



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR
DE BASIDIOMICETOS DE VILLA DEL CARBÓN,
ESTADO DE MÉXICO: DETECCIÓN DE COMPUESTOS
ACTIVOS DE LOS TAXA MEDICINALES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

ARIADNA CONTRERAS JUÁREZ



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARTHA MARTÍNEZ GARCÍA
CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

*Dedicada a quienes amo:
Elisa J. L. y
Elias R. C. J.*

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, la Dra. Martha Martínez García, por la dedicación y excelencia académica con la que forma a sus alumnos, por su amistad y compañía en los momentos de desesperanza, por su confianza y consejos en la elección de mi futuro.

A mis amigos y asesores, el M. en C. Alejandro Monsalvo y Carlos Rosas, por compartir su intelecto y compañía.

A los académicos: Dr. Jorge Campos, Dr. Miguel Morales, Dra. Margarita Canales y M. en C. Gloria Garduño, por su atención y participación en la realización del presente trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a mis profesores, por brindarme una nueva perspectiva de vida, basada en la filosofía del ser a partir del conocimiento adquirido.

A mis padres por brindarme educación, ética y valores, que siempre formarán las bases de la persona que soy, por la entrega y sacrificio de sus propios objetivos en favor de quienes aman, por ofrecerme una vida distinta.

A mis abuelos, por inculcarme la sabiduría del respeto y la nobleza del que nada espera.

A mis amigos, con los que he compartido espacio, sonrisas y objetivos de vida en el LBM y la UBIPRO, gracias por su compañía, apoyo y consejos.

ÍNDICE

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	
Biodiversidad de Hongos	8
Determinación de Hongos Macroscópicos	9
Utilidad Medicinal de Hongos en México	15
Compuestos Fúngicos de Importancia Medicinal	19
OBJETIVOS	24
MÉTODOS	
Zona de Estudio	25
Colecta de Material Biológico	25
Determinación Morfológica	26
Métodos Moleculares	26
Extracción de Ácido Desoxirribonucleico	26
Reacción en Cadena de la Polimerasa	27
Identificación Molecular	27
Documentación Etnomicológica	27
Compuestos Fúngicos	28
Cromatografía Líquida de Alta Resolución	28
Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas	28
RESULTADOS	
Determinación de los <i>Taxa</i> Colectados	30
Documentación Etnomicológica	31
Compuestos del Taxón Medicinal	33
DISCUSIÓN	
Determinación de los <i>Taxa</i> Colectados	36
Uso Actual de los <i>Taxa</i> Determinados	41
Compuestos de <i>Stereum hirsutum</i>	45
CONCLUSIONES	49
PERSPECTIVAS	50
LITERATURA CITADA	51
ANEXOS	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases reproductivas características de un Basidiomycete	12
Figura 2. Cladograma basado en la filogenia de Fungi	14
Figura 3. Códice Magliabecchiano, representación de la ingesta de hongos sagrados en el México precolombino	16

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Inventario de especies colectadas e información etnomicológica obtenida.	31
Cuadro 2. Análisis de <i>S. hirsutum</i> por HPLC, se observan los tiempos de retención (tR) y máxima absorción (λ máx), correspondientes a los compuestos y actividad biológica más probables.	34
Cuadro 3. Análisis de <i>S. hirsutum</i> por GC-MS, se observan los tiempos de retención (tR), porcentajes de abundancia (%) y compuestos correspondientes con la biblioteca NIST 8.0, además de la actividad biológica más probable.	35

RESUMEN

Villa del Carbón, Estado de México, presenta características ambientales que permiten la proliferación de basidiomicetos durante la temporada de lluvias, por ello el consumo y la venta de hongos es común para sus habitantes. La importancia de estos organismos está dada en función de su utilidad, debido a su potencial alimentario, neurotrópico o medicinal. Investigaciones previas para el área de estudio han documentado una alta diversidad fúngica, sin embargo, sus resultados están enfocados en la apreciación económica y alimentaria de estos recursos, lo cual sugiere que no se cuenta con información específica respecto a la diversidad y usos de la micobiota silvestre, por lo anterior, en el presente estudio se identificó a los hongos colectados con la finalidad de reconocer su utilidad actual, haciendo énfasis en los recursos medicinales. Se determinaron 36 especies; 35 Basidiomicetos pertenecientes a 4 órdenes en los que los Agaricales fueron representados por 7 familias; los Russulales y Poliporales por 2 familias; mientras que los Boletales sólo por una; además de un Ascomiceto perteneciente al orden de los Pezizales. Con base en la información molecular se obtuvieron 33 secuencias correspondientes a las regiones ITS1, 5.8S e ITS2 del ARNr nuclear, mismas que en congruencia con los datos morfológicos: 22 coinciden a nivel de especie, ocho a nivel de género, además de tres secuencias que no corresponden con lo descrito en el GenBank; mientras que cuatro del total de secuencias obtenidas, pertenecen a especies desconocidas, que no han sido registradas en el GenBank del NCBI. Respecto al uso actual de los *taxa*, se aplicaron 29 entrevistas semiestructuradas a partir de las cuales fueron reconocidas sólo 30 especies: 18 utilizadas como alimento; ocho a las que se les asigna nombre común, sin embargo, no se les atribuye utilidad; tres identificadas como tóxicas; mientras que sólo el "hongo de palo" (*Stereum hirsutum*), fue determinado como medicinal, por su aplicación en el tratamiento de hemorragias nasales y heridas cutáneas. Por último, para corroborar el potencial medicinal de *S. hirsutum*, se realizó un extracto metanólico crudo y mediante técnicas cromatográficas (HPLC y GC-MS), se determinó la presencia de sesquiterpenoides, principalmente, mismos que en correspondencia con la bibliografía cuentan con actividad antibacteriana, antifúngica y nematicida.

Palabras clave: *Stereum hirsutum*, ITS, hongos medicinales, sesquiterpenoides.

INTRODUCCIÓN

Biodiversidad de Hongos—El estudio de la diversidad fúngica a nivel mundial requiere de la comprensión de un mayor número de ambientes, considerando la proporción de hongos existente por cada organismo con el que establecen algún tipo de asociación, por ello investigaciones recientes han ahondado respecto a la magnitud del *taxa* mediante secuenciación masiva y diversos métodos estadísticos (Mueller *et al.*, 2007; Schmit y Mueller, 2007), obteniendo cifras que oscilan desde 700 mil hasta 5.1 millones de especies, aproximaciones que por su variabilidad actualmente son objeto de debate entre micólogos (O'Brien *et al.*, 2005; Mueller y Schmit, 2007; Blackwell, 2011).

Por lo anterior, la hipótesis predominante plantea la presencia de 1.5 millones de especies de hongos en el mundo de los cuales sólo se ha descrito el 5.2%, lo cual hace imprescindible el análisis de la diversidad fúngica en los diferentes ecosistemas, considerando que dicha riqueza es afectada significativamente por variaciones ambientales, inclusive en momentos previos a su cuantificación (Hawksworth, 1991).

En este contexto, debe priorizarse la investigación en los países que conservan el 10% del total de la diversidad biológica descrita en el planeta, los cuales son reconocidos como megadiversos (Mittermeier y Goettsch, 1992), entre estos, México ocupa el quinto lugar en relación con su complejidad de geológica, biológica y cultural; además de su posición biogeográfica privilegiada y accidentada orografía (Toledo, 1994). Considerando la peculiaridad del territorio mexicano, se ha calculado que en nuestro país podrían presentarse hasta 200,000 especies de hongos, contando con registro de sólo 6,500 especies, donde el 69% corresponde a hongos de importancia alimentaria, económica y medicinal (Guzmán, 2008).

En correspondencia con dichas estimaciones, el conocimiento referente al uso de los hongos en México comprende sólo el 2.25% del total de especies estimadas para nuestro territorio, donde solo 15 de las 32 entidades federativas cuentan con datos del total de especies conocidas, entre las cuales el Estado de México ocupa el quinto lugar a nivel

nacional con 726 hongos macroscópicos registrados (Guzmán, 1998; Frutis y Valenzuela, 2009; Aguirre *et al.*, 2014).

El estudio de la diversidad de hongos en el Estado de México se ha llevado a cabo en 59 de los 125 municipios que lo conforman, tales como: Acambay, Amecameca, Atizapán de Zaragoza, Ocoyoacac, Tejupilco, Temascalcingo, Tenango del aire, Tenango del Valle, Toluca y Villa de Allende, entre otros, comprendiendo así menos del 50% del territorio que abarca dicha entidad, aunado a esto, los listados de la micobiota correspondiente a dichos municipios, refieren especies distribuidas en diferentes tipos de vegetación autoctona, excluyendo zonas conurbadas, bosques perturbados y jardines, lo cual sugiere que el total de especies reportadas podría ser una subestimación de la diversidad presente en la entidad (Chio *et al.*, 1988; 1989; 1990; Guzmán *et al.*, 2009). En este contexto, es ineludible la necesidad de incrementar la investigación referente a la diversidad, distribución, ecología y utilidad actual de estos organismos, para así posibilitar su manejo y conservación.

Determinación de Hongos Macroscópicos—Los hongos son considerados especies eurioicas, debido a que se distribuyen en ambientes que van desde húmedos a desérticos con ligera humedad; presentan un amplio margen de tolerancia que les permite desarrollarse en climas tropicales y fríos, por lo cual se encuentran desde el nivel del mar hasta los 4000 msnm; son organismos saprobios, descomponedores de materia orgánica en el ambiente; se consideran indicadores biológicos al presentarse como formas de vida libre o en asociación con distintas especies de animales y plantas; generan impacto negativo en actividades antropogénicas al desarrollarse como agentes patógenos de humanos y parásitos de recursos de importancia comercial; su sistema genético permite utilizarlos como modelo de estudio en la biología molecular; a nivel industrial, son fundamentales en procesos de fermentación y en el desarrollo de fármacos, debido a que producen compuestos bioactivos benéficos para el hombre (Herrera y Ulloa, 1998; Guarro *et al.*, 1999).

Estas características definen la importancia de Fungi, el cual conforma uno de los linajes eucariontes más antiguos y diversos, cuyo origen data desde hace aproximadamente

900 millones de años, al divergir de un ancestro en común con animalia, mismo del que se diferencian debido a que su membrana celular contiene ergosterol en lugar de colesterol; son entes aerobios, cuyo nivel de organización celular está dado en función de su ciclo biológico y de las condiciones ambientales; difieren de las plantas al carecer de cloroplastos y presentar como principal constituyente quitina, además de polisacáridos, sustancias de reserva y pigmentos propios del *taxa*; en contraste con otros organismos heterótrofos, los hongos absorben los nutrientes por ósmosis, a través del talo: i) constituido por células haploides, diploides, poliploides o aneuploides y iii) homocariótico, heterocariótico o dicariótico (Fig. 1); se reproducen asexualmente generando especies en estado anamorfo y sexualmente dando lugar a estados teleomorfos; además se distribuyen ampliamente a partir de la dispersión de esporas (Mueller *et al.*, 2004; Moore *et al.*, 2011).

Las esporas son estructuras microscópicas que representan una estrategia reproductiva mediante la cual los hongos resisten variaciones en el ambiente, dispersándose a través del agua, viento o animales; cuando éstas mismas se encuentran en condiciones favorables para su desarrollo producen células tubulares denominadas hifas, mismas que al encontrarse dispuestas en una masa amorfa sobre el sustrato constituyen el micelio, el cual genera hifas especializadas en la producción de nuevas esporas, cuando estos crecen fuera del sustrato logran conformar cuerpos fructíferos, estructuras fundamentales en el proceso de dispersión a gran escala de hongos Basidiomycetes y Ascomycetes (Herrera y Ulloa, 1998).

Los hongos han sido agrupados taxonómicamente a partir del análisis exhaustivo de su morfología y fisiología, sin embargo la complejidad de estos organismos se extiende no sólo a nivel del *taxa*, sino de cualquier taxón imaginable, por lo cual es necesario considerar que el principal obstáculo en la diferenciación del grupo resulta ser la propia biología de sus especies, al tratarse de entes biológicos cuya adaptabilidad al medio da origen a especies pleomórficas e inclusive crípticas, dificultando así el establecimiento de un protocolo que permita la identificación y jerarquización del total de grupos que conforman el *taxa* (Moore, 2005; Ahmadi *et al.*, 2012). En este contexto, estudios de Sistemática y diversidad han optado por la implementación de métodos moleculares

como herramientas auxiliares en la identificación de hongos (Kohn, 1992; Hibbett *et al.*, 2007; Detinger *et al.*, 2010; Tedersoo *et al.*, 2010), tales como la obtención de patrones de restricción del ADN (Ácido desoxirribonucleico) mediante reacciones enzimáticas (RFLP's, *Restriction Fragment Length Polimorphism*); el uso de marcadores moleculares para la amplificación de ADN polimórfico (RAPD's, *Random Amplified Polymorphic DNA*); además de la amplificación de genes y regiones espaciadoras del ARNr nuclear y mitocondrial, mediante técnicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, *Polimerase Change Reaction*) (Gardes y Bruns, 1993; Gupta y Satyanarayana, 2004).

La PCR es una técnica basada en el proceso de replicación del ADN, la cual consiste en la amplificación *in vitro* de un fragmento específico, ésta reacción enzimática en cadena es mediada por la *Taq* polimerasa en conjunto con un par de primers específicos que permiten sintetizar miles de copias a partir de una cadena molde, posteriormente el orden de los nucleótidos que conforman la región de interés es determinado mediante el proceso de secuenciación, en el que se obtiene un amplio número de copias del ADN blanco, creando fragmentos de distintas longitudes, cuyas regiones terminales son marcadas a partir de un nucleótido fluorescente (White *et al.*, 1990; Metzker y Caskey, 2001).

Éste proceso cíclico ha permitido el análisis de secuencias divergentes, mediante la detección de regiones de ADN que proveen información consistente en la identificación e inferencia de las relaciones evolutivas entre las especies, bajo criterios que consideran la *universalidad* de la región, es decir ésta ha de encontrarse en todo el *taxa* ejerciendo la misma función para asegurar que su arreglo no sea sometido a cambios abruptos; ha de evolucionar como una región unicopia, para evitar el análisis de homoplasias; y su arreglo ha de presentar una tasa evolutiva moderada de tal forma que coadyuve en el discernimiento de Fungi (Bruns *et al.*, 1991).

Una de las regiones del ARNr nuclear utilizada por excelencia es ITS (*Internal Transcribed Spacers*), debido a que presenta una base de datos robusta, generada a partir de secuencias de nucleótidos que abarcan de 450 a 750pb, su arreglo presenta

particularidades que facilitan la delimitación específica de Fungi (Blaalid *et al.*, 2013). La región ITS está conformada por el gen 5.8S en conjunto con los espaciadores ITS1 e ITS2, estas regiones no codificantes altamente polimórficas se encuentran repetidamente entre regiones conservadas, tales como los genes 5.8S y 18S de la subunidad menor de los ribosomas, además de presentar complementariedad con 28S de la subunidad mayor; todos ellos contenidos en la unidad transcripcional del ARNr (White *et al.*, 1990; Keller, 2010).

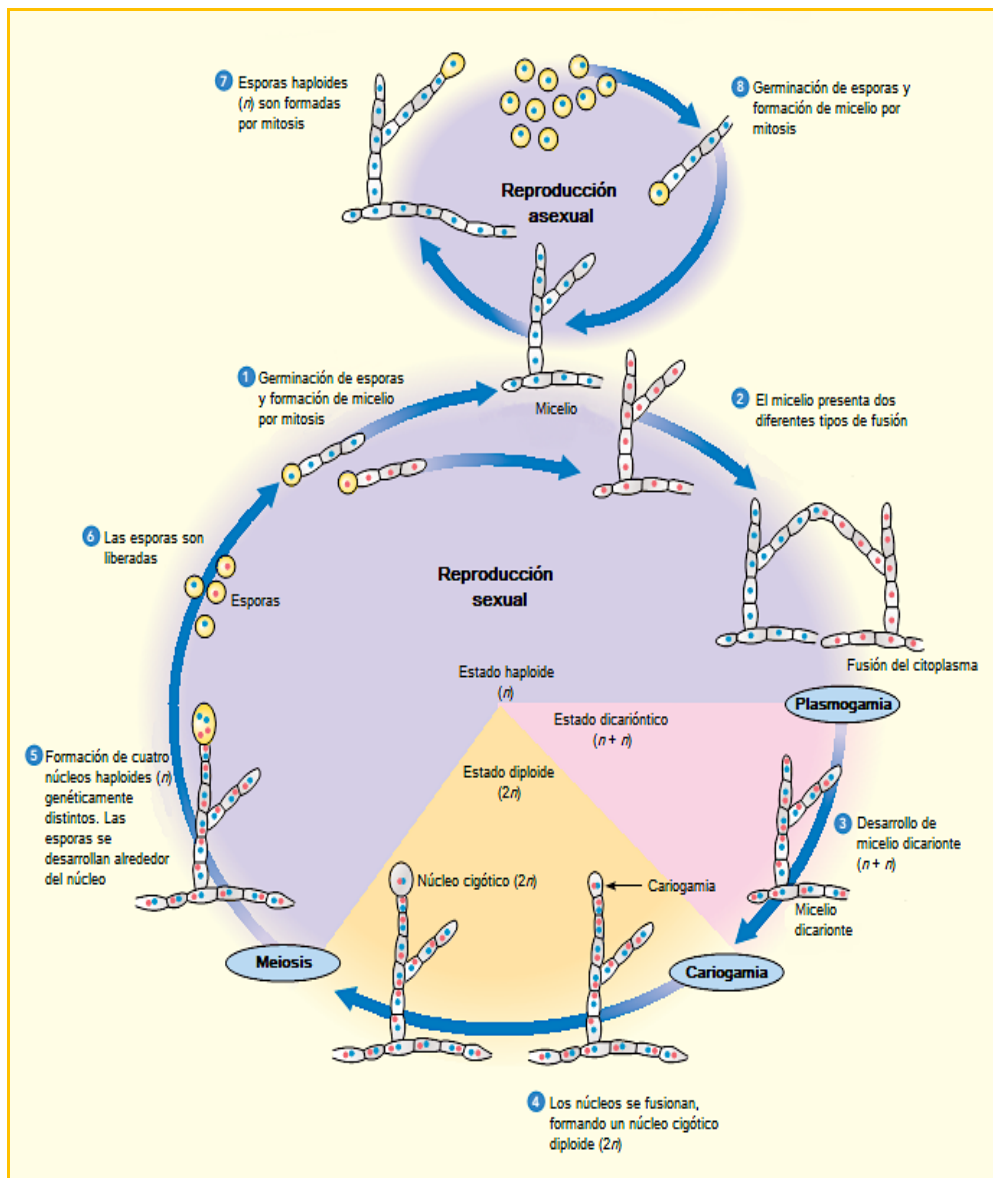


Figura 1. Fases reproductivas características de un Basidiomycete (Tomado de Solomon *et al.*, 2011).

El análisis de ITS permite corroborar la identidad de especies a través del BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), es decir, un algoritmo disponible en el GenBank del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) que lleva a cabo el rastreo estadístico de las secuencias homólogas, estableciendo el porcentaje de identidad de un organismo a partir de la similitud entre estas mismas (Benson *et al.*, 1996). La variación expresada en el ordenamiento de la región ITS (ITS1 e ITS2) es relativamente mayor en comparación con SSU (*Small Subunit*) y LSU (*Large Subunit*), por lo cual el análisis de estas regiones permite discriminar filogenéticamente entre organismos a nivel interespecífico; mientras que el estudio complementario de la región 5.8S posibilita estos análisis a nivel intraespecífico (Gomes *et al.*, 2002; Hibbett *et al.*, 2005; Hibbett, 2006; Seifert, 2009).

En este contexto, el Phylum Basidiomycota se encontraba dividido entre Heterobasidiomycetes y Homobasidiomycetes, actualmente, mediante la inclusión de secuencias del ARNr en la construcción de filogenias, se ha comprobado que para efectos sistemáticos dichas jerarquías resultan artificiales (Binder y Hibbett, 2002; Larsson *et al.*, 2004; Weiß *et al.*, 2004; Binder *et al.*, 2005). El estudio de regiones altamente polimórficas como ITS, se vuelve imprescindible en la discriminación de especies y razas geográficas, resolviendo en mayor grado las relaciones establecidas entre grupos que presentan un alto número de variedades, subespecies y especies *sensu stricto* como el complejo *Boletus edulis* (Leonardi *et al.*, 2005).

La consideración de Dikarya como supergrupo está respaldada en estimaciones filogenéticas generadas a partir de secuencias 18S, 28S, ITS, RPB1 y RPB2, que muestran a Ascomycota y Basidiomycota conformando un clado monofilético de organismos que van de unicelulares a filamentosos, carentes de flagelo, cuyas células permanecen en estado dicariótico a lo largo de su ciclo de vida (James *et al.*, 2006).

El análisis complementario de caracteres morfológicos y secuencias SSU, LSU y 5.8S del ARNr nuclear y mitocondrial, se ha requerido en la construcción de múltiples filogenias, con la finalidad de generar una hipótesis más precisa respecto al origen y diversificación de Fungi, en éste contexto Hibbett *et al.*, (2007) clasifican a los hongos en cinco

Phylum: Microsporidia, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Chytridiomycota y Glomeromycota; además de un supergrupo: Dikarya, el cual esta conformado por dos Phylum: Basidiomycota y Ascomycota (Fig. 2).

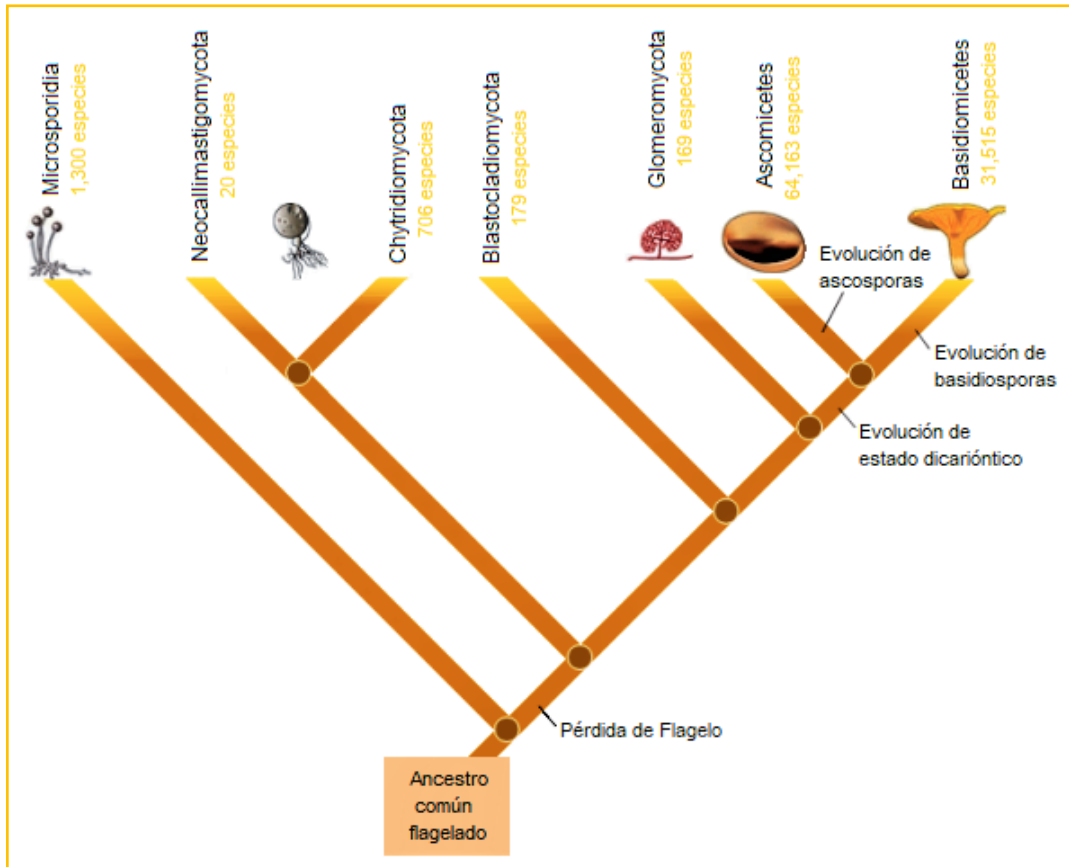


Figura 2. Cladograma propuesto por Hibbett *et al.*, (2007), basado en la filogenia del Fungi (Modificado de Solomon *et al.*, 2011).

La inclusión de regiones ITS en la construcción de árboles filogenéticos, incrementa el poder resolutivo de secuencias LSU, en comparación con los resultados obtenidos a partir del análisis de dichas regiones por separado, lo cual, permite delimitar a dicho taxón aun cuando sus especies presentan un alto número de homoplasias (Miller *et al.*, 2001; Larsson y Larsson, 2003; Miller *et al.*, 2006; Buyck *et al.*, 2008). De acuerdo con lo anterior, la inclusión de técnicas moleculares en la determinación de especies ha transformado la micología, por lo cual, actualmente la clasificación del *taxa* considera sus vías evolutivas, en congruencia, cada taxón deberá compartir el mayor número

posible de caracteres homólogos, es decir que estos sean heredables, variables y derivados de un ancestro en común (Hibbett *et al.*, 2011).

Utilidad Medicinal de Hongos en México—El origen científico de la Etnobiología data de finales del siglo XIX a partir del registro, recopilación y análisis de las relaciones establecidas entre las sociedades humanas y la biota circundante (Harshberger, 1896; Hunn, 2007). El auge de dicha disciplina dio inicio al estudio de la interacción del hombre con organismos específicos, de tal modo surgió la Etnomicología como "el área de la etnobiología que se encarga de estudiar el saber tradicional y las manifestaciones e implicaciones culturales y ambientales que se derivan de las relaciones establecidas entre el hombre y los hongos a través del tiempo y espacio" (Moreno-Fuentes *et al.*, 2001).

Las evidencias del vínculo ancestral hombre-hongo muestran una transformación de éste conocimiento en un contexto religioso, en el caso particular de la cosmovisión indígena en México (Fig. 3), durante el siglo XVI se desencadenó un violento proceso de aculturación y sincretismo, mediante la prohibición de prácticas relacionadas con la sanación espiritual, esto como consecuencia de la colonización española, de tal modo el santo oficio estableció una etapa de oscurantismo erradicando ritos ancestrales en los que se concebía a los hongos como vehículos para la comunicación con lo divino (Garibay-Orijel, 2000; Guzmán, 2016).

En consecuencia, la ingesta de hongos y lo relacionado con ellos se mantuvo en el ámbito de lo oculto hasta 1957, con la publicación de investigaciones como las de Wasson y Wasson, en las cuales se expone la tesis sobre la disparidad entre los pueblos micófilos y micófobos como resultado de la ideología religiosa predominante entre los mismos (Guzmán, 2012).

A partir de dichos estudios, es posible diferenciar tres etapas principales en el desarrollo de la etnomicología, teniendo como principio el análisis de los hongos alucinógenos mediante la descripción de los ritos y las dosis ingeridas por los participantes; posteriormente se amplió la observación de aspectos sobre la comprensión, uso y

prácticas relacionadas con los hongos; y por último se establecieron metodologías rigurosas de índole cuantitativo y cualitativo, dando como resultado una mayor precisión en la obtención e interpretación de los resultados (Ruan-Soto, 2007).

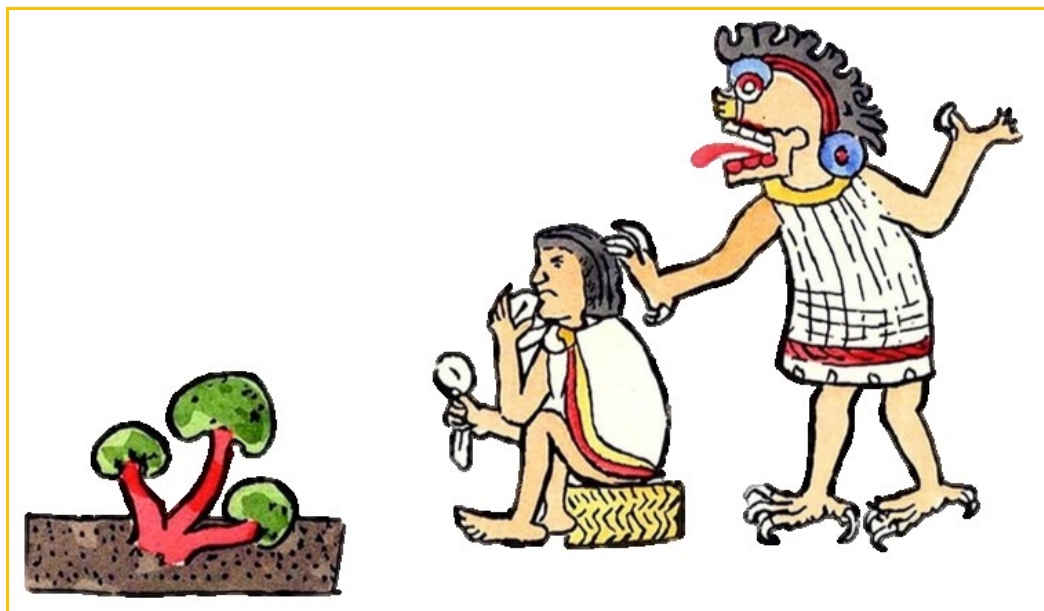


Figura 3. Códice Magliabecchiano, representación de la ingesta de hongos sagrados en el México precolombino (Guzmán, 2012).

En cuanto al uso tradicional de los hongos, su aplicación medicinal se ha registrado en menor medida aun cuando su importancia data desde el México precolombino, en éste contexto, Palomino (1990) ha documentado el tratamiento de diversas enfermedades mediante el uso de tres especies de hongos macroscópicos en el municipio de San Juan Atzingo, Puebla, empleados únicamente por curanderos y brujos, mismos que para la curación del enfermo administran la “carne” de los hongos o infusiones preparadas con estos mismos. Para el estado de Sonora, especies como *Pycnoporus sanguineus* y *Trametes versicolor* se han reportado como medicinales, sin embargo, estos registros no refieren el modo de preparación, ni los padecimientos para los que estos carpoforos son utilizados (Pérez-Silva *et al.*, 1993).

En el Volcán la Malinche, Tlaxcala, se analizaron comunidades de ascendencia Otomí y Nahuatl, pertenecientes a Ixtenco y Javier Mina, respectivamente, encontrando sólo tres especies medicinales, conformadas por un líquen y dos hongos macroscópicos (Montoya

et al., 2002). La búsqueda y registro de hongos medicinales es relativamente reciente, ya que estrictamente la documentación de estos recursos subyace en la revisión bibliográfica exhaustiva y observaciones en campo realizadas por Gastón Guzmán, micólogo mexicano que tras 50 años de investigación y comunión con los pueblos originarios logró documentar la utilidad de 70 hongos como especies aplicadas en el tratamiento de aproximadamente 45 padecimientos que son catalogados dentro de las enfermedades psicosomáticas, tales como el “espanto” y el “mal de ojo”, principalmente (Guzmán, 2008).

El mayor acercamiento a la difusión del conocimiento tradicional y las propiedades medicinales de los hongos se ha conseguido a partir de la digitalización del *Atlas de las Plantas en la Medicina Tradicional Mexicana* (BDMTM, 2009), mismo que presenta una monografía actualizada sobre los hongos medicinales utilizados en la República Mexicana, mediante la descripción de su forma de preparación, padecimiento para el que son empleados, nombre común y nombre científico de más de 90 especies vinculadas con la medicina tradicional, tales como *Clitocybe gibba* en la disminución de fiebre, *Geastrum saccatum* para curar el “mal de ojo”, *Lactarius indigo* como purgante, además de *Lycoperdon gemmatum* en el tratamiento de heridas cutáneas, entre otros (Guzmán, 1994).

Etnomicografías del pueblo lacandón han registrado el conocimiento sobre los “hongos que curan” utilizados por la comunidad de Lacanjá-Chansayab en Chiapas, dicho estudio engloba la utilidad de 16 especies de hongos lignícolas, entre los cuales solo *Clavulinopsis* sp., denominado como *kuxum* es considerado como medicinal ya que elimina verrugas en la piel (Ruan-Soto *et al.*, 2009). Para el municipio de San Gabriel Mixtepec, Oaxaca, se han reportado 21 especies medicinales, sin embargo, dicho listado carece de información sobre el modo de preparación y padecimientos para los que se emplean estos hongos medicinales (Canseco, 2011).

En el Valle Central de Oaxaca se ha documentado el nombre común, composición macronutricional, importancia ecológica, además del potencial biotecnológico y medicinal de hongos silvestres comercializados en la Central de Abastos de la Ciudad de Oaxaca de Juárez y el mercado regional del Municipio de Tlacolula de Matamoros,

encontrando un total de 13 especies con potencial medicinal (Ruíz *et al.*, 2013). En la Mixteca Alta de Oaxaca se ha documentado una alta diversidad de especies fúngicas empleadas principalmente como recurso comestible, por lo cual a partir de un listado conformado por 106 especies se puede corroborar que 56 de éstas no son utilizadas en la región de estudio, sin embargo, al ser contrastadas con la literatura especializada Hernández *et al.*, (2016), consideraron que 28 especies presentan potencial medicinal y comestible.

Aportes recientes al conocimiento sobre la diversidad de hongos medicinales en México han logrado discernir el uso específico, forma de preparación y aplicación de 217 especies, mediante revisión bibliográfica y trabajo de campo en comunidades de ascendencia Otomí, Nahuatl y Tzeltal, pertenecientes a Hidalgo, Tlaxcala, Chiapas y Estado de México, encontrando un alto grado de convergencia “intercultural-cognitiva” entre los pueblos Otomí y Nahuatl, además de la documentación de 99 especies que no se habían reportado como medicinales para el país (Bautista, 2013).

En cuanto a los hongos macroscópicos descritos en las diversas entidades que conforman el país, el Estado de México es uno de los más diversos ocupando el quinto lugar a nivel nacional (Aguirre *et al.*, 2014), presentando especies comestibles, degradadoras de madera, tóxicas y medicinales (Frutis y Valenzuela, 2009), entre los cuales destacan: *Amanita tecomate*, *A. muscaria*, *Clitocybe gibba*, *Lactarius indigo*, *L. salmonicolor*, *L. deliciosus*, *Boletus edulis*, *B. pinophilus*, *B. aestivalis*, *Suillus granulatus*, *S. luteus*, *Pleurotus smithii*, *Schizophyllum commune*, *Coriolus versicolor*, *Ganoderma applanatum*, *Geastrum saccatum*, *Lycoperdon perlatum* y *Ustilago maydis*, al ser referidas como especies medicinales presentes en los municipios de Acambay, el Oro, Valle de Bravo, Temascaltepec, y Chapa de Mota, principalmente (Guzmán *et al.*, 2009).

En Villa del Carbón se ha documentado la presencia de hongos silvestres pertenecientes al orden de los Gomphales, entre las que destacan *Ramaria araiospora* var. *araiospora*, *R. celerivirescens* y *Gomphus kauffmanii*, además de *R. armeniaca* como nuevo registro para México. En esta área de estudio, el género *Ramaria* es nombrado tradicionalmente con el término *ts'ints'u* (pie de pájaro) en lengua otomí y *k'eñisúú*

(hongo pie de pájaro) en lengua mazahua, mientras que en español todas las especies son reconocidas como “patitas de pájaro” o “patitas temblonas”; para *Ghompus* spp. es utilizado el término “corneta” o “trompeta”; cabe señalar que los entrevistados asignan algún adjetivo calificativo o bien alguna palabra que los asocia con otros organismos, en la utilización de los nombres vernáculos y comunes, lo cual indica que los hongos en general son un recurso de importancia económica y alimentaria para las familias de campesinos que se dedican al comercio de estas especies (Aguilar-Cruz y Villegas, 2010). Contribuciones para el mismo municipio registran el uso de hasta 110 nombres vernáculos en español y Otomí asignados a los géneros *Amanita*, *Russula*, *Clitocybe*, *Lycoperdon*, *Leccinum* y *Strobilomyces*; entre los que *Amanita annulovaginata* y *Lycoperdon peckii*, destacan como nuevos registros para el Centro de México (Feregrino-Feregrino, 2013).

Las investigaciones realizadas en Villa del Carbón presentan información práctica sobre hongos macroscópicos útiles para sus habitantes, entre ésta micobiota algunas especies corresponden a especies de importancia medicinal para diversas localidades de la República Mexicana, sin embargo, estos trabajos no hacen referencia a dicha utilidad para las especies presentes en el municipio (Guzmán, 1997; Zolla y Argueta, 2009; Bautista, 2013), lo cual sugiere que el manejo de estos organismos no se ha dilucidado en su totalidad.

Compuestos Fúngicos de Importancia Medicinal—En las últimas décadas ha incrementado la investigación basada en las propiedades nutraceuticas y terapéuticas de los hongos silvestres de importancia biotecnológica, debido a que contienen múltiples compuestos bioactivos con potencial antioxidante, anticancerígeno, hipocolesterolémico, antiviral, antibacteriano, inmunomodulador, antiinflamatorio, entre otros (Barros *et al.*, 2007; 2008; Moro *et al.*, 2012).

El potencial medicinal de diversas especies de hongos está dado en relación con el desarrollo de un complejo mecanismo de defensa química constitutiva, basado en la producción de metabolitos que se encuentran en forma bioactiva, como estrategia evolutiva ante los depredadores, competidores y parásitos (Spiteller, 2008). Los cuerpos

fructíferos de los hongos, son estructuras reproductoras de vida corta que producen toxinas, pigmentos, fungicidas, además de otras sustancias activas en correspondencia con la alteración del ambiente al que estos organismos se encuentran expuestos, restringiendo así la distribución de dichas sustancias a nivel de taxón, etapa de diferenciación morfológica e inclusive etapas de su ciclo de vida (Bérdy, 2005; Keller *et al.*, 2005).

Por lo anterior, la investigación referente a la “quimiodiversidad” presente en los hongos es fundamental en la obtención de compuestos útiles para la producción de medicamentos de origen natural, esto puede llevarse a cabo mediante el análisis de los elementos bioactivos responsables de dicho potencial a partir de la determinación de perfiles de metabolitos empleando técnicas cromatográficas (Davoli y Weber, 2002; Suárez y Nieto, 2013), cuyo fundamento está basado en la presencia de una fase móvil en la que un fluido en estado líquido o gaseoso, se encarga del arrastre constante de la muestra problema a una presión determinada por las condiciones gravitacionales o bien por medio de una válvula de inyección hasta una columna que ejerce alta presión generando una fase estacionaria, lo cual permite la separación de las moléculas, mismas que se eluyen gradualmente de la columna, para finalmente ser registradas mediante un detector (Villegas, 2013).

Para la detección de analitos existen diversas técnicas, tales como la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*), la cual posibilita el análisis selectivo con un alto grado de precisión, ya que puede determinarse el tipo de columna y composición del eluyente empleado en la detección de compuestos termosensibles de alta polaridad y grandes masas moleculares (Rouessac y Rouessac, 2003); mientras que la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) se basa en el análisis cuantitativo y cualitativo de las muestras a partir de su ionización en estado gaseoso, esta se lleva a cabo en un campo eléctrico que permite la fragmentación de las moléculas de acuerdo a su masa, para finalmente ser resueltas en el espectro de masas mediante un detector que genera un gráfico en correspondencia con la abundancia de cada uno de estos fragmentos (Harris, 2001).

A partir de la aplicación de dichos métodos se ha dilucidado la estructura y función de más de 1,500 compuestos bioactivos de origen fúngico, entre los que destacan los péptidos no ribosomales, tales como la penicilina G por su actividad antibiótica, la gliotoxina y la ciclosporina, útiles como inmunosupresores; policétidos como el lovastatin empleado en la reducción del colesterol en sangre; terpenos con potencial industrial, tales como el aristoloceno para la fermentación de productos lácteos y la giberelina G3 que estimula el crecimiento celular de plantas; además de alcaloides indólicos como la ergotamina de actividad vasoconstrictora, entre otros compuestos (Keller *et al.*, 2005).

El Phylum Basidiomycota, es uno de los grupos taxonómicos mayormente estudiados, debido a que las especies que lo conforman presentan características organolépticas de interés industrial y farmacológico, por lo cual, trabajos como los de Keller *et al.*, (2002), dilucidaron el potencial medicinal de 57 hongos, mediante el cribado de 125 extractos metanólicos, a partir de los cuales se determinó la capacidad bactericida de por lo menos 44 extractos, antifúngica de 6, larvicida para 4 y antioxidante de 4.

En otras investigaciones como la de Barros *et al.*, (2007), se analizó el contenido total de fenoles, flavonoides, ácido ascórbico, β -carotenos y licopenos en extractos metanólicos crudos mediante reacciones colorimétricas, contrastando los compuestos bioactivos en píleo y estípite de *Lactarius deliciosus* (L.) Gray, *Sarcodon imbricatus* (L.) P. Karst. y *Tricholoma portentosum* (Fr.) Qué!; aunado a esto a partir del cribado de dichos extractos determinaron su capacidad mínima inhibitoria antibacteriana y antifúngica en las cepas *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, mediante difusión radial; encontrando que la concentración total de fenoles y flavonoides es mayor que la de los demás compuestos en los extractos derivados del píleo; en cuanto a la actividad antibacteriana y antifúngica, *L. deliciosus* inhibe mayormente el crecimiento de dichas cepas en comparación con las otras dos especies, mientras que la actividad de *T. portentosum* es efectiva sólo en bacterias Gram positivas y en *C. neoformans*; respecto a la cantidad de

compuestos bioactivos, ésta es relativamente menor en *S. imbricatus*, debido a que sólo es funcional contra *B. cereus* y *C. neoformans*.

Para hongos de importancia alimentaria, se ha determinado la composición química de *Agaricus arvensis*, *Lactarius deliciosus*, *Leucopaxillus giganteus*, *Sarcodon imbricatus* y *Tricholoma portentosum*, mediante GC-FID (GC-Flame Ionization Detector), encontrando un aproximado de 50 ácidos grasos diferentes; aunado a esto, se analizó la composición de carbohidratos por HPLC-RI (HPLC-Refractive Index), detectando la abundancia primordial de azúcares tales como manitol y trehalosa; respecto al valor nutricional de estas especies silvestres se llevó a cabo un perfil general de macronutrientes, demostrando que estos recursos son ricos en proteínas y carbohidratos, además de bajos en grasas (Barros *et al.*, 2007).

En cuanto a especies de importancia comercial, se han realizado estudios basados en la búsqueda de propiedades nutraceuticas en: *Boletus edulis* Fr., *Calocybe gambosa* (Fr.) Donk, *Craterellus cornucopioides* Pers., *Marasmius oreades* (Bolt. ex Fr.) Fr., *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach, *A. silvaticus* Schaeff. y *A. silvicola* (Vittad.), utilizando técnicas como HPLC-RI, GC-FID, HPLC-FD (HPLC-Fluorescence Detection), principalmente; además de esto, se determinó la capacidad antimicrobiana de los respectivos extractos metanólicos para cada especie, determinando su concentración mínima inhibitoria en bacterias Gram positivas, Gram negativas y micromicetos; de tal forma se ha probado que algunas especies silvestres presentan índices energéticos menores que las especies comerciales, sin embargo, estos mismos contienen una mayor cantidad de fenoles y ácido ascórbico; en cuanto a la actividad antimicrobiana de los extractos, no se presentaron diferencias significativas entre los obtenidos a partir de organismos silvestres y cultivados (Barros *et al.*, 2008).

Trabajos posteriores han reportado la capacidad anti-inflamatoria *in vitro* de extractos metanólicos correspondientes a: *Agaricus bisporus*, *Boletus edulis*, *Cantherellus cibarius*, *Cratarellus cornucopioides*, *Lactarius deliciosus* y *Pleurotus ostreatus*; en macrófagos activados de la línea RAW 264.7; encontrando que los extractos de *A. bisporus*, *C. cibarius* y *L. deliciosus*, inhiben la actividad de la óxido nítrico sintasa

(NO), además de la expresión de IL-1 e IL6 del ARNm en respuesta a la estimulación de las endotoxinas (Moro *et al.*, 2012).

Aun cuando se han realizado diversas investigaciones basadas en el aislamiento, determinación y dilucidación estructural de una alta cantidad de compuestos de origen fúngico, la microbiota analizada se reduce generalmente a organismos cultivados de importancia comercial, por lo cual el número de especies estudiadas resulta insuficiente al contrastarse con la diversidad fúngica descrita. Considerando lo anterior, en el presente estudio se contribuyó al conocimiento de la diversidad de Basidiomicetos de Villa del Carbón, con base en su morfología y secuencias ITS, con la finalidad de corroborar su posición taxonómica, así como documentar la utilidad actual de estos hongos, haciendo énfasis en los *taxa* utilizados en el tratamiento de algún padecimiento, mediante la aplicación de métodos etnomicológicos y la detección de compuestos activos de los hongos medicinales.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Aportar conocimiento referente a la biodiversidad de basidiomicetos del Municipio de Villa del Carbón, México, con base en caracteres morfológicos y marcadores moleculares, además del uso de datos etnomicológicos en la selección de los *taxa* medicinales para la detección de sus compuestos activos.

Objetivos Particulares:

Determinar morfológica y molecularmente los especímenes fúngicos colectados en la zona de estudio, para la generación de un inventario local.

Registrar los usos etnomicológicos de los morfotipos colectados, para la selección de los *taxa* medicinales.

Conocer la quimiodiversidad de los morfotipos referidos como medicinales y a partir de una revisión bibliográfica, documentar la actividad potencial de los compuestos detectados.

MÉTODOS

Zona de Estudio—El municipio Villa del Carbón cuenta con una extensión de 307.65 Km² en colindancia al este con Tepetzotlán; Chapa de Mota al Noroeste; Nicolás Romero al Sureste; Jiquipilco al Suroeste y Tepeji del Río de Ocampo al Noreste. La mayor parte del terreno que abarca es accidentada y la altitud de sus localidades oscila entre los 2,575 msnm. El clima predominante es templado con invierno seco (Cwb) y humedad constante, con una temperatura media anual de 20°C. El suelo en esta región se divide en cuatro tipos: Agricultura de temporal (35.60%), Bosque de coníferas (26.15%), Bosque de encino (20.91%) y Vegetación inducida (14.21%). El presente estudio se llevó a cabo en la zona de bosques latifoliados, donde el tipo de vegetación es dominado por *Quercus* (SEDESOL, 2013).

Colecta de Material Biológico—La obtención de los ejemplares se llevó a cabo mediante cuatro colectas realizadas en julio-septiembre del 2013 en los bosques de encinos, Villa del Carbón. Los límites de colecta se establecieron en compañía de los informantes locales, empleando un GPS Bermann® se trazaron dos polígonos: el primero comprendido 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" W; mientras que el segundo se encuentra ubicado en las coordenadas 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.

La colecta del material se realizó siguiendo el protocolo establecido por Guzmán (1990): i) los hongos fueron separados delicadamente del sustrato, evitando así el daño mecánico de los ejemplares, ii) se registraron sus características macroscópicas en fresco y iii) posteriormente fueron colocados en bolsas de papel encerado etiquetadas con los siguientes rubros: tipo de sustrato, hábitos de crecimiento, vegetación circundante, fecha, colector, mismos a los que se les asignó la clave VC (Villa del Carbón) y un número por orden de colecta (VC76 a VC152). Seguidamente, los organismos se colocaron dentro de una canasta, los cuales fueron transportados hasta la

Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

Determinación Morfológica—Los cuerpos fructíferos colectados fueron determinados a partir de caracteres morfológicos macroscópicos, por lo cual se empleó la descripción en fresco, las fotografías correspondientes para cada ejemplar, el patrón de esporulación, los carpóforos desecados y algunas observaciones etnomicológicas proporcionadas por los informantes. Estos datos fueron contrastados con la información contenida en las claves de Guzmán (1990) y Kuo (2007b); además de la guía de campo de Lincoff y Nehring (1981).

Métodos Moleculares—En el Laboratorio de Bioquímica Molecular de la UBIPRO FESI, se tomaron muestras de tejido de los especímenes colectados separando el píleo del estípite usando una campana de flujo laminar. Posteriormente, el material biológico fue colocado en tubos de 2ml y preservado a -70°C , hasta su utilización. El resto del material se deshidrató de forma convencional usando una secadora, para conformar la colección de referencia mediante técnicas convencionales de micología (Guzmán, 1990).

Extracción de Ácido Desoxirribonucleico. El material genómico de las muestras se obtuvo siguiendo el protocolo de extracción de ADN de Asencio y Pruna (com. pers.) que consiste en macerar 0.1g de tejido en 750 μl de buffer AP (Urea 7M, NaCl 0.35M, Tris base 0.05M, EDTA 0.02M y N-Lauryl-Sarcosina al 1%), incubar la muestra a temperatura ambiente durante 30 min, centrifugar 1 min a 12,000 RPM, recuperar el sobrenadante, limpiar con 500 μl de fenol-cloroformo (1:1), centrifugar durante 3 min a 12,000 RPM. Posteriormente, se debe recuperar la fase acuosa, precipitar con 500 μl de Isopropanol y 50 μl de Acetato de Amonio (10M), centrifugar durante 10 min a 12,000 rpm, eliminar sobrenadante, lavar con Etanol al 70%, centrifugar durante 3 min a 12,000 RPM, desechar el eluato y por último resuspender la pastilla en 50 μl de H₂O libre de nucleasas y preservar las muestras a -20°C , hasta su utilización.

Para verificar la integridad del ADN aislado se llevó a cabo una electroforesis horizontal en gel de Agarosa al 0.8%, empleando como intercalante BrEt (0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$), a 110V

durante 40 min, utilizando como amortiguador Tris-Acetato-EDTA 0.5X. El ADN aislado fue conservado a -20°C. Por cada muestra se utilizaron 5µl de ADN y 2µl de Azul de bromofenol-xilen-cianol; como referencia se utilizaron 5µl (0.5µg/ml) del marcador de peso conocido Gene Ruler™ 100pb (Voytas, 2000).

Reacción en Cadena de la Polimerasa. La PCR se realizó siguiendo el protocolo de MyTaq™ DNA polymerase de BIOLINE® para reacciones de 25µl, que contienen: H₂O libre de nucleasas, Buffer 5X, primers 10µM, Taq polimerasa MyTaq™ (5U/µl) y ADN molde; empleando el termociclador T100™ de BIO-RAD. La amplificación de las regiones ITS1, 5.8S e ITS2, se llevó a cabo utilizando los primers específicos ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) de White *et al.*, (1990). Las muestras fueron sometidas a una temperatura inicial de 95°C 5', seguida de 30 ciclos de: 95°C, 1'; 57°C 1'; 72°C 1'; con una fase de elongación final de 72°C durante 7' (Ahmadi *et al.*, 2012). Las muestras que no amplificaron en la primera reacción fueron diluidas 1:10 y 1:100 con H₂O libre de nucleasas.

Identificación molecular. La secuenciación de los amplicones de la región ITS se realizó empleando reacciones químicas BigDye Terminator, que en conjunto con los primers ITS5 e ITS4 de White *et al.*, (1990), fueron resueltas en un secuenciador automático de 16 capilares Applied Biosystems-Hitachi 3130xl en dirección 5'- 3' hasta una longitud aproximada de 700 pb. El análisis y edición de las secuencias obtenidas se llevó a cabo empleando el software Geneious versión 7.0.6 para MacOS. La determinación molecular de las especies se realizó empleando el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information), considerando sólo las secuencias de nucleótidos que presentaron un porcentaje de identidad máxima mayor a 90 al contrastarse con las secuencias depositadas en la base de datos del GenBank.

Documentación Etnomicológica—Las especies fúngicas de utilidad medicinal fueron identificadas mediante la aplicación de entrevistas a algunos pobladores locales, estas fueron divididas en dos fases: la primera consistió en el ejercicio de reconocimiento con ayuda de la libreta etnomicológica, conformada por imágenes fotográficas de cada especie (ver Anexo 4); cuando el informante afirmó reconocer

alguno de estos organismos se procedió a la realización de la segunda fase, misma que consistió en preguntas correspondientes a la identificación del uso y conocimiento referente a los hongos presentes en el municipio (ver Anexo 2).

Para la aplicación de las encuestas etnomicológicas se eligieron 29 informantes dedicados a la venta, recolección y/o consumo de hongos en la zona de estudio con la finalidad de que las especies colectadas fuesen reconocidas fácilmente por los entrevistados (Bautista, 2013).

Compuestos Fúngicos— Se realizó un extracto metanólico crudo a partir del cuerpo fructífero desecado de *Stereum hirsutum* (500 mg), el cual fue sometido a un proceso de maceración en frío con MeOH grado HPLC. La recuperación de sólidos se llevó a cabo mediante la evaporación del solvente a temperatura ambiente. Para la detección de los grupos principales de metabolitos secundarios se realizaron pruebas mediante reacciones colorimétricas y revelado de la cromatografía en capa fina (ccf) para Terpenos y Alcaloides, utilizando Vainillina y el reactivo de Dragendorff, respectivamente (Wagner y Blatt, 2001), para lo cual el extracto crudo se aplicó en placas de sílica gel con indicador de fluorescencia para luz UV de 365nm, dicha placas se desarrollaron en una cámara cromatográfica utilizando como fase móvil acetato de etilo y metanol (1:9), posteriormente fueron observadas en una cámara de luz UV en longitudes de onda de 365 nm y 254 nm.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Con el objetivo de detectar la presencia de compuestos químicos en el extracto metanólico crudo de la muestra problema, se llevó a cabo una HPLC, empleando el equipo *Agilent Technologies* series 1100 con bomba cuaternaria y detector de arreglo de diodos, con una columna Allosphere ODS-1. Se inyectó un flujo constante de 5 mL/min durante 30 min con fase móvil isocrática compuesta por H₂O, MeOH y AcOH (50:25:25). Se empleó el software ChemStation A.09.03, utilizando el espectro UV a 365nm. La nomenclatura de los compuestos detectados, representa una propuesta diseñada a partir del análisis de los tiempos de retención y máximos de absorción registrados en el cromatograma obtenido, con respecto a la literatura citada.

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS). El extracto metanólico crudo de *Stereum hirsutum* fue sometido a un análisis espectrométrico utilizando el cromatógrafo *Agilent Technologies 6850* acoplado a un espectrómetro de masas modelo 5795-c, con columna capilar HP-5MS. El tipo de inyección fue modo Split, con flujo inicial de 1 mL/min en un periodo total de 35 min a velocidad lineal de 30 cm/s; el gradiente de temperatura abarcó un rango de 70°C hasta un máximo de 300°C. El rango de masa detectado fue de 35 a 600 m/z, la ionización de las muestras se llevó a cabo mediante impacto electrónico a 70 eV. La identificación de los compuestos se realizó a partir de los datos contenidos en la biblioteca NIST 8.o.

RESULTADOS

Determinación de los Taxa Colectados—Se colectaron 75 carpóforos, a partir de los cuales se determinaron 36 especies; 35 Basidiomicetos pertenecientes a 4 órdenes, donde los Agaricales fueron representados por las familias Amanitaceae, Marasmiaceae, Psathyrellaceae, Agaricaceae, Tricholomataceae, Pluteaceae y Strophariaceae; los Russulales por las familias Russulaceae y Stereaceae; los Poliporales por Meruliaceae y Polyporaceae, mientras que los Boletales sólo por Boletaceae. Además, fue identificado un Ascomiceto del orden de los Pezizales perteneciente a la familia Helvellaceae (Cuadro 1).

En cuanto a la determinación molecular del *taxa* colectado, se obtuvieron 33 secuencias de la región ITS del ARNr nuclear, pertenecientes a 27 *taxa*, mismas que en congruencia con los datos morfológicos: 22 coinciden a nivel de especie, ocho sólo a nivel de género y tres son desconocidas, de acuerdo con la base de datos del GenBank. Esta revisión permitió detectar que las secuencias generadas a partir de los morfotipos: *Marasmius calhouniae*, *Collybia tuberosa*, *Russula mexicana* y *Leccinum* aff. *rugosiceps* (Anexo 3), representan nueva información molecular nueva para el GenBank del NCBI, lo anterior, de acuerdo con el bajo porcentaje de identidad establecido con las secuencias de referencia (Anexo 1).

Cuadro 1. Inventario de especies colectadas e información etnomicológica obtenida. Taxón de importancia Comercial (TC). Comestible (C). Tóxico (T). Medicinal (M). Taxón no reconocido por los informantes (TNR).

Taxón	Información Etnomicológica		
	Nombre Común	Observaciones Generales	Utilidad
Phylum: Basidiomycota			TC C T M
Clase: Agaricomycetes			
Orden: Agaricales			
Familia: Amanitaceae			
<i>Amanita caesarea</i>	kechimoncillo, Kechimón	Guisado en salsa	+ +
<i>Amanita flavoconia*</i>	kechimoncillo, Kechimón	Es preparado en crema con ajo, cebolla y epazote	+ +
<i>Amanita pantherina</i>	mosco, mantequero blanco	Su consumo produce mareo, aletargamiento, vómito y diarrea	+ +
<i>Amanita novinupta*</i>	mantequero, manteco, manteca	Entomatado con pollo	+ +
<i>Amanita vaginata</i>	perrito, encino, ardilla	Frito con ajo, cebolla y epazote	+ +
Familia: Marasmiaceae			
<i>Gymnopus biformis</i>	hongo de encino		
<i>Gymnopus dryophilus</i>	hongo de encino		
<i>Gymnopus subsulphureus</i>	TNR		
<i>Marasmius calhouniae*</i>	TNR		
<i>Marasmius cohaerens*</i>	encino		
<i>Marasmius rotula</i>	arrierito		
Familia: Psathyrellaceae			
<i>Coprinopsis atramentaria</i>	hongo de lama		
<i>Coprinopsis insignis</i>	hongo de lama		
<i>Psathyrella candolleana</i>	TNR		
Familia: Agaricaceae			
<i>Lycoperdon perlatum</i>	bola de llano, de sereno, de gato, ternera	Se consume crudo, sólo o en ensalada	+ +
<i>Lycoperdon pyriforme</i>	bola de llano, de sereno, de gato, ternera	Se consume crudo, sólo o en ensalada	+ +
Familia: Tricholomataceae			
<i>Collybia tuberosa*</i>	clavito, dulce, encino		
<i>Clitocybe gibba</i>	tejamanil, tablita, oreja blanca	En caldo acompañado de hojas de epazote o con pollo	+ +
Familia: Pluteaceae			
<i>Pluteus chrysophlebius</i>	TNR		
Familia: Strophariaceae			
<i>Stropharia semiglobata*</i>	de lama		+ +

Taxón que presentó incongruencias entre su identidad morfológica y molecular (*).

Documentación Etnomicológica—Se entrevistaron 29 informantes: 15 elegidos al azar y 14 vendedores locales de hongos silvestres. El ejercicio de reconocimiento con ayuda de la libreta etnomicológica, permitió agrupar 36 especies en correspondencia con su utilidad: 18 hongos comestibles, identificados por los informantes a partir de

cortes en el cuerpo fructífero, cocción del esporocarpo en agua (*curación de los hongos*), además, suelen *acitronarlos* con ajo y cebolla, los cuales al teñirse de una ligera coloración morada o verdosa indican que no estos hongos no deben consumirse, ya que producen vómito o diarrea; 8 especies a las que se les asigna nombre común, sin embargo, no se les atribuye utilidad; 6 *taxa* que no fueron reconocidos; 3 especímenes tóxicos, reconocidos como “hongos locos” u “hongos de lama”, sin hacer énfasis en los efectos que producen, ya que la totalidad de los informantes dedicados a la venta de hongos reconocen que su olor y sabor es desagradable en primer instancia. La utilidad medicinal fue detectada sólo para el denominado "hongo de palo" (*Stereum hirsutum*), debido a su aplicación en el tratamiento de hemorragias nasales y heridas cutáneas, mediante la infusión de una pizca del carpóforo seco en un litro de agua que debe beberse como “agua de tiempo” y a partir de la aplicación del basidiocarpo machacado en fresco como “cataplasma”, respectivamente (Cuadro 1).

Como observación etnomicológica, cabe señalar que ocho informantes mencionaron que los niños y la gente que ha ingerido antibióticos, no debe consumir hongos y no pueden ser curados con los mismos. En la realización de la entrevista semiestructurada ninguno de los entrevistados refirió a las especies con el adjetivo “medicinal”, “tóxico” o “comestible”, sino que dichos términos fueron acuñados en congruencia con el tipo de aplicación e información registrada a partir de las observaciones etnomicológicas proporcionadas por los informantes (Cuadro 1).

Cuadro 1 (Cont.). Inventario de especies colectadas e información etnomicológica obtenida. Taxón de importancia Comercial (TC). Comestible (C). Tóxico (T). Medicinal (M). Taxón no reconocido por los informantes (TNR).

Taxón	Información Etnomicológica		
	Nombre Común	Observaciones Generales	Utilidad
Phylum: Basidiomycota			TC C T M
Clase: Agaricomycetes Orden: Russulales Familia: Russulaceae			
<i>Russula flavisiccans</i> *	madroño		+ +
<i>Russula mariae</i> *	madroño morado	Las especies comestibles del género <i>Russula</i> se sofríen con ajo y cebolla o bien se hierven en agua, de forma previa a su preparación, pueden comerse en caldo solos o acompañados con carne	+ +
<i>Russula mexicana</i> *	madroño		+ +
<i>Russula aff. pectinatoides</i> *	ardilla		+ +
<i>Russula aff. pulchra</i> *	madroño rojo		+ +
<i>Russula violeipes</i>	madroño morado		+ +
<i>Russula aff. xerampelina</i>	madroño		+ +
<i>Russula sororia</i>	hongo loco		+ +
<i>Lactarius indigo</i>	oreja azul		Guisado en salsa verde con carne de cerdo
Familia: Stereaceae			
<i>Stereum</i> sp.	TNR		
<i>Stereum hirsutum</i>	hongo de palo, de encino	En el tratamiento de hemorragias nasales se bebe la infusión preparada con trozos secos del hongo como “agua de tiempo”; Para la cicatrización y desinfección de heridas, el hongo se machaca y se coloca como cataplasma en contacto directo con la zona afectada	+ +
Orden: Polyporales Familia: Meruliaceae			
<i>Podoscypha</i> sp.	lechero, de tronco		
Familia: Polyporaceae			
<i>Polyporus arcularius</i>	TNR		
Orden: Boletales Familia: Boletaceae			
<i>Leccinum aff. rugosiceps</i> *	cema	Asado o frito con limón, sal, ajo y epazote	+ +
<i>Strobilomyces floccopus</i>	cema negra, cema de bruja, brujita	Asado o en quesadillas	+ +
Phylum: Ascomycota			
Clase: Pezizomycetes Orden: Pezizales Familia: Helvellaceae			
<i>Helvella crispa</i>	morita	Se fríe con ajo y cebolla	+ +

Taxón que presentó incongruencias entre su identidad morfológica y molecular (*).

Compuestos del Taxón Medicinal—La documentación etnomicológica permitió seleccionar a *S. hirsutum* como un taxón medicinal, cuyo extracto presentó 23 metabolitos, entre los cuales probablemente 17 presentan actividad antibiótica, antiviral, citotóxica, antioxidante o antihemostática, de acuerdo con la bibliografía

especializada, tal como se menciona en los Cuadros 2 y 3. En los resultados obtenidos a partir del HPLC, se determinó la presencia de 12 metabolitos del tipo de los terpenos principalmente, destacando por su importancia la presencia de compuestos tales como los sesquiterpenos (IV, VIII, IX y XI) y diterpenos (V y XII); varios de ellos característicos del género *Stereum* (Cuadro 2). En contraste, mediante la GC-MS, se detectó mayormente la presencia de ácidos grasos tales como el ácido docosanóico, ácido dehidroabiético, ácido palmítico, ácido esteárico y metil nervonato, entre otros (Cuadro 3).

Cuadro 2. Análisis de *S. hirsutum* por HPLC, se observan los tiempos de retención (tR) y máxima absorción (λ máx), correspondientes a los compuestos y actividad biológica más probables. Número de Identificación asignado por orden de aparición (ID). Compuesto No Citado (CNC). Sin Actividad Biológica Citada (SABC).

ID	tR (min)	λ máx (nm)	Compuesto	Actividad Biológica
I	2.135	204, 258, 296	Sterenin B	Inhibidor enzimático ^e
II	2.522	260, 314	CNC	SABC
III	2.728	260, 314	CNC	SABC
IV	3.242	308	Sterolactone C	Antibacterial ^g Antifúngico ^g Citotóxico ^g
V	3.782	206, 260, 308	4-hydroxy-5-methoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-phenyl- 2,4-dihydroxy-6-methyl-benzoate	Antibacterial ^f Citotóxico ^f
VI	4.402	204, 238, 262,304, 360	5,7-Dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl) isobenzofuran-1(3H)-one	SABC
VII	5.488	206, 262, 292, 358	CNC	SABC
VIII	6.055	268, 288	Sterostrein I	Antibiótico ^a Antiviral ^d
IX	8.048	210, 268, 312	Sterenin C	Inhibidor enzimático ^e
X	11.868	244, 266, 296	2-hydroxy±5-methoxy-6-(3-methylbut-3-en-1-ynyl) benzylalcohol	Bactericida ^c
XI	17.582	204, 236, 256	Stereumin P	Antibacterial ^b Nematicida ^b Citotóxico ^b
XII	19.722	206, 238	Sterostrein B	Antibiótico ^a Antiviral ^d

^aArnone *et al.*, 1989. ^bChen y Liu, 2017. ^cDubin *et al.*, 2000. ^dErkel *et al.*, 1992. ^eIto-Kobayashi *et al.*, 2008. ^fMa *et al.*, 2014. ^gOpatz *et al.*, 2008.

Cuadro 3. Análisis de *S. hirsutum* por GC-MS, se observan los tiempos de retención (tR), porcentajes de abundancia (%) y compuestos correspondientes con la biblioteca NIST 8.o., además de la actividad biológica más probable. Número de Identificación asignado por orden de aparición (ID). Sin Actividad Biológica Citada (SABC).

ID	tR (min)	Abundancia (%)	Compuesto	Actividad Biológica
XIII	19.126	8.770	Ácido dehidroabiético	Citotóxico ^{ñ, °} Fungistático ⁿ
XIV	19.466	19.955	8H-[1,2,4,]Triazino[4,3-b][1,2,4]triazin-8-uno, 4,9-dihidro-7-metil-3-fenil	Antihemostático ^j Antibacteriano ^h Fungicida ⁱ
XV	20.319	11.238	Ácido palmítico	Citotóxico ^l
XVI	22.642	9.988	Ácido esteárico	Citotóxico ^l
XVII	23.251	7.185	Docosano	SABC
XVIII	24.329	1.531	Ácido docosanoico	Antimicrobiano ^m Antioxidante ^k
XIX	25.554	3.746	Ácido vaccénico	SABC
XX	25.894	1.396	Ácido tricosanoico, metil-ester	SABC
XXI	25.997	2.144	Octacosanol	SABC
XXII	26.876	3.802	Metil nervonato	SABC
XXIII	27.107	3.565	N'-hidroxi-N-[2-(trifluorometilfenil)fenil]Piridina-3-carboximidamina	SABC

^hAli, 2009. ⁱIbrahim *et al.*, 2009. ^jKamble y Shuda, 2006. ^kLiu y Nair, 2010. ^lLu *et al.*, 2003. ^mMazima *et al.*, 2011. ⁿSavluchinske-Feio *et al.*, 2006. ^ñUkiya *et al.*, 2002. [°]Xing *et al.*, 2013.

DISCUSIÓN

Determinación de los Taxa Colectados—Los géneros mayormente representados en el inventario realizado pertenecen a las familias: Amanitaceae, Russulaceae y Marasmiaceae, las cuales a su vez presentan una alta disparidad en cuanto a su identidad morfológica y molecular, tal como señalan Antonín *et al.*, (1997), Miller y Buyck (2002), además de Oda *et al.*, (2004).

El uso de marcadores moleculares tipo ITS en la determinación de los hongos colectados, permitió diferenciar entre especies crípticas tales como *Russula mariae* y *R. violeipes*, lo cual coincide con lo descrito por Park *et al.*, (2013); además de *Amanita rubescens*, *A. novinupta*, *A. flavipes* y *A. flavoconia*, lo cual hace imprescindible el uso de herramientas auxiliares para la identificación de estas especies, tal como menciona Kuo (2013). Lo anterior ejemplifica la complejidad sistemática de Fungi, por ende, debido a que el NCBI no representa una autoridad taxonómica, la morfología de los especímenes fue considerada como referencia principal en la determinación del material colectado, por lo anterior, sólo se discutirá la identidad de aquellos que presentaron inconsistencias respecto a su denominación morfológica y molecular (ver Anexo 1).

Amanitaceae—*Amanita flavoconia* Atk., píleo glabro de color naranja brillante, convexo o aplanado, 30-120mm de diámetro, himenio laminar de color blanquecino, estípites amarillo pálido, anillado en la parte apical, con base bulbosa (Kuo, 2007b). La morfología de este taxón no resuelve su identidad, debido a que converge con la descripción de *A. flavipes*, por ello, estudios previos refieren la distribución de ambas especies como el factor determinante para su identificación, considerando a *A. flavipes* endémica del continente asiático, mientras que *A. flavoconia* se ha descrito como una especie distribuida en el centro y norte de América (Guzmán, 1990; Oda *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2013). De acuerdo con lo anterior, se determinó que VC116 y VC144 (ver Anexo 1) corresponden a *A. flavoconia*, sin embargo, la secuencia VC144 presenta 99% de similitud con *A. flavipes* (AB015696), generada a partir de un organismo colectado en Kutsuki-mura, Japón, lo cual sugiere que *A. flavoconia* y *A. flavipes* deben representar un solo taxón, sin embargo, para confirmar esta propuesta, se requiere de la descripción microscópica, en conjunto con el análisis filogeográfico de estas especies,

para así poder descartar o corroborar que las similitudes morfológicas entre estos organismos sean producto de algún mecanismo de especiación o bien el resultado de una subestimación de su diversidad y distribución.

A. novinupta Tulloss & J. Lindgr, desarrolla fructificaciones blancas, que tornan de rosado a café conforme a la maduración del carpóforo; su estípite se mancha fácilmente de color vino al maltratarse, razón por la que estos cuerpos fructíferos pueden confundirse fácilmente con *A. rubescens* Pers., un hongo endémico de Eurasia (Kuo, 2007b; 2013). En este contexto, se propone que la descripción morfológica para *A. rubescens* realizada por Guzmán (1990), corresponde a *A. novinupta sensu lato*, teniendo como evidencia la distribución de estos *taxa*, en conjunto con el 99% de similitud establecido con secuencias pertenecientes a especímenes del continente americano, tales como: KC152066 de Atlautla, Estado de México, además de GQ250403 del condado de Sonoma, CA, EUA.

Marasmiaceae—*Marasmius calhouniae* Singer, píleo de cutícula translúcida, 10 a 30mm de diámetro, himenio lamelado, decurrente o subdecurrente, estípite aplanado, de 15 a 40 mm de alto (Kuo, 2007b). Dicha morfología corresponde con las muestras VC100 y VC119, mientras que las secuencias generadas para ambos especímenes presentaron un 82% de homología con *Gloiocephala aquatica* (DQ097356), taxón de píleo glabro, diámetro de 2 a 5 mm, sin lamelas, de acuerdo con lo descrito por Desjardin *et al.*, (1995). En congruencia con las diferencias morfológicas y el bajo porcentaje de identidad establecido entre ambas secuencias, se intuye que las regiones ITS pertenecientes a VC100 y VC119 deben representar las primeras secuencias para *M. calhouniae*.

M. cohaerens (Pers.) Cooke & Quél., distribuido al este de norteamérica; píleo convexo y liso, diámetro de 10 a 35 mm, margen estriado, laminas distantes y decurrentes; estípite de 30 a 80 mm de largo y 3mm de ancho (Kuo, 2005). El espécimen VC146 presentó 93% de similitud con *Micromphale brassicolens* (DQ449989) según Mata *et al.*, (2006), el cual es sinónimo de *Gymnopus brassicolens* (Romagn.) Antonín & Noordel, hongo del que *M. cohaerens* difiere por particularidades presentes en el color y textura del

píleo, por lo cual, considerando la morfología y el porcentaje de disimilitud entre dichas secuencias, VC146 fue identificado como *M. cohaerens*.

Tricholomataceae—*Collybia tuberosa* (Bull.) P. Kum, distribuido al norte del continente americano, crece sobre humus, madera e inclusive sobre otros hongos descompuestos (*Russula* y *Lactarius*); píleo convexo, higrófilo, blanquecino, diámetro de 20 a 100 mm, deprimido y zoneado en el centro, estípote hueco y fibroso al contorno, 10 a 50 mm de largo por 3mm de diámetro (Lincoff y Nehring, 1981; Kuo, 2007b). A partir de las características morfológicas de VC90 y del 82% de identidad establecido con *Cyptotrampa asprata* (DQ097355; Binder, 2006), se considera que nuestro espécimen pertenece a *C. Tuberosa*, por lo tanto, la información molecular obtenida debe representar la primera secuencia de ITS para este taxón.

Strophariaceae—*Stropharia semiglobata* (Batsch) Quél., distribuido en el centro y sur de América, de hábitos coprófilos; píleo hemisférico o convexo, cutícula lisa y viscosa de color amarillo-oliva brillante, diámetro de 10 a 33 mm, margen estriado, himenio de color café-grisáceo o negruzco, láminas decurrentes y adnatas, estípote de contexto hueco, de 93 mm-largo por 3mm-ancho (Cortez y Silveira, 2008). Todas estas características corresponden con VC121, cuya secuencia coincide 94% con *Hypholoma dispersum* (KC581325), sinónimo de *Psilocybe marginata* (Pers.: Fr.) Noordel, de píleo higrófilo, no translúcido, color rojo-cobrizo a rojo-amarillento, distribuido en los bosques de coníferas del continente Europeo, según lo descrito por Bas *et al.*, (1990), por lo anterior, las secuencias VC121 y KC581325 (Villa del Carbón, México y Parque Regional de Capilano River en Vancouver, Canadá, respectivamente), distan de corresponder a dicha especie, considerando la morfología, distribución y porcentaje de similitud establecido entre ambas secuencias, por ende, se propone que la información molecular obtenida, debe representar la primera secuencia para *S. Semiglobata* de material mexicano.

Russulaceae—*R. flavisiccans* Bills, es una ectomicorriza asociada a los bosques de encino, distribuida en norteamérica; píleo agrietado, cutícula aterciopelada rojiza tenue, con motas amarillentas o blanquecinas, sin margen, diámetro de 50 a 100mm, himenio laminar de color crema, estípote blanco de color marrón al maltratarse, 30-50mm de

largo, picante y graso al gusto (Bills 1989; Kuo, 2007b). Las muestras VC133 y VC149 corresponden con la descripción anterior, mientras que sus secuencias presentaron un 97% de similitud con *R. aeruginea* (EU819421), dicho espécimen pertenece a los bosques de *Castanea dentata* pertenecientes a West Salem, WI, EUA (Palmer *et al.*, 2008). Considerando que EU819421 representa el aislamiento de una micorriza cuyo huésped no fue identificado y teniendo como evidencia el porcentaje de similitud establecido con VC133 y VC149, la identidad asignada de EU819421, podría tratarse de una determinación artificial, debido a que *R. aeruginea* Lindblad ex Fr., difiere de estos especímenes en color, textura, sabor, pileocistidios y especies arbóreas con las que se asocia (Kuo, 2007b), por lo cual se propone que VC133, VC149 y EU819421, corresponden al mismo taxón, en éste sentido nuestros resultados no representan los primeros registros para *R. flavisiccans*, sin embargo, aportan la identidad específica de secuencias anotadas en trabajos previos.

R. mariae Peck y *R. violeipes* Quélet, conforman el subgénero *Amoenula*, representado por especies que convergen macroscópicamente (Bills *et al.*, 1984), lo cual dificulta su determinación morfológica, sin embargo, de acuerdo con estudios como el de Park *et al.*, (2013), es posible discernir entre estas especies a nivel microscópico, considerando la talla de sus basidiosporas, basidios y pleurocistidios; y molecular mediante el contraste de regiones tales como ITS, LSU y RPB2. En este contexto, VC87 presentó un 92% de identidad con *R. violeipes* (KF163797), espécimen proveniente de Ulleung-gun, Gyeongsangbuk-do, Corea, por lo anterior, considerando la disimilitud establecida entre ambas secuencias, el espécimen VC87 fue identificado como *R. mariae*.

R. mexicana Burl., presenta píleo rojo, estriado al margen, diámetro mayor a 8 cm, sus láminas cambian de color blanco a amarillento al secarse, se distingue de otras especies por su sabor picante, es considerado un hongo no comestible, el cual se distribuye generalmente en bosques de encino y subtropicales, según lo descrito por Guzmán (1990). A partir del uso de claves dicotómicas especializadas en la identificación de la micobiota de México, VC147 y VC148 fueron denominadas como *R. mexicana*, cabe señalar que la descripción accesible para esta especie consta de caracteres que pueden ser considerados genéricos, para un grupo tan complejo como *Russula*. En cuanto a la identidad molecular de estos organismos, la secuencia VC148 presentó un 94% de

similitud con *R. curtipes* (JF908677), espécimen que forma parte de la colección de Herbario del Museo de Historia Natural en Venecia, Italia (Osmundson *et al.*, 2013), por lo cual a partir del contraste de estos resultados se infiere que VC148 debe representar la primera secuencia para *R. Mexicana* a partir de este material.

R. pectinatoides Peck, ectomicorriza de hábitos gregarios, ampliamente distribuida en la meseta norteamericana “Las Grandes Llanuras”; píleo convexo de color paja con apariencia viscosa, su cutícula se desprende fácilmente, diámetro de 20 a 80 mm, himenio laminar amarillento, estípites blanquecinos de contexto cavernoso, 15 a 70 mm de largo por 13 mm de ancho, su olor es dulce, además es suave y graso al gusto (Kuo, 2007b), sin embargo, Miller y Buyck (2002) refieren un sabor acre para las especies de Norteamérica. La información molecular de referencia, relaciona en un 96% la secuencia VC113 con *R. melzeri* (AY061691), ejemplar perteneciente al continente europeo, del cual nuestro espécimen difiere drásticamente en color del píleo y sabor de la carne, sin embargo, se deberán examinar los caracteres microscópicos del ejemplar, para aseverar que pertenece al taxón asignado, por lo cual VC113 se determinó hasta el momento como *R. aff. Pectinatoides*.

R. pulchra Burl., es un hongo epigeo, formador de ectomicorrizas en asociación con raíces de *Quercus*, por lo cual es común encontrarlo distribuido al este de Norteamérica; píleo de color rojizo, convexo y deprimido al centro, cutícula viscosa que al secarse se agrieta cambiando a una textura ligeramente aterciopelada y alineada al margen, diámetro de 50 a 100 mm, himenio laminar, estípites de color blanquecino, de 30 a 70 mm-largo por 15mm-ancho, inodoro y de sabor suave (Kuo, 2007b). La muestra VC151 presentó 96% de similitud con la secuencia *R. favrei* (KC581298), perteneciente al Parque Regional Capilano River, Vancouver, Canadá; debido a que no se consideró el tamaño y disposición de pileocistidios y esporas, para la determinación de VC151, este espécimen fue identificado como *R. aff. pulchra*.

Boletaceae—*L. rugosiceps* (Peck) Singer, ectomicorriza asociada a zonas perturbadas, distribuida en bosques de encino pertenecientes al centro y norte de América; píleo convexo, cutícula rugosa, ligeramente pegajosa, tomentosa, glabra y areolada de color amarillo pardo, diámetro de 30-150mm, himenio tubular de coloración amarillo-

verdoso, deprimido al centro, estípote pruinoso de 40-150mm de largo, contexto firme, vira de coloración a tonos rosados cuando se maltrata, esporada de color marrón u oliva (Kuo, 2007a). De acuerdo con la morfología, distribución y ecología de VC111, los datos moleculares correspondientes a dicho espécimen representan sin duda la primera secuencia ITS, generada para *L. rugosiceps*, esto en congruencia con el 86% de similitud con Boletaceae sp. (EU569239).

Los resultados anteriores demuestran que la clasificación biológica de los hongos requiere del estudio de las diferencias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y genéticas de los especímenes, como herramientas auxiliares en la determinación de sus especies, en conjunto con la caracterización de dichos elementos de análisis para el establecimiento de un protocolo que coadyuve en la identificación de los organismos que actualmente se consideran parte del *taxa*, tal como lo menciona Guarro *et al.*, (1999).

Por lo anterior, es imprescindible considerar la importancia biológica intrínseca de las especies que conforman el *taxa*, mediante la ubicación de los centros más diversos, el discernimiento de su función en los ecosistemas, la determinación de sus especies para el aprovechamiento de su potencial farmacéutico, industrial y alimenticio; además del establecimiento y atención de reservas naturales, con la finalidad de crear colecciones locales que posibiliten a las diversas comunidades humanas, el manejo y conservación de estos recursos, tal como lo menciona Hawksworth (2001).

Uso Actual de los Taxa Determinados—El análisis etnomicológico realizado permitió agrupar 35 *taxa* en correspondencia con el uso referido por nuestros informantes, encontrando hongos comestibles, tóxicos y medicinales, el registro de estos últimos confirma que en Villa del Carbón se emplean hongos silvestres en el tratamiento de algún padecimiento, lo cual no se había reportado en trabajos como los Aguilar-Cruz y Villegas (2010). El 50% de los hongos determinados en el presente estudio, está conformado por especies de importancia comestible con las cuales se comercia comúnmente, a excepción de *Amanita vaginata*, *Clitocybe gibba*, *Lycoperdon perlatum* y *L. pyriforme*, lo cual debe estar relacionado con el color, aroma, textura y sabor de estos mismos, tal como se describe en los aportes de Feregrino-Feregrino (2013).

Respecto a si el *taxa* analizado es comestible, *Russula mexicana* fue reconocida por nuestros informantes como un recurso alimenticio, lo cual contradice aportes como los de Guzmán (1990), en los que dicho taxón es descrito como no comestible, esto debe estar relacionado con la aplicación de métodos propios de los “hongueros” de Villa del Carbón, mediante los cuales es posible distinguir o disminuir la toxicidad de especies como *Russula* y *Amanita*, haciéndolas inocuas para el humano a partir del algún proceso de cocción, confirmando así lo descrito por Boa (2004).

Los hongos tóxicos conforman el 9% de nuestro inventario, para el que sólo se obtuvieron datos referentes a las intoxicaciones por *Amanita pantherina*, mismos que concuerdan con el “micetismo muscarínico” descrito por Pérez-Silva y Suárez (1991), el cual se considera propio del género *Amanita*; en general, nuestros informantes mencionaron que evitan la ingesta de hongos que “cambian de color”, en referencia a la oxidación del contexto, además de aquellos que crecen sobre heces fecales o bien presentan olor o sabor desagradable.

El taxón medicinal colectado en el área de estudio, representa el 1.4% de las 70 especies reportadas por Guzmán (2008), el 1.1% de los 90 hongos descritos por Zolla y Argueta (2009) y el 0.46% de las 217 especies analizadas por Bautista (2013); todos estos registros, basados en el conocimiento tradicional de distintas comunidades originarias, pertenecientes a la República Mexicana. Al contrastar nuestro inventario de especies con investigaciones realizadas en los municipios de Acambay, El Oro, Valle de Bravo, Temascaltepec y Chapa de Mota, pertenecientes al Estado de México, éste resultado representa el 5.8% de las 18 especies medicinales descritas por Guzmán *et al.*, (2009).

El bajo porcentaje de hongos medicinales empleados en Villa del Carbón, debe estar relacionado con los procesos de aculturación descritos por Barrientos-López (2004), donde el 1.26% de la población Mazahua y Otomí, ha sido desplazada debido a la perturbación de las zonas boscosas y a la elevada tasa de migración llevada a cabo por estas poblaciones rurales a las diferentes ciudades de la República Mexicana y otros Países, tal como lo menciona Santiago *et al.*, (2016).

En cuanto al objetivo principal de este trabajo, el Cuadro 1 muestra a *Stereum hirsutum* como el único taxón de importancia medicinal, reconocido por nuestros informantes como “hongo de palo” empleado en el tratamiento de dos padecimientos, por lo cual de acuerdo con lo reportado por Aguilar-Cruz y Villegas (2010), además de Feregrino-Feregrino (2013), este resultado representa el primer registro de un hongo silvestre medicinal para el área de estudio. Estudios como los de Pérez-Silva *et al.*, (1993), han reportado a *S. hirsutum* como un hongo sin utilidad, lo cual debe estar relacionado dicho estudio carece de datos referentes al conocimiento de los pobladores de municipios como Cananea, Granados, Huachinera, Yécora y Rincón del Güerijo, en Sonora, en los que dicho taxón se encuentra ampliamente distribuido.

El nombre y uso medicinal del “hongo de palo” no forma parte del listado publicado por Guzmán (1997), el cual comprende 5,500 nombres comunes con los que se reconoce a los hongos en América Latina, sin embargo, agrupa a *S. hirsutum* en el etnotaxón “orejas de palo”, el cual está conformado por *Ganoderma*, *Polyporus* y *Auricularia*, empleados para contrarrestar el dolor de cabeza y estómago. En este contexto, solo los Totonacas de la Sierra Norte de Puebla, refieren a *S. hirsutum* como un hongo medicinal empleado en el tratamiento de tiñas, según Vázquez (2012), sin mencionar el nombre común y forma de preparación específica para dicho taxón.

S. hirsutum no se encuentra entre los 16 hongos lignícolas medicinales reportados por Ruan-Soto *et al.*, (2009), lo cual debe estar relacionado con la distribución de este taxón, además de diversos procesos socioculturales en los que el uso de la medicina moderna y la apertura de vías de comunicación entre pueblos originarios y mestizos, han desplazado el uso medicinal de los hongos, ligado a condiciones de pobreza en la que se encuentran diversas comunidades del país.

Los Nahuas de Chimalapa, Hidalgo, emplean al “hongo de palo” en el tratamiento del “mal de orín”, dolor de estómago y dolor de cabeza, sin embargo, el taxón al que se le asigna dicho nombre común ha sido reportado como desconocido por Bautista (2013), ya que éste espécimen fue descrito por sus informantes sin ser identificado entre los

estímulos fotográficos correspondientes a las especies colectadas por dicho autor, sin embargo, la descripción morfológica y modo de preparación, coinciden con nuestros resultados, por lo cual se propone que el taxón medicinal descrito por los Nahuas de Chimalapa, corresponde a *S. hirsutum*.

En cuanto a los hongos que forman parte de nuestro inventario, diversos *taxa* comestibles han sido reportados como hongos medicinales para otras localidades de la República Mexicana, cuya forma de preparación es idéntica a la referida por nuestros informantes, tal es el caso de: *Clitocybe gibba* reconocido como tejamanil, campanita u hongo de trozo, cuya carne e infusión es empleada como antipirético (Palomino, 1990); *Lycoperdon perlatum*, empleado en el tratamiento de heridas, quemaduras y manchas en la piel, mediante la aplicación de las esporas del hongo en el área afectada (Montoya *et al.*, 2002); *Amanita caesarea*, *Boletus edulis*, *Clitocybe gibba*, *Lactarius indigo*, *Lycoperdon perlatum* y *Lycoperdon pyriforme*, utilizadas en el tratamiento de 15 diferentes padecimientos, cuya aplicación está dada en función del etnotaxón al que pertenecen las especies (Guzmán, 2008); *Clitocybe gibba*, *Lactarius indigo* y *Lycoperdon perlatum*, empleadas como antipiréticos, purgantes o útiles en el tratamiento de heridas en la piel, respectivamente (BDMTM, 2009); *Lycoperdon perlatum*, registrado por Canseco (2011), sin hacer énfasis en la forma de preparación y padecimientos para los que se emplea; *Boletus edulis*, *Clitocybe gibba*, *Lactarius indigo*, *Lycoperdon perlatum*, *L. pyriforme*, *Amanita rubescens*, *A. caesarea*, *A. vaginata* y *Helvella crispa*, empleadas en el tratamiento de diversos padecimientos (Bautista, 2013); Además de *Amanita caesarea*, reconocida con el nombre común de “hongo rojo”, considerada como una especie medicinal por Jiménez *et al.*, (2013) debido a su capacidad antioxidante, antibacteriana y antiinflamatoria.

Estos resultados evidencian diferencias significativas en cuanto a la especificidad de la información y diversidad de especies medicinales documentadas en Villa del Carbón, por lo cual las limitantes de la presente investigación están relacionadas con el número de muestra, la ocupación de nuestros entrevistados, además de la localidad analizada, ya que el grupo de informantes clave fue conformado por 14 personas dedicadas a la venta

de hongos y los especímenes colectados pertenecen a sólo uno de los tres lugares de colecta clasificados por nuestros entrevistados como el “llano”, el “monte” y la “milpa”.

En general, nuestros resultados indican que los hongos medicinales presentes en el área de estudio, no son considerados un recurso de valor económico o comestible, siendo empleados sólo por los “hongueros” o bien por informantes cuyo conocimiento ha sido adquirido a través de las generaciones. La utilidad medicinal de *Stereum hirsutum*, fue detectada sólo mediante la aplicación del ejercicio de reconocimiento con ayuda de la libreta etnomicológica, lo cual confirma que los estímulos fotográficos son esenciales para el registro de los usos y nombres comunes asignados para diversas especies que no son comestibles, tal como lo menciona Bautista (2013).

Este trabajo da continuidad a registros previos para el área de estudio, a partir de la identificación, colecta y análisis de hongos medicinales que componen la vegetación circundante de la cabecera municipal, por lo cual, las especies colectadas fueron reconocidas por los entrevistados con facilidad, tal como se menciona en trabajos como los de Aguilar-Cruz y Villegas (2010) y Feregrino-Feregrino (2013). Las mejoras a estudios previos están relacionadas con la documentación del nombre común, forma de preparación y etnotaxón al que pertenecen estas especies silvestres.

Compuestos de *Stereum hirsutum*—Entre los compuestos detectados, tres sustancias deben estar relacionadas con las propiedades medicinales referidas para el “hongo de palo”, de acuerdo con estudios previos, en este contexto, su detección sugiere la efectividad de este taxón en el tratamiento de hemorragias nasales (XIV) y heridas cutáneas (IV y V), sin embargo, debido a que *S. hirsutum* es un complejo formado por casi 20 variedades, por lo cual su probable actividad biológica se discute a continuación, de acuerdo con lo descrito en la literatura especializada.

Actividad Antibiótica y Antiviral—El espectro UV del compuesto IV presentó un máximo de absorción a 308nm (Cuadro 2), por lo cual, esta sustancia probablemente corresponde al grupo de lactonas descritas por Opatz *et al.*, (2008), las cuales presentan actividad antibacteriana contra *Bacillus brevis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus*

aureus y *Nematospora coryli*; antifúngica contra especies fitopatógenas tales como *Magnaporthe grisea*, *Fusarium graminearum* y *Phytophthora infestans*; además de actividad citotóxica para dos líneas de células cancerosas: HeLa S3 y Hep G2. Estos sesquiterpenoides tetracíclicos presentan una distribución altamente restringida, por lo cual se infiere que la cepa *Stereum* sp. (IBWF01060) de Opatz *et al.*, (2008), pertenece al complejo *S. hirsutum*.

La máxima absorción de V (Cuadro 2), coincide con los datos reportados por Ma *et al.*, (2014), para el 4-hydroxy-5-methoxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-phenyl-2,4-dihydroxy-6-methyl-benzoate de actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*, además de capacidad inhibitoria contra la óxido-nítrico sintasa (NOS) y citotóxica para dos líneas de células cancerosas (A549 y HepG2), por lo anterior, si la actividad del compuesto V correspondiese con lo reportado previamente, este metabolito debe estar relacionado con la efectividad de *S. hirsutum* en el tratamiento de heridas cutáneas, sin embargo, los metabolitos descritos por Ma *et al.*, (2014), fueron aislados a partir del fermento de arroz inoculado con *S. hirsutum* y no de un taxón silvestre, lo cual sugiere que V debe representar una forma análoga de 4'-hydroxy-5'-methoxy-6'-(3'-methyl-200-butenyl)-phenyl-2,4-dihydroxy-6-methyl-benzoate, debido a las diferencias de sustrato e interacción de otros componentes.

Los compuestos VIII y XII, presentaron similitud con el λ máx correspondiente a Sterostrein I y Sterostrein B, respectivamente, metabolitos considerados propios de *S. ostrea*, por lo cual se infiere que las sustancias detectadas en *S. hirsutum* corresponden a formas homólogas de estos compuestos, para los que Isaka *et al.*, (2011; 2012) no describen alguna función biológica, sin embargo, a partir de su estructura química son clasificados como iludalanos, compuestos de actividad antibiótica descritos previamente para *Clitocybe candicans*, de acuerdo con Arnone *et al.*, (1989), además de capacidad antiviral aislados de *Clavicornia pyxidata*, según Erkel *et al.*, (1992), lo cual sugiere que los sesquiterpenos aislados de *S. hirsutum* cuentan con algún potencial antibiótico.

Compuesto X, presentó un máximo de absorción similar al descrito para 2-hydroxy±5-methoxy-6-(3-methylbut-3-en-1-ynyl) benzylalcohol, el cual según Dubin *et al.*, (2000),

forma parte de una nueva serie de acetilenos derivados de la hidroximetilación del Frustulosinol, por lo cual, si este tipo de compuestos formaran parte de la quimiodiversidad analizada en el presente estudio, *S. hirsutum* podría presentar actividad fitotóxica en plantas de tomate. El que sólo una de las siete sustancias descritas por Dubin *et al.*, (2000), presente similitud con los resultados obtenidos, debe estar relacionado con la polaridad del solvente empleado y el sustrato en el se desarrollaron ambas cepas.

El espectro UV del compuesto XI coincide con Stereumin P de Zheng *et al.*, (2013), el cual no es referido por la bibliografía especializada con alguna actividad biológica, en contraste, forma parte del grupo de los cadinanos, compuestos de actividad nematocida, antibacteriana y citotóxica, los cuales se han detectado previamente en *Stereum*, *Strobilurus*, *Lentinus*, *Tyromyces* y *Phellinus*, por lo que de acuerdo con lo descrito por Chen y Liu (2017), se intuye que éste compuesto debe presentar actividad antibiótica.

Inhibidores Enzimáticos—Los compuestos I y IX (Cuadro 2) presentaron similitud con el máximo de absorción descrito para dos alcaloides inhibidores de la actividad de 11 β -HSD1 (11 β -Hidroxiesteroide deshidrogenasa Tipo 1), por lo cual, según lo descrito por Ito-Kobayashi *et al.*, (2008), la presencia de este tipo de sustancias sugieren el potencial medicinal de *Stereum* spp., en el tratamiento de síndromes metabólicos tales como la resistencia a la insulina, obesidad, dislipidemia, hipertensión y aterosclerosis. Sterenin B y Sterenin C, fueron aislados de la muestra SANK21205, un taxón silvestre cultivado en medio sólido, cuya descripción morfológica coincide con la realizada por Kuo (2007b) para *S. hirsutum*, por lo anterior se propone que la cepa SANK21205 debe corresponder al mismo taxón analizado en el presente estudio.

Actividad Citotóxica—El ácido dehidroabiético (XIII), es un diterpeno tricíclico considerado propio de la resina de diversos árboles, descrito por Ukiya *et al.*, (2002), como un agente potencial quimiopreventivo en el tratamiento del cáncer, debido a que inhibe la activación del antígeno EBV-EA, inducido por TPA (12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetato); también presenta actividad fungistática al inhibir la germinación de esporas y el crecimiento micelial de *Dothistroma pini* de acuerdo con

Savluchinske-Feio *et al.*, (2006); además, Xing *et al.*, (2013) han descrito su actividad citotóxica contra dos líneas de células cancerosas (EJ y 5637), mediada por la presencia de tres compuestos derivados a partir de modificaciones inducidas en la posición C18 del ácido dehidroabiético, lo cual sugiere que éste compuesto podría ser propio del hospedero de *S. hirsutum*, sin embargo su detección indica que este taxón es resistente a dicho metabolito, por lo cual a partir de su extracción y purificación podrían sintetizarse diversas sustancias de importancia medicinal. El ácido palmítico (XV) y ácido esteárico (XVI), detectados en el taxón analizado en el presente estudio (Cuadro 3), se han descrito previamente en exudados de raíces arbóreas ectomicorrícicas (Sun y Fries, 1992) y en hongos como *Piptoporus betulinus*, *Fomes fomentarius* y *Trametes versicolor* (Smolibowska *et al.*, 2016); en éste contexto, de acuerdo con lo descrito por Lu *et al.*, (2003), estos ácidos grasos presentan un efecto negativo para el humano en altas concentraciones, ya que inducen la apoptosis de células Leydig, generando procesos de reproducción anormal.

Capacidad Antioxidante—Estudios previos refieren al ácido docosanoico (XVIII), como una sustancia con capacidad antioxidante, la cual fue detectada en trabajos previos mediante ensayos redox, de acuerdo con lo reportado por Liu y Nair (2010); mientras que Mazimba *et al.*, (2011), describen la actividad antimicrobiana de dicho compuesto contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144).

Compuestos Antihemostáticos—El Compuesto XIV fue determinado como triazin, el cual ha sido reportado previamente por Kamble y Sudha (2006) como una sustancia de actividad antihemostática similar o menor a la de la indometacina, encontrando que sólo los compuestos con modificaciones en el grupo C=S, presentan alta actividad antihemostática; posteriormente, Ali (2009) describe al Triazin, como un agente antibacteriano, a partir del cribado de éste compuesto contra *Staphylococcus aureus* (MTCCB 737), *S. epidermidis* (MTCCB 1652) y *Escherichia coli* (MTCCB 1652) y antifúngico contra *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* y *Alternaria alternata*; Ibrahim *et al.*, (2009), describen la actividad fungicida del triazin contra *Alternaria alternata* y *Aspergillus niger*. Por lo anterior, la presencia de este metabolito en particular, indica que *S. hirsutum* presenta sustancias con potencial medicinal.

CONCLUSIONES

El presente estudio representa un aporte al conocimiento de la biodiversidad de basidiomicetos del Municipio de Villa del Carbón, mediante el análisis de caracteres morfológicos, información molecular y datos etnomicológicos de especies silvestres, lo cual permitió la selección de los *taxa* medicinales, para la detección de sus compuestos activos. La micobiota analizada fue conformada por 35 basidiomicetos y un ascomiceto, entre los cuales, sólo 27 fueron identificados mediante el uso de marcadores moleculares; mientras que a partir de los datos etnomicológicos, fue posible seleccionar una especie medicinal para el análisis de su “quimiodiversidad”.

A partir de la determinación morfológica y molecular de los organismos colectados, se identificaron 75 especímenes, lo cual permitió resolver incongruencias en cuanto a la identidad de por lo menos 12 *taxa*. Mediante el análisis de dicha información se generó un inventario de las especies silvestres en la zona de estudio, el cual incluye datos tales como: nombre común, utilidad, forma de preparación y efectos tóxicos, asignados para cada taxón.

La documentación etnomicológica, permitió agrupar 35 especies en correspondencia con el uso que le confieren los informantes, encontrando hongos comestibles, tóxicos y medicinales, el registro de estos últimos permitió seleccionar a *Stereum hirsutum* como un taxón medicinal.

El análisis de la quimiodiversidad de *Stereum hirsutum*, permitió detectar la presencia de 17 compuestos con probable actividad biológica, entre estos, tres metabolitos podrían estar relacionadas con las propiedades medicinales referidas para el “hongo de palo”, por lo tanto, su detección sugiere la efectividad de este taxón en el tratamiento de hemorragias nasales y heridas cutáneas.

PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos en el presente estudio sugieren que la biodiversidad de basidiomicetos silvestres de Villa del Carbón es mayor a las 35 especies que se muestran en nuestro inventario. Por lo cual, considerando la micobiota silvestre presente en el Municipio, se propone continuar con el análisis riguroso de la diversidad fúngica, ampliando las exploraciones micológicas en los diferentes tipos de bosques y pastizales.

En cuanto a la determinación del *taxa* colectado, se infiere que en Villa del Carbón se distribuyen especies que no se han descrito previamente, por lo cual, a partir de un enfoque sistemático y ecológico, podría resolverse la identidad y patrones de distribución de grupos específicos.

La información etnomicológica obtenida, permitió documentar la utilidad e importancia de especies que no se habían registrado previamente, por ende, sería pertinente la realización de estudios antropológicos en los que se evalúe y documente el conocimiento tradicional de los pobladores, así como el de las comunidades aledañas al área de estudio.

Los compuestos no identificados detectados en *Stereum hirsutum*, revelan que este taxón cuenta con un alta “quimiodiversidad”, la cual requiere de la dilucidación de su estructura y función, para la comprensión de su importancia biológica.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Cruz, Y. y Villegas, M., 2010. Especies de Gomphales comestibles en el Municipio de Villa del Carbón, Estado de México. *Revista Mexicana de Micología* 31: 1-8.
- Aguirre, A. E., Ulloa M., Aguilar, S., Cifuentes, J. y Valenzuela, R., 2014. Biodiversidad de Hongos en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Supl. 85: 76-81.
- Ahmadi, F. A., Bhassu, S., Yee-Shin, T. y Sabaratnam, V., 2012. Molecular classification and phylogenetic relationships of selected edible *Basidiomycetes* species. *Molecular Biology Reports* 39: 7355-7364.
- Ali, T. E. S., 2009. Synthesis of some novel pyrazolo [3, 4-b] pyridine and pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine derivatives bearing 5, 6-diphenyl-1, 2, 4-triazine moiety as potential antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 44(11): 4385-4392.
- Antonín, V., Halling, R. E. y Noordeloos, M. E., 1997. Generic concepts within groups of *Marasmius* and *Collybia sensu lato*. *Mycotaxon* 63: 359-368.
- Arnone, A., Cardillo, R., Di Modugno, V. y Nasini, G., 1989. Secondary mould metabolites. Part 29. Isolation and structure elucidation of candicansol, 3-epi-illudol and 1-O-acetyl-3-epi-illudol, novel sesquiterpenoids from *Clitocybe candicans*, and absolute configuration of 3-epi-illudol. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* 1(11): 1995-2000.
- Barros, L., Baptista, P., Correia, D. M., Casal, S., Oliveira, B. y Ferreira, I. C., 2007. Fatty acid, sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry* 1: 140-145.
- Barros, L., Calhelha, R. C., Vaz, J. A., Ferreira, I. C., Baptista, P. y Estevinho, L. M., 2007. Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *European Food Research and Technology* 225(2): 151-156.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M. y Ferreira, I. C., 2008. Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology* 46(8): 2742-2747.
- Barros, L., Ferreira, M. J., Queiros, B., Ferreira, I. C. y Baptista, P., 2007. Total phenols, ascorbic acid, β -carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 103(2): 413-419.
- Bas, C., Kuyper, T. W., Noordeloos, M. E. y Vellinga, E. C., 1990. Flora Agaricina Neerlandica: Critical monographs on families of agarics and boleti occurring in the Netherlands. Vol. 4, A.A. Balkema. Rotterdam, Nueva Zelanda. 72pp.
- Bautista, G. J., 2013. Conocimiento tradicional de hongos medicinales de seis localidades diferentes del País. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Benson, D. A., Boguski, M., Lipman, D.J. y Ostell, J., 1996. GenBank. *Nucleic Acids Research* 24(1): 1-5.
- Bérdy, J., 2005. Bioactive Microbial Metabolites: A personal view. *The Journal of Antibiotics* 58(1): 1-26.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: Monografías de Hongos [en línea]. <<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/atlas.php?mo=moh>> [Consulta: 29 Enero 2018].
- Bills, G. F. y Miller, O. K., 1984. Southern Appalachian Russulas I. *Mycologia* 76(6): 975-1002.

- Bills, G. F., 1989. Southern Appalachian Russulas IV. *Mycologia* 81(1): 57-65.
- Binder, M. y Hibbett, D. S., 2002. Higher-Level Phylogenetic Relationships of Homobasidiomycetes (Mushroom-Forming fungi) Inferred from four rDNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 22(1): 76-90.
- Binder, M., Hibbett, D. S., Larsson, K. H., Larsson, E., Langer, E. y Langer, G., 2005. The phylogenetic distribution of resupinate forms across the major clades of mushroom-forming fungi (homobasidiomycetes). *Systematics and Biodiversity* 3(2): 113-157.
- Binder, M., Hibbett, D. S., Wang, Z. y Farnham, W. F., 2006. Evolutionary relationships of *Mycaureola dilseae* (Agaricales), a basidiomycete pathogen of a subtidal Rhodophyte. *American Journal of Botany* 93(4): 547-556.
- Blaalid, R., Kumar, S., Nilsson, R. H., Abarenkov, K., Kirks, P. M. y Kauserud, H., 2013. ITS1 versus ITS2 as DNA metabarcodes for Fungi. *Molecular Ecology Resources* 13(2): 1-7.
- Blackwell, M., 2011. The Fungi: 1, 2, 3... 5.1 Million Species? *American Journal of Botany* 98(3): 426-438.
- Boa, E. R., 2004. Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people. No. 17. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma. 14-16pp.
- Bruns, T. D., White, T. J. y Taylor, J. W., 1991. Fungal Molecular Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 525-564.
- Buyck, B., Hofstetter, V., Eberhardt, U., Verbeken, A. y Kauff, F., 2008. Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subsect. Ochricompectae. *Fungal Diversity* 28: 15-40.
- Canseco, Z. E., 2011. Estudio de la diversidad de macromicetos silvestres en el Municipio de San Gabriel Mixtepec, Oaxaca. Tesis de Licenciatura, Campus Puerto Escondido, Universidad del Mar.
- Chen, H. P. y Liu, 2017. Terpenoids of Higher Fungi. En: Kinghorn, A. D., Falk, H., Gibbons, S. y Kobayashi (eds.). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Springer International Publishing, Suiza. 72-118 pp.
- Cortez, V. G. y Silveira, R. M., 2008. The agaric genus *Stropharia* (*Strophariaceae*, Agaricales) in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Fungal Diversity* 32: 31-57.
- Davoli, P. y Weber, R., 2002. Simple method for reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of fungal pigments in fruit bodies of Boletales (Fungi). *Journal of Chromatography* 964: 129-135.
- Desjardin, D. E., Martínez-Peck, L., y Rajchenberg, M., 1995. An unusual psychrophilic aquatic agaric from Argentina. *Mycologia* 87(4): 547-550.
- Detinger, B. T., 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. M. y McLaughlin, D. J., 2010. Molecular phylogenetics of porcini mushrooms (*Boletus* section *Boletus*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57: 1276-1292.
- Dubin, G. M., Fkyerat, A., y Tabacchi, R., 2000. Acetylenic aromatic compounds from *Stereum hirsutum*. *Phytochemistry* 53(5): 571-574.
- Erkel, G., Anke, T., Gimenez, A. y Steglich, W., 1992. Antibiotics from Basidiomycetes XLI. *The Journal of Antibiotics* 45(1): 29-37.

- Feregrino-Feregrino, Ch. A., 2013. Caracterización molecular de macromicetos del Municipio de Villa del Carbón México utilizando la región LSU rDNA. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Frutis, M. I. y Valenzuela, R., 2009. Macromicetos. En: Ceballos, G., Rurik, L., Garduño, G., López, C. R., Muñozcano, Q. M., Collado, E. y San Román, J. E., (Comps.). La Diversidad Biológica del Estado de México: Estudio de Estado. Biblioteca Mexiquense del Bicentenario, Gobierno del Estado de México. 243- 249 pp.
- Gardes, M. y Bruns, T. D., 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rust. *Molecular Ecology* 2: 113-118.
- Garibay-Orijel, R., 2000. La etnomicología en el mundo: pasado, presente y futuro. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Gomes, E. A., Kasuya, M. C., Barros, E. G., Borges, A. C. y Araújo, E. F., 2002. Polymorphism in the internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of 26 isolates of ectomycorrhizal fungi. *Genetics and Molecular Biology* 25(4): 477-483.
- Guarro, J., Gené, J. y Stchigel, A. M., 1999. Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews* 12(3): 454-500.
- Gupta, V. y Satyanarayana, T., 2004. Molecular Genetics of Ectomycorrhizal Fungi. En: Mukerji, K. G., Chamola, B. P. y Singh, J. (eds.). Mycorrhizal Biology. Kluwer Academic, Plenum Publishers. Boston, Massachusets. 119-134 pp.
- Guzmán, G., 1990. Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera. Limusa, México, D.F. 452 pp.
- Guzmán, G., 1994. Los hongos y líquenes en la medicina tradicional. En: Argueta, V. A., Cano, A. y Rodarte, M. E. (Eds.). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*. Instituto Nacional Indigenista. México, D.F. Tomo III.
- 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., 2008. Diversity and Use of Traditional Mexican Medicinal Fungi: a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 10: 209-217.
- Guzmán, G., 2012. New taxonomical and ethnomycological observations on *Psilocybe* ss (Fungi, Basidiomycota, Agaricomycetidae, Agaricales, Strophariaceae) from Mexico, Africa and Spain. *Acta Botánica Mexicana* 100: 79-106.
- Guzmán, G., 2016. Las relaciones de los hongos sagrados con el hombre a través del tiempo. *Anales de Antropología* 50(1):134-147.
- Guzmán, G., Medel, R. y Ramírez, G.F., 2009. Hongos. En: Ceballos, G., Rurik, L., Garduño, G., López, C. R., Muñozcano, Q. M., Collado, E. y San Román, J. E., (Comps.). La diversidad biológica del Estado de México: Estudio de Estado. Biblioteca Mexiquense del Bicentenario, Gobierno del Estado de México. 251- 260 pp.
- Harris, C. D., 2001. Análisis Químico cuantitativo. Reverte 2ª Edición. Barcelona, España. 674-694 pp.
- Harshberger, J. W., 1896. The purposes of ethno-botany. *Botanical gazette* 21(3): 146-154.

- Hawksworth, D. L., 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. *Mycological Research* 95(6): 641-655.
- Hawksworth, D. L., 2001. The magnitude of diversity: The 1.5 million of the species estimate revisited. *Mycological Research* 105(12): 1422-1432.
- Herrera, T. y Ulloa, M., 1998. El Reino de los Hongos. Micología básica y aplicada. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica, México, D.F. 552 pp.
- Hibbett, D. S., 2006. A phylogenetic overview of the Agaricomycotina. *Mycologia* 98(6): 917-925.
- Hibbett, D. S., Nilsson, R. H., Snyder, M., Fonseca, M., Costanzo, J. y Shonfeld, M., 2005. Points of view: Automated Phylogenetic Taxonomy: An example in the Homobasidiomycetes (Mushroom-Forming Fungi). *Systematic Biology* 54(4): 660-668.
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Thorsten, L. H., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spataphora, J. W., Stalpers, J. A., Vilgalys, R., Aime, M.C., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G. L., Castlebury, L. A., Crous, P. W., Dai, Y., Gams, W., Geiser, D. M., Griffith, G. W., Gueidan, C., Hawksworth, D.L., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R. A., Hyde, K. D., Ironside, J. E., Koljalg, U., Kurtzman, C. P., Larsson, K. H., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miadlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J. M., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J. D., Roux, C., Ryvarden, L., Sampaio, J. P., Schübler, A., Sugiyama, J., Thorn, R.G., Tibell, L., Untereiner, W. A., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M.M., Winka, K., Yao, Y. y Zhang, N., 2007. A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *Mycological Research* 111: 509-547.
- Hibbett, D.S., Ohman, A., Glotzer, D., Nuhn, M., Kirk, P. y Nilsson, H., 2011. Progress in molecular and morphological taxon discovery in Fungi and options for formal classification of environmental sequences. *Fungal Biology Reviews* 25: 38-47.
- Hoffmeister, D. y Keller, N. P., 2007. Natural products of filamentous fungi: enzymes, genes and their regulation. *Natural Product Reports* 24: 393-416.
- Hunn, E., 2007. Ethnobiology in four phases. *Journal of Ethnobiology* 27(1): 1-10.
- Ibrahim, M. A., Abdel-Rahman, R. M., Abdel-Halim, A. M., Ibrahim, S. S., y Allimony, H. A., 2009. Synthesis, chemical reactivity and fungicidal activity of pyrido [1, 2-b] [1, 2, 4] triazine derivatives. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(7): 1275-1286.
- Isaka, M., Srisanoh, U., Choowong, W., y Boonpratuang, T., 2011. Sterostreins A–E, new terpenoids from cultures of the Basidiomycete *Stereum ostrea* BCC 22955. *Organic letters* 13(18): 4886-4889.
- Isaka, M., Srisanoh, U., Sappan, M., Supothina, S., y Boonpratuang, T., 2012. Sterostreins F–O, illudalanes and norilludalanes from cultures of the Basidiomycete *Stereum ostrea* BCC 22955. *Phytochemistry* 79: 116-120.
- Ito-Kobayashi, M., Aoyagi, A., Tanaka, I., Muramatsu, Y., Umetani, M., y Takatsu, T., 2008. Sterenin A, B, C and D, novel 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors from *Stereum* sp. SANK 21205. *The Journal of Antibiotics* 61(3): 128-135.
- James, T. Y., Kauff, F., Schoch, C. L., Matheny, P. B., Hofstetter, V., Cox, C. J., Celio, G., Gueidan, C., Fraker, E., Miadlikowska, J., Thorsten, H., Rauhut, A., Reeb, V., Arnold, A. E., Amtoft, A., Stajich, J. E., Hosaka, K., Sung, G., Johnson, D., O'Rourke, B., Crockett, M., Binder, M., Curtis, J. M., Slot, J. C., Wang, Z., Wilson, A. W., Schübler, A., Longcore, J. E., O'Donnell, K., Mozley-Standridge, S., Porter, D., Letcher, P. M., Powell, M. J., Taylor, J. W., White, M. M., Griffith, G. W., Davies, D. R., Humber, R. A., Morton, J. B., Sugiyama, J., Rossman, A. Y., Rogers, J. D., Pfister, D. H., Hewitt,

- D., Hansen, K., Hambleton, S., Shoemaker, R. A., Kohlmeyer, J., Volkmann-Kohlmeyer, B., Spotts, R. A., Serdani, A., Crous, P. W., Hughes, K. W., Matura, K., Langer, E., Langer, G., Untereiner, W. A., Lüking, R., Büdel, B., Geiser, D. M., Aptroot, A., Diederich, P., Schmit, I., Schultz, M., Yahr, R., Hibbett, D. S., Lutzoni, F., McLaughlin, J. D., Spatafora, J. W. y Vilgalys, R., 2006. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* 443: 818-822.
- Jiménez, R. M., Pérez-Moreno, J., Almaraz-Suárez, J. J., y Torres-Aquino, M., 2013. Hongos silvestres con potencial nutricional, medicinal y biotecnológico comercializados en Valles Centrales, Oaxaca. *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 4(2): 199-213.
- Kamble, R. R., y Sudha, B. S., 2006. Synthesis, spectral characterization and antihaemostatic activity of 1, 2, 4-triazoles incorporating 1, 2, 4-triazine rings. *Journal of Chemical Sciences*, 118(2): 191-194.
- Keller, A., Förster, F., Müller, T., Dandekar, T., Schultz, J. y Wolf, M., 2010. Including RNA secondary structures improves accuracy and robustness in reconstruction of phylogenetic trees. *Biology Direct* 5: 4-16.
- Keller, C., Maillard, M., Keller, J., y Hostettmann, K., 2002. Screening of European fungi for antibacterial, antifungal, larvicidal, molluscicidal, antioxidant and free-radical scavenging activities and subsequent isolation of bioactive compounds. *Pharmaceutical biology* 40(7): 518-525.
- Keller, N. P., Turner, G. y Bennett, J. W., 2005. Fungal Secondary Metabolism - From Biochemistry to Genomics. *Nature Publishing Group* 3: 937-947.
- Kim, C. S., Jo, J. W., Kwag, Y. N., Oh, J., Shrestha, B., Sung, G. H., y Han, S. K., 2013. Four Newly Recorded *Amanita* Species in Korea: *Amanita* sect. *Amanita* and sect. *Vaginatae*. *Mycobiology* 41(3): 131-138.
- Kohn, L. M., 1992. Developing New Characters for Fungal Systematics: An Experimental Approach for Determining the Rank of Resolution. *Mycologia* 84(2): 139-153.
- Kuo, M., 2005. *Marasmius cohaerens* [en línea]. MushroomExpert.Com <http://www.mushroomexpert.com/marasmius_cohaerens.html> [Consulta: 26 Julio 2017].
- Kuo, M., 2007(a). *Leccinum rugosiceps* [en línea]. MushroomExpert.com <http://www.mushroomexpert.com/leccinum_rugosiceps.html> [Consulta: 29 Mayo 2018].
- Kuo, M., 2007(b). Mushroom taxonomy: the big picture [en línea]. Mushroom Expert.com <<http://www.mushroomexpert.com/taxonomy.html>> [Consulta: 13 Mayo 2014].
- Kuo, M., 2013. *Amanita novinupta* [en línea] *MushroomExpert.Com* <http://www.mushroomexpert.com/amanita_novinupta.html> [Consulta: 11 Noviembre 2017].
- Larsson, E. y Larsson, K. H., 2003. Phylogenetic relationships of russuloid basidiomycetes with emphasis on aphyllorphorean taxa. *Mycologia* 95(6): 1037-1065.
- Larsson, K. H., Larsson, E. y Koljalg, U., 2004. High phylogenetic diversity among corticioid homobasidiomycetes. *Mycologi Research* 108(9): 983-1002.
- Leonardi, M., Paolocci, F., Rubini, A., Simonini, G. y Pacioni, G., 2005. Assessment of inter- and intra-specific variability in the main species of *Boletus edulis* complex by ITS analysis. *FEMS Microbiology Letters* 243: 411-416.
- Lincoff, G. H. y Nehring, C., 1981. National Audubon Society Field Guide to North American Mushrooms. National Audubon Society Field Guides. Alfred A. Knopf, New York. 928 pp.

- Liu, Y., y Nair, M. G., 2010. An efficient and economical MTT assay for determining the antioxidant activity of plant natural product extracts and pure compounds. *Journal of Natural Products* 73(7): 1193-1195.
- Lu, Z. H., Mu, Y. M., Wang, B. A., Li, X. L., Lu, J. M., Li, J. Y., Pan, C. Y., Yanase, T. y Nawata, H., 2003. Saturated free fatty acids, palmitic acid and stearic acid, induce apoptosis by stimulation of ceramide generation in rat testicular Leydig cell. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 303(4): 1002-1007.
- Ma, K., Bao, L., Han, J., Jin, T., Yang, X., Zhao, F., Li, S., Song, F., Liu, M. y Liu, H., 2014. New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum*. *Food Chemistry* 143: 239-245.
- Mata, J. L., Hughes, K. W. y Petersen, R. H., 2006. An investigation of Gomphalotaceae (Fungi: Euagarics) with emphasis on the genus *Gymnopus*. *Sydowia* 58: 191-289.
- Mazimba, O., Majinda, R. R., Modibedi, C., Masesane, I. B., Cencič, A., y Chingwaru, W., 2011. *Tylosema esculentum* extractives and their bioactivity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19(17): 5225-5230.
- Miller, S. L., Larsson, E., Larsson, K. H., Verbeken, A. y Nuytinck, J., 2006. Perspectives in the new Russulales. *Mycologia* 98(6): 960-970.
- Miller, S. L., Walker, J. F. y Buyck, B., 2001. A molecular phylogeny of the Russulales including agaricoid, gasteroid and pleurotoid taxa. *Mycologia* 93(2): 344-354.
- Miller, S. L., y Buyck, B., 2002. Molecular phylogeny of the genus *Russula* in Europe with a comparison of modern infrageneric classifications. *Mycological Research* 106(3): 259-276.
- Mittermeier, R. A. y Goettsch, M. C., 1992. La importancia de la Diversidad Biológica en México. En: Sarukhán, J. y Dirzo R. (Comp.). México ante los retos de la Biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, México, D.F. 63-73 pp.
- Montoya, A., Estrada-Torres, A. y Caballero, J., 2002. Comparative Ethnomycological Survey of three Localities from la Malinche Volcano, Mexico. *Journal of Ethnobiology* 22(1): 103-131.
- Moore, D., 2005. Principle of Mushroom Developmental Biology. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 7: 79-101.
- Moore, D., Robson, G. D., Trinci, A. P., 2011. 21st century guidebook to Fungi. Cambridge University Press, Reino Unido. 23-75 pp.
- Moreno-Fuentes, A., Garibay-Orijel, R., Tovar-Velasco, J., y Cifuentes, J., 2001. Situación actual de la etnomicología en México y el mundo. *Etnobiología* 1: 75-84.
- Moro, C., Palacios, I., Lozano, M., D'Arrigo, M., Guillamón, E., Villares, A. y García-Lafuente, A., 2012. Anti-inflammatory activity of methanolic extracts from edible mushrooms in LPS activated RAW 264.7 macrophages. *Food Chemistry* 130(2): 350-355.
- Mueller, G. M. y Schmit, J. P., 2007. Fungal Biodiversity: What do we know? What can we predict? *Biodiversity and Conservation* 16(1): 1-5.
- Mueller, G. M., Bills G. F. y Foster M. S., 2004. Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. Elsevier Academic Press, Estados Unidos de América. 7-47 pp.

- Mueller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P.R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., Halling, R. E., Hjortstam, K., Iturriaga, T., Larsson, K. H., Lodge, D.J., May, T. M., Minter, D., Rajchenberg, M., Redhead, S. A., Ryvarden, L., Trappe, J. M., Watling, R. y Wu, Q., 2007. Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and Conservation* 16: 37-48.
- O'Brien, H. E., Parrent, J. L., Jackson, J. A., Moncalvo, J. M. y Vilgalys, R., 2005. Fungal community analysis by large scale sequencing of environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology* 71(9): 5544-5550.
- Oda, T., Tanaka, C., y Tsuda, M., 2004. Molecular phylogeny and biogeography of the widely distributed *Amanita* species, *A. muscaria* and *A. pantherina*. *Mycological research* 108(8): 885-896.
- Opatz, T., Kolshorn, H., y Anke, H., 2008. Sterelactones: New Isolactarane Type Sesquiterpenoids with Antifungal Activity from *Stereum* Sp. IBWF 01060. *The Journal of Antibiotics* 61(9): 563.
- Osmundson, T. W., Robert, V. A., Schoch, C. L., Baker, L. J., Smith, A., Robich, G., Mizzan, L. y Garbelotto, M. M., 2013. Filling gaps in biodiversity knowledge for macrofungi: contributions and assessment of herbarium collection DNA barcode sequencing project. *PLoS one* 8(4): e62419.
- Palomino, N. A., 1990. Etnomicología Tlahuica de San Juan Atzingo, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM.
- Palmer, J. M., Lindner, D. L., y Volk, T. J., 2008. Ectomycorrhizal characterization of an American chestnut (*Castanea dentata*)-dominated community in Western Wisconsin. *Mycorrhiza* 19(1): 27-36.
- Park, M. S., Fong, J. J., Lee, H., Oh, S. Y., Jung, P. E., Min, Y. J., Seok, S. J. y Lim, Y. W., 2013. Delimitation of *Russula* subgenus *Amoenula* in Korea using three molecular markers. *Mycobiology* 41(4): 191-201.
- Pérez-Silva, E., Esqueda-Valle, M. y Amaya-López, 1993. Nuevos Registros de Aphyllophorales de Sonora, México. *Ecologica* 3(1): 23-28.
- Pérez-Silva, E. y Suárez, T. H., 1991. *Iconografía de macromicetos de México: Amanita*, Vol. 1. UNAM, México.
- Rouessac, F. y Rouessac, A., 2003. Análisis Químico: Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas. McGraw-Hill, Madrid, España. 59 pp.
- Ruan-Soto, F., 2017. 50 años de etnomicología en México. *Lacandonia* 1(1): 97-108.
- Ruan-Soto, F., Cifuentes, J., Mariaca, R., Limón, F., Pérez-Ramírez, L. y Sierra, S., 2009. Uso y manejo de hongos silvestres en dos comunidades de la Selva Lacandona, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Micología* 29: 61-72.
- Santiago, F. H., Moreno, J. P., Cázares, B. X., Suárez, J. J. A., Trejo, E. O., de Oca, G. M. M. y Aguilar, I. D., 2016. Traditional knowledge and use of wild mushrooms by Mixtecs or Nuu savi, the people of the rain, from Southeastern Mexico. *Journal of ethnobiology and Ethnomedicine* 12(1): 35.
- Savluchinske-Feio, S., Curto, M. J. M., Gigante, B., y Roseiro, J. C., 2006. Antimicrobial activity of resin acid derivatives. *Applied microbiology and biotechnology* 72(3): 430-436.
- Schmit, J. P. y Mueller, G. M., 2007. An Estimate of The Lower Limit of Global Fungal Diversity. *Biodiversity and Conservation* 16(1): 99-111.
- Secretaría de Desarrollo Social, 2013. Cédulas de Información Municipal, Municipios: Villa del Carbón [en línea]. Unidad de Microrregiones, Dirección General Adjunta de Planeación

- Microrregional <<http://www.microrregiones.gob.mx/zap/datGenerales.aspxentra=nacion&ent=15&mun=112>> [Consulta: 23 Febrero 2017].
- Seifert, K. A., 2009. Progress towards DNA barcoding of Fungi. *Molecular Ecology Resources* 9(1): 83-89.
- Smolibowska, J., Szymański, M., y Szymański, A., 2016. Medicinal properties of fungi occurring on *Betula* sp. trees. A review. *Herba Polonica* 62(3): 63-76.
- Solomon, E. P., Berg, L. R., y Martin, D. W., 2011. Biology 9a Edición. Brooks/Cole, Cengage Learning, USA. 638-640pp.
- Spiteller, P., 2008. Chemical defence strategies of higher fungi. *Chemistry-A European Journal* 14(30): 9100-9110.
- Suárez, A. C. y Nieto, J. A., 2013. Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutracéuticos. *Revista Iberoamericana de Micología* 30(1): 1-8.
- Sun, Y. P., y Fries, N., 1992. The effect of tree-root exudates on the growth rate of ectomycorrhizal and saprotrophic fungi. *Mycorrhiza* 1(2): 63-69.
- Tedersoo, L., May, T. W. y Smith, M. E., 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20(4): 217-263.
- Toledo, V. M., 1994. La diversidad biológica de México: nuevos retos para la investigación en los noventas. *Ciencias* 34: 43-57.
- Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Hirano, M., Oshikubo, M., Nobukuni, Y., Kimura, Y., Tai, T., Kondo, E. y Nishino, H., 2002. Inhibition of tumor-promoting effects by poricoic acids G and H and other lanostane-type triterpenes and cytotoxic activity of poricoic acids A and G from *Poria cocos*. *Journal of Natural Products* 65(4): 462-465.
- Vázquez, M. S., 2012. Macromicetos medicinales provenientes de la Sierra Norte de Puebla, México; depositados en el Herbario "Gastón Guzmán", ENCB-IPN. *Etnobiología* 10(2): 34-37.
- Villegas, R. A., 2013. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución Acoplado a Masas (HPLC-MS) como Herramienta para la Identificación de Proteínas. Tesina. Facultad de Química, UNAM.
- Voytas, D., 2000. Agarose Gel Electroforesis. Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons. Apéndice 1N.
- Wagner, H., Bladt, S., y Zgainski, E. M., 2001. Plant drug analysis. 2ª Edición. Heidelberg, Alemania. 384pp.
- Weiß, M., Bauer, R. y Begerow, D., 2004. Spotlights on heterobasidiomycetes. En: Agerer R., Piepenbring, M. y Blanz, O. (eds.). *Frontiers in basidiomycete mycology*. IHW-Verlag, Eching. 8-45 pp.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. y White, T. J. (eds.). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press Inc, Estados Unidos de América. 315-322 pp.
- Xing, Y., Zhang, W., Song, J., Zhang, Y., Jiang, X., y Wang, R., 2013. Anticancer effects of a novel class rosin-derivatives with different mechanisms. *Bioorganic & Medicinal Chemistry letters* 23(13): 3868-3872.
- Zheng, X., Li, G. H., Xie, M. J., Wang, X., Sun, R., Lu, H., y Zhang, K. Q., 2013. Stereumins K-P, sesquiterpenes from the fungus *Stereum* sp. CCTCC AF 2012007. *Phytochemistry* 86: 144-150.

Zolla, C. y Argueta, C., 2009. Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana [en línea]. MedicinaTradicionalMexicana.unam.mx<<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>> [Consulta: 18 Febrero 2018].

Anexo 1. Listado de especies biológicas colectadas y secuencias de referencia depositadas en GenBank, empleadas en la determinación molecular de los taxa. El porcentaje de Identidad de los taxa, se estableció en relación con el número de pares de bases correspondiente a la región ITS (500-700pb).

Especimen	Especie Biológica	Secuencias de Referencia			
		GenBank (ITS 1, 5.8s e ITS 2)	Número de acceso	Identidad (%)	Origen Geográfico
VC144	<i>Amanita flavoconia</i>	<i>Amanita flavipes</i>	AB015696	99	Kutsuki-Mura, Japón
VC104	<i>Amanita phantherina</i>	<i>Amanita pantherina</i>	EU569283	99	Guerrero, México
VC134	<i>Amanita phantherina</i>	<i>Amanita pantherina</i>	EU569283	99	Guerrero, México
VC088	<i>Amanita novinupta</i>	<i>Amanita novinupta</i>	KC152066	99	Atlautla, México
VC093	<i>Amanita novinupta</i>	<i>Amanita novinupta</i>	GQ250403	99	California, EUA
VC106	<i>Amanita novinupta</i>	<i>Amanita novinupta</i>	GQ250403	99	California, EUA
VC108	<i>Amanita novinupta</i>	<i>Amanita novinupta</i>	GQ250403	99	California, EUA
VC135	<i>Amanita vaginata</i>	<i>Amanita vaginata</i>	KF017949	91	Corea del Sur
VC096	<i>Gymnopus bififormis</i>	<i>Gymnopus bififormis</i>	AY256699	97	Luisiana, EUA
VC099	<i>Gymnopus bififormis</i>	<i>Gymnopus bififormis</i>	AY256699	98	Luisiana, EUA
VC142	<i>Gymnopus bififormis</i>	<i>Gymnopus bififormis</i>	AY256699	98	Luisiana, EUA
VC122	<i>Gymnopus dryophilus</i>	<i>Gymnopus dryophilus</i>	KC152108	99	Michoacán, México
VC117	<i>Gymnopus subsulphureus</i>	<i>Gymnopus subsulphureus</i>	DQ449972	99	Carolina del Norte, EUA
VC129	<i>Marasmius calhouniae</i>	<i>Gloicephala acuatica</i>	DQ097356	83	Argentina
VC146	<i>Marasmius cohaerens</i>	<i>Micromphale brassicolens</i>	DQ449989	93	Rusia
VC105	<i>Marasmius rotula</i>	<i>Marasmius rotula</i>	KC176355	95	Michigan, EUA
VC124	<i>Coprinopsis insignis</i>	<i>Coprinopsis insignis</i>	JX118738	96	Hungría
VC139	<i>Psathyrella candolleana</i>	<i>Psathyrella candolleana</i>	AB470877	100	Gansu, China
VC090	<i>Collybia tuberosa</i>	<i>Cyptotrampa asprata</i>	DQ097355	82	EUA
VC145	<i>Clitocybe gibba</i>	<i>Infundibulicybe gibba</i>	GU188436	99	EUA
VC121	<i>Stropharia semiglobata</i>	<i>Stropharia hornemanii</i>	JN021095	94	Ontario, Canadá
VC087	<i>Russula mariae</i>	<i>Russula violeipes</i>	KF361797	92	Ulleung-gun, Corea
VC089	<i>Russula violeipes</i>	<i>Russula violeipes</i>	AY061726	97	Europa
VC133	<i>Russula flavisiccans</i>	<i>Russula auregina</i>	EU819421	97	Wisconsin, EUA
VC148	<i>Russula mexicana</i>	<i>Russula curtipes</i>	JF908677	94	Italia
VC123	<i>Russula sororia</i>	<i>Russula sororia</i>	AB211275	99	Shizuoka, Japón
VC113	<i>Russula aff. pectinatooides</i>	<i>Russula melzeri</i>	AY061691	96	Europa
VC151	<i>Russula aff. Pulchra</i>	<i>Russula favrei</i>	KC581298	96	Vancouver, Canadá
VC097	<i>Stereum sp.</i>	<i>Stereum sanguinolentum</i>	EU273556	96	Jiangsu, China
VC127	<i>Stereum hirsutum</i>	<i>Stereum hirsutum</i>	FJ810144	95	Liaoning, China
VC143	<i>Podoscypha sp.</i>	<i>Podoscypha venustula</i>	JN649366	98	Venezuela
VC140	<i>Polyporus arcularius</i>	<i>Polyporus arcularius</i>	GU207249	99	Costa Rica
VC111	<i>Leccinum aff. rugosiceps</i>	<i>Leccinum crocipodium</i>	EU569239	89	Guerrero, México

Anexo 2. Instrumento diseñado para la realización de las entrevistas semiestructuradas*.

GUÍA PARA LA REALIZACIÓN DE ENTREVISTA				
A) Datos del informante				
Sexo:				
Edad:				
Ocupación:				
B) Listado libre de especies (En ésta sección el informante deberá hacer mención de todos los nombres de hongos que conoce o recuerda)				
1.	4.	7.	10.	13.
2.	5.	8.	11.	14.
3.	6.	9.	12.	15.
C) Fenología de hongos				
¿En qué lugares crecen los hongos (sustrato)?				
¿Usted recoge los hongos o los compra? ¿Dónde?				
D) Hongos de utilidad medicinal				
¿Sabe usted de algún hongo que cure enfermedades?				
¿Qué hongos ha utilizado para curarse?				
¿Qué enfermedades cura este hongo?				
¿Qué parte del Hongo utiliza?				
¿Cómo lo prepara y en qué cantidad lo usa?				
E) Ejercicio de reconocimiento con ayuda de la libreta etnomicológica (En caso de que el informante reconozca algún ejemplar, se aplicarán los siguientes reactivos)				
¿Cómo se le dice a éste hongo?				
¿Usted ha usado éste hongo?				
¿Para qué lo utiliza?				

*Las preguntas que conforman ésta guía no se realizaron textualmente, debido a que requirieron ser adaptadas según el contexto, circunstancia y tipo de entrevistado.

Anexo 3. Secuencias de nucleótidos correspondientes a las regiones **ITS1**, **5.8s** e **ITS2** del ADN nuclear, amplificadas del taxa colectado en Villa del Carbón, Estado de México.

Taxón: *Collybia tuberosa* **Espécimen:** VC090

Lugar y fecha de colecta: Bosques latifoliados aledaños a la cabecera municipal de Villa del Carbón, Estado de México, 17 de Septiembre del 2013.

1	TAGGTGAACC	TGCGGAAGGA	TCATTATTGA	ATGAATTAAT	GGAGCTGTGC	GGGTGTGCA
61	TTCAGCTGTG	CACGCTTCAA	TTCTTCAACT	TTCTTTTCTT	GTGCACCTTT	CGGTAAACTT
121	GAGAACTGTG	GAGTAATCTC	TCACTCTTTG	GAGTGGATGG	GAGGGTCTTG	CTTGATATAA
181	AGCTCCCTTT	GTTCTTCTCT	CAGCCTTTCA	GGTTTATGAT	TATATCAACT	CTTGATGTTT
241	TAGAATGTCT	TTCATTAATT	GGACTCTGTC	CATTAATAAA	CAATTACAAC	TTTCGACAAC
301	GGATCTCTTG	GCTCTCGCAT	CGATGAAGAA	CGCAGCGAAT	TGCGATAACT	AATGTGAATT
361	GCAGAATCA	GTGAATCATC	GAGTCTTTGA	ACGCACCTTG	CGCCCTTTGG	TATCCGAAG
421	GGCATGCCTG	TTTGAGTGTG	AGTAAATTCT	CAATTTACTT	CAATTTATTG	AAGAGAAATT
481	GGATATGGAG	GTTGCTGGAT	CCTTAGTATT	CAGCTCTTCT	GAATGTATT	AGCAGTGACC
541	ATACCTTGGC	ATGCTCAAGC	TGTGATAAAT	ATCCTAGCTT	GATGTGTTGA	GATTCAGAGC
601	TTTGTGAATA	AAGGGCTACT	TGAATGTTC	CTTTGCTTTC	TCTATGAACG	AGATAACTAT
661	CGACTCTGG	TTGGCTTTTA	TTGCTTCTAA	TCGTCTTGCA	ATATAGACAA	TTACTTGACT
721	GTTGACCTCA	AATCAGG				

Taxón: *Leccinum aff. rugosiceps* **Espécimen:** VC111

Lugar y fecha de colecta: Bosques latifoliados aledaños a la cabecera municipal de Villa del Carbón, Estado de México, 17 de Septiembre del 2013.

1	CCTTATTGTA	GATCGCGAGA	TCTATGTATT	TTCATAATCC	TATATTGTAT	GTCTACAGAA
61	TGTGTTACCT	ATTTTATTAC	AACTTTCAGC	AATGGATCTC	TTGGTTCTCG	CATCGATGAA
121	GAACGAGCG	AATTGCGATA	AGTAATGTGA	ATTGCAGATT	TTCAGTGAAT	CATCGAATCT
181	TTGAACGCAC	CTTGCGCTCC	TTGGTATTCC	GAGGAGCATG	CCTGTTTGAG	TGTCATTTTTA
241	ATCAATCAAC	CATCAAGTCT	TTGATTAGAC	TTTTTTGGCT	TGGACTTGGG	ATTTGCTGGC
301	TTGTCAGCTA	TCCTTAAAGT	CATTAGCAAG	TTGTTAATCT	ACATGCACGG	CCTTTCGACG
361	TGATAAAGAT	CGTCGTGGGC	TGGAAGTGTA	GTATCTTGCT	TCCAAAGTCA	ATCAACCCCA
421	TCCATCAGGT	TGATAACCAA	CCATGAAATT	AGCTGTTGAT	TAGTACTACC	TAATGTCTAC
481	GTGCATACGG	CCTAACCCGC	TGGAAGCGTA	CTAGTAGGTA	GGAAAATCCA	CCAGTAGGCT
541	GGAAATAGTA	CTACTTCATG	TAGCAAGTTG	TCTATGTGTA	TACGGCCTGA	CCGCTGGAAG
601	CATAGTAAAT	CTGAAGTTCA	GCTTAGCTTA	TTGATTAGGA	AAATCCAGA	TCTAGAAGAT
661	TAGTACTCCC	TAATGTGTAC	GTGCATACGG	CCTAATCGCT	GGAAGCGTTA	TTAGGTAGGA
721	AAATCCACTG	GGGGCAGGG	CTGGAATTAG	CAAGCCAAAG	TGAATTTGTC	TACTATGGTA
781	GTAATCTGTA	AGCTTTTAGC	TAGCTTTATC	ATTCCCAGAT	CTGATCGCTG	CTAGTCGATG
841	GTTAATCACC	AATTGACCTC	A			

Taxón: *Marasmius calhouniae* **Espécimen:** VC129

Lugar y fecha de colecta: Bosques latifoliados aledaños a la cabecera municipal de Villa del Carbón, Estado de México, 17 de Septiembre del 2013.

1	TGAATTAATG	GAGCTGTGCG	GTTGTGTCAT	TCAGCTGTGC	ACGCTTCAAT	TCTTCAACTT
61	TCTPTTCTTG	TGCACCTTTG	CGTAAACTTG	AGAACTGTGG	AGTAATCTCT	CACTCTTTGG
121	AGTGGATGGG	AGGGTCTTGC	TTGTATAAAA	GCTCCCTTTG	TTCTTCTCTC	AGCCTTTTCAG
181	GTTTATGATT	ATATCAACTC	TTGTATGTTT	AGAATGTCTT	TCATTAATTG	GACTCTGTCC
241	ATTAATAAAC	AATTACAAC	TTCGACAACG	GATCTCTTGG	CTCTCGCATC	GATGAAGAAC
301	GCAGCGAATT	GCGATAACTA	ATGTGAATTG	CAGAATTCAG	TGAATCATCG	AGTCTTTGAA
361	CGCACCTTGC	GCCCTTTGGT	ATTCCGAAGG	GCATGCCTGT	TTGAGTGTCA	GTAATTTCTC
421	AATTTACTTC	AATTTATTGA	AGAGAAATTG	GATATGGAGG	TTGCTGGATC	CCTAGTATTC
481	AGCTCTTCTG	AAATGTATTA	GCAGTGACCA	TACCTTGGCA	TGCTCAAGCT	GTGATAATTA
541	TCCTAGCTTG	ATGTGTTGAG	ATTCAGAGCT	TTGTGAATAA	AGGGCTACTT	GAATGTTCCC
601	TTTGCTTTCT	CTATGAACGA	GATAACTATG	CGACTCTGGT	TGGCTTTTAT	TGCTTCTAAT
661	CGTCTTGCAA	TATAGACAAT	TACTTGACTG	TTGACCTCAA		

Taxón: *Russula mexicana* **Espécimen:** VC148

Lugar y fecha de colecta: Bosques latifoliados aledaños a la cabecera municipal de Villa del Carbón, Estado de México, 17 de Septiembre del 2013.

1	TAGGTGAACC	TGCGGAAGGA	TCATTATCGT	ACAACGGAGG	TGCAAGGGCT	GTCGCTGGCC
61	TTCAAAGGTC	GTGCACGCCC	TTCAAAGGTC	GTGCACGCCC	GGGCCCTCTC	ACAATCCATC
121	TCACCCTTTG	TGCATCACCG	CGTGGGTCCT	CCC GCAAGGG	AGGGCTCACG	TTTTCACATA
181	AAAAC TCATA	CAGTGTAGAA	TGTTTATTTT	TGCGGTCACA	CGCGATCAAT	AAAAC TTTC A
241	ACAACGGATC	TCTTGGCTCT	CGCATCGATG	AAGAACGCAG	CGAAATGCGA	TACGTAATGT
301	GAATTGCAGA	ATTCAGTGAA	TCATCGAATC	TTTGAACGCA	CCTTGCGCCC	CTTGGCATTC
361	CGAGGGGCAC	ACCCGTTTGA	GTGTCGTGAA	ATCCTCAAAA	CCCCCTCTTC	TTTGGGAGTT
421	TTGGAATTGG	AGGTTTAATG	CTCGCTTTTG	CCTTTGAAAG	CGAGCTCCTC	TCAAATGAAT
481	CAGTGGGGTC	TGCTTTGCTG	GTCCTTGACG	TGATAAGATG	TTTCTACGTT	TTGGATTTGG
541	CATCGTCCCT	GCTCCTAATC	GTCCTCAGGA	CAATGATGGT	GCTTCCGGTC	ACCGCCATCC
601	ACATTGGCGG	GAGGCTGGAC	CCACAAAAT	AAAACCT		

Anexo 4. Catálogo de especies presentes en el área de estudio, ordenadas por familia.

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Amanitaceae 1

1

1cm

2

1cm

3

1cm

4

1cm

1. *Amanita caesarea*2. *Amanita flavoconia*3. *Amanita novinupta*4. *Amanita pantherina*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Amanitaceae 2

1



1cm

1. *Amanita vaginata*

2



1cm

2. *Amanita vaginata*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Marasmiaceae 1

1

5mm

2

1cm

3

1cm

4

1cm

1. *Gymnopus biformis*2. *Gymnopus dryophilus*3. *Gymnopus subsulphureus*4. *Marasmius calhouniae*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Marasmiaceae 2

1



1cm

1. *Marasmius cohaerens*

2



5mm

2. *Marasmius rotula*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Psathyrellaceae

1



2



3



1. *Coprinopsis atramentaria*

2. *Coprinopsis insignis*

3. *Psathyrella candolleana*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Agaricaceae

1



1. *Lycoperdon perlatum*

2



2. *Lycoperdon pyriforme*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Tricholomataceae

3



1. *Collybia tuberosa*

4



2. *Clitocybe gibba*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Pluteaceae

1



5mm

1. *Pluteus chrysophlebius*

2



5mm

2. *Pluteus chrysophlebius*

Basidiomycota Agaricomycetes Agaricales Strophariaceae

3



1cm

1. *Stropharia semiglobata*

4



1cm

2. *Stropharia semiglobata*

Basidiomycota Agaricomycetes Russulales Russulaceae 1

1



1cm

2



1cm

3



1cm

4



1cm

1. *Russula flavisiccans*

2. *Russula mariae*

3. *Russula Mexicana*

4. *Russula aff. pectinatoides*

Basidiomycota Agaricomycetes Russulales Russulaceae 2

1



1cm

2



1cm

3



2cm

4



1cm

1. *Russula* aff. *pulchra*

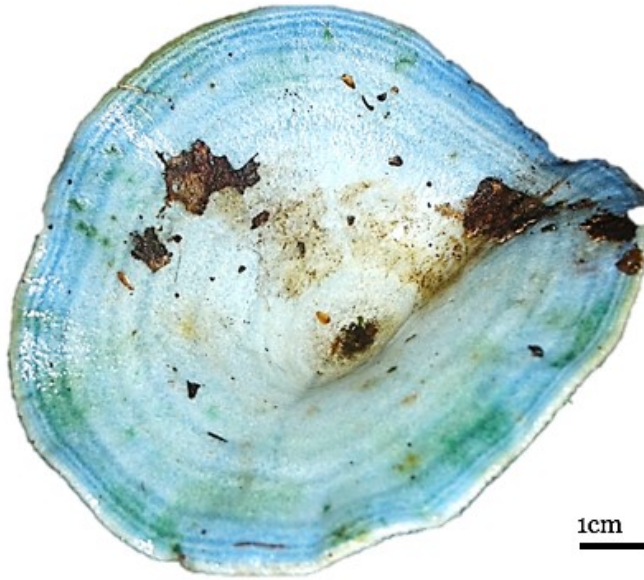
2. *Russula* *violeipes*

3. *Russula* aff. *xerampelina*

4. *Russula* *sororia*

Basidiomycota Agaricomycetes Russulales Russulaceae 3

1



1. *Lactarius indigo*

Basidiomycota Agaricomycetes Russulales Steraceae

1



5mm

2



1cm

3



1cm

4



1cm

1. *Stereum* sp.

2. *Stereum* sp.

3. *Stereum hirsutum*

4. *Stereum hirsutum*

Basidiomycota Agaricomycetes Polyporales Meruliaceae

1



1. *Podoscypha* sp.

Basidiomycota Agaricomycetes Boletales Polyporaceae

1



1. *Polyporus arcularius*

Basidiomycota Agaricomycetes Boletales Boletaceae

1



1. *Leccinum* aff. *rugosiceps*

2



2. *Strobilomyces* *floccopus*

Ascomycota Pezizomycetes Pezizales Helvellaceae

1



1. *Helvella* *crispa*