotte, H. B., Melville, L. H. 2004. *Mycorrhizas*. CABI, Unión Europea.
- Raina, S., Chamola, B. P., Mukerji, K. G. 2004. Evolution of mycorrhiza. En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. (Eds.), *Mycorrhizal Biology*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 1 – 25.

- Rochet, J., Moreau, P-A., Manzi, S., Gardes, M. 2011. Comparative phylogenies and host specialization in the alder ectomycorrhizal fungi *Alnicola*, *Alpova* and *Lactarius* (Basidiomycota) in Europe. *BMC Evolutionary Biology*. 11:40.
- Rodríguez-Ramírez, E. Ch., Moreno, C. E. 2010. Bolete diversity in two relict forests of the Mexican beech (*Fagus grandifolia* var. *mexicana*: Fagaceae). *American Journal of Botany* 97 (5): 893 – 898.
- Rúan-Soto, F., Garibay-Origel, R., Cifuentes, J. 2004. Conocimiento micológico tradicional en la planicie costera del Golfo de México. *Revista Mexicana de Micología*. 19: 57 – 70.
- Rúan-Soto, F., Garibay-Orijel, R., Cifuentes, J. 2006. Process and dynamics of traditional selling wild edible mushrooms in tropical Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2:3.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. 1ra edición digital. CONABIO, México. 504 pp.
- Saxena, A. K., Annapurna, K., Tilak, K. V. B. R. 2004. Molecular approaches to Mycorrhizal Biology. En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P., Singh, J. (Eds.), *Mycorrhizal Biology*. Kluwer Academic / Plenum Publishers. 45 – 56.
- Secretaría del Medio Ambiente. 2010. Datos generales de Villa del Carbón [en línea]. Sistema de información ambiental, Gobierno del estado de México. <[http://www.edomexico.gob.mx/portalgem/medioambiente/mapa/htm/datos%20generales.asp?op=Villa del Carbón](http://www.edomexico.gob.mx/portalgem/medioambiente/mapa/htm/datos%20generales.asp?op=Villa%20del%20Carb%C3%B3n)> [Consulta: 4 Sep. 2010].
- Seiler, J. R., Jensen, E. C., Peterson, J. A. 2010. Texas madrone. [en línea] Forest Resources and Environmental Conservation. <<http://dendro.cnre.vt.edu/dendrology/syllabus2/factsheet.cfm?ID=771>> [Consulta 22 Abr. 2012].
- SEMARNAT 2002. NOM-021-SEMARNAT-2000. Diario Oficial de la Federación. México 31 de Diciembre de 2002. 2: 1 – 85.

- Setaro, S., Weiß, M., Oberwinkler, F., Kottke, I. 2006. Sebacinales form ectendomycorrhizas with *Cavendishia nobilis*, a member of the Andean clade of Ericaceae, in the mountain rain forest of southern Ecuador. *New Phytologist*. 169: 355 – 365.
- Shepard, G. H. Jr., Arora, D., Lampman, A. 2008. The grace of the flood: Classification and use of wild mushrooms among the Highland Maya of Chiapas. *Economic Botany* 62 (3): 437 – 470.
- Stubbe, D., Nuytinck, J., Verbeken, A. 2010. Critical assessment of the *Lactarius gerardii* species complex. *Fungal Biology, British Mycological Society*. 114: 271 – 283.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher G., Nei, M., Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetic Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28: 2731 – 2739.
- Taşkin, H., Büyükalaca, S., Doğan, H. H., Rehner, S. A., O'Donnell, K. 2010. A multigene molecular phylogenetic assessment of true morels (*Morchella*) in Turkey. *Fungal Genetics and Biology*. 47: 672 – 682.
- Tedersoo, L., Suvi, T., Larsoon, E., Kõljalg, U. 2006. Diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi in a wooded meadow. *Mycological research*. 110: 734 – 748.
- Tedersoo, L., Suvi, T., Jairus, T., Ostonen, I., Põlme, S. 2009. Revisiting ectomycorrhizal fungi of the genus *Alnus*: differential host specificity, diversity and determinants of the fungal community. *New Phytologist*. 182: 727 – 735.
- Toledo, V. M. 1990. La perspectiva etnoecológica, Cinco reflexiones acerca de las “ciencias campesinas” sobre la naturaleza con especial referencia a México. *Ciencias. Esp.* 4: 22 – 29.

- Urban, A., Neuner-Plattner, I., Krisai-Greilhuber, I., Haselwandter, K. 2004. Molecular studies on terricolous microfungi reveal model anamorphs of two *Tuber* species. *Mycological research*. 108: 749 – 758.
- Valencia A., S. 2004. Diversidad del género *Quercus* (Fagaceae) en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 75: 33 – 53.
- Villarreal, L., Pérez-Moreno, J. 1989. Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micología Neotropical Aplicada*. 2: 77 – 114.
- Voytas, D. 2000. Agarose Gel Electrophoresis. *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons. Appendix 1N.
- Wallander, H., Johansson, U., Sterkenburg, E., Durling, M. B., Lindhal, B. D. 2010. Production of ectomycorrhizal mycelium peaks during canopy closure in Norway spruce forests. *New Phytologist*. 187: 1124 – 1134.
- Wang, Z., Binder, M., Schoch, C. L., Johnston, P. R., Spatafora, J. W., Hibbett, D. S. 2006. Evolution of heliotalean fungi ( Letiomycetes, Pezizomycota): A nuclear rDNA phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 41: 295 – 312.
- Weiβ, M., Sýkorová, Z., Garnica, S., Riess, K., Martos, F., Krause, C., Oberwinkler, F., Bauer, R., Redecker, D. 2011. Sebacinales Everywhere: Previously Overlooked Ubiquitous Fungal Endophytes. *PLoS ONE*. 6,2: e16793.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White T. J. (eds). *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. San Diego , CA, EEUUAA: Academic Press, Inc., 315- 322.
- Wolfsberg, T. G., Madden T. L. 1999. Sequence similarity Searching Using the BLAST Family of Programs. *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons. Unit 19.3.